

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21346

研究課題名(和文) 対光反射による非侵襲性網膜機能評価の試み

研究課題名(英文) Attempt to noninvasive assessment of retinal function using pupillary response

研究代表者

浅川 賢 (Asakawa, Ken)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号：60582749

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：赤・青色光による対光反射は、本研究により設定された網膜機能と対光反射の基準値と併せて評価することで、網膜(視細胞・網膜神経節細胞)や視神経などの求心路とともに、自律神経障害や遠心路の症候を簡便かつ定量、非侵襲に捉えられる可能性が示唆された。網膜機能と色光による対光反射の同時記録が可能なスクリーニング機器の開発を今後の展望としたい。

研究成果の概要(英文)：The pupil response to colored-light stimulus may be useful to detect signs and symptoms in diseases of the retina, optic nerve and visual pathways, based on our normative database. In future, we intend to develop a screening device to detect the various neurological abnormalities by evaluating in combination with the electroretinography and the colored-light pupil response.

研究分野：視覚情報科学

キーワード：対光反射 網膜電図 視細胞 網膜神経節細胞

1. 研究開始当初の背景

視覚系は光を網膜にて受容し、電気信号に変換した情報が皮質中枢に伝達されることから、光受容器である網膜は視覚にとって重要な組織である。したがって失明予防の点からは、網膜疾患の早期検出と早期治療が不可欠であり、疾患の鑑別と病期の判定には網膜電図 (electroretinogram: ERG) が有用である。主に網膜全層の機能検査に使用するが、記録方法を変えることで網膜の層別機能診断や網膜局所の機能評価も可能である。しかし、光刺激により基準電極との電位変化を導き出すための導出電極は、角膜に装着する必要があり、熟練を要するのみならず、角膜障害の危険性など、侵襲が高い。これらのことから、網膜機能評価に求められる条件は、簡便かつ定量的、非侵襲である。

網膜電位計 RETeval (LKC Technologies Inc.) は、皮膚電極により非侵襲に網膜機能評価が可能で、国際臨床視覚電気生理学学会が推奨するプロトコルにて波形と潜時、振幅が無散瞳でも記録される。一方、網膜は視覚系の光受容器のみならず、対光反射の受容器としての役割も重要である。赤外線瞳孔計 PLR-3000 (NeuroOptics Inc.) は暗順応を必要とせず、簡便に対光反射計測が可能で、得られる8種のパラメータが瞳孔異常や自律神経障害の検出に有用とされている。

両機器ともに、簡便かつ定量的、非侵襲に評価が可能だが、パラメータの再現性や基準値が明らかではないこと、光刺激に白色光を採用していることに議論の余地がある。

これまで申請者は、家兎による動物モデルの検討から、網膜外層・内層障害では色光に対する瞳孔反応の動態が異なっていることを明らかにした。以上を踏まえて、色刺激の異なる対光反射測定は、網膜光受容器の特性変化を非侵襲かつ簡便に評価可能で、網膜疾患の鑑別に応用できると仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、皮膚電極型網膜電図と暗順応不要の赤外線瞳孔計との有用性を明らかにするとともに、特定波長光に対する瞳孔反応を検討し、その特性から対光反射を応用した非侵襲的な網膜機能評価を試みることにした。

3. 研究の方法

(1) 健常者に対する検討

年齢 20 歳から 24 歳までの健常者、延べ 80 名を対象とした。研究の趣旨に関して十分な説明を行い、承諾を得た。本研究は北里大学医療衛生学部研究倫理審査委員会の承認を得た (2016-G023B)。照明環境を統一した検査室にて、被検者の手で片眼を遮閉、他眼でアイカップ中央を固視させることで

瞳孔中心に一定の光刺激が照射されるように保持し、以下の測定を行った。

1) 再現性・基準値

RETeval は 20 分の明・暗順応後、皮膚電極を下眼瞼に貼付し、網膜機能を ISCEV 5 Td のプロトコル (Cone-response・Flicker-・Rod-・Maximal-・Oscillatory Potentials (OP)) により、0.24 (Rod-のみ)・85 Td-s の白色の光刺激にて記録、潜時 implicit time (ms)・振幅 amplitude (μV) のパラメータを評価した。

PLR-3000 は 180 μW の白色の光刺激にて 0.8 秒の対光反射を記録、初期径 (INIT)・最小径 END (mm)・縮瞳率 DELTA (%)・潜時 LAT (sec)・平均縮瞳速度 ACV (mm/sec)・最大縮瞳速度 MCV (mm/sec)・平均散瞳速度 ADV (mm/sec)・75%回復時間 T75 (sec) のパラメータを評価した。

同一検者によって、対象の右眼を 30 秒おきに回測定し、得られたパラメータの検者内での再現性を、変動係数 (%) により解析した。変動係数は、標準偏差を平均値で除することで算出し、10 %以下を再現性良好とした。基準値は、平均値と正常範囲を 95 %信頼区間 (上限-下限) にて解析を行った。

2) 色光による対光反射

RETeval にて赤・青色光の刺激提示が可能なカスタムプロトコルを、MAYO Corporation から LKC Technologies Inc. へ依頼し、研究目的に作成した。赤色 (621 nm)・青色 (470 nm) の光刺激にて 5 秒の対光反射を記録し、面積比 area ratio (4.32 Td-s による瞳孔面積の差) と 32 Td-s に対する縮瞳率 (光刺激前の初期径-光刺激中の最小径/光刺激前の初期径 $\times 100$) (%) をマニュアルにて解析した。面積比と縮瞳率の基準値とともに、両者の相関を Pearson 積率相関係数により解析し、 $r = 0.35$ 以上を相関あり、有意水準 5 %未満を有意差ありとした。

(2) 症例提示

3 歳男児、健診にて左眼視力不良を指摘され、近医での弱視治療 (眼鏡処方・遮閉法) も改善なく、北里大学病院眼科外来に紹介受診となった。本人と家族に十分な説明を行い、承諾を得た。北里大学医学研究・倫理委員会の承認を得た (B16-69)。

4. 研究の成果

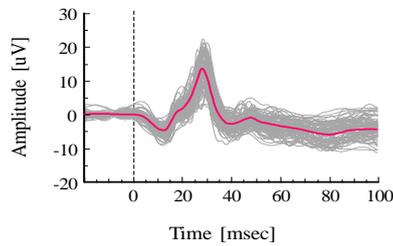
(1) 再現性・基準値

RETeval にて得られた波形を図 1 に示す。パラメータの変動係数は以下のごとく、潜時は、Cone-response a 波 5.5 %、b 波 1.0 %、Flicker- 0.4 %、Rod- 5.8 %、Maximal- a 波 4.6 %、b 波 4.8 %、OP 3.1%であった。振幅は、Cone-a 波 18.6 %、b 波 9.7 %、Flicker- 5.3 %、Rod- 10.6 %、Maximal- a 波 13.9 %、

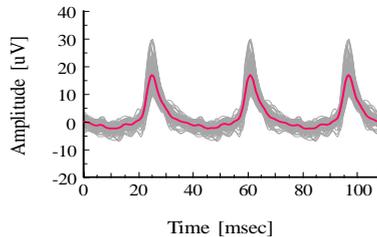
b 波 7.2 %, OP 10.1%であった。基準値は以下のごとく、潜時の平均 (95 %信頼区間による正常範囲) は、Cone- a 波 12.1 (12.0-12.2)、b 波 28.2 (28.1-28.3)、Flicker- 24.6 (24.6-24.7)、Rod- 96.5 (95.4-97.7)、Maximal- a 波 14.8 (14.7-14.9)、b 波 46.7 (46.3-47.2)、OP 152.5 (151.8-153.2) であった。振幅は、Cone- a 波 5.8 (5.6-6.0)、b 波 21.1 (20.4-21.7)、Flicker- 21.6 (21.0-22.2)、Rod- 44.4 (43.2-45.6)、Maximal- a 波 40.5 (39.3-41.8)、b 波 68.7 (66.7-70.6)、OP 49.0 (47.3-50.6) であった。

図 1 RETeval による網膜機能波形
(50 眼のデータ、赤波形は平均)

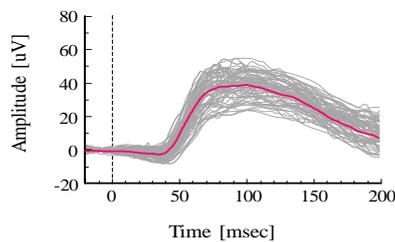
A Cone response



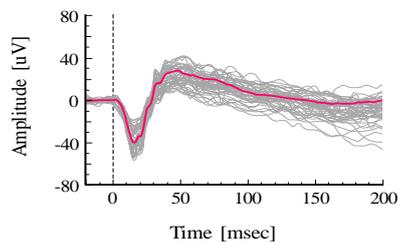
B Flicker response



C Rod response



D Maximal response

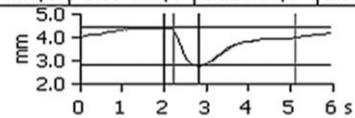


RETeval は、振幅における a 波の変動係数が大きいものの、他のパラメータは概ね 10 % 以下であった。a 波のみ再現性が低かった要因として a 波は視細胞由来の電位であり、その電位は順応状態に影響する。本研究では 30 秒おきの連続記録としたため、臨床評価の際は 30 秒以上の間隔をあけて測定することが望ましいと思われた (論文発表③)。

PLR-3000 にて得られた波形を図 2 に示す。パラメータの変動係数は、INIT 6.0 %, END 4.8 %, DELTA 4.7 %, LAT 9.5 %, ACV 10.3 %, MCV 7.4 %, ADV 6.6 %, T75 13.7 % であった。基準値は、INIT 5.0 (4.7-5.3)、END 2.9 (2.8-3.0)、DELTA 40.1 (37.6-42.6)、LAT 0.21 (0.20-0.22)、ACV 3.3 (3.0-3.6)、MCV 5.0 (4.6-5.4)、ADV 1.5 (1.4-1.6)、T75 1.36 (1.16-1.56) であった。

図 2 PLR-3000 による対光反射波形
(典型例)

INIT	END	DELTA	LAT
4.4 mm	2.8 mm	36%	0.23 sec
ACV	MCV	ADV	T75
-4.00 mm/s	-5.09 mm/s	1.22 mm/s	2.31 sec



PLR-3000 による対光反射評価では、光刺激後の最小径が初期径の 75%まで回復する時間の再現性が概して低い結果となった。Horner 症候群に代表される交感神経の障害例ではその評価に留意すべきであり、瞳孔異常に応じて光刺激の強度や記録時間などの測定条件を変更する必要があると結論付けた (論文発表④)。

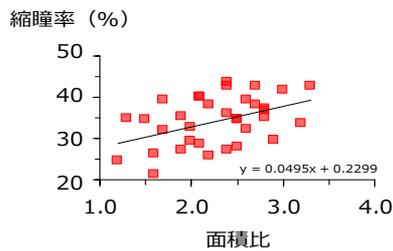
再現性・基準値を検討した本研究では、“無散瞳・暗順応不要”にて評価可能という両機器の利点を活かすため、20 歳代の若年者を対象としたが、性差や人種差、30 歳代以降の基準値は不明である。これらの制約は今後の課題としていたが、残念ながら他の研究者によって、それらの基準値が先に示された。しかし、本研究の特記すべき点は無散瞳にて得られた基準値であり“参考値”として使用することは可能である (論文発表③・④)。

(2) 色光による対光反射

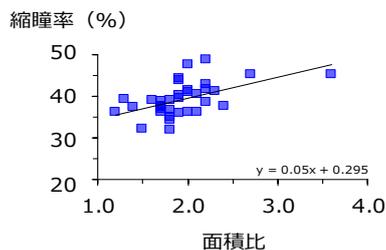
面積比・縮瞳率の基準値は、赤色 2.3 (2.1-2.5)・34.3 (32.3-36.3)、青色 1.9 (1.8-2.1)・39.2 (37.9-40.6) であった。両者は中等度の相関が認められた (赤色 $r = 0.45$, $P = 0.008$ 、図 3A; 青色 $r = 0.53$, $P = 0.001$ 、図 3B)。

図3 色光による面積比・縮瞳率の相関
(35眼のデータ)

A 赤色光



B 青色光



赤色 (A)・青色 (B) の光刺激ともに、
両者には中等度の相関が認められている
(赤色 $r = 0.45$, $P = 0.008$; 青色 $r = 0.53$,
 $P = 0.001$)。

RETevalにて得られた面積比と縮瞳率とは中等度の相関が認められた。すなわち、良好な縮瞳であるほど面積比も大きくなる結果となり、面積比は従来の縮瞳率と同様、対光反射評価のパラメータとして有用と考えられる。縮瞳率は視神経疾患などの視覚入力障害にて減弱することから、面積比の異常もその障害を反映するといえる(学会発表②; 論文発表③)。

PLR-3000では、8種のパラメータから対光反射の定量評価が可能で、RETevalの面積比と同様に DELTA・LAT は視覚入力、ACV・MCV は副交感神経、ADV・T75 は交感神経を、それぞれ反映する(論文発表④)。対光反射のパラメータが異常値を示せば、視神経疾患や瞳孔異常、自律神経障害が疑われるが、網膜機能のパラメータである振幅・潜時の異常は網膜外層疾患にて認められるため、網膜電図と対光反射の同時記録によって、それらの病態が簡便に鑑別できる可能性がある。

対光反射の起源は杆体・錐体の視細胞のみと考えられてきたが、近年、メラノプシン含有網膜神経節細胞が同定された。その投射先は視交叉上核であり、概日リズムの調整に関与するが、視蓋前域核にも投射されて対光反射も担う。特に視細胞を完全に欠損・障害させたマウスやサル、ウサギの瞳孔収縮を起こす波長特性から、470 nmの青色光に感受性が高い。メラノプシン含有網膜神経節細胞

由来の対光反射は、赤色光に対して瞬時に消失するものの、青色光による光刺激中・後の縮瞳持続が特徴である。これらの特徴を踏まえると、赤・青色光による対光反射は、視細胞と網膜神経節細胞の障害や特性変化を簡便に検出できると推察される(学会発表①・⑤・⑥; 論文発表②・③・⑤・⑪)。

(3) 症例提示

矯正視力は右眼(1.0)、左眼(0.2)で、シクロペントラート塩酸塩による等価球面屈折値は両眼とも+1.00D、眼位は正位、中間透光体の混濁はなかった。眼底所見は左眼の視神経低形成と黄斑輪状反射が不良で、光干渉断層計による所見では、中心窩の生理的陥凹を認めず、ellipsoid zoneが消失していた。

RETevalによる網膜機能評価では、杆体系応答のRod-(図4A)にて潜時が右眼89.7ms・左眼88.4ms、振幅が36.8 μ V・34.9 μ V、Maximal-(図4B)にてa波の潜時が13.1ms・13.0ms、b波の潜時が63.9ms・48.8ms、a波の振幅が53.3 μ V・79.7 μ V、b波の振幅が46.1 μ V・66.1 μ Vであった。錐体系応答のCone-(図4C)にてa波の潜時が12.6ms・11.2ms、b波の潜時が26.2ms・26.4ms、a波の振幅が9.5 μ V・7.0 μ V、b波の振幅が44.9 μ V・29.3 μ V、Flicker-(図4D)にて潜時が23.9ms・24.0ms、振幅が45.6 μ V・29.8 μ Vであった。振幅は杆体系応答では左右差なく、比較的良好であるのに対し、錐体系応答にて著明な低下が認められた。

赤外線瞳孔計 Irisorder Dual C-10641 (Hamamatsu Photonics) を使用し、色光による対光反射を評価すると、赤色光にて縮瞳率が右眼35.1%、左眼17.2%と左眼の縮瞳が不良であった(図5A)が、青色光では53.3%、49.2%と明らかな差はなく、顕著かつ持続した縮瞳が得られた(図5B)。

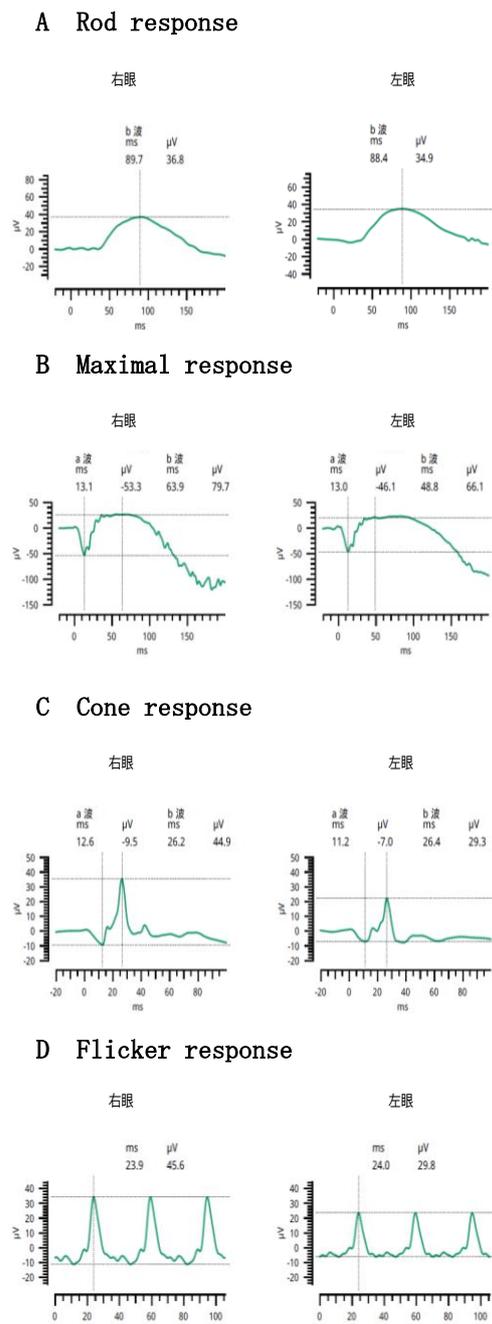
本症例は、黄斑輪状反射や中心窩陥凹を認めないことから“黄斑低形成”と診断した。上記(2)色光による対光反射を参照)の推察の確証を得るため、網膜機能と色光による対光反射を記録すると、錐体系応答の振幅が著明に低下しており、赤色光に対する縮瞳には左右差が認められたが、青色光では両眼ともに顕著かつ持続的な瞳孔の縮小が見られた。選択的な錐体障害を有する本症例にて見られた赤色光の縮瞳不良と、青色光による顕著な縮瞳持続は、視細胞とメラノプシン含有網膜神経節細胞に由来する対光反射の違いを反映しているといえる(学会発表①・⑥; 論文発表⑤・⑪)。本症例の臨床所見から、色光刺激による瞳孔反応は網膜の外層・内層障害を簡便かつ非侵襲に鑑別できることが明らかとなった。

(4) まとめ・展望

赤・青色光による対光反射は、本研究にて設定された網膜機能と対光反射の基準値と

併せて評価することで、網膜（視細胞・神経節細胞）や視神経などの入力系（求心路）とともに、自律神経障害や出力系（遠心路）の症候を簡便かつ定量、非侵襲に捉えられる可能性が示唆された。網膜機能と色光による対光反射の同時記録が可能な機器の開発を今後の展望としたい。

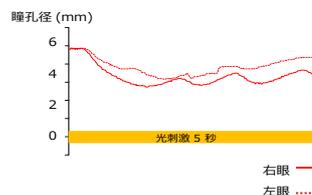
図4 RETevalによる網膜機能



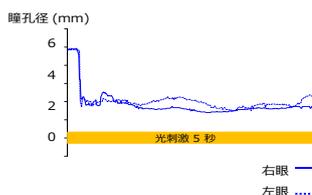
Rod response (A) や Maximal response (B) では振幅に左右差はなく、Cone response (C) と Flicker response (D) にて著明な低下が認められている。

図5 Iriscorder Dualによる対光反射

A 赤色光



B 青色光



赤色 (A)・青色 (B) の光刺激にて 5 秒の対光反射を記録している。赤色光の縮瞳には左右差が認められるが、青色光は両眼ともに顕著で持続的な縮瞳が見られる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

① Sato Tsukasa, Ishikawa Hitoshi, Goseki Toshiaki, Asakawa Ken: Evaluation of relative afferent pupillary defect using RAPDx device at before and after treatment in patients with optic nerve disease. *Neuro-Ophthalmology* 42 (3):146-149, 2018, 査読有

DOI: 10.1080/01658107.2017.1380050

② 戸塚悟, 石川均, 後関利明, 浅川賢, 庄司信行: 不同視弱視における対光反射の左右差に関する研究. *眼科臨床紀要* 10 (8): 646-650, 2017, 査読有

③ Asakawa Ken, Amino Kana, Iwase Machiho, Kusayanagi Yuki, Nakamura Akiho, Suzuki Rio, Yuuki Takashi, Ishikawa Hitoshi: New mydriasis-free electroretinogram recorded with skin electrodes in healthy subjects. *Biomed Research International* 8539747: 1-7, 2017, 査読有

DOI: 10.1155/2017/8539747

④ Asakawa Ken, Ishikawa Hitoshi: Reproducibility and standard values of the parameters of a new hand-held digital pupillometer. *Journal of Clinical & Experimental Ophthalmology* 8 (3): 1-2, 2017, 査読有

DOI: 10.4172/2155-9570.1000654

⑤ 浅川賢, 石川均, 龍井苑子, 後関利明, 池田哲也, 庄司信行: 片眼性黄斑低形成における黄斑異常と色光刺激による瞳孔反応. 日本眼科学会雑誌 121 (4) : 383, 2017, 査読有

⑥ 浅川賢, 石川均: 新しい瞳孔・調節検査. 日本の眼科 88 (4) : 458-462, 2017, 査読有

⑦ Sato Tsukasa, Ishikawa Hitoshi, Asakawa Ken, Goseki Toshiaki, Shimizu Kimiya: Effects of ripasudil hydrochloride hydrate instillation on pupil dynamics. Current Eye Research 42 (1) : 54-57, 2017, 査読有

DOI : 10.3109/02713683.2016.1148740

⑧ 佐藤司, 後関利明, 浅川賢: 対光反射解析装置 RAPDx. 眼科 58 (11) : 1179-1187, 2016, 査読有

⑨ 浅川賢, 石川均: メラノプシン含有網膜神経節細胞. 日本の眼科 87 (8) : 1095-1096, 2016, 査読有

⑩ Shimada Yuko, Iimori Natsuki, Igaki Michihito, Iwata Yo, Asakawa Ken, Ishikawa Hitoshi : Effects of periorbital warm compresses with and without menthol stimulation on visual function and autonomic nervous system. 自律神経 53 (2) : 173-177, 2016, 査読有

⑪ Asakawa Ken, Ishikawa Hitoshi : Electroretinography and pupillography in unilateral foveal hypoplasia. Journal of Pediatric Ophthalmology & Strabismus 53 (3) : 26-28, 2016, 査読有

DOI : 10.3928/01913913-20160509-04

⑫ Sato Tsukasa, Goseki Toshiaki, Asakawa Ken, Ishikawa Hitoshi, Shimizu Kimiya : Effects of age and gender on measurements and determination of standard values using the RAPDx® device in healthy subjects. Translational vision science & technology 5 (2) : 18. eCollection, 2016, 査読有

DOI : 10.1167/tvst.5.2.18

⑬ Sato Tsukasa, Ishikawa Hitoshi, Asakawa Ken, Goseki Toshiaki, Shimizu Kimiya, Niida Takahiro : Evaluation of relative afferent pupillary defect using RAPDx® device in patients with optic nerve disease. Neuro-Ophthalmology 40 (3) : 120-124, 2016, 査読有

DOI : 10.3109/01658107.2016.1169550

[学会発表] (計 11 件)

① 浅川賢: いつもの所見、理解すれば神経眼科!。第 55 回日本神経眼科学会, 2017

② 池田哲也, 石川均, 浅川賢, 後関利明, 庄司信行: 未熟児網膜症の光凝固術前後での RETeval 測定を試みた一例. 第 55 回日本神経眼科学会, 2017

③ 浅川賢, 石川均, 庄司信行: ヘッドマウント型視野計による瞳孔視野測定の試み. 第 28 回日本緑内障学会, 2017

④ 佐藤司, 後関利明, 石川均, 浅川賢, 新井田孝裕: 視神経疾患における RAPDx®を用いた治療前後の相対的瞳孔求心路障害の評価. 第 54 回日本神経眼科学会, 2016

⑤ 戸塚悟, 浅川賢, 後関利明, 石川均: 色光刺激による対光反射の経時変化を追えた乳児の一例. 第 54 回日本神経眼科学会, 2016

⑥ 浅川賢, 石川均, 龍井苑子, 後関利明, 池田哲也: 片眼性黄斑低形成における黄斑異常と色光刺激による瞳孔反応. 第 54 回日本神経眼科学会, 2016

⑦ 浅川賢: 瞳孔視野測定の有用性と将来展望. 第 27 回日本緑内障学会, 2016

[図書] (計 4 件)

① Asakawa Ken : Advances in Medicine and Biology (Nova Science Publishers Inc, New York) : 1-7, 2017

② 浅川賢, 石川均: 今日の眼疾患治療指針 (医学書院, 東京) : 39-41, 127-132, 2016

③ 浅川賢, 石川均: 眼科診療プラクティス-眼科検査ガイド第 2 版- (文光堂, 東京) : 639-653, 2016

④ 浅川賢, 石川均: ブルーライトテキストブック (金原出版, 東京) : 70-76, 2016

[産業財産権]

なし

○出願状況

なし

○取得状況

なし

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅川 賢 (ASAKAWA, Ken)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号 : 60582749

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

石川 均 (ISHIKAWA, Hitoshi)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号 : 80265701

(4) 研究協力者

なし