

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11422

研究課題名(和文)皮膚電極網膜電図装置を用いた網膜内層機能の評価とその汎用性の検討

研究課題名(英文) Evaluation of the inner layer function of the retina using a skin electrode electroretinogram

研究代表者

生杉 謙吾 (Ikesugi, Kengo)

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：10335135

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：最近開発された新しい皮膚電極網膜電図装置レチバルによる網膜電図検査では、非常に短時間(5分程度)で検査を終えることができ、従来から知られている網膜外層・中層疾患のみでなく、緑内障などの患者数が大変多い、網膜内層疾患を対象としてもその検査の有用性を検証できた。例えば、緑内障であれば、中期から後期の病期であれば、レチバルを使用することにより、ほぼ全例で診断をすることが可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

レチバルを用い網膜神経節細胞の反応を示すといわれているPhNRを従来とは異なった低侵襲かつ汎用性が高い検査方法で正確に評価しようとする本研究をおこなったことで、未だ不明である緑内障など視神経疾患等の特徴およびその発症メカニズムの解明にも迫れる可能性がある。また近未来の眼科臨床の現場において、網膜電図検査が、より日常的におこなわれる検査となりうるためには、今研究を足掛かりとして基礎的なデータを積み上げ、その信頼性を担保する必要がある、本研究がおこなわれた意義は大きいと我々は考えている。

研究成果の概要(英文)：Recently developed new skin electrode electroretinogram device RETeval can test the patient in a very short time (about 5 minutes), and not only the conventionally known outer and middle layer diseases of the retina, the usefulness of the test was verified even for the patients with a large number of patients such as glaucoma(inner retinal diseases).

研究分野：網膜電図

キーワード：網膜電図 網膜内層機能障害

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

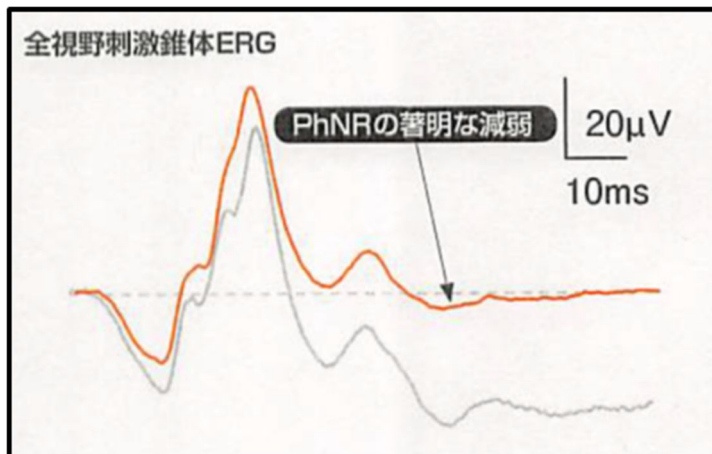
網膜電図 (ERG) において、網膜神経節細胞の機能を示すとされているのは、PhNR (photopic negative response) である。これは錐体系網膜電図 (Cone ERG) の b 波に続く陰性成分であり、全視野刺激 PhNR の振幅は神経線維層厚と相関し、代表的な網膜内層機能障害疾患である緑内障で、神経節細胞の機能障害を検出することに有効であると報告されている。(Viswanathan S et al. IOVS. 1999, Colotto A et al. IOVS. 2000, Machida S et al. IOVS. 2008, Kondo M et al. IOVS. 2008.)

一方、現在まで、検査に時間と手間がかかるなどの理由により、PhNR による網膜内層機能評価は、臨床検査として、あまり一般的ではなかった。

さて、最近国内で使用可能となった小型 ERG 測定装置レチバルは、皮膚電極仕様であり、無散瞳 (自然な瞳孔の大きさ) で PhNR が容易に測定でき、検査時の患者負担が極めて少なく、今後の臨床応用が期待されている。本研究で明らかにしたいこととして、皮膚電極網膜電図装置レチバルを用い、正常眼および網膜内層機能障害を疑う症例 (緑内障や視神経疾患等) から PhNR を測定しその結果を比較すること、PhNR に関連する個々の測定パラメータの有用性、再現性 (信頼性) を評価し、測定結果を他の検査機器であるハンフリー視野検査 30-2 の MD (mean deviation) 値や、OCT (光干渉断層計) による網膜内層の形態的な評価と比較検討することである。また現在まで、レチバルによる PhNR の各パラメータ測定値についての日本人の基準値は確立しておらず、健常人における人種別、年齢別基準値の確立も必要と考えられる。このように臨床応用をするためには瞳孔径が変化しても信頼性のある ERG の測定結果を得ることができかどうか検証することが不可欠と考えている。我々のチームは、既に、レチバルを用い、健常人におけるフリッカ ERG の検査値の検証結果を報告している。(Effect of Pupil Size on Flicker ERGs Recorded With RETeval System: New Mydriasis-Free Full-Field ERG System. Kato K, Kondo M, Sugimoto M, Ikesugi K, Matsubara H. Invest Ophthalmol Vis Sci. 査読あり 56:3684-90, 2015)

今回、我々は、同様の検証を網膜内層機能障害の評価についてもおこない、主に前述の PhNR に関する複数のパラメータについてその臨床的意義と再現性について検討し、結果を明らかにする。網膜内層機能障害眼を対象に、網膜神経節細胞の機能 (PhNR) を ERG にて評価するが、黄斑部網膜の内層評価は、形態学的には OCT が簡便で実際の臨床現場でよくおこなわれるが、正常眼データベースは、おおよそ矯正度数 -6.00D までのことが多く、それ以上の近視眼には、現時点では原則 OCT では対応できない。また強度の近視眼のみに限らず、OCT の正常眼データベースは、正常範囲が広いいため、必ずしも OCT による形態的評価が、黄斑部網膜神経節細胞の機能を反映しているわけではなく、今後、新たな手法での網膜神経節細胞の機能評価の必要があると思われる。この点については、代表的な視機能検査として視野検査があるが、あくまで視野検査は自覚的検査であり、他覚的に網膜の機能評価ができるのは、網膜電図検査以外にない。また視野検査の結果のみでは、網膜 (あるいは球後および大脳視覚野) のどの領域の異常により障害がおきているかは、わからない。網膜電図では、網膜機能の層別解析が可能であり、今回、網膜内層機能障害を反映することができる PhNR 波形に注目したのもそのような層別解析の有用性を検証したいという理由からである。レチバルを用い網膜神経節細胞の反応を示すといわれている PhNR を従来とは異なった低侵襲かつ汎用性が高い検査方法で正確に評価しようとする本研究をおこなうことで、網膜神経節細胞の機能低下をより汎用性の高い方法で検出できることが明らかになるとすれば、未だ不明である緑内障など視神経疾患等の特徴およびその発症メカニズムの解明にも迫れる可能性があり、本研究をおこなう意義は非常に大きいと考えられる。

近未来の眼科臨床の現場において、網膜電図検査が、より日常的におこなわれる検査となりうるためには、今研究を足掛かりとして基礎的なデータを積み上げ、その信頼性を担保する必要があり、本研究の意義は大きいと我々は考えている。



(どうとる? どう読む? ERG  
MEDICAL VIEW 社より)

## 2. 研究の目的

本研究はヒトを対象とする臨床研究である。目的は、最近開発された新しい皮膚電極網膜電図装置レチバルを用いた網膜内層機能の評価と、レチバルの臨床検査としての汎用性を検討することである。レチバルによる網膜電図検査では、皮膚電極を使用し、かつ検査前の散瞳剤点眼が不要である。つまり検査を非常に短時間で終わることができる。患者への検査負担を劇的に軽減することで従来に比べ格段に多くの患者に対する検査が可能であると考えられ、本検査の汎用性を検討するとともに、十分なサンプル数を得ることで、現在まで眼科臨床では不明な点が多い網膜内層機能のレチバルによる評価について検討する。特に緑内障を対象に皮膚電極網膜電図装置レチバルにより測定された photopic ERG の結果をその重症度と比較することも目的とする。

## 3. 研究の方法

被験者は、網膜内層機能障害が疑われる眼およそ 200 例。対象者に屈折、矯正視力、眼圧、前眼部及び眼底検査そして、今回の主要評価項目である網膜電図装置レチバルによる網膜内層機能解析、眼底写真による視神経所見の記録、OCT による乳頭周囲神経線維層厚測定及び黄斑部内層厚の測定、非接触型眼軸長検査、静的視野検査等をおこない、主にレチバルによる PhNR と、視野検査の結果、近視の程度・眼軸長・視神経乳頭形状等との関連性を検討する。

過去に DTL(接触タイプ)電極による ERG 測定により、PhNR の振幅および PhNR 比は、緑内障初期、中期、後期の緑内障を良好に検出するとの報告がある。(Kirkiewicz M et al. Doc Ophthalmol. 2016) レチバルで測定した PhNR の結果が眼科臨床で疾患のスクリーニングや評価をするのに十分な信頼性を備えているか、汎用性があるかどうかを検討する。ERG 波形の W 比とは、最小値の PhNR(Pmin)の W 比 =  $(b - Pmin) / (b - a)$  のことであるが、我々の予備試験の結果では、この W 比が他の PhNR に関連するパラメータよりハンフリー視野検査の結果と最も相関が強かった。本研究では、さらに症例数を重ね、黄斑部や視神経乳頭周囲の OCT スキャン結果等との比較も今後おこないつつ、多方面からの総合的な評価をおこなった。

## 4. 研究成果

上記の目的のため、現在も多くのレチバルに関するプロジェクトが進行中であるが、そのなかのひとつとして、緑内障患者において OCT(光干渉断層計)により計測された視神経乳頭および黄斑の各種パラメータと ERG 装置レチバルにより測定された PhNR パラメータを比較した成果を下記に示す。

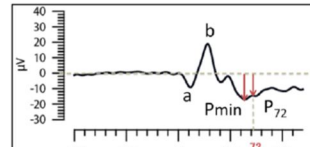
緑内障患者 50 例 50 眼  
(男性 29 例 女性 21 例 平均年齢:68.7 歳)  
病型 広義 POAG 40 例 40 眼  
落屑緑内障 10 例 10 眼  
ハンフリー平均 MD 値 : -11.28dB  
白内障(NS2 度まで) : IOL 眼 = 34 : 16  
平均等価球面度数 : -1.86D  
\*病的近視、OCT で補正できない長眼軸長眼、  
不十分な OCT 信号強度、21mmHg 以上の  
高眼圧、網膜・黄斑疾患を有する例等は  
除外した。  
視神経乳頭および黄斑の形態評価には  
RS-3000Advance(NIDEK 社)を用いた。  
ERG 記録条件、PhNR の解析項目は右記の  
通りである。

### ●ERG記録条件

内蔵プロトコル PhNR3.4Hz 無散瞳モード  
刺激光/赤・背景光/青 明室 100回加算

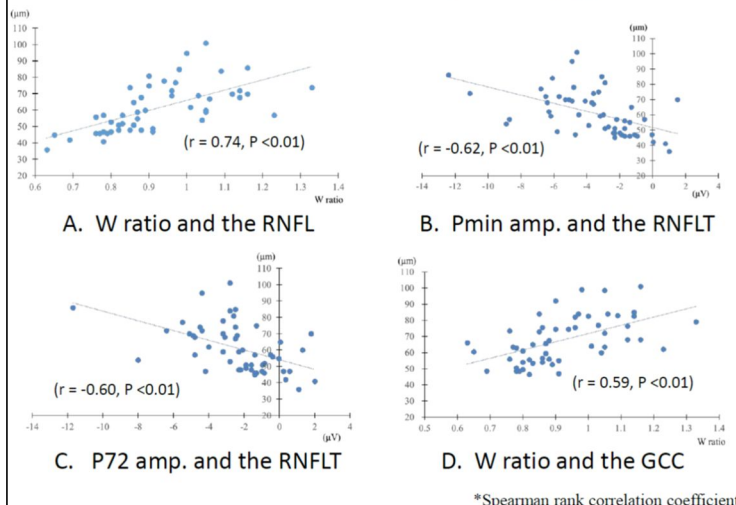
### ●PhNRの解析項目 (PhNR関連パラメータ)

- ①P72 amp. : 72ms PhNRの振幅
- ②Pmin implicit t. : PhNR最小値の潜時
- ③Pmin amp. : PhNR最小値の振幅
- ④P ratio : P72amp. / b amp.
- ⑤W ratio :  $(b \text{ amp.} - Pmin) / (b \text{ amp.} - a \text{ amp.})$



右記に OCT(光干渉断層計)と PhNR 各種パラメータとの相関図を示す。PhNR の W 比と OCT の RNFL が  $r=0.74$  と統計学的に有意で最も強い相関を認めた。

### OCTとレチバルPhNRパラメータの相関



右記に、その他のすべてのパラメータを比較するために、ヒートマップにて表したOCTとレチバル関連パラメータの相関係数(rの絶対値)を示す。

最も相関が高かったパラメータはW比とRNFLTであった。高い相関がみられたのは、Pmin amp. RNFLT、P72 amp.とRNFLT、W比とGCC、W比とvertical C/Dであった(全て $p < 0.01$ )。Pmin implicit t.とOCTパラメータとの間に有意な相関は見られなかった(全て $p > 0.05$ )。

ヒートマップにて表したOCTとレチバル関連パラメータの相関係数(rの絶対値)

		RETeval™ parameters				
		W ratio	Pmin amp.	P72 amp.	P ratio	Pmin implicit t.
OCT parameters	RNFLT	0.74*	0.62*	0.60*	0.52*	0.21
	GCC	0.59*	0.46*	0.50*	0.44*	0.23
	vertical C/D	0.55*	0.50*	0.49*	0.40*	0.17

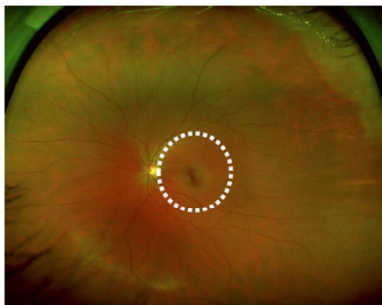
←強い相関 →弱い(ない)  
Spearman rank correlation coefficient, \*  $p < 0.01$

- ・最も相関が高かったパラメータはW ratioとRNFLTであった。
- ・高い相関がみられたのは、Pmin amp. とRNFLT、P72 amp.とRNFLT、W ratioとGCC、W ratioとvertical C/Dであった(全て $p < 0.01$ )。
- ・Pmin implicit t.とOCTパラメータとの間に有意な相関は見られなかった(全て $p > 0.05$ )。

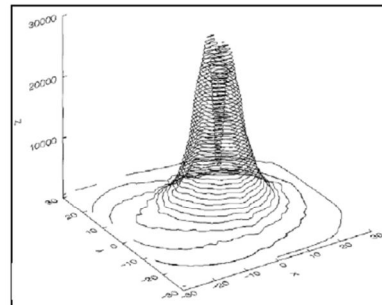
成果のまとめと考察：レチバル PhNR パラメータと最も相関の高い OCT パラメータは、RNFLTであった。全視野 ERG であるレチバル PhNR は、全網膜の神経節細胞機能を評価しているため、他の OCT パラメータと比し RNFLT との相関が高かったと推測できる。一方、OCT パラメータと最も相関が高いレチバル PhNR パラメータは、W比であった。レチバル PhNR 評価において、a波・b波の振幅を利用し“比”を用いることは、特に振幅が電極設置部位の影響を受けやすい皮膚電極 ERG で、検査結果の再現性が上がり有用であると考えられる。

一方、レチバル・PhNR と GCC 厚にも有意な相関( $r=0.59$ )がみられた。緑内障の病的変化は黄斑周囲から発症することが多く、また神経節細胞は特に黄斑部に密集するという過去の報告から、黄斑の局所変化(GCC厚)を全視野 ERG であるレチバル・PhNR パラメータにてある程度捉える

ことができたと推測される。(下の図参照)



中央の円は直径9mmのGCC厚測定領域(オプテスによる広角眼底写真)



神経節細胞の3Dプロット “Hill of Vision”

Garway-Heath DF et al. IOVS. 2000

多くのレチバル・PhNR パラメータと OCT パラメータとの間に有意な相関がみられた。特に緑内障患者において、皮膚電極 ERG 装置レチバルにより PhNR を測定することで、網膜内層機能障害の程度を短時間で簡便に評価できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 McCulloch Daphne L., Kondo Mineo, Hamilton Ruth, Lachapelle Pierre, Messias Andre M. V., Robson Anthony G., Ueno Shinji	4. 巻 138
2. 論文標題 ISCEV extended protocol for the stimulus-response series for light-adapted full-field ERG	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Documenta Ophthalmologica	6. 最初と最後の頁 205 ~ 215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1007/s10633-019-09685-8">https://doi.org/10.1007/s10633-019-09685-8</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyata Ryohei, Kondo Mineo, Kato Kumiko, Sugimoto Masahiko, Matsubara Hisashi, Ikesugi Kengo, Ueno Shinji, Yasuda Shunsuke, Terasaki Hiroko	4. 巻 59
2. 論文標題 Supernormal Flicker ERGs in Eyes With Central Retinal Vein Occlusion: Clinical Characteristics, Prognosis, and Effects of Anti-VEGF Agent	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 5854 ~ 5854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.18-25087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kato Kumiko, Kondo Mineo, Nagashima Ryunosuke, Sugawara Asako, Sugimoto Masahiko, Matsubara Hisashi, McCulloch Daphne L., Ikesugi Kengo	4. 巻 58
2. 論文標題 Factors Affecting Mydriasis-Free Flicker ERGs Recorded With Real-Time Correction for Retinal Illuminance: Study of 150 Young Healthy Subjects	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 5280 ~ 5280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.17-22587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 生杉謙吾 築留英之 加藤久美子 布目貴康 加島悠然 永嶋竜之介 菅原朝子 近藤峰生
2. 発表標題 網膜電図装置 レチバルによる 緑内障の網膜層別機能解析
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生杉謙吾 築留英之 加藤久美子 布目貴康 加島悠然 永嶋竜之介 菅原朝子 近藤峰生
2. 発表標題 Functional assessments of inner and outer retinal layers by electroretinograms recorded with RETeval™ system in glaucoma patients
3. 学会等名 INTERNATIONAL SOCIETY FOR CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY OF VISION 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生杉謙吾
2. 発表標題 網膜電図装置レチバルによる網膜内層機能測定とOCTによる乳頭および黄斑パラメータ測定の比較
3. 学会等名 日本臨床眼科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ikesugi K
2. 発表標題 Comparison of RETeval and OCT findings in glaucoma patients
3. 学会等名 ISCEV meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中澤徹(第一著者)、生杉謙吾 他	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカ出版	5. 総ページ数 232
3. 書名 眼科スゴ技 緑内障の診断・治療・手術	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	近藤 峰生  (Kondo Mineo)  (80303642)	三重大学・医学系研究科・教授     (14101)	