

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09456

研究課題名（和文）共焦点眼底鏡による緑色光励起眼底自発蛍光を用いた黄斑疾患の機能評価と病態解明

研究課題名（英文）Functional evaluation of macular diseases with green autofluorescence by scanning laser ophthalmoscope

研究代表者

井上 真（INOUE, MAKOTO）

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：20232556

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：眼底自発蛍光による黄斑機能評価の有用性を黄斑円孔に対して手術を行った44眼で検討した。円孔は術後に全例で閉鎖し、術6か月後の視力は円孔閉鎖部での緑色光眼底自発蛍光の消失と相関したが、青色光眼底自発蛍光の消失とは相関しなかった。眼底自発蛍光の発生部位を検証するためヒト黄斑円孔眼の病理切片で自発蛍光を測定したところ、網膜色素上皮層からの青色光と緑色光の自発蛍光分布は正常眼切片と同等に観察された。円孔閉鎖後の網膜微細構造の修復とそれによる視機能の回復には、内在する黄斑色素に影響されない緑色光眼底自発蛍光が青色光眼底自発蛍光と比較してより相関し、その評価に有用であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

眼底自発蛍光は緑色や青色の光を眼底に照射し蛍光を撮影する非侵襲的な検査であり、網膜色素上皮細胞や視細胞の機能を反映する。黄斑部（網膜の中心）の機能評価には、黄色の黄斑色素に吸収されず影響を受けにくい緑色光の眼底自発蛍光が優れている可能性があり、黄斑円孔（黄斑部に孔が開く疾患）で検証した。術後の視力は緑色光の眼底自発蛍光と相関し、青色光眼底自発蛍光とは相関しなかった。また、摘出眼球の切片で検証したところ、黄斑円孔眼と正常眼は同等の自発蛍光の傾向を示した。そこで黄斑部の機能評価には緑色光の眼底自発蛍光がより有用と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Utilities of fundus autofluorescence (FAF) that correlated to the macular function was evaluated in 44 eyes that underwent pars plana vitrectomy for idiopathic macular hole. Macular hole was closed in all eyes and postoperative vision at 6 months was correlated to the disappearance of hyperfluorescence of green-light FAF at the closed macular hole but not to that of blue-light FAF. The blue and green FAF was detected at the retinal pigment epithelial layer in a tissue section of cadaver eye with macular hole and the distribution of blue and green-light FAF did not differ from that in the section of normal eye. The healing process of retinal microstructure after macular hole closure appeared to be more related to the green-light FAF with less interference by presence of macular pigment and the green-light FAF was useful to evaluate the macular function.

研究分野：眼科学

キーワード：眼底自発蛍光 黄斑円孔 黄斑色素 リポフスチン

## 1. 研究開始当初の背景

眼底自発蛍光は主にリポフスチンという視細胞の代謝産物から発せられると考えられている。黄斑疾患において眼底自発蛍光の役割に関する研究が行われているが、黄斑部が持つ黄斑色素が青色光による自発蛍光をブロックするため黄斑疾患における機能評価が困難であった。そこで黄斑色素に影響されない緑色光を利用した自発蛍光を用いることで、より正確な黄斑機能評価ができるかを黄斑疾患に対する手術を行った症例で検討する。

## 2. 研究の目的

緑色光を利用した眼底自発蛍光を用い、青色光を利用した自発蛍光よりも正確な黄斑機能評価ができるかを、黄斑円孔に対する手術を行った症例で検討する。

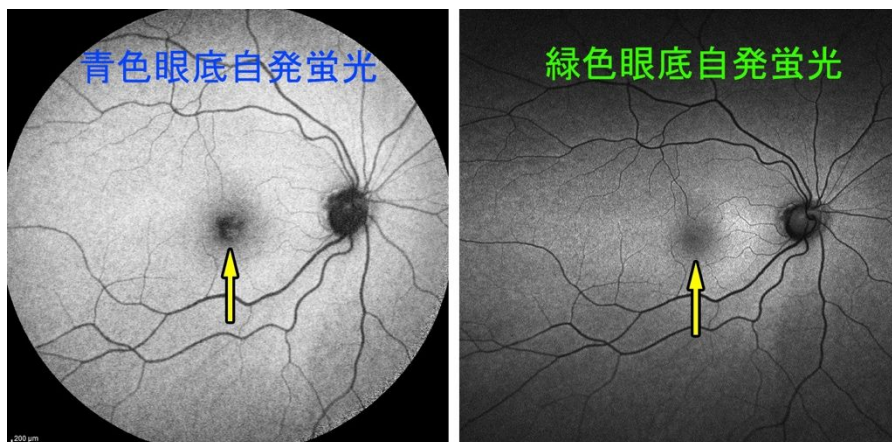
## 3. 研究の方法

(1)黄斑前膜、黄斑円孔、分層黄斑円孔、黄斑牽引症候群等の黄斑疾患で青色光と緑色光の眼底自発蛍光を撮像して比較する。視神経乳頭上にはリポフスチンが存在せず自発蛍光がないと考えられ、今回の研究では黄斑部の自発蛍光を視神経乳頭上の自発蛍光の輝度をコントロールとして比較することで定量的な評価を行う。これらの疾患で硝子体手術を行った症例に対して、青色の眼底自発蛍光は Heidelberg 社製 Spectralis®の HRA2 を用いて撮像し、緑色の眼底自発蛍光は Optos 社製超広角眼底撮影装置 Optos®200Tx のリゾマックスモードで撮像した。それぞれ術前、術 1 か月後、3 か月後、6 か月後で光干渉断層計 (OCT) と共に撮像を行った。

(2)摘出眼球における組織切片での蛍光部位の同定に関する実験を行った。Human Eye Biobank から提供された、黄斑円孔を有する患者の病理切片での自発蛍光を、年齢をマッチさせたコントロール眼と比較した。Carl Zeiss 社の蛍光顕微鏡 LSM510 meta のスペクトル計測機能を使用して、488nm のレーザー波長で励起時の 530nm ~ 700nm の画像を取得、543 nm のレーザー波長で励起時の 570nm ~ 700nm の画像を取得し、網膜色素上皮レベルの平均輝度を 5 箇所の異なる領域で測定し黄斑円孔眼とコントロール眼で比較した。

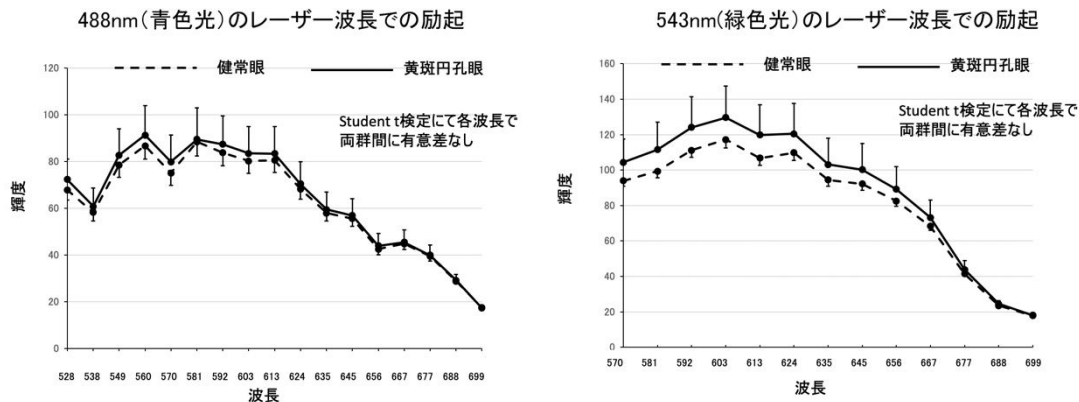
## 4. 研究成果

(1) 上記の黄斑疾患の中で、黄斑円孔が眼底自発蛍光の変化を最も反映しており黄斑円孔でのみ眼底自発蛍光の評価を行った。対象は黄斑円孔手術を行った 44 眼で、青色光と緑色光の眼底自発蛍光を比較した。また視神経乳頭も眼底自発蛍光の輝度が高い症例がありばらつきが生じたため、術後の閉鎖円孔と周囲の傾向輝度の変化で評価した。術前の黄斑円孔は全例で過蛍光であった。円孔は術後全例で閉鎖し、術 6 か月での視力は閉鎖黄斑円孔での緑色光眼底自発蛍光の消失と相関したが、青色光眼底自発蛍光の消失とは相関しなかった。術前には lamellar-hole-associated epiretinal proliferation (LHEP) が 11 眼、円孔縁に接着した円孔蓋が 6 眼にみられており、青色光眼底自発蛍光の残存は術中確認された LHEP と円孔蓋断片の残存と相関した。LHEP と円孔蓋には黄斑色素が含まれており、緑色光の眼底自発蛍光の方がより術後の視機能回復と相関していた。



黄斑円孔の手術後 6 か月で視力が矯正 1.0 に改善した症例。緑色眼底自発蛍光では閉鎖円孔の過蛍光は消失しているが青色自発蛍光では円孔蓋断片や LHEP によると思われる過蛍光が残存している。

(2) Human Eye Biobank から提供されたヒト眼球切片での自発蛍光を測定した。黄斑円孔 1 眼、正常コントロール 3 眼の中で、パラフィン切片作成時に生じた剥離網膜の程度が軽度であったそれぞれ 1 眼ずつで自発蛍光を観察した。それぞれの切片の自発蛍光を蛍光顕微鏡で比較したところ、網膜色素上皮からの青色光と緑色光の自発蛍光分布は同等に観察された。



青色光の自発蛍光輝度(左図)と緑色光の自発蛍光輝度(右図)では黄斑円孔眼と正常眼で差はみられない。

同時期に行った検討では、黄斑円孔で手術を行った 390 眼の中で LHEP は 7.9% に合併し、LHEP の有無は円孔閉鎖率と術後視力に影響しなかったが、LHEP が存在した症例では、OCT で閉鎖した円孔内層に高輝度反射架橋組織がより高頻度に検出された (Takahashi H. Retina 2020)。

術中 OCT を使用した黄斑円孔手術 33 眼の検討では、内境界膜剥離後に円孔縁に残存組織が 67% に存在し、残存組織の検出は術前の黄斑前膜と LHEP の有無に相関していた (Inoue M. Ophthalmol Retina 2019)。残存組織が存在した症例では、閉鎖した円孔内層の高輝度架橋反射組織の断層面積が大きく、術後経時的に縮小した。近視性牽引黄斑症における術中 OCT を用いた検討で、中心窩を含んで内境界膜剥離を行った症例と、中心窩周囲のみ内境界膜剥離を行った症例において、内境界膜剥離直後に黄斑部の微細構造が変化したかを比較した (Itoh Y. Ophthalmologica, 2019)。内境界膜剥離を行った症例の 9 割に何らかの構造変化が術中 OCT で観察された。一方で中心窩の内境界膜を温存した症例では微細構造に変化はなく、術後視力も有意に改善していた。

黄斑円孔手術後の円孔閉鎖の治癒過程は LHEP や円孔蓋による高輝度反射架橋組織で修飾されるため、術後の視機能回復は緑色光眼底自発蛍光がより相関すると考えられた。

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 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Inoue Makoto, Itoh Yuji, Koto Takashi, Kurimori Helena Yuri, Hirakata Akito	4. 巻 3
2. 論文標題 Intraoperative OCT Findings May Predict Postoperative Visual Outcome in Eyes with Idiopathic Macular Hole	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ophthalmology Retina	6. 最初と最後の頁 962～970
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.oret.2019.05.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Itoh Yuji, Inoue Makoto, Kato Yu, Koto Takashi, Hirakata Akito	4. 巻 242
2. 論文標題 Alterations of Foveal Architecture during Vitrectomy for Myopic Retinoschisis Identified by Intraoperative Optical Coherence Tomography	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ophthalmologica	6. 最初と最後の頁 87～97
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000500362	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Hiroyuki, Inoue Makoto, Itoh Yuji, Koto Takashi, Hirota Kazunari, Kita Yoshiyuki, Hirakata Akito	4. 巻 40
2. 論文標題 MACULAR DEHISCENCE-ASSOCIATED EPIRETINAL PROLIFERATION IN EYES WITH FULL-THICKNESS MACULAR HOLE	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 273～281
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/IAE.0000000000002366	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 3件／うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Inoue M
2. 発表標題 Clinical characteristics of epiretinal proliferation associated with macular hole.
3. 学会等名 The International Meeting of the Egyptian Vitreoretinal Society 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Inoue M
2 . 発表標題 Macular dehiscence-associated with epiretinal proliferation in macular hole and microstructural recovery after vitrectomy.
3 . 学会等名 The 6th Annual Meeting of Asia-Pacific Ocular Imaging Society Kwan Retinal Imaging Symposium (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Meyer CH, Rodrigues EB, Haritoglou C, Ryan EH, Inoue M, Maia M, Hillenkamp J, Alezzandrini A, Szurmann P, Lytvynchuk L, Zas M, Wachtlin J, Mennel S, Pringlinger S, Gotzaridis S, Rezende F, Ruban A, Andrade G, Maier M, Sohn EH, Wolf A, Koss M.
2 . 発表標題 Subretinal fluid to close refractory full thickness macula holes: a global perspective.
3 . 学会等名 AAO (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Inoue M
2 . 発表標題 Intraoperative OCT to detect IOL tilt during intrascleral fixation.
3 . 学会等名 ASRS Annual meeting 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 井上 真
2 . 発表標題 Large macular hole.
3 . 学会等名 The 26th Advanced Vitreous Surgery Course in Tokyo 2019
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 井上 真
2. 発表標題 Epiretinal proliferation associated with Macular Hole. Is It Peeled or Trimmed?
3. 学会等名 Osaka Retina Meeting 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inoue M
2. 発表標題 Intraoperative OCT for myopic macular hole and macular hole retinal detachment.
3. 学会等名 The 5th Annual Meeting of Asia-Pacific Ocular Imaging Society Kwan Retinal Imaging Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inoue M, Hirakata A
2. 発表標題 Intraoperative optical coherence tomographic findings may predict postoperative visual outcome in eyes with idiopathic macular hole.
3. 学会等名 The XXXIst Meeting of the Club Jules Gonin (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inoue M
2. 発表標題 Surgical outcome of vitrectomy for full thickness macular hole with macular dehiscence-associated epiretinal proliferation.
3. 学会等名 Vail Vitrectomy meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	慶野 博  (Keino Hiroshi)  (90328211)	杏林大学・医学部・教授   (32610)	
研究 分担者	伊東 裕二  (Itoh Yuji)  (00625569)	杏林大学・医学部・講師   (32610)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------