

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：11430

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791980

研究課題名（和文） 補償光学適応走査型レーザー検眼鏡を用いた虚血性黄斑症の病態解析

研究課題名（英文） Hemodynamic analysis of parafoveal capillary in ischemic macropathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy

研究代表者

宇治 彰人 (UJI AKIHITO)

京都大学・医学（系）研究科（研究院）・特定助教

研究者番号：60534302

研究成果の概要（和文）：虚血性黄斑症は、糖尿病網膜症患者における視力障害の原因の一つであり、その病態の解明が待たれる。近年開発された補償光学（Adaptive Optics：AO）の眼底イメージングへの応用は、眼底の細胞レベルでの観察を実現でき、これまでに観察できなかった病態を可視化できる可能性があると期待されている。我々は、補償光学を利用した走査型レーザー検眼鏡（adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy: AO-SLO）を用いて正常眼および糖尿病網膜症患者の傍中心窩毛細血管網を観察し、赤血球列の伸長率、速度に差があることを示した。赤血球列の糖尿病網膜症における病的な変化は毛細血管の場所に依存しないものと考えられ、新たなパラメータとして糖尿病網膜症の病態解明や早期発見方法の確立に応用できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Ischemic retinopathy is one of the leading causes of visual impairment in diabetic patients. Since the number of patients with diabetic retinopathy (DR) and vision-threatening DR is expected to increase in coming years, further research on treatments and evaluation techniques for ischemic retinopathy is needed. Recently, Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy (AO-SLO) has enabled noninvasive and direct monitoring of photoreceptors and blood flow in real time. We used this new method to monitor the flow of erythrocyte aggregates in the retinal capillary. Erythrocyte aggregates were elongated in a time-dependent manner in the parafoveal capillaries of normal subjects and DR patients and tis elongation values were different between DR patients and normal subjects, suggesting that erythrocyte aggregates in DR patients are less brittle than those in normal subjects. Monitoring the characteristics of dark tails has promising potential for evaluating retinal hemodynamics.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：補償光学、糖尿病網膜症、網膜循環、虚血性黄斑症

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症はわが国における後天性視覚障害の主要な原因の一つであり、網膜微小循環の障害がその本体である。人眼における微

小循環動態の解明が可能になれば病気の早期発見やより良い治療法の確立に有用であり、そのような技術の確立は社会的失明予防

の観点からも重要である。近年、網膜の光学イメージング技術が進歩し、生体網膜を非侵襲的に高解像度で観察することができるようになってきている。中でも、補償光学 (Adaptive Optics: AO) の眼底イメージングへの応用は、眼底の細胞レベルでの観察を実現でき、これまでに観察できなかった病態を可視化できる可能性があるとして期待されている。糖尿病網膜症において視力が低下する原因として、硝子体出血や牽引性網膜剥離など網膜症の重症化に伴って発生するものがまず挙げられるが、実際には黄斑浮腫、虚血性黄斑症といった重症度によらずどのステージにも出現する可能性のあるいわゆる糖尿病黄斑症による視力低下が多く、その病態解明、治療法の確立が社会的失明予防に重要である。虚血性黄斑症については現在のところ有効な治療方法はなく、また病態そのものも不明なところが多い。その理由として、非常に微細な変化であるため診断が検眼鏡的に難しい点があげられる。非侵襲的に中心窩無血管領域 (foveal avascular zone: FAZ) 周囲の毛細血管ネットワークを形態的に捉えることが可能になれば、病態解明に近づき、早期に発見する方法を確立できると期待できる。

2. 研究の目的

糖尿病網膜症における虚血性黄斑症の FAZ および周囲の毛細血管ネットワークの形態変化を明らかにし、補償光学を利用した走査型レーザー検眼鏡 (adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy: AO-SLO) を用いた虚血性網膜症早期発見の手法につき検討する。

3. 研究の方法

(1) 正常眼における網膜血流の解析

AO-SLO を人眼において非侵襲的に網膜微小

循環を評価できる機器に完成させるためには観察される移動体 (血球成分) の解釈が必須である。AO-SLO を用いて健常眼の傍中心窩毛細血管網を撮影し、移動体の輝度値の変化、背景輝度値との比較、移動体の内部構造の定量的画像解析を行った。

(2) 正常眼における赤血球列の観察

(1) の結果から我々は AO-SLO による赤血球列の可視化が可能であり、正常眼において、時空間画像を用いた赤血球列の移動速度の測定、毛細血管内での挙動に関する検討を行った。

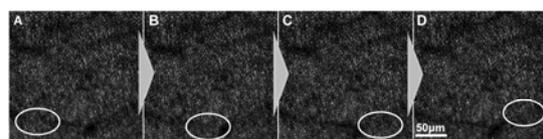
(3) 糖尿病網膜症患者における赤血球列の観察

(1)、(2) の結果を踏まえ、糖尿病網膜症患者における赤血球列の速度、伸長率 (長さの変化) について、正常眼と比較を行った。

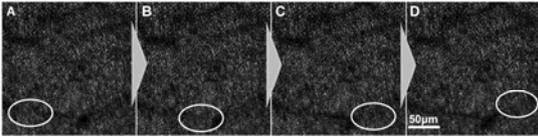
4. 研究成果

(1) 正常眼における網膜血流の解析

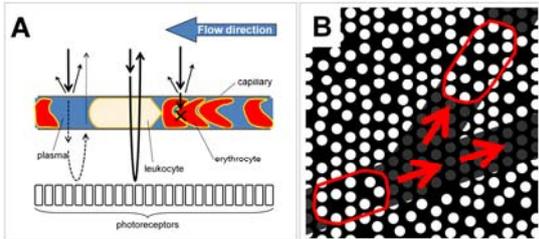
AO-SLO で観察される高輝度粒子の正体は、視細胞層に映った暗い血管の影の中で順番に明るくなる視細胞群であると考えられた (図 1)。このような現象の原因となるのは、その光学的特性を考えると毛細血管中を流れる白血球あるいは血漿 (plasma gap) であると考えられる。つまり、透明に近い白血球あるいは血漿はレーザー光を透過し、視細胞で反射、われわれの目に戻ってきて観察される。一方、赤血球はレーザー光をブロックし、レーザー光が視細胞層に到達するのを妨げるのである (図 2)。この現象は Blue field entoptic phenomenon の原理と非常によく似ている。この結果は、AO-SLO を用いた網膜血流の正確な解釈に新しい光明を投げ、AO-SLO に血球成分の挙動を観察するツールとしての価値を付加した形となった。また白血球の上流側に赤血球列による強いブロックと考



えられる移動体を発見した。



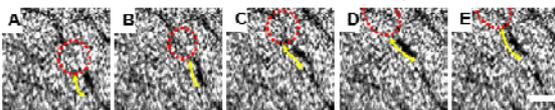
(図1) 連続したA0-SLOの4フレーム。血管の影の中を順番に明るくなる視細胞群が観察される。



(図2) A. A0-SLOを用いた血流の観察。
B. A0-SLOで移動体が観察される原理を表した模式図。

(2) 正常眼における赤血球列の観察

正常被験者10人10眼を対象に傍中心窩毛細血管網を流れる赤血球列の観察を行ったところ、速度は 1.49 ± 0.36 mm/sであり、他のモダリティや当施設あるいは他施設のA0-SLOで測定した白血球の速度に関する既報と比較して矛盾しない結果であった。また、毛細血管内では赤血球率が伸長する現象が確認された(図3)。赤血球列の平均兆は 112.1 ± 36.9 µmで有意に経時的に伸長した。伸長率は 0.51 ± 0.37 であった。

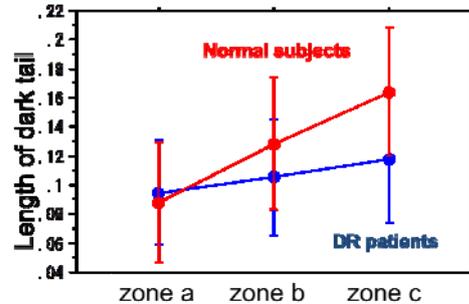


(図3) 連続5フレーム。白血球(赤丸)と上流の赤血球列(黄色矢印)。赤血球列は伸長している。

(3) 糖尿病網膜症患者における赤血球列の観察

赤血球列が可視化できている画質のA0-SLOビデオが取得できている糖尿病網膜症患者6人6眼を対象に解析した。結果、糖尿病網膜

症では正常眼と比較して赤血球列の速度が有意に遅く、またその伸長率が有意に低かった(図4)。これは糖尿病網膜症では恒常的に赤血球列の形成が起きているために、相対的に1コずつ分離して流れる赤血球の数が少なくなっているためと想像される。



(図4) 糖尿病網膜症と正常眼における赤血球列の伸長

糖尿病網膜症における網膜血流の変化に関する報告はA0-SLO以外のモダリティを含めれば多いが、例えば、流速に関しても早くなる、遅くなる、不変と内容は報告によって全く異なる。傍中心窩網膜毛細血管網に限ってみれば、A0-SLOを用いた評価では極端に流速が遅くなる血管が存在する一方で早くなる血管が存在し、平均化すれば正常被験者と差がないが、一部でこのようなネットワークが散在するのが病的と考えられる。患者の網膜を毛細血管レベルですべてスキャンし、解析することができれば一つの評価方法として成り立つ可能性はあるが、実際には不可能である。つまり流速の評価は一つのパラメータではあるが、それだけでは病態をすべて捉えられるものではないと考えられ、新たな評価方法が求められている。A0-SLOは詳細に対象を観察できるが、一方で全体を把握することが困難である。本研究では当初の目標まで到達できなかったが、こういったA0-SLOがかかえる問題点を明確にし、解決策を打ち出す前段階としての網膜微小循環の基礎的な観

察に時間を要したためである。赤血球列は複数個の赤血球が毛細血管内で一列に互いに接着し、ひと塊で存在する状態である。血液試料を用いた検討では、赤血球列は糖尿病において心血管疾患のリスク因子として広く知られているほか、全身性エリテマトーデス、ベーチェット病などの疾患においても増加することが知られているが、AO-SLO ではこの赤血球列を網膜循環の中に直接観察することができる。赤血球列の糖尿病網膜症における病的な変化は毛細血管の場所に依存しないものと考えられ、新たなパラメータとして糖尿病網膜症の病態解明や早期発見方法の確立に応用できると考えられる。

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7件)

- 1) Uji A, Hangai M, Ooto S, Takayama K, Arakawa N, Imamura H, Nozato K, Yoshimura N. The source of moving particles in parafoveal capillaries detected by adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Jan 20;53(1):171-8. doi: 10.1167/iovs.11-8192.
- 2) Uji A, Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Horii T, Arakawa N, Muraoka Y, Ellabban AA, Yoshimura N. Association between hyperreflective foci in the outer retina, status of photoreceptor layer, and visual acuity in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 2012 Apr;153(4):710-7, 717. e1. doi: 10.1016/j.ajo.2011.08.041.
- 3) Arichika S, Uji A, Hangai M, Ooto S, Yoshimura N. Noninvasive and direct monitoring of erythrocyte aggregates in human retinal microvasculature using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* in press.
- 4) Horii T, Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Arakawa N, Muraoka Y, Yoshimura N. Relationship between fluorescein pooling and optical coherence tomographic reflectivity of cystoid spaces in diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2012 May;119(5):1047-55. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.10.030. Epub 2012 Feb 11.
- 5) Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Horii T, Ueda-Arakawa N, Muraoka Y, Yoshimura N. Segmentational analysis of retinal thickness after vitrectomy in diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Sep 28;53(10):6668-74.
- 6) 宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、高山弘平、今村裕之、野里宏治、吉村長久: 補償光学適用走査レーザー検眼鏡を用いて解明した傍中心窩毛細血管内を流れる粒子の正体. *日本眼科学会雑誌外国誌要覧* 116: 591, 2012.
- 7) 宇治彰人、村上智昭、西嶋一晃、赤木忠道、堀井崇弘、荒川奈央子、村岡勇貴、アブダラ・エラバン、吉村長久: 糖尿病黄斑浮腫における hyperreflective foci の局在と網膜外層の形態、視力の関係. *日本眼科学会雑誌外国誌要覧* 116: 897, 2012.

〔学会発表〕（計7件）

1) Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), FortLauderdale, USA, 2011. 5. 1-5

Uji A, Hangai M, Ooto S, Yoshimura N, Imamura H: Hemodynamic analysis of parafoveal capillaries using AOSLO

2) 第115回日本眼科学会総会，東京，2011. 5. 12-15.

宇治 彰人、村上 智昭、西嶋 一晃、赤木忠道、堀井 崇弘、荒川 奈央子、村岡 勇貴、吉村 長久： 糖尿病黄斑浮腫における hyperreflective foci の局在と網膜外層の形態、視力の関係

3) 第47回日本眼光学学会総会，東京，2011. 9. 3-4.

宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、高山弘平、荒川奈央子、有近重太、吉村長久： 補償光学を適用した走査レーザー検眼鏡を用いた傍中心窩網膜毛細血管血流の観察

4) 第65回日本臨床眼科学会，東京，2011. 10. 7-10.

有近重太、宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、高山弘平、荒川奈央子、有近重太、吉村長久： 補償光学を適用した走査レーザー検眼鏡を用いた傍中心窩網膜毛細血管血流の定量的評価

5) Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), FortLauderdale, USA, 2012. 5. 5-10

Uji A, Hangai M, Ooto S, Murakami T, Yoshimura N, Imamura H, Nozato K: Measurement of retinal blood flow in

diabetic retinopathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy.

Uji A: SIG on adaptive optics retinal imaging.

6) 第47回日本眼光学学会総会，秋葉原，2012. 9. 1-2.

宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、有近重太、吉村長久：補償光学適用走査型レーザー検眼鏡画像の非線形レジストレーションを用いた補正方法

有近重太、宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、吉村長久：補償光学走査型レーザー検眼鏡による傍中心窩毛細血管での赤血球列の定量的画像解析

7) 第66回日本臨床眼科学会，京都，2012. 10. 25-28.

宇治彰人、有近重太、板谷正紀、大音壮太郎、村上智明、今村 裕之、野里 宏治、吉村長久：補償光学適用走査レーザー検眼鏡を用いた糖尿病網膜症における dark tail の観察。

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇治 彰人 (UJI AKIHITO)

京都大学大学院医学研究科 感覚運動系外
科学 眼科学・助教
研究者番号：60534302

(2) 研究分担者

なし