

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791996

研究課題名（和文）532nm 励起光を用いた眼底自発蛍光の定量的解析

研究課題名（英文）Quantitative analysis of fundus autofluorescence based on an excitation wavelength of 532nm.

研究代表者

小島 彰 (OJIMA AKIRA)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30528237

研究成果の概要（和文）：

走査レーザー検眼鏡 F-10 (NIDEK 社) を改良して撮影した 532nm 励起光による眼底自発蛍光 (532AF) の解析を行った。

- 1) 正常眼における 532AF は、490nm 励起光による眼底自発蛍光 (490AF) と同様の蛍光輝度分布であった。532AF は黄斑色素の影響が少なく、中心窩の蛍光輝度が 490AF よりも有意に高かったため、黄斑部の観察に適していた。
- 2) 中心性漿液性脈絡網膜症で異常 532AF 所見を観察した。532AF 過蛍光部位は主に漿液性網膜剥離部位と、漿液性網膜剥離の復位後の網膜外層障害部位に一致した。532AF 低蛍光部位は網膜色素上皮障害部位と一致した。
- 3) 532AF 定量化のため、改良型 F-10 内部に蛍光リファレンスチップを設置した。532AF 撮影時に同時にリファレンスチップも撮影し、両者の蛍光輝度を比較して定量化を試みた。現在データ収集と解析を行っており、研究を継続中である。

研究成果の概要（英文）：

Fundus autofluorescence images based on an excitation wavelength of 532nm (532AF) were acquired using modified scanning laser ophthalmoscope: F-10 (NIDEK, Aichi, Japan). The findings of 532AF in normal eyes and pathologic eyes were analyzed.

- 1) In normal eyes, fluorescent brightness distribution of 532AF was similar to that of autofluorescence based on 490nm excitation light (490AF). As 532nm light is only slightly blocked by macular pigments, foveal autofluorescence was well observed by 532AF.
- 2) Abnormal findings of 532AF were observed in eyes with central serous chorioretinopathy. Hyper-532AF was observed in the area with serous retinal detachment (SRD) and resolved SRD where outer retina was damaged. Hypo-532AF was seen in the area with damaged retinal pigment epithelium.
- 3) Reference fluorescent tip was installed inside of the modified F-10 for quantitative analysis of 532AF. 532AF brightness of both fundus and reference tip were compared and analyzed. The data were under investigation now.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：臨床研究、眼底自発蛍光、加齢黄斑変性

1. 研究開始当初の背景

近年、本邦において加齢黄斑変性は高齢者視力障害の主な原因となっている。高齢者における視覚障害は、介護に伴う人的資源の消費をもたらす社会的にも大きな問題であり、治療法、予防法の確立が望まれている。加齢黄斑変性の発症・進行には網膜色素上皮細胞内のリポフスチンが深く関与している。リポフスチンは自発蛍光を発するため、眼底自発蛍光として捉えることができる。眼底自発蛍光撮影では、定性的にリポフスチンをとらえることが可能で、黄斑部疾患の補助的診断法として利用されている。

【眼底自発蛍光物質-リポフスチン】

リポフスチンは、細胞内残渣であり加齢とともに増加することが知られている。リポフスチンが網膜色素上皮細胞内に蓄積する Stargart 病では、早期より黄斑変性をきたす。正常眼においてもリポフスチンは、網膜色素上皮細胞内に存在し加齢とともに増加し、高齢者では細胞質の 20% を占める。加齢黄斑変性の前駆病変であるドルーゼンにはリポフスチンが含まれることから、リポフスチンは加齢黄斑変性の発症過程の中で重要な役割を果たしていると考えられてきた。近年、生化学的解明が進みリポフスチンの主成分はレチノール代謝産物である A2E などの bis-retinoid 化合物であることが明らかになった。A2E は、光酸化作用を有することから、網膜色素上皮細胞を傷害し加齢黄斑変性を発症させる中心的な物質であると考えられている。A2E をはじめとした bis-retinoid は自発蛍光を有することから、定量的に眼底自発蛍光測定によりこれらの物質を間接的に評価することができる。

【加齢黄斑変性の治療と予防】

近年、加齢黄斑変性症に対する抗 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) 抗体の有用性が示され、臨床的に応用されている。しかし、現時点における抗 VEGF 療法では抗体を 1~ 数ヶ月間隔で眼内に注射する必要があり、患者側、医療側のそれぞれの負担は大きい。また、抗 VEGF 抗体は滲出型加齢黄斑変性のみにも有効であり、萎縮型病変に対しては無効であることも問題である。これに対し、ルテインをはじめとした抗酸化剤のサプリメントが加齢黄斑変性の発症を予防することが証明され、臨床で

も応用されている。

定量的眼底自発蛍光測定により、加齢黄斑変性の発症リスクが評価できれば、サプリメントによる予防を効果的に行うことが可能となる。

2. 研究の目的

現時点では眼底自発蛍光を定量的に評価することができないため、眼底自発蛍光と加齢黄斑変性の発症進展や治療成績を数量的に解析することは難しい。定量的に眼底自発蛍光を評価する手法の確立により、自発蛍光と黄斑変性にかかわる因子の量的評価が可能となり、予後判定、薬効評価などが可能となると考え得られる。また糖尿病黄斑症などをはじめとする網膜色素上皮障害が関与する黄斑疾患の病態解明にも有用であると考えられる。

今回の研究では、眼底自発蛍光の定量的測定法の確立を目的とした。当施設では黄斑部の自発蛍光撮影に適した 532nm 照射光を装備した走査レーザー検眼鏡 (F-10, NIDEK 社) を保有しており、この機器を改変することにより 532nm 励起光による眼底自発蛍光 (532AF) を撮影し、正常眼における蛍光輝度分布や病的所見の解析を行い、さらには定量化を実現する新しい撮影法の開発を目指した。

3. 研究の方法

【平成 23 年度】

1) 正常眼における 532AF の輝度分布解析
通常の 490nm 励起光による眼底自発蛍光 (490AF) との差異を解析するために、まず正常眼における 488AF と 532AF のデータ収集を行い、蛍光輝度分布を比較検討した。

健常眼 26 眼 (男性 9 眼、女性 17 眼、平均年齢 62 歳 (41-75 歳)) を対象とし、532AF を撮影可能にするためにバリアフィルターを改変した F-10 を用いて、励起光強度と gain を固定した状態で 490AF と 532AF を撮影した。解像度は 800x600 pixel とし、各々 5 枚ずつ加算平均を行い、256 階調 gray scale 画像を取得した。視神経乳頭中央と中心窩を結ぶ線上の蛍光輝度を計測し、490AF と 532AF の蛍光輝度分布を比較検討した。

2) 中心性漿液性脈絡網膜症における 532AF 所見

中心性漿液性脈絡網膜症 (CSC) を黄斑疾患

のモデル疾患として、532AF の病的所見を検討した。

CSC28 例 28 眼 (男性 21 例、女性 7 例、平均年齢 50.3 歳 (34-70 歳)) を対象に、490AF と 532AF を撮影し、両者の所見を比較検討した。

【平成 24 年度】

3) 定量的 532AF 撮影のための機器改変と定量的解析

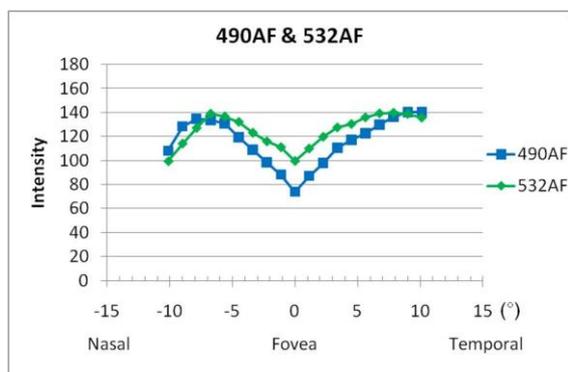
532AF の定量化を行うために、NIDEK 社の協力を得て F-10 内部に蛍光のリファレンスチップを設置した。532AF 撮影時に眼底自発蛍光と同時にリファレンスの蛍光も撮影し、両者の輝度を比較することによって 532AF 定量化を目指した。

4. 研究成果

【平成 23 年度】

1) 正常眼における 532AF の輝度分布解析 (n=26)

532AF は中心窩で輝度が平均 99.5 と最も低く、中心窩を挟んで鼻側 6.8° で平均 138.8、耳側 7.9° で平均 139.6 と 2 つのピークを有していた。一方 490AF では、やはり中心窩で輝度が平均 73.9 と最も低く、中心窩を挟んで鼻側 7.9° で 134.6、耳側 10.1° で 140.2 と 2 つのピークを有していた。鼻側・耳側のピークは 490AF・532AF 間で差がなかったが、中心窩輝度は 490AF が有意に低かった ($p < 0.001$)。



532AF は 490AF と同様の輝度パターンを有し 490AF と同様にリポフスチン由来と考えられた。532AF では黄斑色素によるブロックの影響が小さいために、490AF よりも中心窩で高輝度であり、リポフスチン由来の眼底自発蛍光観察に適していると考えられた。

2) 中心性漿液性脈絡網膜症における 532AF 所見 (n=28)

490AF では中心窩は黄斑色素のブロックで低蛍光となっていた。一方 532AF では全 28 眼で中心窩所見が観察可能であった。異常

532AF は 28 眼中 26 眼で観察され、過蛍光のみみられたのが 3 眼、低蛍光のみみられたのが 6 眼、過蛍光と低蛍光の両方がみられたのが 17 眼であった。過蛍光は主に漿液性網膜剥離の復位後の網膜外層障害部位と、漿液性網膜剥離部位に一致した。低蛍光は光凝固斑、蛍光漏出点、網膜色素上皮剥離や網膜色素上皮不整部位に一致した。

以上から、532AF 過蛍光は網膜外層障害部位での視細胞外接代謝産物蓄積と視物質減少による蛍光ブロック減弱が原因と考えられ、532AF 低蛍光は網膜色素上皮障害を示唆していると考えられた。532AF は中心窩を含めた黄斑部所見の観察に有用であった。

【平成 24 年度】

3) 定量的 532AF 撮影のための機器改変と定量的解析

まず NIDEK 社の協力を得て F-10 内部への蛍光リファレンスチップ設置を行った。そこから正常眼・病的眼と幅広く 532AF 撮影を行ったが、データを解析すると、撮影眼の散瞳状態や眼底の 532AF 輝度によってリファレンスチップの蛍光輝度が非常に暗くあるいは明るくなる場合がしばしばみられることが判明し、輝度比較が困難となっている。どのように真の蛍光強度を定量化するか、現在も NIDEK 社の協力を得ながら解析を進めており、研究を継続中である。

高齢者の 532AF 定量化解析に際しては白内障の影響が無視できないため、白内障がどの程度 532AF を減衰させるか検討する必要がある。現在、上記と並行して白内障手術前後での 532AF 輝度測定を行っており、データ収集中である。白内障の核硬度や眼内レンズの種類による差異を検討する予定である。これらのデータを蓄積し、532AF 定量化への道を切り拓き、将来の黄斑部画像診断の進歩へと繋げたい。

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 3 件)

1. Ojima A, Iida T, Sekiryu T, Maruko I, Sugano Y. Photopigments in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;151:940-952.
2. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Ojima A, Oyamada H, Sekiryu T. Demographic features of idiopathic macular telangiectasia in Japanese patients. *Japanese Journal of Ophthalmology* 2012;56:152-158.
3. Sekiryu T, Iida T, Sakai E, Maruko I, Ojima A, Sugano Y. Fundus

autofluorescence and optical coherence tomography findings in branch retinal vein occlusion. Journal of Ophthalmology 2012 (E-pub)

[学会発表] (計 7 件)

1. 小島 彰、菅野幸紀、伊勢重之、丸子一朗、石龍鉄樹、飯田知弘 正常眼における 532nm 眼底自発蛍光の輝度分布 第 115 回日本眼科学会 平成 23 年 5 月 12 日 東京
2. 小島 彰、近藤剛史、丸子一朗、石龍鉄樹、飯田知弘 中心性漿液性脈絡網膜症の 532nm 眼底自発蛍光所見 第 50 回日本網膜硝子体学会 平成 23 年 12 月 2 日 東京
3. 小山田紘、丸子一朗、菅野幸紀、小島 彰、石龍鉄樹、飯田知弘 中心性漿液性脈絡網膜症の形態学的特徴 第 116 回日本眼科学会 平成 24 年 4 月 5 日 東京
4. 古田 実、小島 彰、板垣可奈子、石龍鉄樹、飯田知弘 黄斑部脈絡膜母斑に対する近赤外光観察と自発蛍光所見 第 116 回日本眼科学会 平成 24 年 4 月 5 日 東京
5. Yukinori Sugano, Ichiro Maruko, Akira Ojima, Tetsuju Sekiryu, Tomohiro Iida Retromode imaging in confocal scanning laser ophthalmoscope for myopic retinoschisis and X-linked juvenile retinoschisis. The 2012 ARVO Annual Meeting 2012/5/6 Fort Lauderdale, USA
6. 石龍鉄樹、小山田紘、小島 彰、丸子一朗、飯田知弘 中心性漿液性脈絡網膜症の眼底自発蛍光の長期変化 第 51 回日本網膜硝子体学会 平成 24 年 11 月 30 日 甲府
7. 小島 彰、堀切紘子、藪内由美子、矢部隆治、石龍鉄樹 糖尿病網膜症に合併した網膜脂血症の 1 例 第 51 回日本網膜硝子体学会 平成 24 年 11 月 30 日 甲府

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 彰 (OJIMA AKIRA)
福島県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：30528237

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：