

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592625

研究課題名(和文) 網膜静脈閉塞症に伴う黄斑浮腫の細胞レベルでの病態・構造・機能解析システムの確立

研究課題名(英文) Evaluation of the pathologic changes of the foveal photoreceptor cells affected with macular edema associated with retinal vein occlusion

研究代表者

辻川 明孝 (TSUJIKAWA, AKITAKA)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：40402846

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：補償光学適用走査レーザー検眼鏡(AO-SLO)の眼底トラッキング機能を向上させるにより固視微動などの補正を高速で行うように改良した。黄斑浮腫が消失した陳急性網膜静脈閉塞症症例の視細胞の観察を行った。閉塞領域では健側に比べて、有意に視細胞密度が減少し、六角形細胞の出現率も低下していた。また、このような領域ではマイクロペリメトリーを用いて測定した網膜感度も低下していた。また、陳急性網膜静脈閉塞症では毛細血管の拡張が見られ、血管の障害が黄斑浮腫消失後も残存していた。中心窩に嚢胞様黄斑浮腫が残存した慢性期網膜静脈閉塞症でも視細胞密度が減少し、六角形細胞の出現率が低下していることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Incorporating adaptive optics (AO) system into scanning laser ophthalmoscopy (SLO) allowed us for clear imaging of individual cone photoreceptors in living eyes. We used AO-SLO system to assess macular photoreceptor abnormalities in eyes with resolved or persistent macular edema from retinal vein occlusion (RVO). Regular parafoveal cone mosaic patterns were clearly visualized with prototype AO-SLO imaging system in unaffected regions. However, in retinal regions previously affected by RVO, cone mosaic patterns were disorganized and dark regions missing wave-guiding cones were apparent. In these areas, parafoveal cone density was significantly decreased. Additionally, retinal capillaries in the affected retina were dilated, no longer had a uniform caliber, had less direct paths through the retina. Microperimetry showed the reduced retinal sensitivity in affected retina. In addition, photoreceptor cells were also degenerated under the persistent foveal cystoid spaces associated with RVO.

研究分野：眼科

キーワード：補償光学

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

網膜静脈閉塞症は糖尿病網膜症に次いで頻度の高い網膜血管疾患である。網膜静脈の循環障害により、網膜出血・網膜虚血・黄斑浮腫・硝子体出血などの症状を呈する。その中でも、黄斑浮腫は特に発症頻度が高く、視力に直結するため、最も重要な合併症である。以前は、黄斑浮腫の評価はフルオレセイン蛍光眼底造影や検眼鏡を用いた定性的な検査が中心であった。しかし、光干渉断層計(OCT)が臨床導入されて以来、黄斑浮腫の定量的解析が行われるようになった。初期には感覚網膜全体の厚さが黄斑浮腫の程度の指標として用いられたが、OCTの解像度が向上することにより、中心窩下の視細胞外層の構造・厚さが視機能にとって特に重要であることが解明された。

更に、スペクトラルドメイン OCT では撮影感度が上昇し、撮影速度が向上したため、網膜の微細な構造が三次元的に観察可能となった。この OCT を用いて、我々は、網膜静脈閉塞症では網膜各層に嚢胞様腔が存在すること、外境界膜と中心窩の嚢胞様腔との位置関係が視機能を規定することを報告してきた。また、網膜静脈閉塞症に伴う漿液性網膜剥離の病態、その視機能への影響を報告してきた。しかし、OCTの技術が向上しても、生体下において個々の網膜細胞を描出できるまでの解像度は得られない。従って、現行の OCT では黄斑浮腫に伴う細胞レベルでの構造・機能解析を行うことはできない。

補償光学適用走査レーザー検眼鏡(AO-SLO)では、生体内において個々の網膜細胞、網膜毛細血管中の個々の血球を二次元的に可視化することができる。眼球光学系には収差が存在するため、通常の SLO では眼底を細胞レベルで観察することはできない。しかし、補償光学を SLO に搭載することにより網膜の個々の細胞を観察することが可能となった。

更に、AO-SLO をビデオレートでの記録が可能となるように改良することにより、網膜

毛細血管レベルでの白血球などの血球個々の動態が観察できることが報告されている。しかし、網膜循環静脈閉塞症に伴う黄斑浮腫における、AO-SLO を用いた細胞レベルでの構造・機能解析、循環動態の評価はなされていない。

2. 研究の目的

これまで、網膜視細胞層の評価は OCT 用いた IS/OS や外境界膜の評価が中心であった。しかし、これらの評価は intact、absent などの定性的なものに留まっている。補償光学システム、トラッキングシステムを導入した AO-SLO を用いて、黄斑浮腫が消失した陳急性例、黄斑浮腫を伴った急性例の視細胞を細胞レベルで撮影し、定量的に視細胞障害の程度を観察する。また、細胞障害の程度が如何に機能障害に繋がるかの評価を行う。また、AO-SLO を用いて定量的に視細胞の数・密度などと OCT 得られる定性的評価との関連を解析する。

AO-SLO 試作機を改良し、網膜静脈閉塞症に伴う黄斑浮腫の形態を三次元的に細胞レベルで画像化するシステムを確立する。フォーカス面を網膜色素上皮から硝子体腔側に移動させながら連続的に浮腫のある領域の撮影し、その後、三次元での構造を細胞レベルで再構築するシステムを作成する。最初に健常眼でシステム構築・ソフトウェアの開発を行い、網膜静脈閉塞症に伴う黄斑浮腫の病理眼に適応を広げる。解像度の限界から現行の OCT では不可能であった細胞レベルでの黄斑浮腫の病態・構造・機能解析を行う。

3. 研究の方法

AO-SLO を網膜の三次元差撮影を行うことができるように改良し、得られたデータから生体下で細胞レベルでの網膜の構造を三次元的な画像化し、解析評価するシステムを開発する。また、現有する AO-SLO 試作機を網膜静脈閉塞症に伴った黄斑浮腫症例に適応し、黄斑浮腫

による網膜視細胞の障害を二次元的・定量的に評価する。

眼底トラッキング機能の向上により固視微動などの補正を高速で行うようにする。また、眼球全体の収差を計測・処理速度を高めることができるようにシステムに改良する。更に、フォーカルプレーンを網膜色素上皮から硝子体腔側に自動的に移動させ、三次元的な撮影を行うことができるように装置の改良をおこなう。

A0-SLO を用いて、黄斑浮腫が消失した陳急性例、黄斑浮腫を伴った急性例の視細胞を細胞レベルで撮影・画像化し、細胞障害の程度を定量的に解析する。また、マイクロペリメトリーを用いて測定した網膜感度を比較検討することにより、網膜視細胞の障害の程度と網膜機能との関連を検討する。

A0-SLO を用いて、黄斑浮腫が消失した陳急性例、黄斑浮腫を伴った急性例の循環動態を二次元的に細胞レベルで観察・解析する。

A0-SLO にマイクロペリメトリーを搭載し、細胞レベルで刺激を行い、網膜の感度と、細胞障害の程度との関連を検討する。

A0-SLO を用いて、黄斑浮腫が消失した陳急性例、黄斑浮腫を伴った急性例の視細胞を細胞レベルでの撮影を行う。得られたデータを基に黄斑浮腫の構造を三次元的に画像化する。撮影解析したデータとマイクロペリメトリーを用いて測定した網膜感度を比較検討することにより、網膜視細胞の障害の程度と網膜機能との関連を検討する。

4．研究成果

A0-SLO の眼底トラッキング機能の向上により固視微動などの補正を高速で行うように改良した。更に、平面分解能約3ミクロンの高解像度画像を獲得するために、リアルタイムに眼球全体の収差を計測し、測定光束が眼底をスキャンする前後で波面補正素子を2度通過させることで完全に眼球収差を取り除くシステムを採用しているが、処理速度を高め、ことができるようにシステムに改良を

行った。システムソフトウェアの改良を行い、撮影操作が簡便になり、撮影が効率よく行われるようになった。

A0-SLOを用いて、黄斑浮腫が消失した陳急性網膜静脈分枝閉塞症例の観察を行い、閉塞領域では健側に比べて、有意に視細胞密度が減少し、六角形細胞の出現率が低下していることが明らかになった。OCTでは網膜外層の健全性が保たれているように見える症例でもA0-SLOでは視細胞が障害されていた。また、マイクロペリメトリーを用いて測定した網膜感度は有意に低下していた。

また、陳急性網膜静脈分枝閉塞症例では毛細結果の拡張が見られ、血管の障害が黄斑浮腫消失後も残存していた。

黄斑浮腫が消失した陳急性網膜中心静脈閉塞症例の観察を行い、A0-SLOを用いて同様に行い、発症眼では健側に比べて、有意に視細胞密度が減少し、六角形細胞の出現率が低下していることが明らかになった。OCTでは網膜外層の健全性が保たれているように見える症例でもA0-SLOでは視細胞が障害されていた。また、マイクロペリメトリーを用いて測定した網膜感度は有意に低下していた。

A0-SLOを用いて、黄斑浮腫が残存した慢性期網膜静脈分枝閉塞症例の観察を行い、有意に視細胞密度が減少し、六角形細胞の出現率が低下していることが明らかになった。

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)

Muraoka Y, Tsujikawa A, Kumagai K, Akagi-Kurashige Y, Ogino K, Murakami T, Miyamoto K, Yoshimura N. Retinal vessel tortuosity associated with central retinal vein occlusion: an optical coherence tomography study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2014;55:134-141. (査読有、DOI: 10.1167/iovs.13-132001)
Muraoka Y, Murakami T, Nishijima K,

Akagi T, Uji A, Horii T, Ueda-Arakawa N, Yoshikawa M, Tsujikawa A, Yoshimura N. Association between retinal venular dilation and serous retinal detachment in diabetic macular edema. *Retina* 2014;34:725-731.

(査読有、DOI:

10.1097/IAE.0b013e3182a48732)

Kumagai K, Tsujikawa A, Muraoka Y, Akagi-Kurashige Y, Murakami T, Miyamoto K, Yamada R, Yoshimura N.

Three-dimensional optical coherence tomography evaluation of vascular changes at arteriovenous crossings. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

2014;55:1867-1875.

(査読有、DOI: 10.1167/iovs.13-13303)

Akagi-Kurashige Y, Tsujikawa A, Ooto S, Makiyama Y, Muraoka Y, Kumagai K, Uji A, Arichika S, Murakami T, Miyamoto K, Yoshimura N. Retinal microstructural changes in eyes with resolved branch retinal vein occlusion: an adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy study. *Am J Ophthalmol* 2014;157:1239-1249 e1233.

(査読有、DOI:

10.1016/j.ajo.2014.02.026)

Muraoka Y, Tsujikawa A, Murakami T, Ogino K, Kumagai K, Miyamoto K, Uji A, Yoshimura N. Morphologic and functional changes in retinal vessels associated with branch retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2013;120:91-99.

(査読有、DOI:

10.1016/j.ophtha.2012.06.054)

Ota M, Tsujikawa A, Ojima Y, Miyamoto K, Murakami T, Ogino K, Akagi-Kurashige Y, Muraoka Y, Yoshimura N. Retinal sensitivity after resolution of the macular edema associated with retinal vein occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:635-644.

(査読有、DOI:

10.1007/s00417-011-1860-0)

Murakami T, Tsujikawa A, Miyamoto K,

Sakamoto A, Ogino K, Muraoka Y, Kurashige Y, Yoshimura N. Disrupted foveal photoreceptors after combined cystoid spaces and retinal detachment in branch vein occlusion treated with bevacizumab. *Retina* 2012;32:1853-1861.

(査読有、DOI:

10.1097/IAE.0b013e31824b824c)

〔学会発表〕(計1件)

赤木由美子、村岡勇貴、大音壮太郎、高橋綾子、飯田悠人、村上智昭、鈴間潔、辻川明孝、吉村長久：補償光学走査型レーザー検眼鏡を用いた網膜中心静脈閉塞症の黄斑部微細構造の検討(第119回日本眼科学会総会), ロイトン札幌、北海道、札幌, 2015. 4. 16-19.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ganka/html/kenkyu/kenkyu/imaging.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻川 明孝 (AKITAKA TSUJIKAWA)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：40402846

(2) 研究分担者

大音 壮太郎 (SOTARO OOTO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：10511850

村上 智昭 (TOMOAKI MURAKAMI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：50549095

宇治 彰人 (AKIHITO UJI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：60534302

(3) 連携研究者

なし