

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462647

研究課題名(和文) 近赤外分光測定法を用いた、新生児の視覚機能の発達に関する研究

研究課題名(英文) Study on development of visual functions in newborn infants by using functional near-infrared spectroscopy

研究代表者

石川 均 (Ishikawa, Hitoshi)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号：80265701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：新生児の視機能の他覚的評価を近赤外分光法(functional near-infrared spectroscopy: fNIRS)を用い測定した。同時に異なった色(赤、青)、強さ(10または100cd/m²)の光刺激を用い、対光反射を測定し、さらに皮膚電極型網膜電図(ERG)を用い、fNIRS結果と照合し、その精度を確認した。fNIRSによる結果は他の機器を用いた結果とほぼ同様の所見を示した。さらに健常児のみならず視覚異常を有する児の検査結果も臨床所見と一致した。しかし検査毎に異なる結果が生じた症例もあり、現時点ではfNIRSの結果のみから視機能を断定せず、総合的に判断することが進められる。

研究成果の概要(英文)：Evaluating visual functions is difficult in infants. For objective evaluation, methods by measuring light reflex, electric retinogram (ERG), and visual evoked potentials have been used. Although objectivity of such measurement is high, examination is not minimally invasive. In this study, we used functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) in a less invasive way to objectively evaluate visual functions of infants. We also measured light reflex at the same time. Then, we used ERG of skin-electrode type and compared with the results of fNIRS to confirm the accuracy. The results of fNIRS were about the same as the results obtained with other devices. Also, the test results of not only healthy infants but also infants with visual abnormality were consistent with the clinical findings. However, in some cases the results were different in every examination, so at this point, we should not determine visual functions only from the results of fNIRS but determine comprehensively.

研究分野：神経眼科

キーワード：NIRS 新生児 視機能評価

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の学術的背景

i) 新生児、乳幼児の視機能の自・他覚的評価は非常に困難である。従来、PL法、格子状ドラムを用いた眼振 (Optokinetic nystagmus: OKN) 測定が用いられてきた。さらに、他覚的、客観的評価には対光反射測定、コンタクトレンズを用いた網膜電図 (ERG) ¹⁾ 測定、視覚誘発脳波 (VEP) ²⁾ 測定が用いられてきたが、しかし、後二者は高い客観性を持つものの、検査時には全身麻酔をかけるなど、決して侵襲の低いものではない。新生児、乳幼児の視機能を低侵襲、もしくは無侵襲にて検査、評価可能な方法を発見し、実用化することは急務である。

機能的近赤外分光測定法 (Functional near infrared spectroscopy: NIRS) は頭蓋上より脳内へモグロビンの酸素化および cytochrome c oxidase の酸化還元状態を近赤外領域の吸収スペクトルの変化として捉える方法である ³⁾。すなわち生体に安全な光を用いて組織の酸化状態を非侵襲・連続的に測定することが可能である。本法は脳の酸素代謝や血液循環の変化をリアルタイムに非侵襲的に測定可能な方法として、当初は手術室や集中治療室での管理として用いられていたが、近年、臨床現場から研究まで幅広く用いられ始めた。特に新生児は成人と比較し頭皮、頭蓋骨等の層構造が薄いため、実験の人工産物 (アーチファクト) が混入しにくく、測定には適しているという特性を持つため NIRS が幅広く用いられてきた。NIRS を用いた視覚研究には睡眠時のフラッシュ光刺激に対する脳内活動が成人と小児で異なる事が報告されている ⁴⁾。また成人の視神経疾患と正常者との比較検討の報告もなされている ⁵⁾。しかし、現在まで NIRS を用い新生児期の視覚の発達期に視覚刺激に対する脳活動の変化を研究した報告はない。

ii) 我々は従来より新生児、乳幼児に視機能の低侵襲他覚評価の1つである対光反射測定に着目し、視機能の評価として用いてきた ⁶⁾。近年のメラノプシン ⁷⁾ の発見以降、対光反射をはじめとした視覚刺激には単一光だけでは不十分なことが判明したため、我々は測定には 10,100cd/m² の赤色 (635nm)、青色 (470nm) 光刺激を用いている。さらに近年、皮膚電極型低侵襲 ERG (RETeval) を用いることが可能となった。

以上の事項より今回我々は小児、特に新生児に NIRS および赤外線電子瞳孔計、皮膚電極 ERG を用い異なった強さ、色刺激にてその反応を測定し、脳内活性変化、異なった色刺激による瞳孔反応、皮膚電極 ERG が新生児、乳幼児の視機能評価に適するかについて研究を行う。最終的には未熟児網膜症を始めとする新生児、乳幼児の視覚障害を生ずる疾患に、これらの方法を用いた視機能評価が非侵襲的に正確にその異常を検出し、臨床応用可

能であるか評価することを目的とする。

(2) 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか(3年計画)

初年度は NIRS を用い、正常新生児に対して最も安定して結果が得られる部位、プローブ数、刺激方法、刺激の強さを明らかにする。また検査時の体位、一日の中での検査時間、啼泣の影響を確認する。

次年度は刺激方法を 10, 100cd/m² の赤色 (635nm)、青色 (470nm) 光刺激を用い、脳内の刺激部位の確認と同時に瞳孔反応が生ずるのは生後何日目、もしくは何週間後であるか確認する。さらに皮膚電極型 ERG による反応が NIRS、対光反射と一致した機能的結果が生ずるか確認する。

最終年度は未熟児網膜症を始めとした視覚障害を生ずる疾患で測定を行い、正常児と対比を行う。病気の発見、進行、治療効果判定等に NIRS、瞳孔反応、皮膚電極型 ERG が有用であるかを確認する。

(3) 当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義
NIRS を用い、小児科領域でも白室脳症や脳出血などの疾患での応用はあるものの、小児の視機能評価に NIRS を用いた研究は前述のごとく非常に少ない。そのため、本法を用いた新生児期からの視覚発達の生理学的研究、疾患の重症度、治療判定、予後を非侵襲的に判断することは非常に独創的と考えている。さらに NIRS の測定結果がその信頼性の確認に、低侵襲である異なった色刺激を用いての対光反射測定、皮膚電極 ERG を用いた方法と比較検討した報告はなく臨床応用につながる研究である。

2. 研究の目的

新生児の視機能を低、無侵襲下で評価する目的で異なった強さ、波長の光刺激 (赤色光刺激、青色光刺激) を与え脳の活動について NIRS を用い測定し、同時に瞳孔反応について赤外線電子瞳孔計を用い測定する。また必要に応じて皮膚電極型 ERG を用い、多方面から新生児の視機能評価が可能であるか確認すると共に、視覚の発達に最も重要な時期、部位を判断する。最終的に未熟児網膜症等の乳幼児視覚障害を生ずる疾患の視機能の客観的評価、治療効果の判定、正常児との脳活動の差などが本方法を用い可能となるか確認する。

3. 研究の方法

初年度: 対象は北里大学の新生児特定集中治療室 (Neonatal Intensive Care Unit: NICU) に入院している新生児である。毛髪量や啼泣状態の程度は様々で、全てを対象に測定を試みた。NIRS 装置は PocketNIRS (ダイナセンス社) を用いた (図 1)。本機器は従来型の NIRS 装置と異なり、コンパクト、軽量、易移動性

であり、プローブ数も2つに限られており、送受光部が鋭利でないため装着時間は短い。そのため、NICUなどの日々の臨床現場でも手軽に測定することが可能である。非鎮静下で閉瞼状態の新生児に対し、半暗室下において視覚刺激を行った。視覚刺激には赤色(635nm)・青色(470nm)の光刺激(10, 100 cd/m²)、及び診察時に使用する双眼倒像鏡の光源を用いた。赤色及び青色の光刺激には赤外線電子瞳孔計に搭載されている光刺激プログラムを用いた。視覚刺激時間は10秒間とした。測定部位は対象が新生児であるため、国際10-20法などに従って明確な視覚野の位置を確認すると時間がかかり、その間に新生児が啼泣し測定が困難になることから、短時間で容易に視覚野の位置を確認することができる後頭結節の両側に1つずつプローブを設置した。

NIRS検査ではプローブ、ヘッドバンドを新生児の測定部位に固定する必要がある。測定中のプローブのずれは結果に大きく影響するためプローブを小型の新生児用に変更し、今回プローブの固定にはバンドでなくシール(図2)を用いた。新生児用の枕を改良し、より侵襲が少ない状態、かつ体動の少ない状態を考慮し、好条件での測定が可能となった後、右眼光刺激、左眼光刺激時、各々で後頭葉の脳反応を測定した。



図1



図2

2年目：NIRS測定時に用いた色刺激による瞳孔反応を赤外線電子瞳孔計(Iriscorder Dual C10641; 浜松ホトニクス)を用いて同時に記録した。刺激方法は被検者の眼前にCCDカメラを固定し記録した。また皮膚電極型ERG(RETeval; メイヨー)を用い瞳孔反応と同様に、NIRSと同時に測定しNIRSによる結果の正確性を確認した。

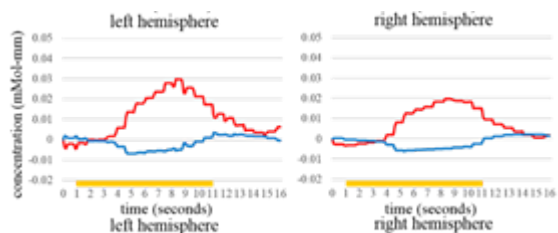
3年目：種々な疾患(未熟児網膜症、視神経

炎、黄斑疾患等)を有する患児で反応を測定し、2年目までに蓄積した正常児との比較を行った。それによりVEP、従来のERGと同様にNIRSが視機能の評価となりうるかを判断した。

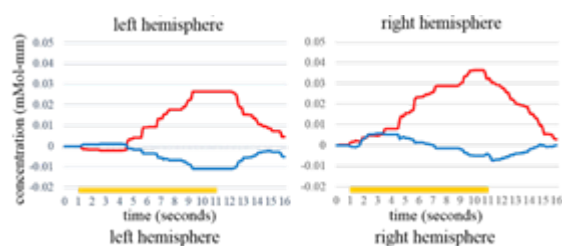
4. 研究成果

(1) 正常新生児NIRS測定結果⁸⁾

NICUに入院中で同意の得られた新生児8名(平均胎生週数39.9±2.5週)に対し、NIRSを用いて視覚刺激を行った際の酸素化ヘモグロビン及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化を測定した。被験者8名中5名において、光刺激を与えた際に有意な酸素化ヘモグロビン濃度の上昇が認められた。また、特記すべきことにその5名中2名は有意な脱酸素化ヘモグロビン濃度の減少も認められた(図3)。他の3名は啼泣にて、測定中の体動が大きい為安定した波形を得ることができなかった。しかし日時を変えた2回目の測定にてほぼ安定した結果が得られた。以上の結果より、条件設定によりNIRSを用いてベットサイドでの新生児の視機能を簡便に低侵襲、他覚的に評価することが可能となった。無侵襲の状態での計測が可能となったため、授乳後に測定を行うことが可能となり、測定前及び測定中に啼泣する割合を減少させることができた。



症例1



症例2

図3：代表例2名の酸素化ヘモグロビン(赤線)、及び脱酸素化ヘモグロビン濃度(青線)変化を示す。下段黄線は光刺激を示す。光刺激を与えた際、酸素化ヘモグロビン濃度の上昇、及び脱酸素化ヘモグロビン濃度の減少が観察された。

(2) 正常新生児の赤、青光刺激と瞳孔反応⁹⁾

ヒトの対光反射は視細胞である錐体、杆体を起源として生ずるものと、メラノプシン含有網膜神経節細胞を起源とする2つの反応系

を有していることが報告されている^{6,7)}。メラノプシンは470nmの強い青色光刺激に対してのみ反応し、サーカディアンリズム調整にかかわっていることが報告されている。すなわち我々の物体を注視 (image forming) するという機能とは別に考える必要がある。そのため視機能の確認のためには異なった色 (主に赤、青色) による光刺激が必要と考えられるようになってきた。

そこで我々は新生児の対光反射を異なった色刺激にて測定した。その結果、測定した全例 (n=13) で赤色刺激による対光反射は確認されず、青色光刺激による反応は全例、しかも輝度依存性に生ずることが確認された (図4, 5)。

38週 新生児対光反射 (10 cd/m²) 波形

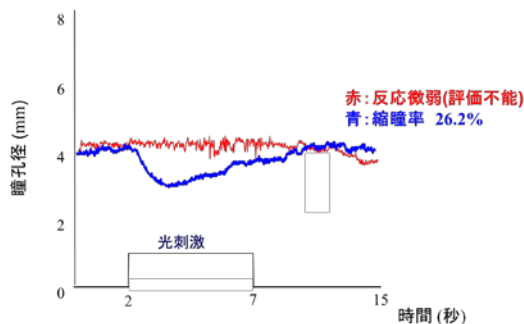


図4：赤、青色刺激と新生児の対光反射

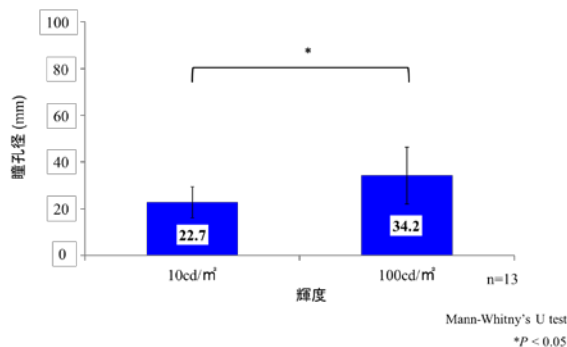


図5：異なった輝度の青色刺激と縮瞳率

さらに新生児から乳児期にかけて経時的に経過を追った児では赤色刺激は生後10か月頃から発達することが判明した¹⁰⁾。すなわち視覚に関与しない non image-forming 機能は出生時より発育し、まずはサーカディアンリズム調整等の原始的な発達が生じ、物体認知等の高度な機能は生後10か月あたりから発達することが推測された。

(3) 視神経症症例の NIRS と VEP との結果比較¹¹⁾

先天的に眼位の安定性を欠き、眼球振動が生じた4か月乳児に上記方法を用いNIRSとVEPの同時測定を行った。臨床診断は両側の視神経炎もしくは視神経乳頭低形成であったが受診時にどれだけの視機能が障害もしくは残存しているかは全く不明であった。そこで

VEP及びNIRSを測定した。

VEPの現波形を図6に示す。P100潜時は右139.5msec、左114.3msec、振幅は右5.8mV、左5.9mVであり、左は軽度～中等度低下、右はほぼ正常範囲内であった。左眼の光刺激に対する中枢の反応を確認する意味で15秒の光刺激と前後15秒のレストを入れNIRSを用いた。図7の結果に示すように、左眼刺激により右後頭葉に反応が認められた。

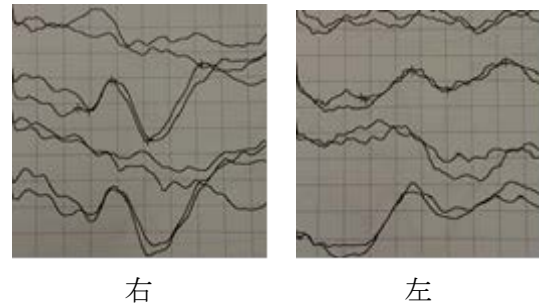


図6：VEP結果



右後頭葉 中央 左後頭葉

図7：NIRS結果

(4) 黄斑低形成症例の NIRS と皮膚電極 ERG との結果比較¹²⁾

弱視にて紹介された3歳児童に対し対光反射、皮膚電極 ERG、NIRS、さらに OCT を用い検査を行った。まず皮膚電極 ERG では photopic ERG, flicker ERG とともに左眼が低下していた (図8)。同時に測定した異なった色刺激を用いた対光反射測定では赤色刺激に対する縮瞳のみ左眼で低下し、青色刺激は左右で変化なかった (図9)。最終的に OCT (図10) にて左眼の黄斑低形成と判断した。しかし本症例で測定した NIRS では酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの両方の上昇が観察された。この結果が病的な状態を意味するのか、測定上の問題なのかは結論が出ず今後の課題となった。

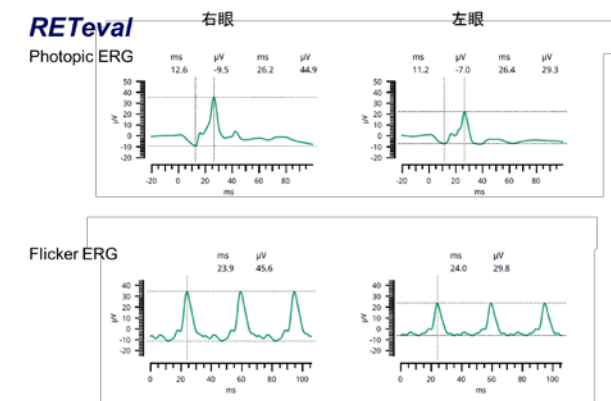


図8：皮膚電極 ERG 結果

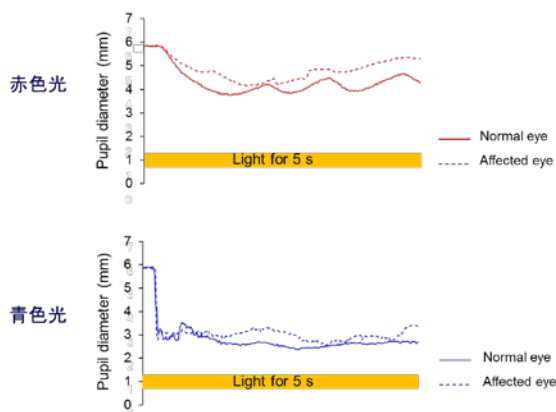


図 9 : 赤・青色光刺激による対光反射結果

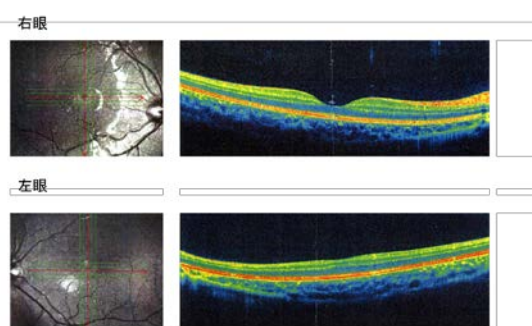


図 10 : OCT 結果

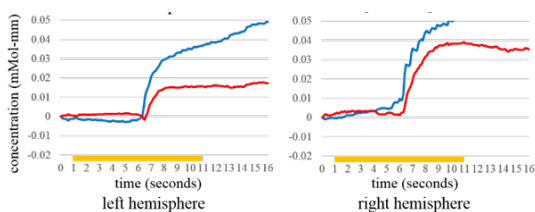


図 11 : NIRS 結果

まとめ

新生児の視機能の他覚的評価に NIRS を用い測定した。同時に異なった色 (赤、青)、強さ (10 または 100cd/m²) の光刺激を用い、対光反射を測定し、さらに皮膚電極型網膜電図 (ERG) を用い、NIRS 結果と照合し、その精度を確認した。NIRS による結果は他の機器を用いた結果とほぼ同様の所見を示した。さらに健常児のみならず視覚異常を有する児の検査結果も臨床所見と一致した。しかし NIRS の結果がその他の検査結果と異なる、もしくは判定不能の症例も存在した。以上の結果より現時点で NIRS は乳幼児の視機能を非侵襲的に判断するのに有効であるが、NIRS の結果のみから視機能を断定せず、総合的に判断することが重要である。

<引用文献>

- 1) Zhou X, Huang X, Chen H, Zhao P. Comparison of electroretinogram between healthy preterm and term infants. *Doc Ophthalmol.* 121: 205-213, 2010.
- 2) Tsuneishi S, Casar P. Effects of preterm extrauterine visual experience on the development of the human visual system: a flash VEP study. *Developmental Medicine & child neurology.* 42: 663-668, 2000.
- 3) Josis FF. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science.* 198: 1264-1267, 1977.
- 4) Kusaka T, Kawada K, Okubo K, Nagano K, Namba M, Okada H, Imai T, Isobe K, Itoh S. Noninvasive optical imaging in the visual cortex in young infants. *Hum Brain Mapp.* 22: 122-132, 2004.
- 5) Miki A. Near-infrared spectroscopy of the visual cortex in unilateral optic neuritis. *Am J Ophthalmol.* 139: 353-356, 2005.
- 6) 石川均. 第 116 回日本眼科学会総会評議員会指名講演Ⅱ 神経眼科の進歩 瞳孔とメラノプシンによる光受容. *日眼会誌.* 117: 246-268, 2013.
- 7) Provencio I. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 340-345, 1998.
- 8) 岩田遙, 池田哲也, 半田知也, 石川均, 庄司信行, 清水公也: 近赤外分光法を用いた新生児の他覚的視機能検査装置の開発. *あたらしい眼科.* 33: 749-754, 2016.
- 9) Ikeda T, Ishikawa H, Shimizu K, Asakawa K, Goseki T: Pupillary size and light reflex in premature infants. *Neuroophthalmology.* 39: 175-178, 2015.
- 10) 戸塚悟, 浅川賢, 後関利明, 池田哲也, 石川均: 異なった色刺激による対光反射の経時変化を追えた乳児の 1 例. 第 54 回日本神経眼科学会総会. 2016.
- 11) 池田哲也他: 生後 4 か月で突然 searching eye movement を認めた一例. 第 22 回九州神経眼科セミナー. 2014.
- 12) Asakawa K, Ishikawa H: Electroretinography and pupillography in unilateral foveal hypoplasia. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 53: e26-28, 2016.

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. Satou T, Goseki T, Asakawa K, Ishikawa H, Shimizu K: Effects of age and sex on values obtained by RAPDx® pupillometer, and determined the standard values for detecting relative afferent pupillary defect. Transl Vis Sci Technol. 5: 18, 2016. 査読有
2. Iwata Y, Handa T, Ishikawa H, Shoji N, Shimizu K: Efficacy of amblyopia treatment program with both eyes open : a functional near-infrared spectroscopy study. Am orthopt J. 66: 87-91, 2016. 査読有
3. Asakawa K, Ishikawa H: Electroretinography and pupillography in unilateral foveal hypoplasia. J Pediatr Ophthalmol Strabismus. 53: e26-28, 2016. 査読有
4. 岩田遥, 池田哲也, 半田知也, 石川均, 庄司信行, 清水公也: 近赤外分光法を用いた新生児の他覚的視機能検査装置の開発. あたらしい眼科. 33, 749-754, 2016. 査読有
5. Ikeda T, Ishikawa H, Shimizu K, Asakawa K, Goseki T : Pupillary size and light reflex in premature infants. Neuroophthalmology. 39: 175-178, 2015. 査読有
6. 岩田遥, 半田知也, 石川均, 庄司信行, 清水公也: 新しい弱視訓練装置 Occlu-Pad®の視覚野に対する効果検証. あたらしい眼科. 32: 1503-1506, 2015. 査読有
7. Handa T, Shoji N, Shimizu K: Relative evaluation of comfort level associated with light-emitting diode lighting based on near infrared spectroscopy. J Near Infrared Spectrosc. 22: 271-277, 2014. 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 浅川賢, 石川均, 龍井苑子, 後関利明, 池田哲也: 片眼性黄斑低形成における黄斑異常と色光刺激による瞳孔反応. 第 54 回日本神経眼科学会総会. 2016.11.26、宮崎市民プラザ (宮崎県・宮崎市)
2. 戸塚悟, 浅川賢, 後関利明, 池田哲也, 石川均: 異なった色刺激による対光反射の経時変化を追えた乳児の 1 例. 第 54 回日本神経眼科学会総会. 2016.11.26、宮崎市民プラザ (宮崎県・宮崎市)
3. 池田哲也、清水公也、龍井苑子、石田暁、後関利明、石川均: 北里大学病院とその関連病院における未熟児網膜症診療の現状. 第 120 回日本眼科学会総会受賞講演, 2016.4.7, 仙台国際センター (宮城県・仙台市)
4. 池田哲也, 龍井苑子, 石田暁, 石川均, 後関利明, 清水公也: 北里大学病院とその関連病院における未熟児網膜症診療の現状. 第 69 回日本臨床眼科学会. 2015.10.24、名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

5. 岩田遥, 池田哲也, 石川均, 半田知也, 清水公也: 近赤外分光法を用いた新生児の他覚的視機能検査の試み(第 2 報) 第 51 回日本眼科学会総会. 2015.9.27、岡山コンベンションセンター (岡山県・岡山市)
6. Ikeda T, Ishikawa H, Shimizu K, Asakawa K, Goseki T : Pupillary size and light reflex in premature infants(poster).31st International Pupil Colloquium. 2015.9.15,Pembroke College,Oxford(London,UK)
7. 池田哲也, 石川均, 龍井苑子, 岩田遥, 半田知也, 釦持学, 清水公也: 携帯型近赤外線酸素モニタ装置を用いた乳幼児の視機能評価の試み (第一報). 第 52 回日本神経眼科学会総会. 2014.12.13、幕張メッセ (千葉県・千葉市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 均 (ISHIKAWA, Hitoshi)
北里大学・医療衛生学部・教授
研究者番号 : 80265701

(2) 連携研究者

半田 知也 (HANDA, Tomoya)
北里大学・医療衛生学部・教授
研究者番号 : 20383648

池田 哲也 (IKEDA, Tetsuya)
北里大学・医学部・助教
研究者番号 : 40406947

(3) 研究協力者

後関 利明 (GOSEKI, Toshiaki)
浅川 賢 (ASAKAWA, Ken)
龍井 苑子 (TATSUI, Sonoko)
岩田 遥 (IWATA, Yo)