

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791849

研究課題名(和文)自己組織化マップを用いた糖尿病黄斑浮腫の新規分類法の探索

研究課題名(英文) investigation of novel classifications of diabetic macular edema using self-organizing map

研究代表者

村上 智昭 (Murakami, Tomoaki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50549095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、光干渉断層計(OCT)を用いて、糖尿病黄斑浮腫の病態の解析を行った。具体的には、網膜厚を内層と外層にセグメンテーションする方法を確立した。また、黄斑部視細胞障害のメカニズムをhyperreflective foci、視細胞内節外節接合部、外境界膜の破綻と比較研究を行った。さらには、漿液性網膜剥離、嚢胞様腔の病態のメカニズムを、血管病変及び、血管透過性亢進のパターンから、明らかにした。さらには、自己組織化マップを用いて、糖尿病黄斑浮腫の新規パターン分類を提唱した。

研究成果の概要(英文)：I investigated the pathogenesis of diabetic macular edema (DME) using optical coherence tomography (OCT). I established a novel methods for the segmentation of inner and outer retinal layers, following the measurements of these layers. Second, I performed the comparative study about the mechanisms of disturbance in foveal photoreceptor, and found the association between hyperreflective foci, external limiting membrane, the junction of inner and outer segments of photoreceptor cells. In addition, I demonstrated the pathogenesis of the development of serous retinal detachment and foveal cystoid spaces, depending on either retinal vascular hyperpermeability in the perifovea or the retinal vascular changes in the fovea or parafovea.

Finally, we applied self-organizing map for the analyses of multi-dimensional data, and showed novel associations and dissociations of OCT findings or parameters, and proposed a novel classification of morphological patterns in diabetic macular edema

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：糖尿病黄斑浮腫 漿液性網膜剥離 嚢胞様腔 血管透過性亢進 黄斑部視細胞障害 自己組織化マップ

1. 研究開始当初の背景

A. 糖尿病黄斑浮腫の複雑な特徴

糖尿病網膜症は常に失明原因の上位を占め、特に、DME に対しては根本的治療法が確立されておらず、今なお視力障害の主要な原因となっている。いくつかの現行の治療法を組み合わせることで最善の視機能を期待するが、どの症例にどの治療が最適であるのか、すなわち、オーダーメイド医療の必要性が叫ばれているにも関わらず、実質的には着手されていないのが現状である。その最大のハードルが、その複雑な病態にあり、多次元的な病態の理解や主軸となるメカニズムの発見は非常に困難であることを示唆していた。

B. 病態の分類の手法と自己組織化マップ

近年の医学的、分子生物学的な多変量の解析を行うにあたり、同様の傾向を示すものを集合として扱うクラスタリングの概念が広く用いられている。つまり、VEGF のようにひとつの分子がひとつの病態と対応するのではなく、いくつかの分子や病態の組み合わせで疾患を理解する試みといえる。また、それは、複雑な相関関係を含む多変量で疾患が描出される場合に非常に強い方法論となる。クラスタリングの技法としては、階層的クラスタ分析による樹状図の表記や非階層的分析、つまり、Ward 法やk-means 法などで各サンプルの距離を測定し、クラスタ化を行う方法がある。しかし、適切なパラメータを抽出してからこれらの分析を行わなければ、その分類方法は十分には機能しない。

そこで我々は、自己組織化マップを用いてデータの前処理を行い、それをクラスタ分析を行うことにした。自己組織化マップは、Kohonen により開発された、ニューロンの機能を参考に開発されたアルゴリズムで、多次元サンプルを2次元平面上に類似度によって近傍に配置することができる。つまり、位相を維持したまま2次元平面上に写像することが可能なため、その後のクラスタ解析を容易

にする。実際、Makinen らは、糖尿病とメタボリック因子の複雑な関連性について、自己組織化マップを用いて2次元表示し、複数の特徴的なパターンが連続的に存在していることを明瞭に示した(Makinen et al. Diabetes 2008)。これらの手法は、先入観に基づく従来の分類とは異なり、教師なし自己組織化マップは、客観的にサンプル間の類似度を測定するため、新規の分類方法が確立できる可能性が極めて高い。

2. 研究の目的

本研究では、まずDME の病態理解に重要と考えられる臨床所見を十分に抽出する。その後、体系的な病態理解のために、自己組織化マップという新しいアルゴリズムを用いて、多変量の臨床的データの類型化を試みる。また、複数の病態のパターンは、明瞭な境界を有しているというよりも、比較的連続的に移行しており、その2次元上のマップで可視化を行う。さらには、それを基にして、いくつかの方法でのクラスタリングを試み、新規分類、及び、多変量の臨床所見の中に埋没する真の病態のパターンを探索する。

3. 研究の方法

まず、DME を特徴づける蛍光眼底造影を用いて、黄斑部の微小血管瘤の計数、毛細血管の密度を定量化する。また、OCT 画像で、黄斑部視細胞の状態と嚢胞様腔を特徴づける所見で多角的に定量評価を行い、これらのパラメータの客観性及び再現性を確立する。また、未知のパラメータも抽出し、病態の臨床像を多次元的に記述することを試みる。その後、それらの多次元ベクトルを有する各症例を統合的に、自己組織化マップという新たなアルゴリズムを用いて類似症例の集積を図り、それを2次元平面上に投射し、可視化する。つまり、各症例が連続的に配置された2次元マップの作成により、症例間の関連性、また、各

パラメータの関連性を視覚的に検討する。また、類似性、つまり、位相を維持したまま配置されたマップを用いて、症例間の類似度と分布密度からクラスタリングの各手法を用いて、DME の新規分類を行う。

4. 研究成果

1) 本研究において、光干渉断層計 (OCT) を用いて、糖尿病黄斑浮腫の病態の解析を行い、いくつかの新規所見、パラメータを発見した。

(A) 網膜厚を内層と外層にセグメンテーションする方法を確立し、それらの硝子体手術前後の経過を評価することで、臨床の有用性を見出した。

(B) 黄斑部視細胞障害のメカニズムを hyperreflective foci、視細胞内節外節接合部、外境界膜の破綻と比較研究を行った。その結果、外境界膜の破綻の結果、hyperreflective foci が網膜外層に流出し、視細胞障害を惹起するメカニズムが示唆された。糖尿病黄斑浮腫に対する硝子体手術後の経過においても、その重要性を確認し、予後因子としての有用性を見出した。

(C) 更には、漿液性網膜剥離、嚢胞様腔の病態のメカニズムを、血管病変及び、血管透過性亢進のパターンから、明らかにした。すなわち、中心窩や傍中心窩における毛細血管瘤もしくは、網膜虚血 (毛細血管のリモデリング) がその部位の血管透過性亢進と相まって中心窩嚢胞様腔の発生に寄与することが新たに分かった。また、その血管透過性亢進には、いくつかのメカニズムが存在することを、蛍光眼底造影および、OCT 所見から明らかにした。従来、血管内皮増殖因子 (VEGF) や糖尿病網膜症による血管透過性亢進は、血液網膜柵の破綻という概念で一括してあつかわれてきたが、いくつかのメカニズムがあり、巨大分子 (群) と小分子のダイナミクスに差異があることを示唆していた。

漿液性網膜剥離が発症するメカニズムは不

明であったが、本研究において、周中心窩付近の網膜血管異常による透過性亢進が重要な役割を果たすことがわかってきた。つまり、中心窩の網膜剥離の病態は他の部位の血管異常からの間接的な効果 (遠隔効果) により惹起されることを新たに示した。これらの報告により、糖尿病黄斑浮腫の治療戦略において、どの病変を標的にするべきかが明らかとなり、臨床に大いに役立つものと推測される。

2) 自己組織化マップを用いて、糖尿病黄斑浮腫の新規パターン分類を提唱した。

(A) OCT 画像において、重要なパラメータを選定し、それらを用いて、各症例を類似性に基づき 2 次元上のマップに写像した。その結果、網膜厚に関する重要な関連性を見出した。また、漿液性網膜剥離と中心窩嚢胞様腔は、排他的な関係になっていることが示された。また、これらの特徴を持つ症例では、中心窩における網膜実質の肥厚を認めることがほとんどなかった。

(B) また、クラスタリングを組み合わせることで、新たな分類法を提案することができた。まず、糖尿病黄斑浮腫とそうでない症例を客観的に分類できる可能性が示唆された。また、糖尿病黄斑浮腫症例は、主に 4 つのパターンに分類された。軽症の黄斑浮腫の群、中心窩網膜実質が肥厚している群、中心窩嚢胞様腔が重症である群、漿液性網膜剥離が重篤である群であった。それぞれの群で視力に関連のある因子は異なり、また、形態的な特徴も大きく異なる。つまり、従来糖尿病黄斑浮腫という一つの疾患概念とされていたが、実は、複数の病態が絡んでいることが示唆され、今後の治療法の確立に非常に有用な情報が提供できるものと推測する。

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]

1. 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.
2. Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Horii T, Ueda-Arakawa N, Muraoka Y, Yoshimura N. Optical coherence tomographic reflectivity of photoreceptors beneath cystoid spaces in diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Mar 21;53(3):1506-11.
3. 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.
4. Murakami T, Frey T, Lin C, Antonetti DA. Protein kinase c phosphorylates occludin regulating tight junction trafficking in vascular endothelial growth factor-induced permeability in vivo. *Diabetes*. 2012 Jun;61(6):1573-83.
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. Ito H, Horii T, Nishijima K, Sakamoto A, Ota M, Murakami T, Yoshimura N. ASSOCIATION BETWEEN FLUORESCEIN LEAKAGE AND OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF MICROANEURYSMS IN DIABETIC RETINOPATHY. *Retina*. 2013;33(4):723-9.
7. Yoshikawa M, Murakami T, Nishijima K, Uji A, Ogino K, Horii T, Yoshimura N. Macular Migration toward the Optic Disc after Inner Limiting Membrane Peeling for Diabetic Macular Edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(1):629-35.
8. Yoshikawa M, Murakami T. Author response: macular migration toward the optic disc after inner limiting membrane peeling for diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(5):3504.
9. Murakami T, Uji A, Ogino K, Unoki N, Horii T, Yoshitake S, Nishijima K, Yoshimura N. Association between Perifoveal Hyperfluorescence and Serous Retinal Detachment in Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*. 2013; 120 (12): 2596-603.
10. 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(4):725-31.
11. Murakami T, Yoshimura N. Structural Changes in Individual Retinal Layers in Diabetic Macular Edema. *J Diabetes Res*. 2013;920713.
12. Nishijima K, Murakami T, Hirashima T, Uji A, Akagi T, Horii T, Ueda-Arakawa N, Muraoka Y, Yoshimura N. Hyperreflective foci in outer retina predictive of photoreceptor damage and poor vision after vitrectomy for diabetic macular edema. *Retina*. 2014 34(4):732-40.
13. Yoshitake S, Murakami T, Uji A, Ogino K, Horii T, Hata M, Arichika S, Nishijima K, Yoshimura N. Association between

cystoid spaces on indocyanine green hyperfluorescence and optical coherence tomography after vitrectomy for diabetic macular oedema. Eye (Lond). 2014 28(4):439-48.

14. Murakami T, Ueda-Arakawa N, Nishijima K, Uji A, Horii T, Ogino K, Yoshimura N. Integrative understanding of macular morphologic patterns in diabetic retinopathy based on self-organizing map. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014 55(3):1994-2003.

その他

(計 25 件)

【学会発表】

1. Murakami T, Ueda-Arakawa N, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Horii T, Yoshimura N. Macular Morphological Patterns in Diabetic Retinopathy by Self-Organizing Map ARVO Meeting 2012 Fort Lauderdale, USA.

2. Muraoka Y, Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Horii T, Ueda-Arakawa N, Yoshikawa M, Yoshimura N. Association between Retinal Venular Dilation and Foveal Serous Retinal Detachment in Diabetic Macular Edema ARVO Meeting 2012 Fort Lauderdale, USA.

3. Horii T, Murakami T, Nishijima K, Akagi T, Uji A, Ueda-Arakawa N, Yoshimura N. Clinical Relevance of Optical Coherence Tomographic Reflectivity in Cystoid Spaces in Eyes treated with Triamcinolone for Diabetic Macular Edema ARVO Meeting 2012 Fort Lauderdale, USA.

4. Tsujikawa A, Muraoka Y, Murakami T, Ogino K, Akagi-Kurashige Y, Kumagai K, Ishihara K, Miyamoto K, Yoshimura N. Subretinal Hemorrhage Associated With Branch Retinal Vein Occlusion ARVO Meeting

2012 Fort Lauderdale, USA.

5. 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 ARVO Meeting 2012 Fort Lauderdale, USA.

6. Ota T, Tsujikawa A, Murakami T, Ogino K, Muraoka Y, Kumagai K, Akagi-Kurashige Y, Miyamoto K, Yoshimura N. Subfoveal Serous Retinal Detachment Associated with Distant Branch Retinal Vein Occlusion ARVO Meeting 2012 Fort Lauderdale, USA.

7. Kumagai K, Tsujikawa A, Muraoka Y, Akagi-Kurashige Y, Ogino K, Murakami T, Miyamoto K, Yoshimura N. Three-Dimensional Tomographic Features of Retinal Arteriovenous Crossings on Optical Coherence Tomography ARVO Meeting 2013 Seattle, USA.

8. Murakami T, Uji A, Ogino K, Unoki N, Horii T, Yoshitake S, Hata M, Nishijima K, Yoshimura N. Association between perifoveal hyperfluorescence and serous retinal detachment in diabetic macular edema ARVO Meeting 2013 Seattle, USA.

9. Morooka S, Murakami T, Nukada M, Yoshimura N. Annexin V inhibits pathological retinal angiogenesis but not physiological retinal vascular development ARVO Meeting 2013 Seattle, USA.

10. Yoshitake S, Murakami T, Uji A, Ogino K, Unoki N, Horii T, Hata M, Arichika S, Nishijima K, Yoshimura N. Association between Near Infrared Autofluorescence and Optical Coherence Tomography in Diabetic Macular Edema ARVO Meeting 2013 Seattle, USA.

11. Uji A, Hangai M, Ooto S, Arichika S,

Murakami T, Yoshimura N. Detection of flow velocity fluctuations associated with erythrocyte aggregation in diabetic retinopathy by using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy ARVO Meeting 2013 Seattle, USA.

12. 堀井崇弘, 村上智昭, 西嶋一晃, 赤木忠道, 宇治彰人, 荻野 顕, 荒川奈央子, 吉村長久 糖尿病黄斑浮腫における嚢胞様腔の OCT 反射強度と臨床経過 第 116 回日本眼科学会総会 2012 年

13. 村上智昭, 荒川奈央子, 西嶋一晃, 赤木忠道, 宇治彰人, 堀井崇弘, 荻野 顕, 有近重太, 吉村長久 自己組織化マップを用いた糖尿病網膜症の黄斑部形態の検討 第 116 回日本眼科学会総会 2012 年

14. 宇治彰人, 村上智昭, 西嶋一晃, 荻野 顕, 堀井崇弘, 荒川奈央子, 吉村長久 光干渉断層計における網膜外層の新しい定量的画像解析方法 第 116 回日本眼科学会総会 2012 年

15. 堀井崇弘, 村上智昭, 西嶋一晃, 赤木忠道, 宇治彰人, 荻野 顕, 荒川奈央子, 吉村長久 ケナコルト投与後の糖尿病黄斑浮腫の再発と嚢胞様腔の OCT 反射強度の関係 第 118 回京都眼科学会 2012 年

16. 村岡勇貴, 辻川明孝, 村上智昭, 荻野 顕, 熊谷京子, 赤木由美子, 宮本和明, 宇治彰人, 吉村長久 スペクトラルドメイン光干渉断層計による網膜静脈分枝閉塞症の網膜血管形態の解析 第 118 回京都眼科学会 2012 年

17. 吉川宗光, 村上智昭, 宇治彰人, 荻野 顕, 堀井崇弘, 吉武 信, 畑 匡侑, 西嶋一晃, 吉村長久 糖尿病黄斑浮腫に対する内境界膜剥離後の黄斑部形態の検討 第 118 回京都眼科学会 2012 年

18. 熊谷京子, 村岡勇貴, 辻川明孝, 村上智昭, 荻野 顕, 赤木由美子, 宮本和明, 吉村長久 スペクトラルドメイン光干渉断層

計を用いた非疾患眼における網膜血管径の計測の有用性の検討 第 29 回日本眼循環学会 2012 年

19. 村岡勇貴, 辻川明孝, 村上智昭, 荻野 顕, 熊谷京子, 赤木由美子, 宮本和明, 宇治彰人, 吉村長久 スペクトラルドメイン光干渉断層計による網膜静脈分枝閉塞症の網膜血管形態の解析 第 29 回日本眼循環学会 2012 年

その他

(計 42 件)

【図書】

眼科エキスパート 糖尿病網膜症の全て
(計 1 件)

【産業財産権】

なし

【その他】

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし