

令和元年6月1日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20289

研究課題名(和文)非侵襲的脳刺激法を用いた視覚障害患者の脳視覚野可塑性研究

研究課題名(英文)Visual cortex plasticity study in visual impairment patients with non invasive brain stimulation method

研究代表者

吉嶺 松洋(Yoshimine, Shoyo)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：80570332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：中心視野障害の患者の脳視覚視路の可塑性について、MRI、非侵襲的脳刺激法(TMS)を用いた研究である。MRIデータは取得できたものの、脳刺激に対する患者の抵抗は強く正常人のみの研究にとどまった。しかし、正常者でも脳刺激による閃光覚の再現性に個体差があり、閃光覚を評価することが困難であった。そこで、加齢黄斑変性の患者を脳視覚神経路の構造学的変化を調べるためdiffusion MRIの解析を行った。加齢黄斑変性患者の脳白質の状態を示すFractional anisotropy値が正常者と比較し有意に低下し、視力とFA値が相関している視放線上の解剖学的場所も捉えることができていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢黄斑変性患者の脳白質は網膜変性の影響を受ける可能性が示唆された。さらに視野偏心度ごとに脳白質を解析することで、視力障害と相関して白質線維の変化をきたしているであろう解剖学的位置も特定することができた。これらの結果は昨今期待が高まっているiPS細胞などを用いた視覚再建治療の際に、その治療の適応や治療効果判定の際のターゲットとなる可能性が示唆された。網膜変性が脳白質まで影響を及ぼした場合、その治療が網膜再建のみで良いのか、脳白質を含めた視路の再建も必要であるのかを検討する必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We would investigate visual cortex plasticity study in visual impairment patients with non invasive brain stimulation method. The patients could not accept their brain stimulation. It was difficult to value the phosphenes even in normals and the phosphenes were not replicable. We investigated the impact of age-related macular degeneration (AMD) on visual acuity and the visual white matter. We combined an adaptive cortical atlas and diffusion-weighted magnetic resonance imaging (dMRI) and tractography to separate optic radiation (OR) projections to different retinal eccentricities in human primary visual cortex. We found differences in white matter properties specific to OR white matter fascicles projecting to primary visual cortex locations corresponding to the location of retinal damage (fovea).

研究分野：脳視覚野

キーワード：白質 拡散強調MRI 加齢黄斑変性 Tractography

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

不可逆的な網膜・視神経の変性に対しては、現時点の医学ではその治療は不可能である。そのため、iPS 細胞や、人工網膜といった視覚再建治療に期待が集まっている。しかし、光受容器を再構築するだけでヒトの視覚は再生できるのであろうか。この問いに答えるべく、われわれは、視覚再建医療の対象となる、成熟したヒトの第1次視覚野(以下 V1)を対象として研究を行っている。V1 は網膜からの視覚情報入力が最初に処理される皮質領域であり、視覚情報を扱う領域としては最大である。さらに V1 は視覚情報を高次の視覚野に分配する役割も担っており、視覚再建の鍵となる脳領域である。網膜疾患などで成熟した V1 への長期間視覚入力が途絶した場合、その病変脳投射領域(Lesion projection zone; 以下 LPZ)における視覚神経回路がどのように変化するか、これまでに動物、ヒトでの網膜変性モデルで活発な議論がされているが、研究者の間で現在も完全な合意は得られていない。1) 現時点での仮説を大きく分けると a) 発症以前の構築・機能を保存している(安定性)、b) 再構築され別の機能を獲得している(可塑性)、c) 変性し機能を失う(広義には可塑性として分類可能)、の3つを挙げることができる。

LPZ における構築・機能の状態の知見は視覚再建治療の成功の上で大変重要な役割を果たす。もし、視覚皮質が a) 確固たる安定性を獲得しており、その神経回路が保存されているのであれば、網膜病変における視覚再建治療は、即座に有効となる可能性は高いが、b) 可塑性により神経回路が再構築された場合は、治療で復活した視覚入力が異常に知覚される可能性が高く、さらに c) 変性している場合は、視覚皮質の再建自体が治療の目的となり、治療戦略が大きく異なる。

これまでの視覚野の可塑性の研究の歴史は、1960 年代に Hubel・Wiesel の脳視覚野に関する動物実験における眼優位カラム可塑性研究に始まる。その後成熟脳視覚野に可塑性による神経回路再構築を認めたとする報告、またそれに反論する報告があり、未だ議論の最中である。ヒト成熟脳における LPZ 反応の研究は、非侵襲・高空間解像能の点から機能的磁気共鳴画像(fMRI)を用いた研究を中心に議論されてきた。

ヒトにおける最初の fMRI 報告は、Sunness らが 2004 年に発表した、加齢黄斑変性症(AMD)患者において LPZ に反応を認めず、可塑性による視覚野再構築は存在しないというものである。これに対して、2005 年 MIT の Kanwisher らのグループは若年性黄斑変性症(JMD)患者の LPZ に活動性を根拠に大規模な視覚野可塑性を発見したと報告した。しかしながら、2005 年に Smirnakis らは、マカクザルを用いて、成熟した視覚皮質には可塑性はなく安定性優位であることを電気生理・fMRI 実験の両方で証明した<sup>2)</sup>。さらにわれわれは、JMD 患者と網膜色素変性(RP)患者の LPZ の活動が特別な課題条件でのみに認める現象であり、MIT のグループが観察した現象は可塑性ではなく安定性の証拠となることを発見した。2008 年に JMD 患者群の研究で、更に 2010 年に RP 患者群で報告している<sup>3), 4), 5)</sup>。

### 2. 研究の目的

(1) このように視細胞レベルでの障害では、可塑性は非常に控えめにしか存在しないようであるが、神経節細胞レベルの障害を起こす疾患(緑内障・Leber 遺伝性視神経症(LHON))では、経シナプス変性により第一次視覚野が変性している可能性が高い<sup>6)</sup>。つまり、視覚野の安定性・可塑性を決定づける要因に、網膜変性細胞の相違が LPZ を含めた第一次視覚野の神経回路に及ぼす影響に相違があるという仮説をたてることが可能である。

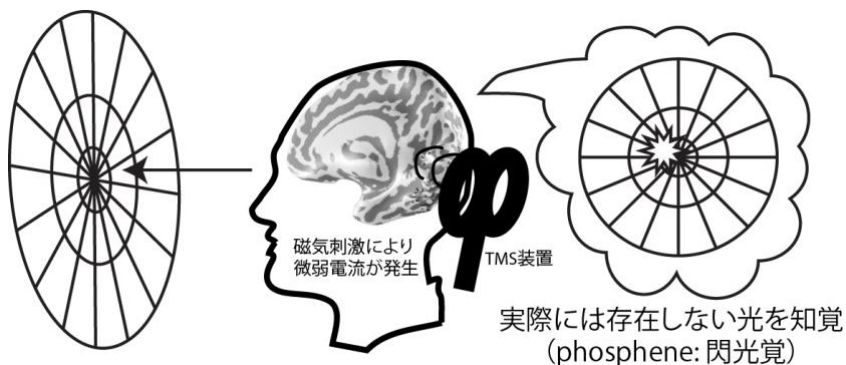
この仮説を検証するために、本研究ではヒト視覚野における可塑性・安定性に関して、視覚体験の側面から評価する。両眼の中心暗点を有するが、網膜変性細胞の異なる JMD、LHON 患者被験者に対して、経頭蓋磁気刺激法(TMS: transcranial magnetic stimulation)、および経頭蓋交流刺激法(tACS: transcranial alternating current stimulation)などの非侵襲的刺激を用いたとき、それぞれの患者がどのような視覚体験を経験するかについて解析する。これらの刺激装置は、通常の被験者であれば、被験者は実際に存在しない光である phosphene(閃光覚)を知覚する。もし、われわれの仮説が正しければ、2 群の被験者において異なる視覚体験を有することになる。

(2) 中心視野障害をきたす変性疾患の MRI データは取得できたものの、脳刺激に対する患者の抵抗は強く正常人のみの研究にとどまった。しかし、正常者でも脳刺激による閃光覚の再現性に個体差があり、ナビゲーションを用いて第1次視覚野に TMS の刺激を行うことは可能であったが、閃光覚を評価することが困難であった。そのため変性疾患患者の対象を比較的有病率の高く、中心視野障害をきたす加齢黄斑変性疾患の患者を対象とした視覚障害者の脳視覚神経路の構造学的変化を調べるため diffusion MRI 解析を行った。

### 3. 研究の方法

(1) 中心視野障害を有する網膜変性細胞の異なる若年性黄斑変性(JMD)とレーベル遺伝性視神経症(LHON)の2群の対照被験者に対して、第一次視覚野(V1)における中心視野投射領域の存在する後頭葉後部を経頭蓋磁気刺激法(TMS: transcranial magnetic stimulation)、および経頭蓋交流刺激法(tACS: transcranial alternating current stimulation)で刺激して、その際の中心暗点内の phosphene(閃光覚)出現の有無を確認する。Phosphene が出現した場合、その視野上の位置、形状、色などについて、できるだけ定量的に計測・評価する。さらに、網膜

変性細胞の相違による機能の相違点を明確にして、他のヒト脳可塑性研究の知見と総合して視覚神経回路の機能と構築に関するモデルを作成する。



被験者は phosphene の詳細を記入できるボードの 30cm 前に座る。刺激後に phosphene を自覚した場合には、その位置や性状をボードに記入する(上図)。中心固視が不能な被験者では、左示指を固視点・視覚座標の中心の参照とすることで、phosphene を右手で報告して視野上の位置を正確に計測する。

(2)対象は眼科的検査、具体的には矯正視力検査、眼圧、細隙灯検査、眼底検査、光干渉断層計を行い、二人の経験ある眼科医が加齢黄斑変性 (Age-related macular degeneration; AMD) と診断した 8 人の AMD 患者と正常視覚で脳疾患のない 12 人の正常者である。

8 人の AMD 患者は男性 7 名、女性 1 名、平均年齢は 74.8 歳、であった。両眼性の AMD は 6 人であった。すべての患者が抗 VEGF (vascular endothelial growth factor) 薬による加療を受けていた。12 人の正常者は脳疾患の既往もなく、視力障害のない男性 6 名、女性 6 名、平均年齢は 65.3 歳であった。

Benson ら 6)7) はこれまでの fMRI 視野測定から、解剖画像のみから V1、V2 の視野地図を推定するテンプレートを発表した。この方法を用いることで、中心視野障害を有する AMD においても V1 の視野地図を定義することが出来る。つまりは視野障害部位に対応する視放射線維を分離検討することが出来る。この方法をもちいて AMD 患者の視放射線維で視放射線の中心 3 度、15 度、30 度より外側の V1 に終着する視放射線維の散異方性を正常群と比較検討した。本研究で使われている MRI データ処理は前研究の小川らと同様である。簡潔にその方法を下記に示す。

すべての症例に対し、高解像度 T1 画像を撮像した。撮像は、three-dimensional-spoiled gradient recalled acquisition in the steady state (SPGR) sequence (1×1×1 mm voxel size; 9 minutes, 18 seconds) を使用した。スキャナーは 3T MAGNETOM Trio Tim (Siemens, Erlangen, Germany) で、12-channel の head coil を用いて玉川大学で行った。頭部の動きを抑えるため、パッドとストラップで頭部を固定した。

拡散強調画像は、317 秒の反復全脳スキャンを用いた。パルスシークエンスは、single shot spin echo, (echo time (TE) ; 93ms, 7.5 seconds repetition time (TR) ; 7.5s, field of view ; 230mm, matrix size; 230×56, bandwidth; ±1562Hz/Px) とした。b 値は 0 と 1000s/mm<sup>2</sup>, 1.8mm 幅 (no gap)、56 水平断面画像を得た。高 b 値データは 12 方向の傾きから得た。

解剖画像は、前交連-後交連面 (AC-PC 面) に設定した。このための解剖学的ランドマーク、前交連、後交連、正中面の設定は手動で行い、これらのランドマークを用いて解剖画像を AC-PC 面に調整した。

拡散強調画像は渦電流補正、動き補正をした上で、高解像度解剖画像に調整した。標準化相互情報を最大化するため二段階コースアンドファインを用いて、拡散強調画像を b=0 非拡散強調画像に重ねた。この b=0 非拡散強調画像は、rigid body mutual information algorithm を用いて自動的に T1 強調画像に調節した。測定したデータの位相符号化方向 (phase-encode direction) から予想される過電流による歪みに基づき、14 パラメーターの強制非線形重ねあわせで渦電流と動き補正を行った。リサンプリングの段階で渦電流濃度補正を行った。未加工の拡散配列を 2mm の立方体にリサンブルした。

テンソルの固有分解を算出し、導かれた固有値から fractional anisotropy (FA) 値を算出した。FA 値は 3 固有値の一般標準偏差で、フィットした楕円球がどれだけ異方性を示す。mean diffusivity (MD) は 3 つの固有値の平均値であり、拡散テンソルの 1/3 と同量となる。最長の軸にそった拡散を axial diffusivity (AD) という。その他の 2 つの軸方向の拡散の平均を radial diffusivity (RD) という。これらのイメージ解析にはオープンソースである mrDiffusion (<https://github.com/vistalab/vistasoft>) を用いた。

FreeSurfer (version 5.1.0; <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>) をもちいて脳灰白質表面の分割、同定を行い、第一次視覚野 (V1) と視交叉の特定した。外側膝状体のおおよその場所は高解像度画像で手動的に決定した。

私たちは視索と視交叉を以前から報告のある確率論的トラクトグラフィーを用いて特定した。

算出した拡散強調画像の測定値は、各線維の各分節において算出された；Fractional Anisotropy (FA)、Mean Diffusivity (MD)、Radial Diffusivity (RD)、Axial Diffusivity (AD)。視索、視放線に沿って100箇所ではこれらの値を測定した。それらはトラクトプロファイルと呼ばれている。その測定でトラクトプロファイルを可視化することができ、患者と正常者を比較検討することができる。

AMD患者と正常対照群の視放線トラクトプロファイルを比較した。そのために各分節の拡散強調測定値の平均と標準偏差を求めた。パーシャルボリューム効果を避けるため、視索、視放線ともに最初と最後の10%を解析から除外した。以前からの報告と同様に、対応のない2群間のt検定で統計学的に解析を行った。

視索と視放線の解剖学的な同定を行ったことに加えて、視放線が投射する第一次視覚野において視野偏心度別に区分し、偏心度毎の神経線維を特定した。これはヒトの第一次視覚野は視野地図が構造が安定しているからである。つまり網膜上で近接した神経節細胞から投射された神経細胞は外側膝状体でも近接しており、外側膝状体上で近接した神経細胞で投射されたV1の神経細胞はV1上でも近接しているという関係が保存されている。

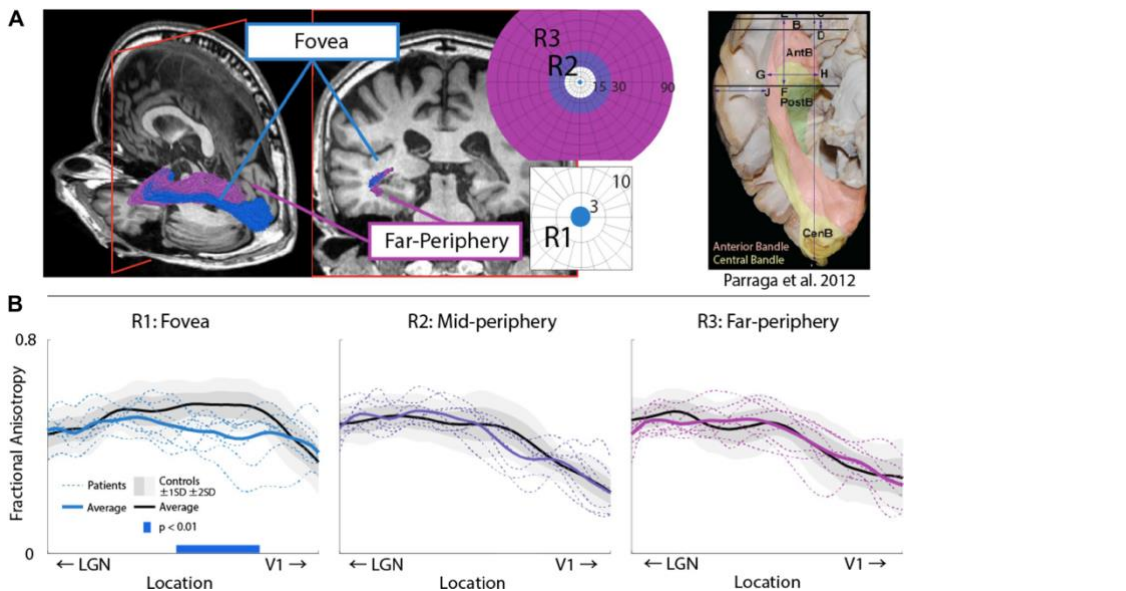
本研究ではBensonらが報告した方法を用いてV1を視野偏心度別に3つの領域に分けた。その3領域に投射される神経線維をそれぞれ、R1:中心視野0-3°、R2:中心視野15-30°、R3:中心視野30-90°に相当する神経線維と定義した(下図)。しかし、dMRIの解像度や個人差があるため、確実にR1, R2, R3を同定することはできない。そのため私たちはR1, R2, R3をそれぞれ、中心窩、比較的周辺、周辺視野領域とした。

視力と視放線白質の障害の範囲の関係性について検討した。視放線、視索は左右の両眼の情報を合わせ持つので、白質の測定値(FA, MD, AD, RD)は両側の値を平均したもので解析した。その結果を図に示す。

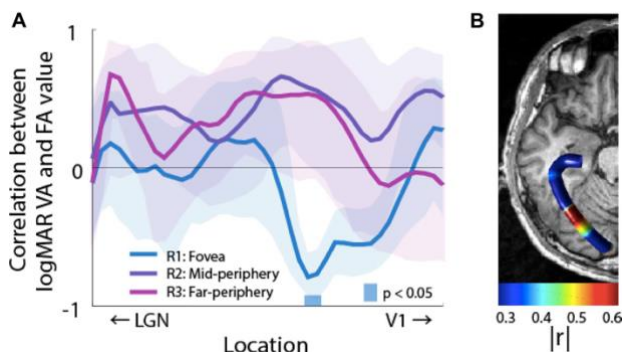
#### 4. 研究成果

(1) 脳刺激に対する患者の抵抗は強く正常人のみの研究にとどまった。しかし、正常者でも脳刺激による閃光覚の再現性に個体差があり、ナビゲーションを用いて第1次視覚野にTMSの刺激を行うことは可能であったが、閃光覚を評価することが困難であった。

(2) 視野偏心度別の視放線白質は図のように、トラクトグラフィを用いて視放線白質線維を偏心度別に描出できた。それは死体脳と同様の白質線維の走行となっていることがわかる。(下図A) 中心視野障害のあるAMDではその中心視野障害のに相当するFA値が有意低下していることがわかった。中間視野、周辺視野にはそのような有意な変化を認めなかった。

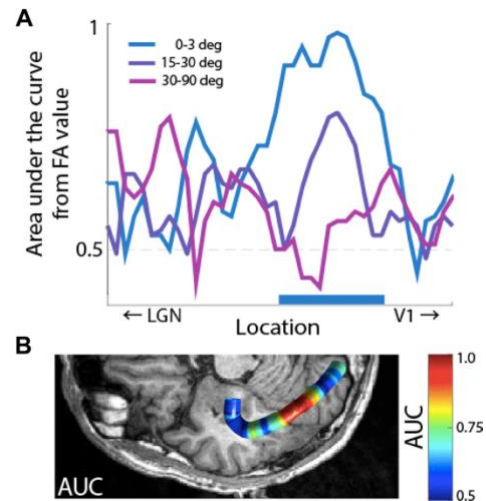


視力と視放線の障害が相関する場所について検討した。図のように視力が悪ければ悪いほど中心視野の白質線維のFA値の低下を有意に認められた部位が中心視野の視放線白質にある部位にのみ認められた。



さらにサブ解析として、視放線白質の神経線維の FA 値で眼疾患と正常者を判別できるかをロジスティック回帰を用いて検討した。AUC が高く有意差があった場所は中心視野の視放線上にあり、解剖学的場所を示すことができた。

これらの結果をまとめると加齢黄斑変性により視放線白質の部位に構造変化きたした可能性が示唆された。その部位は視力にも関連し、眼疾患と正常者を FA 値もって区別できうる可能性があった。このことは今後の視覚再建治療の際に、MRI のみの非侵襲的検査で治療の適応や治療効果判定にも用いることができる可能性がある。



#### <引用文献>

- 1) Wandell and Smirnakis : Plasticity and stability of visual field maps in adult primary visual cortex. *Nat Rev Neurosci.* 2009 December ; 10(12): 873-884.
- 2) Stelios M. Smirnakis et al : Lack of long-term cortical reorganization after macaque retinal lesions. *Nature* Vol 435 19: 300-307, 2005.
- 3) Masuda Y, Dumoulin SO, Nakadomari S, Wandell BA : V1 Projection Zone Signals in Human Macular Degeneration Depend on Task, not Stimulus. *Cereb Cortex* 18 : 2483-93, 2008
- 4) Masuda Y, Horiguchi H, Dumoulin SO, Miyauchi S, Nakadomari S, Wandell BA: Task-dependent V1 Responses in Human Retinitis Pigmentosa. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 51 : 5356-64, 2010
- 5) 増田洋一郎 : ヒト第一次視覚野の可塑性と安定性. *神経眼科* 26 : 371-381, 2009
- 6) Benson NC, Butt OH, Ritobrato D, Radoeva PD, Brainard DH, Aguirre GK (2012) The retinotopic organization of striate cortex is well predicted by surface topology. *Current Biol* 22(21):2081-2085
- 7) Benson NC, Butt OH, Brainard DH, Aguirre GK (2014) Correction of distortion in flattened representations of the cortical surface allows prediction of V1-V3 functional organization from anatomy. *PLoS Comput Biol* 10(3):e1003538

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

Yoshimine S, Ogawa S, Horiguchi H, Terao M, Miyazaki A, Matsumoto K, Tsuneoka H, Nakano T, Masuda Y, Pestilli F, Age-related macular degeneration affects the optic radiation white matter projecting to locations of retinal damage, *Brain Struct Funct.* 2018; 223: 3889-900.

<https://doi.org/10.1007/s00429-018-1702-5>

〔学会発表〕 (計 1 件)

吉嶺松洋、小川俊平、堀口浩史、宮崎淳、寺尾将彦、林孝彰、増田洋一郎、常岡寛、視野偏心性に基づいた加齢黄斑変性患者の視路白質変化、第 5 回日本視野学会学術集会、神戸、2016 年  
〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：  
ローマ字氏名：  
所属研究機関名：  
部局名：  
職名：  
研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。