

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06819

研究課題名(和文)黄斑疾患における補償光学搭載光干渉断層計を用いた網脈絡膜循環のライブイメージング

研究課題名(英文)High-resolution Imaging of Microcirculation in Living Humans Using Adaptive Optics Optical Coherence Tomography

研究代表者

宇治 彰人(Uji, Akihito)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：60534302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：OCTAについては、研究代表者が提唱してきた加算平均OCTAと同等の画質を維持しながら、問題点であった高速化をいかに達成するのが課題としてあがったが、Canon社の協力のもと、加算平均OCTAを教師画像として単回撮影のOCTAとペアを組み合わせることでdeep learningを行い、単回撮影のみでも高画質な画像が得られることに成功した。AO-OCTを用いて従来観察できなかったガングリオン細胞のOCT B-scanでの可視化に世界で初めて成功し、またそれが定量可能であることが分かった。12名の正常眼では有意に年齢とともに細胞の数が減少し、また緑内障の検討においても明らかに密度の減少を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

補償光学を用いることで、従来可視化できなかった網膜の微細構造がOCTでも可視化できることが示された。また人工知能を用いることでOCT imagingが飛躍的に良化することが示された。非侵襲的に病理組織並みの画像が得られることにより、黄斑疾患の早期発見、早期治療の実現、病態解明や創薬の領域において細胞レベルでのモニタリングにも貢献できると考えられる。今回の研究で得られた知見は国内メーカー、研究所のハードウェア、ソフトウェア開発に大きな影響を与えると考えられ、それらの国際競争力を高め、網膜画像研究を加速させることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Human retinal ganglion cells (RGCs) in healthy eyes were successfully visualized and evaluated in vivo by using the prototype AO-OCT system. The cells detected in the GCL were highly concordant with histological investigations of the human eye that have been previously reported. The cell density was negatively correlated with age. The impact of deep learning reconstruction (DLR) method on quantitative measurements of retinal microvasculature and image quality of optical coherence tomography angiography (OCTA) has been investigated. We found that DLR image has much better image quality than averaged OCTA image in shorter time.

研究分野：網膜画像研究

キーワード：補償光学 網膜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、網膜の光学イメージング技術が進歩し、生体網膜を非侵襲的に高解像度で観察することができるようになってきている。中でも、補償光学 (**Adaptive Optics: AO**) の眼底イメージングへの応用が注目されている。従来、眼底イメージング機器を用いた生体眼の観察では角膜や水晶体の歪みによる収差によって面分解能が低下し、細胞レベルでの観察は困難であったが、眼底観察装置に眼球全体の収差を補正する **AO** を導入することにより高分解能の形態イメージングを実現できるようになった。補償光学を適応した走査型レーザー検眼鏡 (**AO-SLO**) は現在のところ販売はされていないが、散乱光の混入が少ない共焦点方式による撮像方法であり、コントラストの高い鮮明な像が得られるのが特徴である。申請者は、国産の **AO-SLO** プロトタイプ機を用いて、非侵襲的に網膜血管における病的变化を細胞レベルで直接捉え、微小血管障害の定量的評価方法の確立、予防法・治療の探求に関する研究を続けてきた。

AOLSO は従来の検査方法に比べて格段に解像度の高い画像を得られるだけでなく、網膜血流速度変化や血球成分の継時変化といった機能評価も可能でありその臨床的意義は高い。しかしながら、ハードウェアの問題点として、**AO-SLO** では3次元的な形態の解析は行えず、またイメージングの光源の深達度が低いことから網膜よりさらに外層に存在する脈絡膜血管の評価ができないことが挙げられる。網膜は網膜血流と脈絡膜血流の2種類の血管系を持ち、光情報を神経信号に変換する視細胞は網膜外層に位置するため、網膜にありながらその栄養は脈絡膜血管より受ける。そのため、視細胞を栄養する血管系の評価には脈絡膜血管、特に視細胞を直接裏打ちする脈絡毛細血管板の評価が必須であるが、従来の検査機器では光深達度が悪いことと、毛細血管板を描出するだけの面分解能がないことが問題となり、蛍光眼底造影を用いてマクロなイメージングをする以外には網膜疾患やその治療後の視細胞の循環評価は従来不可能であった。しかしながら、眼球内の血管系を制御する抗 **VEGF (vascular endothelial growth factor)** 製剤の眼球内注射といった分子標的治療が一般的になり、**iPS** 細胞を用いた網膜 (部分) 移植が新しい治療方法として有望視される現状を鑑みれば、**AO** を用いた面分解能の高いイメージングは次世代の網膜循環評価システムとして有用であると期待される。光干渉断層計 (**OCT**) は非侵襲的に網膜断層写真を得ることができる機器で、眼科診療の現場で広く普及している。近年の画像解析技術の進歩により、従来よりも高品位な3次元画像解析を可能とする **En face OCT** イメージング技術や非侵襲的に網膜血管造影像を得ることができる **OCT angiography (OCTA)** 技術の開発など、**OCT** を用いた3次元解析技術の開発に対する需要が急速に高まっている。細胞レベルの観察は難しくても、高深達度で3次元的な血管の解析に関しては、**OCT** の方が普及率、撮影の簡便性なども含めて総合的にみてよりリーズナブルと言える。

2. 研究の目的

本研究の目的は、**OCT** 撮影において、その光学系に **AO** を加えることにより (**AO-OCT**)、深さ分解能だけでなく、面分解能の高い3次元網膜イメージングを実現することと、これに **OCTA** 技術を適応することで、黄斑部における網脈絡膜血管系を毛細血管レベルで描出し、今までに生体眼において直接確認できなかった黄斑疾患における血管形態異常と視細胞の形態異常の細胞レベルでの関連性を解明することである。

3. 研究の方法

<平成29年度>

1) **AO-OCT** の開発: Canon 社の協力のもと **AO-OCT** プロトタイプ機の開発にすでに着手している。平成29年度中に撮影可能なプロトタイプ機を構築し、正常被験者における撮影を開始する。すでに設置済みの **AO-SLO** に **OCT** を組み込む形で完成する予定であり、**AO-OCT** においてひずみの少ない安定した **B-scan** 画像を取得する上で必須のトラッキングシステムは、同時撮影の **AO-SLO** のトラッキング情報を適用することで実現可能となる。**B-scan** 画像に加えて、黄斑部における **cube scan** を施行し、**En face** 画像の評価を行う。これにより、網膜各層及び脈絡膜の選択的な描出が可能となる。また、将来の **OCTA** の導入を考えて、**decorrelation signal** 検出のために **cube scan** は複数回撮影を行う。固視不良や、眼球サイズの違いなどに由来するアーチファクトの影響を解析し、ソフトウェア開発にフィードバックさせる。

2) 高解像度 **OCTA (HR-OCTA)** の開発: **AO** を適用しない場合、**OCTA** 画像は **AO-SLO** と比較すると解像度が低い。特に、深層にあり、かつ緻密な脈絡毛細血管板は網膜毛細血管よりも描出が困難である。装置本来の面分解能の低さに加えて、画像に光走査により生じるノイズがあり、十分に血流信号が分離できず不連続な血管像を描出するのが低解像度の原因である。装置本来の面分解能の向上には将来的に融合する **AO** 技術が不可欠であるが、ノイズと血管像の不連続性の改善だけでも理論的には、脈絡毛細血管板の描出は可能である。我々の予備研究ですでに開発中の技術で描出可能であることを確認しているが、レジストレーション方法や演算時間の短縮を含むアルゴリズムの改善を行う予定である。加齢黄斑変性症、糖尿病黄斑症、中心性漿液性脈絡網膜症などの疾患眼での撮影を行い定量解析手法について検討する。**HR-OCTA** 技術は **AO-OCT** で撮影したデータにも適応可能であり、検討した解析手法は次年度の **O-OCT** を用いた **OCTA** 処理の研究において適用する。また、**Swept-source** 光源搭載、高速スキャンの **OCTA** 機器を導入し、より深部の血管系の評価への **HR-OCTA** の影響を正常被験者において調べる。

<平成30年度>

3) AO-OCT を用いた疾患眼における網膜・脈絡膜の観察: AO-OCT プロトタイプ機を用いて加齢黄斑変性症、糖尿病黄斑症、中心性漿液性脈絡網膜症などの疾患眼での撮影を行い、定量的画像解析を行う。当科で長く行ってきた AO-SLO 研究で培った解析手法を用いることで、視細胞密度、視細胞配列、血管径(外径、内径、壁厚)の定量を行い、視力、変視症、視野との関連を解析する。またこれらパラメータの抗 VEGF 製剤を用いた治療効果、血糖コントロール、血圧コントロールに伴う変化を観察し、病勢の指標を探索する。

4) AO-OCT における HR-OCTA 技術の適用: AO-OCT で取得したデータに対して OCTA 処理を行い、高解像度の血管像の生成を行う。AO の有無による OCTA 画質の差(OCTA vs. AO-OCTA)を検討する。面分解能の向上に伴い AO-OCTA のほうがより緻密な血管像を抽出できると期待される。特に脈絡膜毛細血管板のメッシュワーク構造の詳細な観察が可能となり、黄斑疾患における視細胞障害と脈絡膜毛細血管板障害の同時観察は病態の解明に大きく貢献できると考えられる。具体的には、糖尿病、高血圧症などの生活習慣病、緑内障、網膜静脈閉塞症、黄斑変性症などの眼底疾患における AO-OCT の撮影、AO-OCTA の解析を行い、また正常データベースとの比較を行う。解析項目は HR-OCTA の解析において有用と考えられている、血管密度(vessel density, vessel length density) 脈絡毛細血管板における Flow voids のサイズ・個数を予定している。

5) AO-OCTA を用いた血流動態の評価: 我々の予備実験より、OCTA の連続撮影により微小循環”動態”についても評価できると考えている。HR-OCTA で使用するレジストレーション技術を用いて、連続するフレームから、血流の変動を画像化、定量化する。正常被験者に加えて、生活習慣病、緑内障、網膜静脈閉塞症、黄斑変性症などの眼底疾患における解析を行う。AO-OCTA システムは AO-SLO との同時撮影を行うため、研究代表者が従来行ってきた AO-SLO を用いた微小循環評価系との比較も可能である。

6) AO-OCT 画像評価の基礎的検討: これまでに AO-SLO で得られた高解像度視細胞像を組織標本と対比させて確認した報告はない。カニクイサルを用いて AO-SLO 画像を撮影、組織切片との対比比較を行う。また、網膜虚血モデルを用いて、網膜虚血と網膜血管壁の変化についても関連性を解析する。サルの虚血モデルは血管内皮増殖因子を硝子体内注射することで作製(Tolentino, Ophthalmology 1996)、AO-OCT、蛍光眼底造影検査を用いて網膜血管壁の厚みや血管壁を構成する細胞のライブイメージングを行い、微小循環障害のリアルタイムモニタリングを試みる。

4. 研究成果

平成29年度は AO-OCT の開発を行うと同時に、搭載予定である高解像度 OCTA (HR-OCTA) の開発、加齢黄斑変性症、糖尿病黄斑症、中心性漿液性脈絡網膜症などの疾患眼での撮影を行い定量的解析手法について検討してきた。多くの時間を AO-OCT の調整に割いたため疾患眼での撮影は予定通り H30 年度に行うこととなった。一方で、HR-OCTA については、研究代表者が提唱してきた加算平均 OCTA と同等の画質を維持しながら、問題点であった高速化をいかに達成するのが課題としてあがったが、Canon 社の協力のもと、これまでに撮りだめた加算平均 OCTA を教師画像として単回撮影の OCTA とペアを組み合わせることで deep learning を行い、単回撮影のみでも高画質な画像が得られることに成功した。平成30年度は AO-OCT を用いて緑内障眼での撮影を開始した。結果、従来観察できなかったガングリオン細胞の OCT B-scan での可視化に世界で初めて成功し、またそれが定量可能であることが分かった。12名の正常眼では有意に年齢とともに細胞の数が減少し、また緑内障眼13眼の検討においても明らかに密度の減少を認めた。HR-OCTA における deep learning の精度を114眼の疾患眼を用いて検討し、その有用性と問題点に関する検討を行ったが、2019年4月に本技術は商品化され、市販 OCT に搭載されることとなった。カニクイサルを用いて AO-SLO 画像を撮影、組織切片との対比比較を予定していたが研究期間内には実施できなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計19件)

1: Uji A, Nittala MG, Hariri A, Velaga SB, Sadda SR. Directional kinetics analysis of the progression of geographic atrophy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2019 May 30. doi: 10.1007/s00417-019-04368-1. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31147841.

2: Akagi T, Uji A, Okamoto Y, Suda K, Kameda T, Nakanishi H, Ikeda HO, Miyake M, Nakano E, Motozawa N, Tsujikawa A. Anterior Segment Optical Coherence Tomography Angiography Imaging of Conjunctiva and Intrasclera in Treated Primary Open-Angle Glaucoma. Am J Ophthalmol. 2019 May 15. pii: S0002-9394(19)30228-4. doi: 10.1016/j.ajo.2019.05.008. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31102577.

- 3: Hosoda Y, Miyata M, [Uji A](#), Ooto S, Yamashiro K, Tamura H, Oishi A, Ueda-Arakawa N, Miyake M, Hata M, Muraoka Y, Takahashi A, Tsujikawa A. Novel Predictors of Visual Outcome in Anti-VEGF Therapy for Myopic Choroidal Neovascularization Derived Using OCT Angiography. *Ophthalmol Retina*. 2018 Nov;2(11):1118-1124. doi: 10.1016/j.oret.2018.04.011. Epub 2018 May 31. PubMed PMID: 31047549.
- 4: Ebraheem A, [Uji A](#), Saleh Abdelfattah N, Gupta Nittala M, Sadda S, Le PV. Relationship between the Presence of a Cilioretinal Artery and Subretinal Fluid in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmol Retina*. 2018 May;2(5):469-474. doi: 10.1016/j.oret.2017.09.003. Epub 2017 Nov 2. PubMed PMID: 31047327.
- 5: Kadomoto S, [Uji A](#), Muraoka Y, Akagi T, Miyata M, Tsujikawa A. A novel strategy for quantification of panoramic en face optical coherence tomography angiography scan field. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2019 Jun;257(6):1199-1206. doi: 10.1007/s00417-019-04310-5. Epub 2019 Apr 10. PubMed PMID: 30972485.
- 6: Miyata M, Oishi A, Hasegawa T, Oishi M, Numa S, Otsuka Y, [Uji A](#), Kadomoto S, Hata M, Ikeda HO, Tsujikawa A. Concentric Choriocapillaris Flow Deficits in Retinitis Pigmentosa Detected Using Wide-Angle Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019 Mar 1;60(4):1044-1049. doi: 10.1167/iops.18-26176. PubMed PMID: 30897619.
- 7: Yoshimura R, Choi DH, Fujimoto M, [Uji A](#), Hiwatashi F, Ohbayashi K. Dynamic optical coherence tomography imaging of the lacrimal passage with an extrinsic contrast agent. *Biomed Opt Express*. 2019 Feb 28;10(3):1482-1495. doi: 10.1364/BOE.10.001482. eCollection 2019 Mar 1. PubMed PMID: 30891362; PubMed Central PMCID: PMC6420300.
- 8: Borrelli E, Sadda SR, [Uji A](#), Querques G. Pearls and Pitfalls of Optical Coherence Tomography Angiography Imaging: A Review. *Ophthalmol Ther*. 2019 Jun;8(2):215-226. doi: 10.1007/s40123-019-0178-6. Epub 2019 Mar 13. Review. PubMed PMID: 30868418.
- 9: Muraoka Y, [Uji A](#), Ishikura M, Iida Y, Ooto S, Tsujikawa A. Segmentation of the Four-Layered Retinal Vasculature Using High-Resolution Optical Coherence Tomography Angiography Reveals the Microcirculation Unit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Dec 3;59(15):5847-5853. doi: 10.1167/iops.18-25301. PubMed PMID: 30535425.
- 10: Wakazono T, Yamashiro K, Miyake M, Hata M, Miyata M, [Uji A](#), Nakanishi H, Oishi A, Tamura H, Ooto S, Tsujikawa A. Time-Course Change in Eye Shape and Development of Staphyloma in Highly Myopic Eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Nov 1;59(13):5455-5461. doi: 10.1167/iops.18-24754. PubMed PMID: 30452599.
- 11: Kadomoto S, [Uji A](#), Tsujikawa A. Anterior Segment Optical Coherence Tomography Angiography in a Patient With Persistent Pupillary Membrane. *JAMA Ophthalmol*. 2018 Nov 1;136(11):e182932. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.2932. Epub 2018 Nov 8. PubMed PMID: 30418508.
- 12: Numa S, Akagi T, [Uji A](#), Suda K, Nakanishi H, Kameda T, Ikeda HO, Tsujikawa A. Visualization of the Lamina Cribrosa Microvasculature in Normal and Glaucomatous

Eyes: A Swept-source Optical Coherence Tomography Angiography Study. *J Glaucoma*. 2018 Nov;27(11):1032-1035. doi: 10.1097/IJG.0000000000001069. PubMed PMID: 30161079.

13: Nassisi M, Shi Y, Fan W, Borrelli E, Uji A, Ip MS, Sadda SR. Choriocapillaris impairment around the atrophic lesions in patients with geographic atrophy: a swept-source optical coherence tomography angiography study. *Br J Ophthalmol*. 2018 Aug 21. pii: bjophthalmol-2018-312643. doi: 10.1136/bjophthalmol-2018-312643. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30131381.

14: Borrelli E, Shi Y, Uji A, Balasubramanian S, Nassisi M, Sarraf D, Sadda SR. Topographic Analysis of the Choriocapillaris in Intermediate Age-related Macular Degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2018 Dec;196:34-43. doi: 10.1016/j.ajo.2018.08.014. Epub 2018 Aug 16. PubMed PMID: 30118688.

15: Akagi T, Uji A, Huang AS, Weinreb RN, Yamada T, Miyata M, Kameda T, Ikeda HO, Tsujikawa A. Conjunctival and Intrasccleral Vasculatures Assessed Using Anterior Segment Optical Coherence Tomography Angiography in Normal Eyes. *Am J Ophthalmol*. 2018 Dec;196:1-9. doi: 10.1016/j.ajo.2018.08.009. Epub 2018 Aug 9. PubMed PMID: 30099035; PubMed Central PMCID: PMC6284828.

16: Kido A, Uji A, Morooka S, Kuroda Y, Arichika S, Akagi T, Tsujikawa A. Outer Plexiform Layer Elevations as a Marker for Prior Ocular Attacks in Patients With Behcet's Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Jun 1;59(7):2828-2832. doi: 10.1167/iovs.18-24348. PubMed PMID: 30025143.

17: Fujimoto M, Uji A, Ogino K, Akagi T, Yoshimura N. Lacrimal Canaliculus Imaging Using Optical Coherence Tomography Dacryography. *Sci Rep*. 2018 Jun 28;8(1):9808. doi: 10.1038/s41598-018-27802-6. PubMed PMID: 29955074; PubMed Central PMCID: PMC6023928.

18: Uji A, Balasubramanian S, Lei J, Baghdasaryan E, Al-Sheikh M, Borrelli E, Sadda SR. Multiple enface image averaging for enhanced optical coherence tomography angiography imaging. *Acta Ophthalmol*. 2018 Nov;96(7):e820-e827. doi: 10.1111/aos.13740. Epub 2018 May 31. PubMed PMID: 29855147.

19: Fan W, Uji A, Borrelli E, Singer M, Sagong M, van Hemert J, Sadda SR. Precise Measurement of Retinal Vascular Bed Area and Density on Ultra-wide Fluorescein Angiography in Normal Subjects. *Am J Ophthalmol*. 2018 Apr;188:155-163. doi: 10.1016/j.ajo.2018.01.036. Epub 2018 Feb 8. PubMed PMID: 29428456.

〔学会発表〕(計 3件)

- 1) Masaharu Ishikura, Akihito Uji, Yuki Muraoka, Sotaro Ooto, Akitaka Tsujikawa. Visualization of Four-layered Retinal Vasculature; High-Resolution Optical Coherence Tomography Angiography versus nonconfocal adaptive optics scanning light ophthalmoscope. The Association for Research in Vision and Ophthalmology. 2018 (国際学会)
- 2) Akihito Uji. High contrast OCT angiography imaging using image averaging. 6th International OCT Angiography and "En Face" OCT Congress. 2018 (国際学会)
- 3) Akihito Uji. High-resolution Imaging of Microcirculation in Living Humans Using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy. The 3rd Taiwan-Japan Vitreoretinal Joint Meeting. 2018 (招待講演)(国際学会)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況（計0件）

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
研究協力者氏名：大音壮太郎
ローマ字氏名：Ooto Sotaro

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。