

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09948

研究課題名(和文) 補償光学適用光干渉断層計による萎縮型加齢黄斑変性の病態・治療研究

研究課題名(英文) Pathology and treatment for dry age-related macular degeneration using adaptive optics OCT

研究代表者

大音 壮太郎 (Sotaro, Ooto)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：10511850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：正常眼における補償光学光干渉断層計画像により、錐体細胞・ミュラー細胞の細胞体が描出されることを示し世界で初めて報告した。正常眼における脈絡膜毛細血管板の空隙は年齢と負の相関を認めた。萎縮型加齢黄斑変性において、地図状萎縮病巣から0.5mm離れた部位の錐体細胞細胞体の密度は正常眼に比べて有意に低下していた。またシュードルゼンを認める症例においては、錐体細胞細胞体の密度低下がより顕著であった。更に網膜色素上皮下の沈着物の描出に初めて成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AO-OCTにより、正常眼および萎縮型加齢黄斑変性症例で錐体細胞・ミュラー細胞の細胞体が描出されることを示し、世界で初めて報告した。萎縮型加齢黄斑変性では網膜色素上皮の異常に先行して視細胞細胞体の減少が観察された。以上の結果は萎縮型加齢黄斑変性が視細胞の変性を本態とすることを示唆する。また脈絡膜毛細血管板での密度低下を認め、虚血による視細胞異常が病態に関与していることが明らかとなった。これらの結果は新規の治療開発をすすめる手がかりとなる。

研究成果の概要(英文)：We firstly reported cone cell body and Muller cells in normal eyes using adaptive optics OCT. Mean total size and each size of flow voids, which shows spaces among mesh work structures of choriocapillaris, were 0.99 mm² and 567.8 μm². They were correlated negatively with age.

Mean cone cell body density 0.5 mm apart from geographic atrophy was significantly reduced in eyes with dry AMD, compared with normal eyes. These results were remarkable in eyes with pseudodrusen. We firstly reported deposits under retinal pigment epithelium using adaptive optics OCT.

研究分野：眼科学

キーワード：加齢黄斑変性 視細胞 脈絡膜 OCT 補償光学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

萎縮型 AMD は地図状萎縮が形成される加齢黄斑変性であり、進行性に視力障害・中心暗点をきたす。欧米の主なコホートでは 0.66 ~ 1.35% の有病率と報告され、中途失明の原因疾患として世界的に問題となっており、我が国でも増加傾向にある。滲出型 AMD の治療を目的にした新薬開発が世界各国で行われ、既に光線力学療法や抗 VEGF 治療が我が国でも承認されているのに対し、萎縮型 AMD については病態は未解明のまま現在に至るまで有効な治療法がない。萎縮型 AMD の病態が未解明である理由の一つに、病理組織研究がわずかしかないことがあげられ、組織学的研究が求められている。

近年、天文学の分野で開発されてきた補償光学(adaptive optics: AO)を眼底イメージングに応用することにより、高解像度のイメージングを実現できるようになった。AO を走査型レーザー検眼鏡(SLO)に適用した AO-SLO では、非侵襲的に視細胞を内節~外節レベルでイメージングすることができる。しかしながら AO-SLO では三次元構造に関する情報が乏しく、視細胞以外の細胞イメージングは困難であった。

研究代表者らは、次世代の AO イメージングとして AO-OCT を開発している。AO-OCT により、面分解能・深さ分解能がともに 3 μ m まで改善され、視細胞のみならず、網膜色素上皮細胞、脈絡毛細血管板までイメージングできる。更に三次元としてデータが取得可能で、病理標本に近いレベルでの観察、解析が可能となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は開発した AO-OCT を用いて萎縮型 AMD の視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板を可視化し、詳細な組織学的病態解析を行うことにある。視細胞錐体・桿体細胞変性と網膜色素上皮細胞変性との関係、脈絡毛細血管板との関係、軟性ドルーゼン・pseudodrusen・石灰化ドルーゼンとの関係、complement factor H (CFH) 遺伝子や age-related maculopathy susceptibility 2 (ARMS2) 遺伝子などの遺伝子多型との関係を多角的に検討する。

3. 研究の方法

AO-OCT で得られる黄斑部視細胞・脈絡毛細血管板の正常データの蓄積

京都大学医学部附属病院内に設置した AO-OCT により、萎縮型 AMD 症例と年齢・性別がマッチした正常ボランティアの黄斑部視細胞の細胞密度、細胞形態に関するデータ、脈絡毛細血管板の血管密度、血管形態・配列に関するデータを蓄積した。対象者は 20-80 歳の健康者(眼科疾患の既往歴をもたないもの)とした。各年代 20 名程度のボランティア募集を行い、のべ 81 名撮影した。中心窩から 0.5mm, 1mm, 2mm の各細胞像を上・下・鼻・耳側で取得した。

AO-OCT による萎縮型 AMD の黄斑部視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板の形態評価

AO-OCT により、萎縮型 AMD 患者の黄斑部視細胞・脈絡毛細血管板を経時的に観察し、細胞密度、細胞形態、血管密度・形態・配列に関するデータを蓄積し、地図状萎縮の進行に関するパラメータを探求した。更に軟性ドルーゼン・pseudodrusen・石灰化ドルーゼンが視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板に与える影響について形態的に考察した。のべ 48 名撮影した。経時的变化を観察するため、6 ヶ月に一度検査を行った。中心窩から 0.5mm, 1mm, 2mm の各細胞像を上・下・鼻・耳側で取得し、2 回目以降の撮影では初回と同部位を測定した。

Multimodal Imaging による網膜色素上皮細胞・脈絡膜毛細血管の評価

得られた正常および萎縮型 AMD 患者の黄斑部視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板の形態に関するデータと、眼底自発蛍光のシグナルで示される網膜色素上皮の機能・OCT angiography の加算平均画像で得られる脈絡膜毛細血管の形態との関連を検討した。またマイクロペリメトリから得られる視機能(網膜感度)との関連を検討した。

遺伝子多型と視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板異常

萎縮型 AMD 患者・正常対照者から採血を行い、DNA サンプルを保存した。DNA サンプルを用いて近年 AMD の発症・進展に関与する因子として報告されている CFH, ARMS2, C3, C2, CFB, ApoE 遺伝子等の様々なターゲット部位を PCR 増幅し、ダイレクトシーケンス法または Taqman SNP assay で遺伝子多型を検出した。種々の遺伝子多型と視細胞・網膜色素上皮細胞・脈絡毛細血管板の形態異常にどのような関連があるかを検討した。

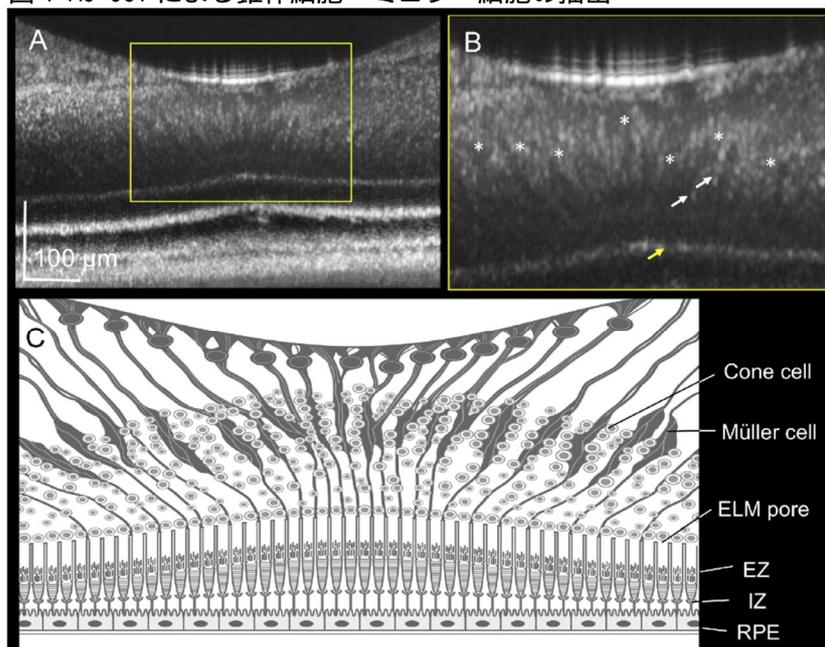
4. 研究成果

A0-OCT で得られた黄斑部視細胞・脈絡毛細血管板の正常データ

正常眼における A0-OCT の B スキャン像により、外顆粒層に配列する高反射点を認めた。中心窩におけるこれらの高反射点の直径は平均 $12.7\ \mu\text{m}$ であり、平均密度は $6966\ \text{個}/\text{mm}^2$ であった。この高反射点の形態学的特徴は、組織標本における錐体細胞核と一致していた。更に、A0-OCT の B スキャン像は内境界膜から外境界膜まで漏斗状に存在する低反射像を示し、組織標本におけるミュラー細胞の形態学的特徴と一致していた (図 1)。

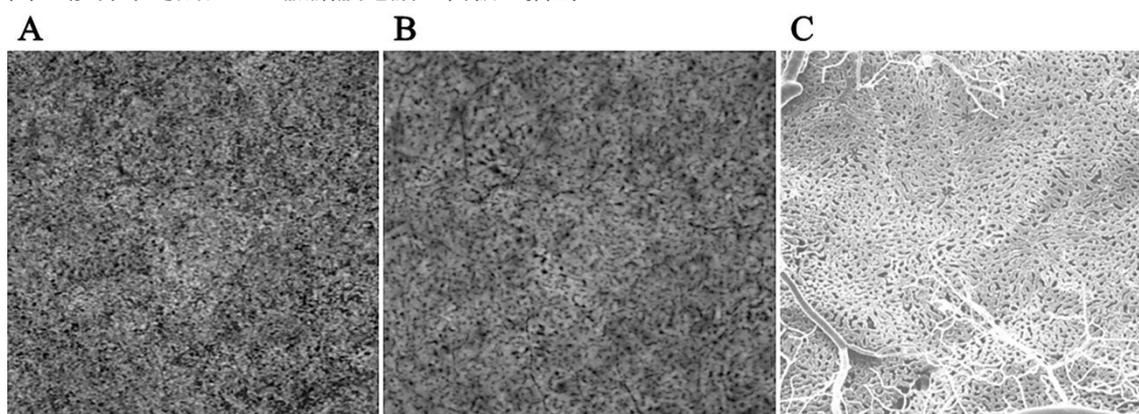
以上から、A0-OCT により錐体細胞・ミュラー細胞の細胞体が描出されることを示し、世界で初めて報告した (Kadomoto S, Muraoka Y, Uji A, Ooto S, et al. TVST 2021)。

図 1 A0-OCT による錐体細胞・ミュラー細胞の描出



次に OCT angiography による加算平均画像を用いて、脈絡膜毛細血管板の正常データを蓄積した。OCT angiography の 1 枚画像では脈絡膜毛細血管板の描出は困難であったが、加算平均することにより、組織標本レベルの画像を取得することが可能となった (図 2)。

図 2 加算平均法による脈絡膜毛細血管板の描出



この手法を用いて、正常眼における脈絡膜毛細血管板の形態学的特徴を解析した (Ichioka A, Ooto S, et al. Plos One 2021)。Flow void とよばれる脈絡膜毛細血管板の空隙は、平均 0.99mm^2 であり、個々の大きさは平均 $567.8\ \mu\text{mm}^2$ であった。これらは年齢と負の相関を認めた。眼軸長・脈絡膜厚・性別との関連はみられなかった。

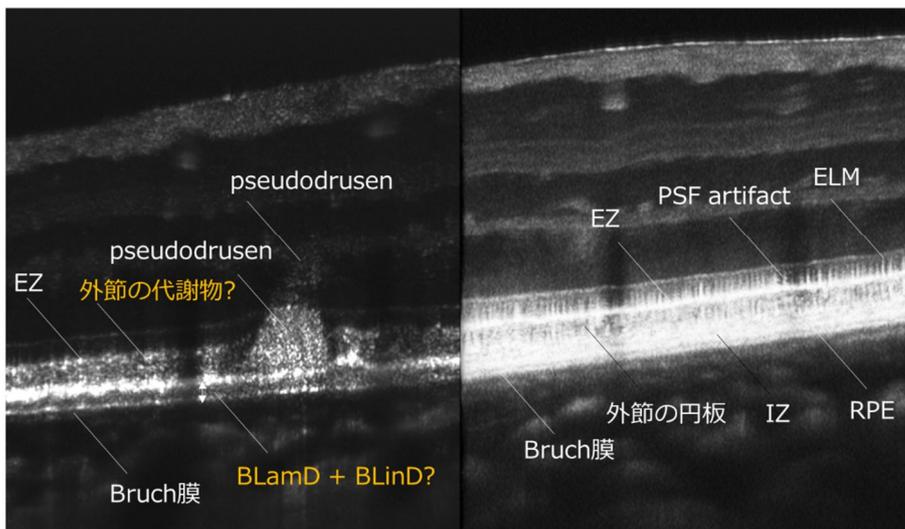
A0-OCT による萎縮型 AMD の黄斑部視細胞・脈絡膜毛細血管板の形態評価

畏縮型 AMD において、地図状萎縮病巣内は視細胞細胞体は消失していた。地図状萎縮病巣から 0.5mm 離れた部位の錐体細胞細胞体の密度を算出したところ、平均 $1936\ \text{個}/\text{mm}^2$ であり、正常眼に比べて有意に低下していた。また pseudodrusen を認める症例においては、錐体細胞細胞体の密度低下がより顕著であった。

また A0-OCT を用いて、pseudodrusen は粒状に描出され、さらに basal laminar deposits や

basal linear deposits と考えられる網膜色素上皮下の沈着物の描出に初めて成功した (図 3 : 投稿準備中)

図 3 AO-OCT による萎縮型 AMD 症例の pseudodrusen、網膜色素上皮下沈着物の描出



次に OCT angiography の加算平均画像を用いて萎縮型 AMD 症例における脈絡膜毛細血管板の構造を解析したところ、Flow void の面積は平均 1.14mm^2 であり、年齢をマッチさせた正常眼に比べて有意に低下していた ($P=0.002$)。個々の Flow void の大きさは 729mm^2 であり、正常眼に比べて拡大していた ($P=0.003$)。Flow void の拡大はドルーゼンを認める症例で顕著であった (Kamei T, Ooto S et al Retina in revision)

更に pachychoroid pigment epitheliopathy とよばれるパキコロイド関連疾患の中で初期のステージと考えられる病態において、Flow void の面積は平均 1.16mm^2 であり、年齢をマッチさせた正常眼に比べて有意に低下していた ($P<0.001$)。個々の Flow void の大きさは 790mm^2 であり、正常眼に比べて拡大していた ($P<0.001$)。この脈絡膜毛細血管板の密度低下は、拡張した脈絡膜大血管の位置によらず、びまん性の虚血所見と考えられた (Tagawa M, Ooto S, et al Plos One in revision)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kadomoto S, Muraoka Y, Uji A, Tamiya R, Ooto S, Murakami T, Oritani Y, Kawai K, Tsujikawa A	4. 巻 11
2. 論文標題 Ultrastructure and hemodynamics of microaneurysms in retinal vein occlusion examined by an offset pinhole adaptive optics scanning light ophthalmoscope	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomed Opt Express	6. 最初と最後の頁 6078-6092
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1364/BOE.402331	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kadomoto Shin, Muraoka Yuki, Uji Akihito, Ooto Sotaro, Kawai Kentaro, Ishikura Masaharu, Nishigori Naomi, Akagi Tadamichi, Tsujikawa Akitaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Human Foveal Cone and M?ller Cells Examined by Adaptive Optics Optical Coherence Tomography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Vision Science & Technology	6. 最初と最後の頁 17~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/tvst.10.11.17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大音壮太郎
2. 発表標題 AMD診療におけるOCT
3. 学会等名 日本眼科学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池田 華子 (Hanako Ikeda) (20372162)	京都大学・医学研究科・特定准教授 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	三宅 正裕 (Masahiro Miyake) (90812793)	京都大学・医学研究科・特定講師 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関