

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592256

研究課題名（和文）補償光学適応走査型レーザー検眼鏡を用いた
糖尿病網膜毛細血管での循環動態の解析研究課題名（英文）Hemodynamic analysis of parafoveal capillaries in eyes with diabetes
mellitus using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy

研究代表者

辻川 明孝 (AKITAKA TSUJIKAWA)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：40402846

研究成果の概要（和文）：補償光学適用 SLO により、黄斑部網膜の毛細血管を高輝度粒子が流れている像を観察できた。更に、種々の解析により、その高輝度粒子が、網膜毛細血管内を流れている個々の白血球にあたることが判明した。白血球は毛細血管の中で先頭を流れ、その後方には連銭形成をしめす赤血球が連なっている像が観察された。本装置を用いて、糖尿病患者、正常者の黄斑部周囲の毛細血管を流れる白血球速度を計測すると、糖尿病患者での平均白血球速度は正常人と有意な差は見られなかった。しかし、糖尿病患者では血流速度にばらつきが見られ、極端に流れの速い血管と遅い血管があることが分かった。このような現象は糖尿病網膜症発症の前駆段階での変化を観察している可能性があり、このような変化を自動で検出できることは、網膜症発症前の診断に有効であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：AO-SLO shows clearly hyperreflective particles moving within the macular area. By detailed analysis, these hyperreflective particles are showed to be derived from leukocytes flowing in the retinal capillaries. In the movies in AO-SLO, leukocytes were seen to accompany many erythrocytes in rouleau formation. We measured the velocities of leukocytes in the macular capillaries of healthy subjects and diabetic patients and found no differences in velocities of leukocytes in both groups. However, diabetic patients showed a wide diversity in the velocities of leukocytes and some leukocytes seemed to flow in a markedly reduced speed. This diversity may be associated with a very early change of diabetic retinopathy. The evaluation of this change might be of use to detect diabetic retinopathy before physicians can make a diagnosis with the use of fundus examination.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：補償光学，走査型レーザー検眼鏡，光干渉断層計，視細胞，血流，糖尿病

1. 研究開始当初の背景

市販の眼底カメラ、共焦点走査型レーザー検眼鏡（SLO）では眼底を細胞レベルでの観察を行うことができない理由の一つとして、個人ごとに異なって存在する眼球光学系全体の収差の存在がある。そこで、近年進歩の著しい補償光学を眼底カメラ、SLO に搭載し、網膜の個々の細胞を観察しようとする試みが近年行われている。その結果、3種類の錐体細胞の分布や、桿体錐体ジストロフィなどの遺伝性疾患で視細胞が変性している様子が報告されてきている。さらに、補償光学適用 SLO をビデオレートでの記録が可能となるように改良することにより、網膜毛細血管レベルでの白血球などの血球個々の動態を観察できる可能性が報告されている。しかし、いまだ、きちんとした形での報告はなされていない。

2. 研究の目的

本研究では、細胞レベルでの観察を可能とする眼底検査システムを構築し、臨床応用することである。視細胞レベルの分解能で網膜を観察するためには眼底において3 μm 前後の面内分解能が必要とされるが、市販の眼底カメラ、SLO にはそれほど面内分解能がない。そこで、個人毎に異なる眼球光学系全体の収差を補正する補償光学システムを SLO に適用することで高い分解能を得ることが可能となる。また、細胞レベルでの観察を行う程度にまで観察倍率を大きくした場合、固視微動が大きな障害となる。そこで、リアルタイムトラッキングシステムを導入することにより、固視微動を瞬時に打ち消し、眼底で視細胞、神経節細胞、血球などの個々の細胞の観察を可能とするシステムを構築することである。

本研究の目的は上記の補償光学適用 SLO を用いて、ヒト網膜での血球レベルでの血流動

態のリアルタイムな観察を行うことができるシステムを構築し、ヒト網膜毛細血管、細動静脈での血流動態、個々の血球の動態を評価することである。糖尿病網膜症や高血圧網膜症等の生活習慣病血管合併症では眼底に変化が生じる前から血流動態に変化が見られることはよく知られている。これら網膜症は細小血管障害であり、実験動物では毛細血管レベルでの血球循環動態の変化が報告されている。しかし、ヒトではこれまで網膜での個々の血球を観察する有効な方法が無かったこともあり、生体での評価は不可能であった。本研究ではこのシステムを利用して、生活習慣病患者での循環動態を評価し、病態解明に近づき、早期発見を行う方法を確立する。

3. 研究の方法

視細胞レベルでの観察が可能である補償光学システム適用 SLO の試作機は完成されており、模擬眼で眼底での3 μm の解像度が得られており、ヒト網膜においての視細胞・毛細血管・神経線維を観察が可能である。これからは、網膜での血球レベルでの血流動態の観察を行うことが可能となるシステムを構築するために、処理速度の高速化を行うことを経過している。更に、改良したシステムの正当性、信頼性を評価する。その後、実際に糖尿病患者において、網膜毛細血管における循環動態、血球動態を観察し、糖尿病網膜症の極早期における循環動態の評価を行うことを計画している。本年度は網膜での血球レベルでの血流動態の観察を行うことができるシステムを構築するために、処理速度の高速化を行う計画である。現在のシステムでは10-15Hz の処理が可能であるが、循環動態を解析するには不十分であり、30Hz のビデオレートでの撮影が可能となるように高速化を行う。

(1) 眼底トラッキング機能の向上により固視微動などの補正を高速で行うようにする。更に、平面分解能約 3 μ m の高解像度画像を獲得するために、リアルタイムに眼球全体の収差を計測し、測定光束が眼底をスキャンする前後で波面補正素子を 2 度通過させることで完全に眼球収差を取り除くシステムを採用しているが、処理速度を高め、ビデオレートでの観察を行うことができるようにシステムに改良する。更に、精細な静止画を得るためにスキャニングシステム、ディテクターの改良を行う。

(2) 完成したシステムを用いて血流・血球が正しく検出されていることを検証する。まず、正常状態で同一個体の網膜毛細血管レベルの血流量、個々の血球の動態を繰り返し計測し、測定値の誤差制度、信頼性を評価する。更に、同一個体での酸素負荷前後の網膜毛細血管の血流量、血流速度、血管径の変化を測定することにより、システムの正当性を検証する。

(3) 通常状態では網膜毛細血管内での白血球-血管内皮の相互作用（ローリング、プラグニング、アドヒージョン）はほとんど検出できないと予測される。これらの相互作用は病的状態では盛んに起こっている現象である。たばこ吸引などの負荷をかけた場合、循環動態に変化が生じるかは、他の組織での報告や動物実験からある程度推測される。本システムでも、同様の変化が生じることを示し、本システムの正当性を証明することを行い、このような個々の血球-網膜毛細血管との相互作用を評価できるシステムを確立する。

(4) 健常人の加齢に伴う網膜毛細血管レベルの血流量・血流速度・血管径変化を検討する。様々な年代の多くの研究ボランティアの網膜循環動態を測定し、データ収集することにより、加齢による変化を解析する。これらのデータを解析することにより、網膜の網膜毛細血管における血流・血流速度などの循環パラメータの年齢別正常値を求める。さらに、同一個体を複数回測定することから、検査データの測定値の信頼性・信頼区間を決定する。

(5) 糖尿病を有する患者の網膜毛細血管レベルの血流量、血流速度、血球-血管内皮細胞の相互作用を測定する。ヒトの研究では、これまではドプラーなどの測定法では網膜大血管での測定に限定されてきた。しかし、糖尿病網膜症は細小血管障害であり、毛細血管での変化がプライマリーであることは言うまでもまない。これまで、動物実験でしか行うことができなかった網膜症の初期変化を本システムによって捕らえることができる可能性がある。種々のステージの網膜症患者の循環状態の測定解析を行う。更に、網膜症の極早期変化をとらえ、早期診断に繋がる所見が得られるように、検眼鏡的には網膜症を確認できない糖尿病患者の、循環動態を解析する。

4. 研究成果

本システムにより、黄斑部網膜の毛細血管を高輝度粒子が流れている像を観察できた。更に、種々の解析により、その高輝度粒子が、網膜毛細血管内を流れている個々の白血球にあたることを判明した。白血球は毛細血管の中で先頭を流れ、その後方には連銭形成をしめす赤血球が連なっている像が観察された。本装置を用いて、糖尿病患者、正常者の黄斑部周囲の毛細血管を流れる白血球速度を計測すると、糖尿病患者での平均白血球速度は正常人と有意な差は見られなかった。しかし、糖尿病患者では血流速度にばらつきが見られ、極端に流れの速い血管と遅い血管があることが分かった。このような現象は糖尿病網膜症発症の前駆段階での変化を観察している可能性があり、このような変化を自動で検出できることは、網膜症発症前の診断に有効であると考えられた。

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 1 件)

Uji A, Hangai M, Ooto S, Takayama K, Arakawa N, Imamura H, Nozato K, Yoshimura N. The source of moving particles in

parafoveal capillaries detected by adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53:171-8.

(査読有、DOI:10.1167/iovs.11-8192)

[学会発表] (計4件)

① 宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、有近重太、高山弘平、荒川奈央子、吉村長久：補償光学を適用した走査レーザー検眼鏡を用いた糖尿病網膜症の血流評価、TEAM2011(第50回日本網膜硝子体学会・第28回日本眼循環学会・第17回日本糖尿病眼学会)、東京、2011. 12. 2-4.

② 宇治彰人、板谷正紀、大音壮太郎、高山弘平、荒川奈央子、有近重太、吉村長久：補償光学を適用した走査レーザー検眼鏡を用いた傍中心窩網膜毛細血管血流の観察、第47回日本眼光学学会総会、東京、2011. 9. 3-4.

③ Akihito Uji, Masanori Hangai, Sotaro Ooto, Nagahisa Yoshimura, Hiroshi Imamura: Hemodynamic analysis of parafoveal capillaries using AOSLO, Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), FortLauderdale, USA, 2011. 5. 5.

④ 大音壮太郎、AO-SLOによる眼底イメージング、第27回日本眼循環学会、神戸、2010. 7. 30

[その他]

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ganka/NEDO/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻川明孝 (AKITAKA TSUJIKAWA)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：40402846

(2) 研究分担者

山城健児 (KENJI YAMASHIRO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：80399617

大音壮太郎 (SOTARO OOTO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：10511850

(3) 連携研究者

なし