

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861628

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症における赤血球列の動態解析

研究課題名(英文) Hemodynamic analysis of erythrocyte aggregates in diabetic retinopathy using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy

研究代表者

宇治 彰人(Uji, Akihito)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60534302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病網膜症は網膜微小循環の障害がその本体である。補償光学(Adaptive Optics: AO)の眼底イメージングへの応用は、眼底の細胞レベルでの形態イメージングを実現できるようになった。我々は、補償光学を利用した走査型レーザー検眼鏡(adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy: AO-SLO)を用いて正常眼および糖尿病網膜症患者、糖尿病患者(非糖尿病網膜症)の傍中心窩毛細血管網を観察し、赤血球列の伸長率、速度に差があることを示した。時空間画像による血流の可視化、分類は糖尿病網膜症の病態解明や早期発見方法の確立に応用できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Diabetic retinopathy is one of the leading causes of visual impairment in Japan. Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy (AO-SLO) has enabled noninvasive and direct monitoring of blood flow. We analyzed the retinal hemorheologic characteristics using AO-SLO in normal subjects, diabetic patients without diabetic retinopathy (NDR), and diabetic patients with nonproliferative diabetic retinopathy (NPDR). Although differences in erythrocyte aggregate velocity in the parafoveal network were found between normal subjects and NPDR patients, but not between normal subjects and NDR patients, erythrocyte aggregates in NDR patients and NPDR patients showed lower elongation rates than those observed in normal subjects. Differences in the proportion of each type of ST image were found between normal subjects and diabetic patients, suggesting that ST images can be used to visualize subclinical rheologic changes related to retinopathy in diabetic patients.

研究分野：医師薬学

キーワード：補償光学 糖尿病網膜症 網膜循環

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症はわが国における後天性視覚障害の主要な原因の一つであり、網膜微小循環の障害がその本体である。動物実験によって網膜微小循環における白血球捕捉やそれによる血管内皮細胞の障害によって引き起こされる網膜血管透過性の亢進が糖尿病網膜症の発症原因の一つであることが知られているが、人眼における微小循環動態の解明が可能になれば病気の早期発見やより良い治療法の確立に有用であり、そのような技術の確立は社会的失明予防の観点からも重要である。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(Adaptive Optics: AO)の基本構成は歪んだ波面を波面センサーで測定し、波面を補正するようにリアルタイムに可変鏡を制御するというものである。糖尿病網膜症における網膜血流の変化に関する報告はAO-SLO以外のモダリティを含めれば多いが、例えば、流速に関しても早くなる、遅くなる、不変と内容は報告によって全く異なる。傍中心窩網膜毛細血管網に限ってみれば、AO-SLOを用いた評価では極端に流速が遅くなる血管が存在する一方で早くなる血管が存在し、平均化すれば正常被験者と差がないが、一部でこのようなネットワークが散在するのが病的と考えられる。患者の網膜を毛細血管レベルです

べてスキャンし、解析することができれば一つの評価方法として成り立つ可能性はあるが、実際には不可能である。つまり流速の評価は一つのパラメータではあるが、それだけでは病態をすべて捉えられるものではないと考えられ、新たな評価方法が求められている。そこで研究代表者は、AO-SLOを用いた赤血球列の非侵襲的なリアルタイムモニタリングを提唱し、研究開発を進めてきている。赤血球列の糖尿病網膜症における病的な変化は毛細血管の場所に依存しないものと考えられ、新たなパラメータとして糖尿病網膜症の病態解明や早期発見方法の確立に応用できると考えられる。

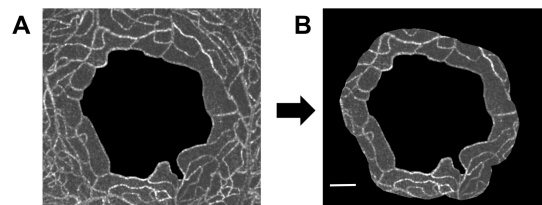
## 2. 研究の目的

AO-SLOを用いて非侵襲的に糖尿病網膜症における傍中心窩網膜毛細血管網内の赤血球列の変化をとらえ、糖尿病網膜症早期発見の手法につき検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 正常眼における赤血球列の観察

正常被験者5人を対象に、中心窩無灌流領域(FAZ)周囲から150 $\mu$ mの範囲内の赤血球列の分布を調べた。



(図1) AO-SLO動画から作成した血管網(移動体の軌跡)。FAZから50 $\mu$ mの範囲をドーナツ状に切りだし、解析の対象とした。

### (2) 糖尿病網膜症患者における赤血球列の観察

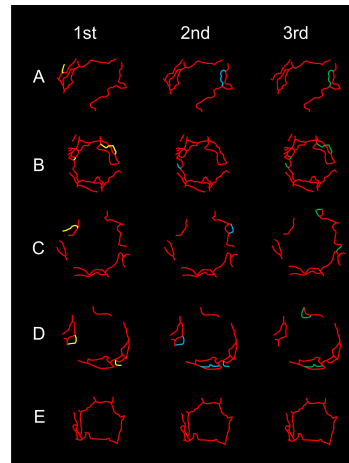
正常被験者、糖尿病網膜症患者(NPDR)、糖尿病患者(非糖尿病網膜症)(NDR)における

赤血球列の速度、伸長率（長さの変化）について計測、群間差を解析した。なお、パルスオキシメーターを用いて、心拍動とAO-SLO動画を同期させ、拍動による速度への影響を考慮し、平均値を求め、解析に使用した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 正常眼における赤血球列の観察

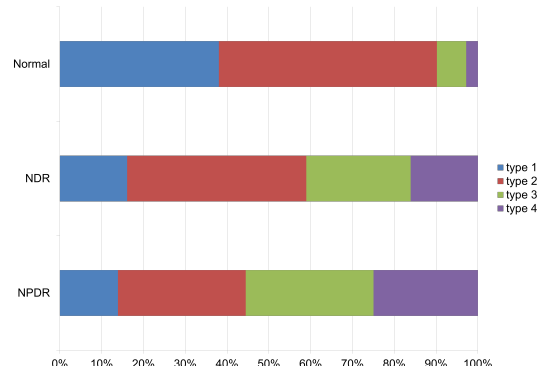
傍中心窩毛細血管網には赤血球列が流れやすい毛細血管（EAPPs）が存在し、また反対に plasma gap が優先的に流れる血管（plasma gap capillaries; PGCs）が存在することが判明し、異なる日時に撮影を行ってもほとんど変化は認められなかった。時空間画像を作製すると、EAPPs では高輝度あるいは低輝度の比較的太い軌跡が少ない頻度で認められるのに対して、PGCs では、単体の赤血球とその間の小さな plasma gap が細い無数の軌跡を形成し、拍動の影響を受けながら周期的に速度を変える様子が観察され、これら2つには血流に大きな違いがあると考えられた。このような役割分担は、白血球や赤血球列といった大きな物体がEAPPsに流入することで発生する急激な血流変化をPGCsが緩和する（relief valve）という仕組みを持つことで傍中心窩毛細血管網の安定した血流の維持に役立っていると考えられる。もし、何かの理由でPGCsが閉塞すれば、隣接するEAPPsにおける流速の上昇を、EAPPsの閉塞は隣接するPGCsにおける赤血球列のpluggingを誘発すると考えられ、このような役割分担の破たんが疾患におけるcapillary dropout進行の理由の一つになると想像される。



(図2) 被験者A～Eにおける3日間(1st, 2nd, 3rd)のEAPPsの(赤線)の変動。ほとんど変化を認めない。

##### (2) 糖尿病網膜症患者における赤血球列の観察

糖尿病網膜症(DR)のAO-SLOビデオにおいて、赤血球列の速度が一定ではなく不規則に変化する血管が複数個存在することが確認できた。赤血球列が突然急激な減速をし、また加速するといったものである。時空間画像を作製してみると、赤血球列の軌跡はある点で境にそのベクトルを変形していることが明確になる。これは血管の一部に抵抗が強くその部分を抜けるまではslow downし、抜けると加速するという現象を示していると考えられ、過去のアクリジンオレンジを用いた実験でも指摘されていた現象と重なるものである(図3、紫)。またその他にも、血管の分岐直後にもかかわらずdark tailが初めから長く、次の分岐までにほとんど伸長しないといった特徴的な所見も多く見受けられ、これらの所見は正常眼では少ない(図3、緑)。



(図3) 正常、NDR, NPDR で異なる時空間画像による血流の違い

このように時空間画像は血流の変化を画像として可視化し、瞬時にその特徴を把握するのに便利である。

正常被験者、NDR、NPDR の3群で比較すると、速度はNPDRが正常、NDRと比較して有意に早く、正常とNDR間には有意差を認めなかった。ただし、この結果は平均速度の算出が難しいという理由から上述の速度が変化する血管を除外して解析したものである。変化のある血管において、血流は極めて遅く、その周囲の血管では代償する形で早くなっていることが推察されるため、このような血管を解析に含めるかどうかで結果は真逆になる可能性がある。一方、赤血球列の伸長率については正常に比べNDRとNPDRでは有意に低下しており(伸びない)、NDRとNPDRの間に有意差を認めなかった。これは糖尿病では、恒常的に赤血球列の形成が起こっているために、相対的に1コずつ分離して流れる赤血球の数が少なくなっているためと想像される。伸長率は糖尿病網膜症の早期発見の手掛かりとなり得ると期待される。

## 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](計7件)

- 1) Arichika S1, Uji A, Hangai M, Ooto S, Yoshimura N: Noninvasive and direct monitoring of erythrocyte aggregates in human retinal microvasculature using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013 Jun 27;54(6):4394-402.
- 2) Arichika S, Uji A, Ooto S, Miyamoto K,

Yoshimura N: Adaptive optics-assisted identification of preferential erythrocyte aggregate pathways in the human retinal microvasculature. PLoS One. 2014 Feb 26;9(2):e89679.

3) Uji A, Ooto S, Hangai M, Arichika S, Yoshimura N: Image quality improvement in adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy assisted capillary visualization using B-spline-based elastic image registration. PLoS One. 2013 Nov 12;8(11):e80106.

4) Arichika S, Uji A, Yoshimura N. Adaptive optics assisted visualization of thickened retinal arterial wall in a patient with controlled malignant hypertension. Clin Ophthalmol. 8:2041-3.2014.

5) Arichika S, Uji A, Murakami T, Unoki N, Yoshitake S, Dodo Y, Ooto S, Miyamoto K, Yoshimura N. Retinal Hemorheological Characterization of Early-stage Diabetic Retinopathy Using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 55:8513-22. 2014.

6) Uji A, Murakami T, Unoki N, Ogino K, Horii T, Yoshitake S, Dodo Y, Yoshimura N. Parallelism for quantitative image analysis of photoreceptor-retinal pigment epithelium complex alterations in diabetic macular edema. Invest Ophthalmol Vis Sci 55:3361-7.2014.

7) Uji A, Murakami T, Unoki N, Ogino K, Nishijima K, Yoshitake S, Dodo Y, Yoshimura N. Parallelism as a novel marker for structural integrity of retinal layers in optical coherence tomographic images in

eyes with epiretinal membrane. Am J Ophthalmol. 157:227-236.2014.

〔学会発表〕(計 14 件)

1) The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Annual Meeting, Seattle, USA, 2013.5.5-9.

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.

Arichika S, Uji A, Hangai M, Ooto S, Yoshimura N: Distribution of vessels with dark tails in the parafoveal capillary network monitored by adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy.

2) 第 117 回日本眼科学会、東京、2013.4.4-7. 有近重太、宇治彰人、大音壮太郎、板谷正紀、吉村長久：補償光学適応走査レーザー検眼鏡を用いた傍中心窩毛細血管網における dark tail の分布.

3) 第 30 回日本眼循環学会、東京、2013.7.19-20.

宇治彰人: シンポジウム、「眼循環評価の Cutting Edge」 Adaptive Optics を応用した網膜微小循環評価. 3) 第 66 回日本臨床眼科学会、京都、2012.10.25-28.

4) 第 49 回眼光学学会、京都、2013.9.7-8. 有近重太、宇治彰人、吉村長久：補償光学適応走査レーザー検眼鏡による網膜毛細血管の赤血球列の Preferential Pathway.

宇治彰人: 「進化する網膜イメージング」 補償光学走査型レーザー検眼鏡 (AO-SLO) を用いた細胞レベルの眼底観察.

5) Optics & Photonics Japan 2013, 奈良, 2013.11.12-14.

宇治彰人: 日韓生体医用光学シンポジウム、High-resolution retinal imaging using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy.

6) The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Annual Meeting, Florida, USA, 201.5.4-8.

Uji A, Murakami T, Unoki N, Ogino K, Horii T, Yoshimura N: Parallelism for Quantitative Image Analysis of Photoreceptor-Retinal Pigment Epithelium Complex Alteration in Diabetic Macular Edema

Arichika S, Uji A, Murakami T, Unoki N, Yoshitake S, Dodo Y, Ooto S, Miyamoto K, Yoshimura N: Retinal Hemorheological Characterization of Early-Stages Diabetic Retinopathy Using Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy.

7) 第 118 回日本眼科学会、東京、2014.4.2-7. 宇治彰人、村上智昭、鶴木則之、吉武信、百々蓉子、吉村長久：光干渉断層計の網膜像における超解像技術の効果.

有近 重太、宇治 彰人、吉村 長久：補償光学適応走査型レーザー検眼鏡を用いた血管壁の可視化.

8) 第 4 回 京都インフリキシマブセミナー、京都 2014.6.26.

宇治彰人: 進化する網膜イメージングとぶどう膜炎治療.

9) 第 5 回京都糖尿病眼合併症フォーラム、京都 2014.6.27.

宇治彰人: 糖尿病網膜症の数値化と診断への応用.

10) 眼光学チュートリアルセミナー、東京、2014.8.9-10.

宇治彰人: 補償光学応用による眼底観察.

11) 公益社団法人 視能訓練士協会生涯教

育制度 基礎教育プログラム 、大阪、  
2014.9.15

宇治彰人：補償光学と眼底イメージング.

12) 第 50 回眼光学学会、金沢、2014.6.9-7.

宇治彰人、村上智明、有近重太、村岡勇貴、  
細田祥勝、吉村長久：OCT 画像評価における補  
間アルゴリズムの影響

有近重太、宇治彰人、吉村長久：補償光学走  
査型レーザー検眼鏡を用いた網膜動脈血管  
壁厚の計測.

13)第 31 回 日本眼循環学会、大阪、2014 .  
11.28-11.30.

有近重太、宇治彰人、村岡勇貴、大音壮太郎、  
吉村長久：補償光学走査型レーザー顕微鏡を  
用いた高血圧患者における血管壁の観察.

14) 第 119 回日本眼科学会、札幌、

2015.4.16-19.

有近重太、宇治彰人、鈴間潔、村上智昭、後  
藤謙元、藤本雅大、吉武信、百々蓉子、吉村  
長久：糖尿病患者における眼と全身の血管の  
比較検討

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

宇治 彰人 (UJI AKIHITO)

京都大学大学院医学研究科 感覚運動系外  
科学 眼科学・助教

研究者番号：60534302

(2)研究分担者

なし