平成２６年度厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究推進事業
（障害者対策総合研究開発事業）
（身体・知的等障害分野及び感覚器障害分野）

報　告　書

厚生労働省

実施機関：日本障害者リハビリテーション協会

目　　次

＊外国人研究者招へい事業

「ジェニー・リー・ウィッグス准教授　招へい報告」

木下 茂（京都府立医科大学眼科）・・・・・・・・・・・・・・・・5

＊若手研究者育成活用事業

「リアルタイム視線計測による刺激提示プログラムを用いた錐体分離視覚刺激に対する
サッケード潜時の比較」

髙橋あおい（国立障害者リハビリテーションセンター病院）・・・・・・・・・・・・・・・・12

外国人研究者招へい事業

ジェニー・リー・ウィッグス准教授　招へい報告

木下 茂
京都府立医科大学眼科

今回ハーバード大学医学部のJaney Lee Wiggs氏を2015.2.15から2015.2.21までの間招聘した。同氏は米国の緑内障遺伝子解析コンソーシアムNEIGHBOR(8施設)、GLAUGEN(3施設)の長である。また同氏は米国以外の研究者も参加する国際緑内障遺伝学コンソーシアム（IGGC）の重鎮である。同コンソーシアムでは全ゲノム解析研究（GWAS）の経験をもとに得た緑内障の遺伝的要因の究明には統計学的検出力の増大が重要との共通認識から、緑内障の発症や進行と各症例の数値化された臨床データ（量的形質）との関連性を見出すGWASの解析結果を研究者相互の信頼と敬意により共有することによって国際共同研究を強く推し進めている。日本ではまだこのコンソーシアムに参加している施設はなく、我々は今回の招聘事業を通じ、同氏と相互の研究成果の共有及び信頼関係を深め、このコンソーシアムのメンバーとなる可能性を検討している。

最終日には、京都府立医大眼科学教室、ゲノム医科学教室を中心に、京都大学眼科学教室及び学内の他の教室で遺伝子やゲノム研究に興味のある総勢30名を超える先生方に参加して頂いたワークショップを開催した。同氏には今回の大きなテーマである「国際コンソーシアムにおけるGWASデータの統合による緑内障責任遺伝子の同定」についてご講演頂いた。中でも、米国では日本人での有病率が高い正常眼圧緑内障（NTG）症例が少なく、さらに2,000例追加して解析したいものの症例数の確保が難しいとのご認識であった。また詳細な臨床情報（静的視野検査における重症度の指標となるMD値や眼圧など）による量的形質とゲノムとの相関解析を実施したいものの、臨床データの精度に課題があるとのことであった。我々は現在5,800例を超える緑内障および正常対照のサンプル及び付随する詳細な臨床情報を現有しており、同氏の目的に合致した症例を提供することで共同研究を進めていけるものと確信している。一方我々は、これまでに日本人検体を用いて独自に同定した正常眼圧緑内障を含む原発開放隅角緑内障や落屑緑内障に関連する染色体領域について、白人サンプルとの比較解析を実施したいと考えており、今後共同研究を進めていく中で白人サンプルを提供して頂くことを期待している。本共同研究を実現させることで、これらの遺伝要因が日本人に特異的なのか、あるいは白人と共有しているのか、遺伝学的にも医学的にも重要な知見が得られることが考えられる。

さらにGWAS以降の解析手法については、今後ゲノム医科学教室が実施する予定の次世代シーケンサーを用いたリシークエンス解析を行うことで、原発開放隅角緑内障に関連するバリアントの遠隔標的遺伝子の同定や落屑症候群から落屑緑内障に進展する分子メカニズムの解明などに向けた共同研究の可能性が再確認された。また我々が現在進めている原発開放隅角緑内障のリスク判定チップの開発研究についても同氏との共同研究および様々な知識を共有することでより良いチップの構築につながる可能性が示唆された。

約1週間にわたり、当大学の眼科学教室およびゲノム医科学教室の研究体制及び5,800例を超えるサンプルの不死化細胞株化の液体窒素タンクを含む研究設備やデータ保有の現状を同氏に見学、理解していただき、今後のより有意義な共同研究を推進する上での

相互の信頼関係を構築することができた。同氏からは最後に「本外国人招聘事業により京都府立医科大学への訪問が実現したことで、日本最大の緑内障遺伝学研究チームの研究体制や様々な設備を目の当たりにできただけでなく、最終日のワークショップを通じて本研究に取り組む人たちの強い熱意を直に感じとることができ、今後の国際共同研究の発展においても大変有意義な機会を得ることができたことについて感謝したい」とのコメントを頂くことができた。本外国人招聘事業のご援助を頂くことができたことを改めて深謝申し上げます。

なお、次ページからはワークショップのプログラム及び当日の写真を添付する。

Kyoto International Workshop in Visual Science 2015

Date / Time: Friday, February 20, 2015 / 14:00-17:30

Venue: Conference Room #3, 3rd Floor, Basic Research Building at KPUM

14:00- 14:05 **Welcome Address and Opening Remarks**
Prof. Shigeru Kinoshita
Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

14:05- 14:25 **Genes Associated with POAG and Disc Morphology in Japanese**
Dr. Munemitsu Yoshikawa, Dr. Kenji Yamashiro
Department of Ophthalmology, Kyoto University

14:30- 14:50 **Big Data Collection from KPUM Glaucoma Service**
Dr. Kazuhiko Mori
Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

14:55- 15:15 **Genetics Study of POAG**
Prof. Kei Tashiro
Department of Genomic Medical Sciences, Kyoto Prefectural University of Medicine

15:20- 15:35 **Refreshment Break**

15:35- 15:55 **Genetics Study of Exfoliation Syndrome/Exfoliation Glaucoma**
Dr. Masakazu Nakano
Department of Genomic Medical Sciences, Kyoto Prefectural University of Medicine

16:00- 16:30 **Special Lecture - Progress in Primary Open-Angle Glaucoma Genetics**
Prof. Janey Lee Wiggs
Department of Ophthalmology, Harvard Medical School

16:40- 17:25 **Future Plan of Genetic Study in Glaucoma – Prof. Tashiro (10min)**
Future Plan of Genetic Study in Galucoma – Prof. Wiggs (10min)
Discussion – All (25 min)

17:25- 17:30 **Closing Remarks**
Prof. Shigeru Kinoshita

写真













若手研究者育成活用事業

リアルタイム視線計測による刺激提示プログラムを用いた
錐体分離視覚刺激に対するサッケード潜時の比較

高橋あおい
国立障害者リハビリテーションセンター病院

1. はじめに

サッケード潜時は、刺激特性によって異なるため [1)]、刺激特性とサッケード潜時の関係を検討する研究が数多くなされている。サッケード潜時は、刺激の空間周波数 [1, 2)]と輝度コントラスト [3, 4)]によって決定され、無彩色の刺激に対するサッケード潜時は有彩色の等輝度刺激に対するものよりも速く [5-7)]、青黄刺激に対するサッケード潜時は無彩色刺激・他の有彩色刺激よりも遅くなる [8)]と言われている。

心理物理実験によって明らかになったこれらの結果は、視覚情報処理においてどのようなことを表しているのだろうか。視覚刺激を受容した網膜の信号が、サッケードを生起させる上丘 [9)]に到達するまでの処理経路は、明所視では網膜に存在する分光感度の異なる 3 種の錐体（L 錐体、M 錐体、S 錐体）の応答パターンによって主に 3 種に分類できる [10)]。1 つ目は、輝度コントラストの変調に対して感受性が高く、L 錐体と M 錐体の反応和に端を発する大細胞経路（The magnocellular pathway, 以下 Luminance 系）[11)]である。2 つ目は、赤と緑の色対立細胞によって形成され [10)]、L 錐体と M 錐体の反応差に端を発する [10)]小細胞経路 （The parvocellular pathway, 以下 L-M 系）[11)]である。そして 3 つ目は、青と黄の色対立細胞によって形成され [10)]、S 錐体と L+M の反応の差に端を発する [11)]、顆粒細胞経路（The kiniocellular pathway）であり、一般的に S-(L+M)によってそのメカニズムは推定されるが [11)]、2S-(L+M)とも言われており [12)]、本研究では S 錐体対立信号（S-opponent signal）系 [13)]（以下 S 系）をこの情報処理系の代替として使用した。よって、無彩色の刺激に対するサッケード潜時は Luminance 系の反応、等輝度赤緑系の刺激に対するサッケード潜時は L-M 系の反応、等輝度青黄系の刺激に対するサッケード潜時は S 系の反応を示していると考える。これは神経生理学的な研究による裏付けもされている [11) 14)]。

このように、心理物理実験の結果を上記視覚情報処理経路に対応させるためには、錐体応答を限定する厳密な刺激特性の統制が必要である。しかしこれまで、輝度コントラスト変調刺激（以下、Luminance 刺激）と等輝度赤緑刺激・等輝度青黄刺激を同時に、厳密に統制し、それぞれのサッケード潜時を比較した研究は知られていない。そこで、本研究では、刺激の分光特性と錐体応答の関係式 [15)]をもとに、cone-isolate 法 [16)]を用いて錐体・神経節細胞レベルにおける Luminance 系、L-M 系、S 系の選択的な反応をとる刺激を作成し、各系における刺激強度とサッケード潜時の関係を比較した。

一方、刺激の偏心度を統制したサッケードの研究では、固視点を設けたものばかりである。Ludwig ら [17)] は、無彩色のガボール刺激の空間周波数とコントラストがサッケード潜時に与える影響を検討し、サッケード潜時は検出閾から求めた刺激強度の関数で表せることを明らかにしたが、そのときの刺激提示位置は固視点から常に決まった水平方向の 4 定点であり、実験参加者が提示位置を予測し得るものであった。これに対し、本研究では固視点を設けず、視線から提示位置をリアルタイムに計算することで、刺激提示偏心度を統

制した。そしてその上で、刺激提示の方向をランダムに決定する実験システムを開発し、これを使用した。これにおいては、刺激提示位置が予想しにくくなるだけでなく、固視点を設けないことによって、自然な眼球運動により近い実験であるため、実験参加者のストレスを軽減できるだけでなく、固視点統制に伴うアーティファクトを取り除ける可能性がある。

本研究の目的は、固視点を設けないリアルタイムな視線計測を用いた実験系を用いて、厳密に統制した Luminance 系, L-M 系, S 系の刺激強度と反応潜時の関係を比較することである。仮説としては、先行研究にならい、反応潜時は Luminance 系が最も短く [5, 6]、手動反応の結果から [18) 19)] L-M 系、S 系の順に長くなると考えた。そして、固視点を設けないリアルタイムな視線計測を用いた実験系においても、固視点を設けた実験 [17)]と同様の傾向が得られるかについて検討する。

2. 方法

2.1 実験参加者

実験参加者は、視力・視野ともに正常な男女 4 名であった。実験参加者ごとの年齢と視力を表 1 に記載した。

表1 実験参加者の年齢と視力

	年齢(歳)	小数視力
subN	56	1.0
subT	26	1.0
subS	38	1.2
subK	40	1.2

刺激は、暗室内で IIYAMA 社製 27inch モニター（iiyama ProLite XB2776QS）に提示した。モニターの解像度は 1024x768pixels であり、最大輝度は 209cd/m²、最小輝度は 1.21cd/m²であった。

眼球運動の測定には、非接触型の眼球運動測定装置 SMI 社製 RED（120Hz）を用い、実験制御プログラムにはカスタムソフトウェアの smi_trial を使用した。実験参加者の視距離を固定するために顎台を用いた。実験環境については図 1 に示した。



図 1 実験環境

2.3 刺激・実験条件・実験系列

刺激は直径 10°の垂直縞の Gabor パッチであり、Gabor パッチの最大コントラストは 64%で、最大輝度・最小輝度はそれぞれ 119.6cd/m²・26.0cd/m²に、背景輝度は 76.6cd/m² に設定した。1 つの実験系列の Gabor パッチは、空間周波数 5 条件、コントラスト 5 条件の計 25 種類を使用した。

実験系列は、Luminance 系、L-M 系、S 系の 3 種類であった。Luminance 系は無彩色で輝度コントラストが変調する系列であった。また、L-M 系と S 系はそれぞれ人間の視覚における L-M 系と S 系のみを刺激する条件[15]であり、等輝度で色コントラストが変調する系列であった。これらは、cone-isolate 法を用いて調整された（詳細は付録 1 を参照）。すべての系列で空間周波数は 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2cpd (cycle/degree) であったが、コントラストは、Luminance 系は輝度コントラスト 4%, 8%, 16%, 32%, 64%（図 2）、L-M 系は 0.218%, 0.488%, 0.759%, 1.571%, 3.141%, 6.556%、S 系は 1.155%, 2.31%, 4.04%, 8.08%, 16.967%, 32.31%であった。

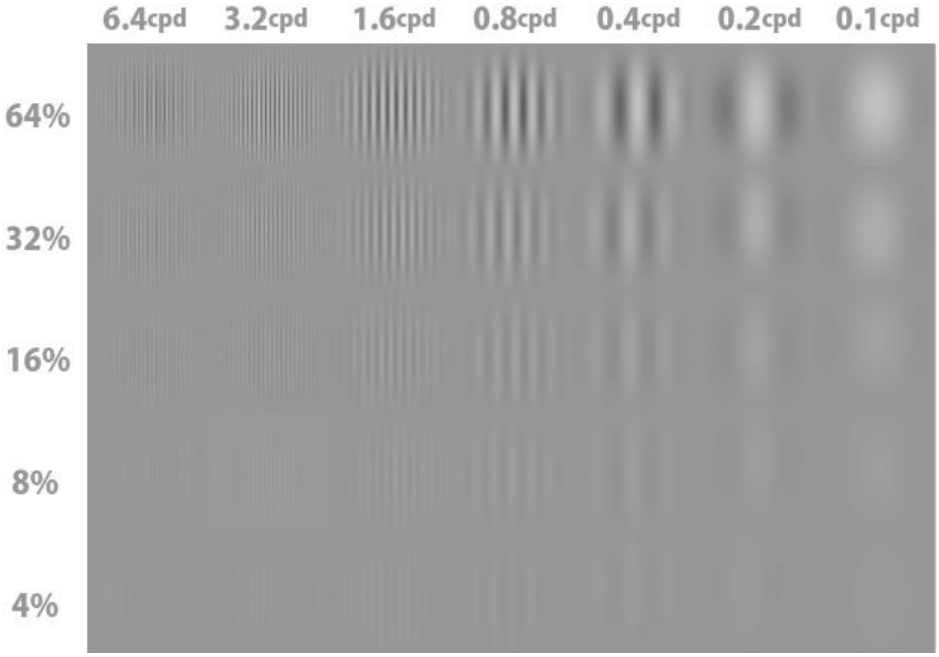


図 2 Luminance 条件刺激一覧

2.4 手続き

実験参加者は、顎台で視距離を 60cm に固定され、画面に提示される刺激の Gabor パッチを探索するように教示された。実験参加者の視線方向からランダムな方向で偏心 10°の位置をリアルタイムに計算し、刺激は、700ms～900ms のゆらぎのある提示時間で提示された。また、実験の前後に実験に使用する空間周波数ごとの検出コントラスト閾を測定した（詳細は付録 2 を参照）。

3. 結果

実験参加者・実験条件別に提示された刺激が検出閾の何倍になっているかという刺激強度を横軸に、そのときのサッケード潜時を縦軸にプロットした。どの実験参加者・実験条件においてもサッケード潜時は刺激強度が十分強くなるときには一定の値に漸近し、刺激

強度が極端に低いときには潜時が大きくのびるという傾向が見られたため、実測値に双曲線(y=a/x+b)を Fitting したところ非常によく当てはまった(図 3, 図 4, 図 5)。
実験参加者・実験系列ごとに Fitting をした双曲線の係数を表 2 に示した。

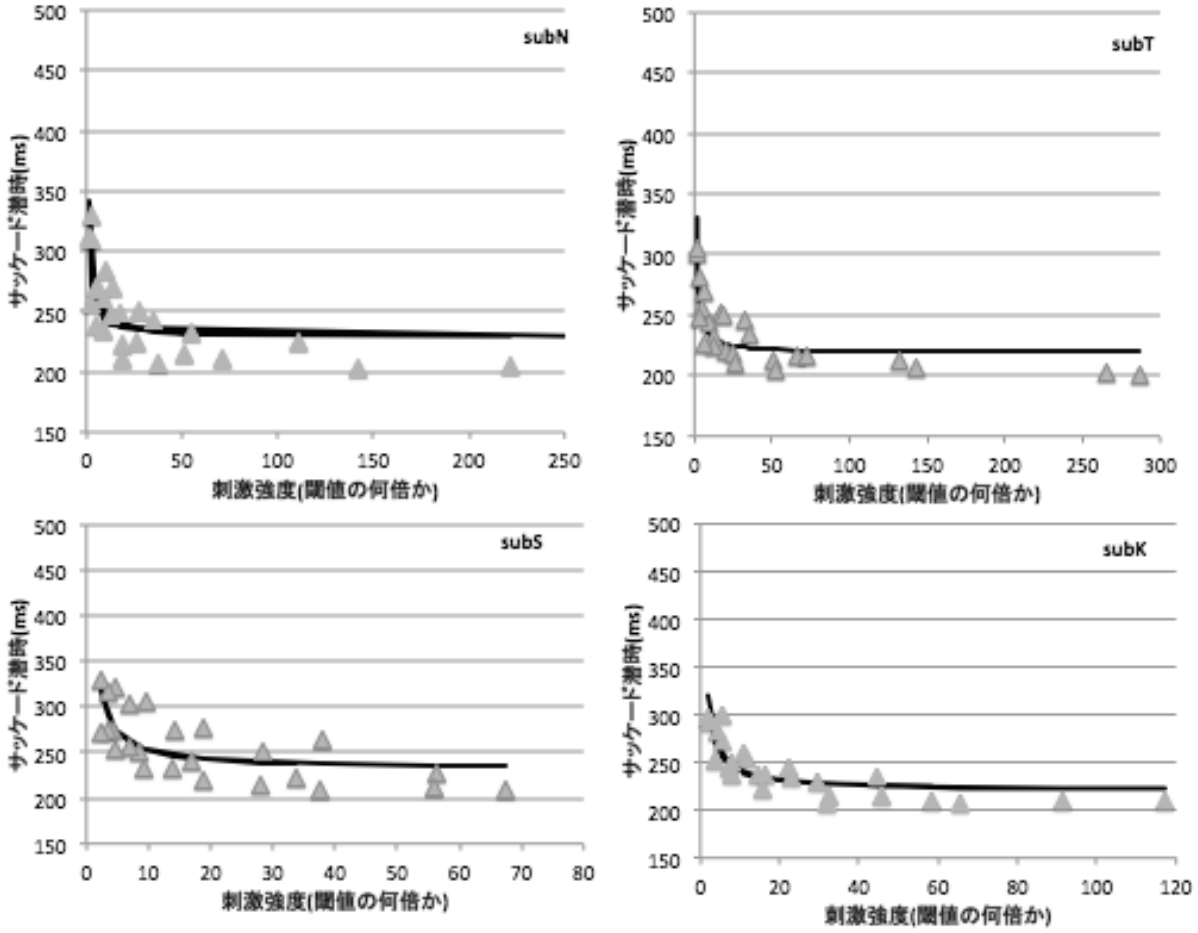


図 3 Luminance 系のサッケード潜時と刺激強度の関係

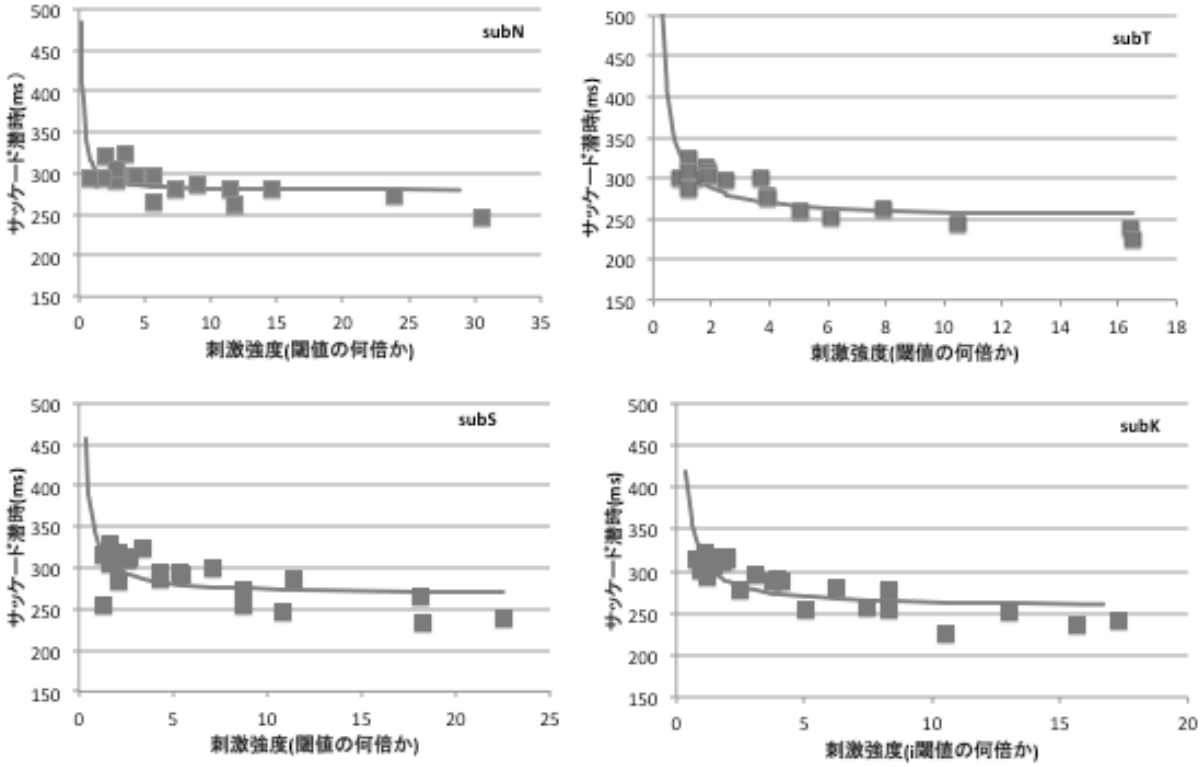


図 4 L-M 系のサッケード潜時と刺激強度の関係

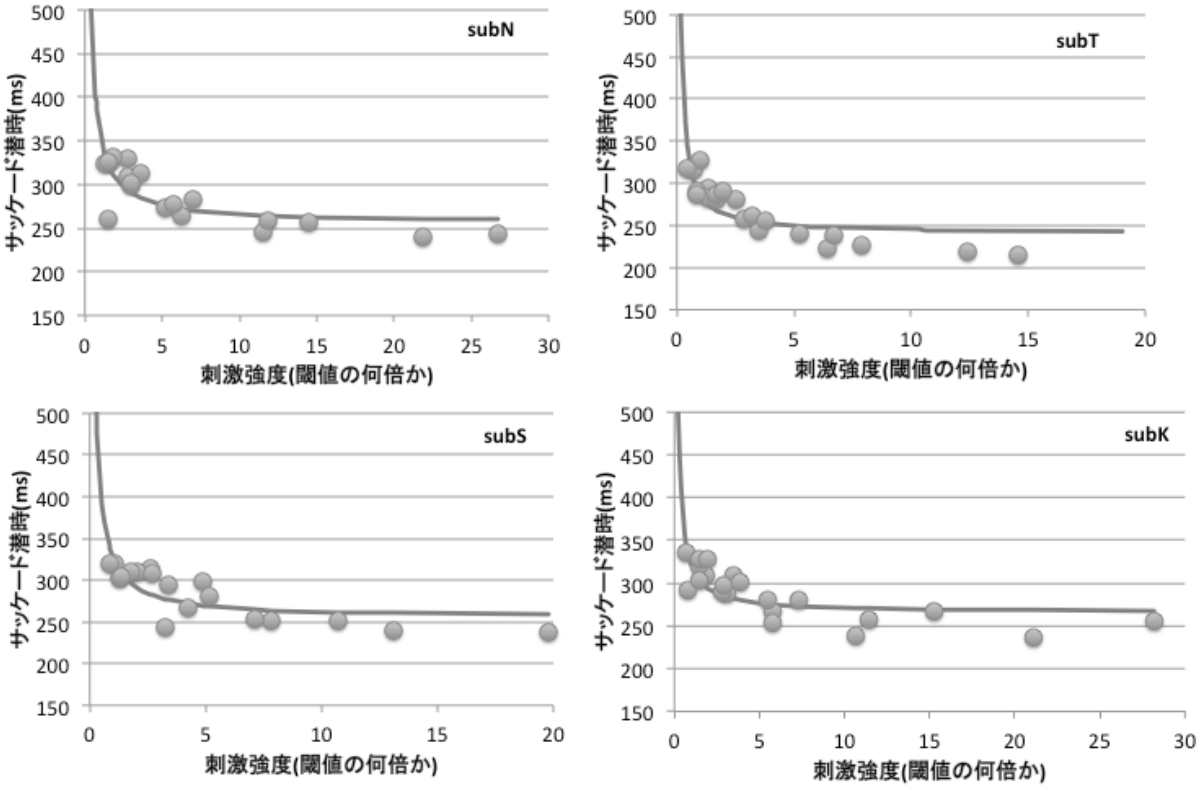


図 5 S 系のサッケード潜時と刺激強度の関係

表 2 被験者・実験条件ごとに Fitting した双曲線(y=a/x+b)の係数一覧

$y=a/x+b$

条件	sub	a	b	R^2	p
Luminance	subN	135	229	0.54	<.000
	subT	135	219	0.69	<.000
	subS	202	232	0.46	<.000
	subK	199	221	0.70	<.000
	AVE	167.9	225.3	–	–

条件	sub	a	b	R^2	p
L-M	subN	33	279	0.25	<.05
	subT	71	251	0.62	<.000
	subS	66	267	0.30	<.05
	subK	63	257	0.61	<.000
	AVE	58.3	263.7	–	–

条件	sub	a	b	R^2	p
S	subN	101	256	0.58	<.000
	subT	50	238	0.69	<.000
	subS	73	255	0.58	<.000
	subK	60	264	0.51	<.000
	AVE	71.1	253.2	–	–

4. 考察

刺激強度とサッケード潜時の関係は、双曲線関数を用いて理想曲線を表せたことから、固視点を設けないリアルタイムな視線計測を用いた実験系においても、固視点を設けた実験[17]と同様の傾向が得られたと考えられる。

図 6 は、実験参加者ごとに実験系列別の理想的サッケード潜時をまとめたものである。図 6 と表 2 の各双曲線の係数から、Luminance 系で閾値の約 17 倍以上のとき、L-M 系で閾値の約 6 倍以上のとき、S 系で閾値の約 8 倍以上のときに、サッケード潜時は最短値付近（双曲線の漸近線を示す b の値から 10ms 以内）に落ち着くと読み取ることができ、この潜時の最短値は、その実験系列における最速の潜時を意味していると考えられる。

そこで、実験参加者と実験系列によって最短サッケード潜時が異なるかを確かめるために、系列ごとにサッケード潜時が最短に近くなる値（Luminance 系で閾値の約 17 倍以上、L-M 系で閾値の約 6 倍以上、S 系で閾値の約 8 倍以上）の実測サッケード潜時を用いて、実験参加者と実験系列を要因とする二要因分散分析を行った。その結果、実験参加者の主効果はみられず（$F(3,11)=2.517$, n.s$\eta_p^2=0.407$）、実験系列の主効果と交互作用がみられた

（実験系列: $F(2,22)=135.685$, $p<.00$, $\eta_p^2=0.925$; 交互作用: $F(6,22)=5.902$, $p<.01$, $\eta_p^2=0.617$）。単純主効果の検定により、すべての実験参加者の Luminance 系のサッケード潜時が他の系列よりも有意に短いことがわかり、subN と subT は L–M 系よりも S 系の潜時が有意に短く、subS と subK は L-M 系と S 系の潜時に差が見られないことがわかった。

Luminance 系のサッケード潜時が短いことは、先行研究に一致し、L-M 系及び S 系の情報処理系路と Luminance 系の情報処理系路の違いを表していると考えられる。その一方で、L-M 系と S 系のサッケード潜時には明確な差はなく、むしろ実験参加者 4 名中 2 名は、L-M 系よりも S 系が速くなり、S 系が遅いとする確証は得られなかった。神経応答レベルでは S 系の反応は L-M 系よりも遅いという研究 [11]があることから、今回我々が用いた S 系が神経節細胞レベルではなく錐体細胞レベルでの選択性を有するものであったことに由来する可能性が考えられる。また、今回の新しい実験系によって刺激提示場所が全く予測不能であったことが影響した可能性も考えられる。

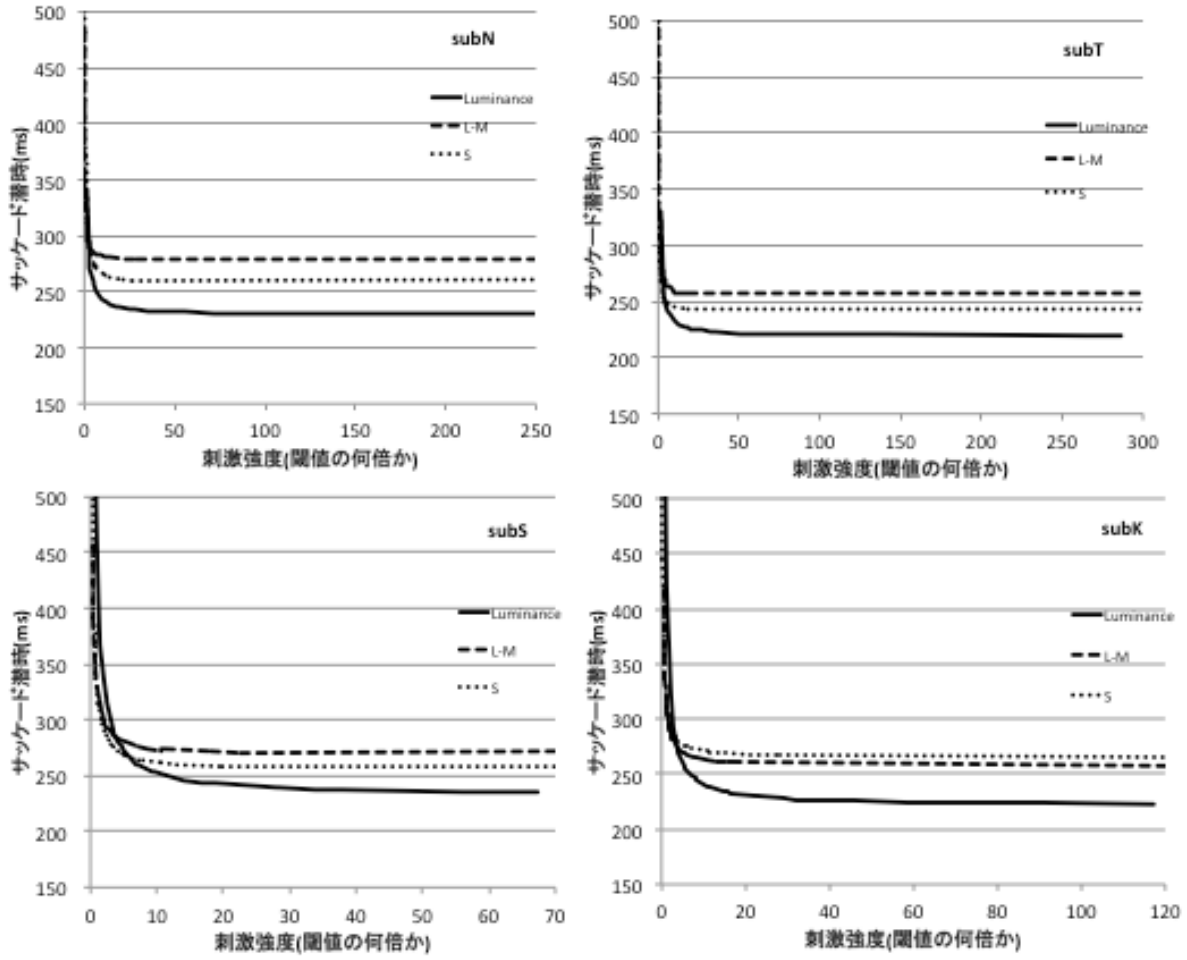


図 6 実験参加者ごとに実験系列別の理想的サッケード潜時

参考文献

1) Gish, K., Shulman, G. L., Sheehy, J. B., & Leibowitz, H. W. (1986). Reaction times to different spatial frequencies as a function of detectability. Vision Research, 26(5), 745-747.

2) Felipe, A., & Buades, M. J. (1993). Influence of the contrast sensitivity function on the reaction time. Vision Research, 33(17), 2461-2466.

3) Felipe, A., & Buades, M. J. (1993). Influence of the contrast sensitivity function on t he reaction time. Vision Research, 33(17), 2461-2466.

4) Doma, H., & Hallett, P. E. (1988). Rod-cone dependence of saccadic eye-movement latency in a foveating task. Vision research, 28(8), 899-913.

5) Satgunam, P., & Fogt, N. (2005). Saccadic latencies for achromatic and chromatic targets. Vision research, 45(27), 3356-3364.

6) Anderson, E. J., Husain, M., & Sumner, P. (2008). Human intraparietal sulcus (IPS) and competition between exogenous and endogenous saccade plans. Neuroimage, 40(2), 838-851.

7) Van Asten, W. N. J. C., Gielen, C. C. A. M., & de Winkel, M. E. M. (1988). The effect of isoluminant and isochromatic stimuli on latency and amplitude of saccades. *Vision research*, *28*(7), 827-840.

8) Perron, C., & Hallett, P. E. (1995). Saccades to large coloured targets stepping in open fields. Vision research, 35(2), 263-274.

9) Schiller, P. H., Stryker, M., Cynader, M., & Berman, N. (1974). Response characteristics of single cells in the monkey superior colliculus following ablation or cooling of visual cortex. J neurophysiol, 37(1), 181-194.

10) Komatsu, H. (1998). The physiological substrates of color constancy.Perceptual constancy. Cambridge University Press, Cambridge, 352-372.

11) Cottaris, N. P., & De Valois, R. L. (1998). Temporal dynamics of chromatic tuning I n macaque primary visual cortex. Nature, 395(6705), 896-900.

12) Stockman, A. (2009). *Color vision mechanisms* (Doctoral dissertation, University of Pennsylvania). pp.82

13) Bompas, A., & Sumner, P. (2008). Sensory sluggishness dissociates saccadic, manual, and perceptual responses: An S-cone study. *Journal of Vision*, *8*(8), 10.

14) Maunsell, J. H., & Gibson, J. R. (1992). Visual response latencies in striate cortex of the macaque monkey. Journal of neurophysiology, 68(4), 1332-1344.

15) Stockman, A., MacLeod, D. I., & Johnson, N. E. (1993). Spectral sensitivities of the human cones. JOSA A, 10(12), 2491-2521.

16) Donner, K. O., & Rushton, W. A. H. (1959). Retinal stimulation by light s ubstitution. The Journal of physiology, 149(2), 288-302.

17) Ludwig, Casimir JH, Iain D. Gilchrist, and Eugene McSorley. "The influence of s patial frequency and contrast on saccade latencies." Vision research 44.22 (2004): 2597-2604.

18) McKeefry, D. J., Parry, N. R., & Murray, I. J. (2003). Simple reaction times in color space: the influence of chromaticity, contrast, and cone opponency.*Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *44*(5), 2267-2276.
19) Smithson, H. E., & Mollon, J. D. (2004). Is the S-opponent chromatic sub-system sluggish?. *Vision research*, *44*(25), 2919-2929.

付録 1.　L-M 系・S 系刺激作成方法

視覚情報処理経路に対応した刺激特性の統制をするためには、刺激提示ディスプレイの分光特性データと人間の錐体応答の特性を示すデータが必要である。

そこで、本研究では、刺激提示ディスプレイの分光特性を Spectra Scan PR-655(図 A)を用いて測定した。人間の錐体応答の特性は、Stockman ら(1993)による、刺激の分光特性と人間の錐体応答パターンの関係式を利用した。そして、ディスプレイの RGB 値が 1/256 変化したときの L 錐体・M 錐体・S 錐体の反応の変化率を得た(表 A)。これを利用し、有彩色の L-M 刺激、S 刺激は、それぞれ背景の gray と常に等輝度で色コントラストのみが変化する範囲で、L-M のみの反応が得られる RGB 値、S のみの反応が得られる RGB 値を計算し、刺激を作成した。

表 A ディスプレイの RGB 値が 1/256 変化したときの各錐体応答の変化

L錐体	R値	0.0522
	G値	−0.0065
	B値	0
M錐体	R値	−0.0443
	G値	0.0185
	B値	−0.0007
S錐体	R値	0.0021
	G値	−0.0019
	B値	0.0107



図 A 分光特性測定器 Spectra Scan PR-655

付録 2.　コントラスト閾の測定

【目的】本研究における 3 つの刺激系のコントラスト閾を測定すること。
【方法】実験参加者・装置は本実験と同様であった。刺激は、各系列ともに本実験で用いた 5 段階の周波数を持つ Gabor パッチであった。刺激は上下法で固視点から左右 10 度の位置にランダムに提示され、実験参加者は刺激が提示された位置を右か左かで答えた。実験参加者の回答が誤答であれば刺激コントラストを 1 段階ずつ高くし、回答が正答であれば、刺激コントラストを 1 段階ずつ低くした。正答と誤答の境目が 10 回になるまで試行を繰り返した。提示した刺激コントラストと RGB 値のステップを表 B に示した。
【結果】実験協力者・実験系列ごとの結果を以下に示した(図 B,C,D)。

表 B 刺激コントラストと RGB 値のステップ

L−M	contrast(%)	6.556	3.141	1.571	0.759	0.488	0.218	0
赤	R値	243	194	173	158	154	153	152
	G値	130	142	147	151	152	152	152
	B値	152	152	152	152	152	152	152
緑	R値	150	110	147	143	1447	151	152
	G値	152	161	154	153	152	151	152
	B値	152	151	151	152	151	151	152

S	contrast(%)	32.31	16.97	8.08	4.04	2.31	1.155	0
青	R値	142	147	150	151	151	152	152
	G値	161	156	154	153	153	152	152
	B値	104	131	143	150	151	153	152
黄	R値	160	155	153	152	152	152	152
	G値	143	148	150	151	151	152	152
	B値	199	171	159	153	153	151	152

Luminance	contrast(%)	11.84	10.53	9.221	7.908	6.594	5.277	3.959	2.64	1.32	0
白	R値	160	160	159	158	157	156	155	154	153	152
	G値	160	160	159	158	157	156	155	154	153	152
	B値	160	160	159	158	157	156	155	154	153	152
黒	R値	144	144	145	146	147	148	149	150	151	152
	G値	144	144	145	146	147	148	149	150	151	152
	B値	144	144	145	146	147	148	149	150	151	152

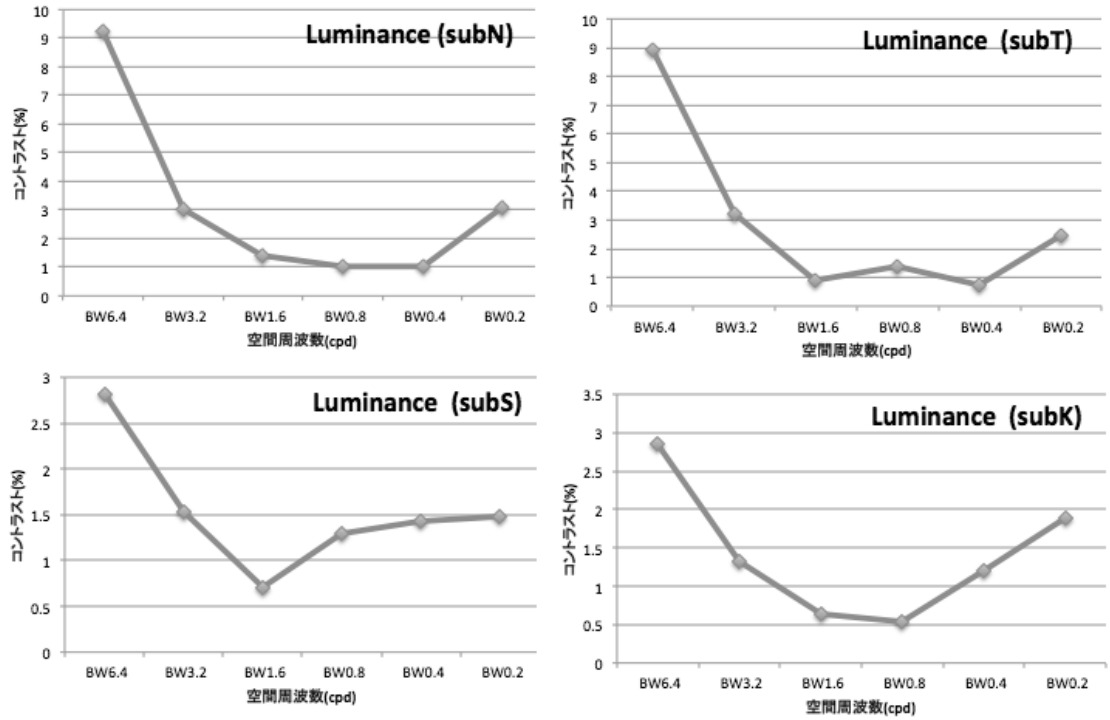


図 B Luminance 条件の空間周波数ごとの閾値コントラストの関数(CSF)

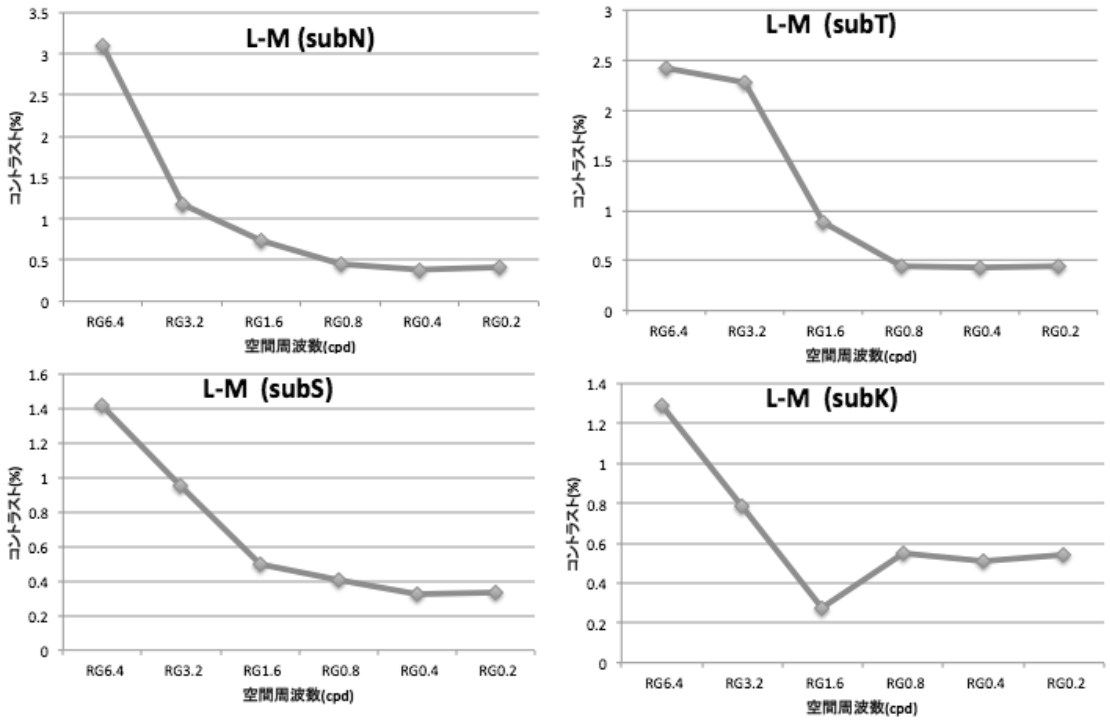


図 C L-M 条件の空間周波数ごとの閾値コントラストの関数(CSF)

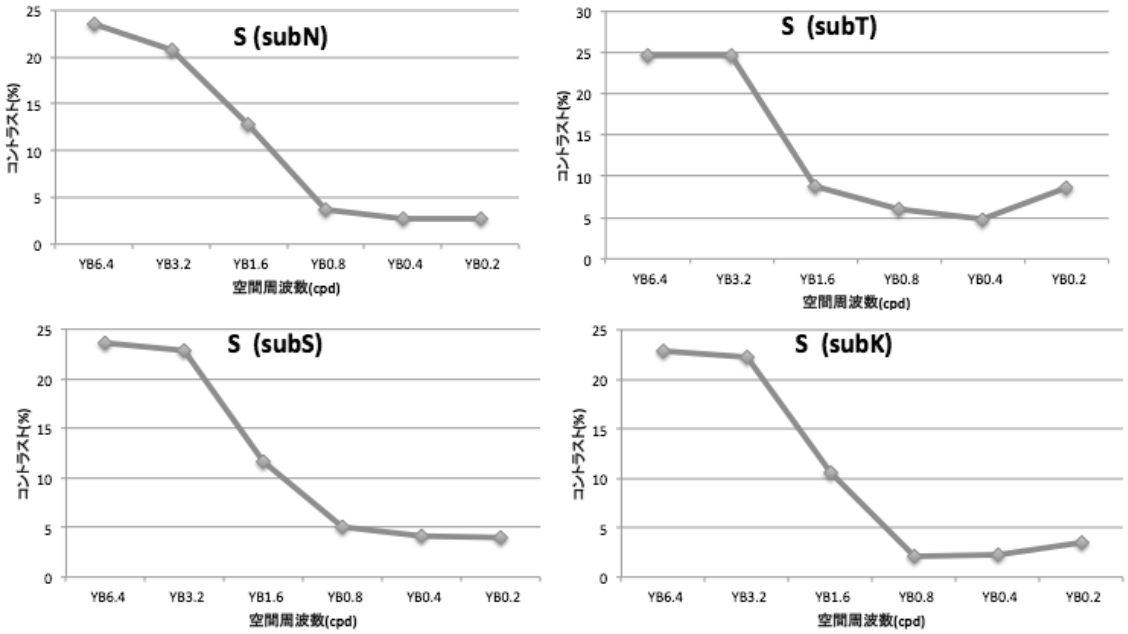


図 D S 条件の空間周波数ごとの閾値コントラストの関数(CSF)

平成２６年度　障害者対策総合研究推進事業
障害者対策総合研究開発事業
（身体･知的等障害分野及び感覚器障害分野）

平成２７年３月　発行

発　行　　公益財団法人　日本障害者リハビリテーション協会
〒162-0052　東京都新宿区戸山１丁目 22 番１号
（戸山サンライズ内）
電　話　　(03) 5273-0601
ＦＡＸ　　(03) 5273-1523