

走査レーザー検眼鏡と画像解析による栄養血管の血流速度の測定

山本 敏広

岡山大学医学部眼科学教室

要 約

目 的：走査レーザー検眼鏡(SLO)の画像解析と色素希釈法を用いて脈絡膜新生血管(CNV)の栄養血管の血流速度を測定した。

対象と方法：SLO を用いて撮影したインドシアニングリーン蛍光眼底造影画像(IA 画像)上同定された栄養血管のうち、色素希釈法を用いた画像解析に適した 29 眼を対象にした。ビデオ連続画像を色素希釈法を用いて解析し、栄養血管の血流速度を求めた。

結 果：栄養血管の血流速度の平均値±標準偏差は 33.8 ± 32.5 mm/sec であった。径が 1.5 mm 以上の CNV

を栄養する栄養血管の血流速度は、径が 1.5 mm 未満の CNV を栄養する栄養血管の血流速度より有意に速かった。

結 論：SLO による IA 画像と色素希釈法を用いて栄養血管の血流速度測定が可能であることを示した。この測定システムは脈絡膜循環の解明に有用と考えられた。(日眼会誌 106 : 287—292, 2002)

キーワード：栄養血管, 画像解析, 色素希釈法, 脈絡膜新生血管

Measurement of Flow Velocity in Feeder Vessels of Choroidal Neovascularization with a Scanning Laser Ophthalmoscope and Image Analysis System

Yoshihiro Yamamoto

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

Abstract

Purpose : To measure flow velocities in feeder vessels of choroidal neovascularization (CNV) secondary to age-related macular degeneration (AMD).

Methods : We examined early images of indocyanine green (ICG) angiography in 29 eyes with CNV secondary to AMD, in which feeder vessels could be identified. ICG videoangiographic images recorded at 30 frames per second with a scanning laser ophthalmoscope were installed in a personal computer. With original software, optical density measurements made with an image analyzer were performed on ICG videoangiograms for determination of dye-dilution curves. The time (T50) from the beginning of a dye-dilution curve to the ascending parts of the curve at 50% of the peak intensity was calculated. Flow velocity in a feeder vessel was obtained by dividing the distance between two points by the circulation time between T 50 s at the two points on the feeder vessel.

Results : The mean flow velocity in feeder vessels was 33.8 ± 32.5 (mean \pm standard deviation) mm/sec. The mean velocity in the feeder vessels of large CNV with greatest linear diameter of 1 disc diameter (DD) or larger was 43.4 ± 30.6 mm/sec ; the mean velocity in the feeder vessels of small CNV with greatest linear diameter smaller than 1DD was 20.3 ± 20.2 mm/sec. There was a significant difference between them.

Conclusion : The flow velocity in feeder vessels of CNV could be measured with ICG angiography and a computer-based image analysis system. This system would be useful in evaluation of choroidal circulation. (J Jpn Ophthalmol Soc 106 : 287—292, 2002)

Key words : Feeder vessel, Image analysis system, Dye-dilution curves, Choroidal neovascularization

別刷請求先：700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1 岡山大学医学部眼科学教室 山本 敏広
(平成 13 年 4 月 9 日受付, 平成 13 年 12 月 6 日改訂受理)

Reprint requests to : Yoshihiro Yamamoto, M. D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School, 2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700-8558, Japan

(Received April 9, 2001 and accepted in revised form December 6, 2001)

I 緒 言

近年、脈絡膜の循環動態をレーザースペックル法^{1)~3)}、レーザードップラ法⁴⁾、蛍光眼底撮影法⁵⁾⁶⁾などを用いて解析する試みが報告されている。いずれの方法も測定に適した循環速度や測定面積には制限があり、脈絡膜新生血管の栄養血管のような1本の特定の血管を対象に、定量的に測定することは不可能である。一方、我々はこれまでに、走査レーザー検眼鏡(SLO)によるフルオレセイン蛍光眼底撮影画像(FA画像)と色素希釈法を用いて、網膜動脈の血流速度測定システムを開発してきた^{7)~9)}。今回、我々はダブルディテクターSLOを用いて、FA画像とインドシアニングリーン蛍光眼底撮影画像(IA画像)の同時撮影を行い、IA画像にこのシステムが応用可能かどうかを検討するとともに、このシステムを使って、加齢黄斑変性症(AMD)における栄養血管の血流速度を測定し、栄養血管の血流速度と脈絡膜新生血管(CNV)の大きさとの関連性を検討したので報告する。

II 実験方法

1. 対 象

1993年1月から1998年12月までに当科でSLOによる蛍光眼底検査を行い栄養血管を検出した、AMD患者のうち口頭による同意の得られた29例29眼(男性22眼、女性7眼、平均年齢69.7歳)を対象として栄養血管の血流速度を測定した。また、ダブルディテクターSLOを用いてFA-IA同時撮影を行い、上耳側主幹動脈が明瞭に撮影できた10例10眼を対象として、蛍光色素の違いによる測定値への影響を検討した。なお、測定誤差の大きくなる、眼球運動(固視微動)の大きな症例、網膜下出血、硝子体出血併発症例、栄養血管が中心窩から2乳頭径以上離れたもの、屈折値が $-1.00 \sim +1.00$ Dの

範囲にない症例は今回の対象から除外し、また、栄養血管が一本に特定できる症例に限定した。

2. ダブルディテクターSLOを用いたFA-IA同時眼底撮影

撮影装置はローデンスストック社製SLOを用いた。F-A画像の励起光源として波長480 nmのアルゴンブルーレーザーを、IA画像の励起光源として波長810 nmダイオードレーザーをそれぞれ用いた。FA画像、IA画像はダブルディテクター装置により同時に2つのビデオレコーダーでs-VHSビデオテープに毎秒30フレームの連続画像として記録した。撮影条件は、アルゴンレーザーの強度をB5(240)、ダイオードレーザーの強度を12(2000)とした。またオートゲイン機構は解除し、gainを7に固定設定し、20度の画角で撮影した。蛍光色素には10%フルオレセインナトリウム(フルオレサイト[®])溶液5 ccにインドシアニンググリーン(ジアグノグリーン[®])25 mgを溶解した溶液を用いた。色素希釈曲線において急峻な上行脚を得るため、すべての症例に上記の溶液を生理食塩水10 mlとともに一気に肘静脈に送り込む注入法を用いて、眼底に蛍光色素をできるだけdye bolusの状態に到達させた⁷⁾。

3. 画像解析と血流速度の算出

1) 画像解析

撮影した蛍光眼底撮影画像を画像キャプチャーボード(DIG-98, DITECT)にフルスケールでコンピュータ内に取り込んだ。約1/2視神経乳頭径程度の間隔において2つの測定点を設定し(図1, 2, 4)、それぞれの測定点内の蛍光強度を1秒間に30コマの各フレームごとに計測した。ここでの2点は脈絡膜血管と網膜血管の重なる部位は避け、背景蛍光の加算を受けない部位である。設定した点の眼球運動によるずれに対しては各フレームごとに手動で位置を補正した。

IA画像の網膜動脈上に設定したプロット

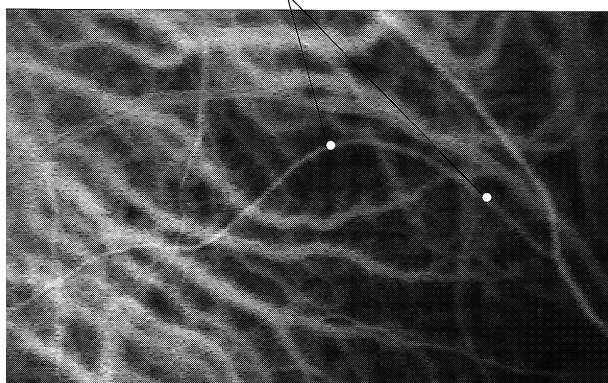


図1 インドシアニンググリーン蛍光造影(IA)画像の網膜動脈上に設定したプロット。

IA画像上造影された上耳側主幹動脈上で背景に脈絡膜血管がない部位を選んで蛍光強度を測定する2点(矢印)を設定した。

FA画像の網膜動脈上に設定したプロット

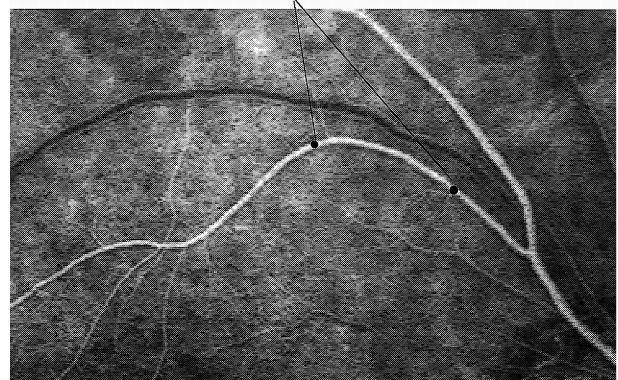


図2 フルオレセイン蛍光造影(FA)画像の網膜動脈上に設定したプロット。

FA画像上で図1に設定した部位と同一地点に蛍光強度を測定する2点(矢印)を設定した。

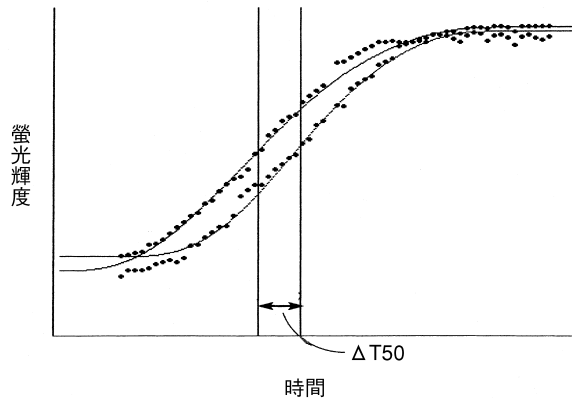


図 3 2つのプロットにおける蛍光強度の経時変化と色素希釈曲線。

設定した2点内の蛍光強度の経時変化をグラフ上にプロットし、最小二乗法を用いて2つの色素希釈曲線に回帰した。2つの色素希釈曲線でA 50に至る時間差ΔT 50をグラフから求めた。

2) 色素希釈曲線の理論式への回帰

計測した各フレームの点内の蛍光強度(I)を縦軸に、時間(t)を横軸にとってプロットし、これを最小二乗法を用いて色素希釈曲線の理論式

$$I = K + I_p \text{EXP}[-\alpha \{\log(t - t_0 / t_p - t_0)\}^2]$$

K: 蛍光色素の血管内出現前の背景濃淡度

I_p: 蛍光強度の最大値

α: 色素希釈曲線の傾き

t₀: 蛍光色素が血管内に出現した時間

t_p: 蛍光強度の最大値を与える時間

EXP: eを底とする指数

に回帰させた。また、収縮期、拡張期間の蛍光強度の変動についてはロバスト推定を用いて測定値に加算し考慮した⁹⁾。

3) 設定した2点間の蛍光強度の立ち上がりの時間差の計測

色素希釈法における網膜循環時間の測定では色素希釈曲線の上昇部分の50%での比較が最も再現性が高いことが報告⁹⁾されているので、血管上の異なる2点の蛍光強度の測定で得られた2つの色素希釈曲線の上行脚で最大蛍光強度の50%に至るまでの時間差をΔT(50)として求めた(図3)。

4) 血流速度を算出

血管上に1/2視神経乳頭径程度の間隔で設定した2つの点の距離を三次スプライン関数からdot単位で求め、この距離を時間差ΔT(50)で除し、血流速度すなわち距離/時間差ΔT(50)をdot/sec単位で求めた。dot単位からmm単位への換算は同様の方法を使用して算出した報告⁹⁾を使用した。

4. 蛍光色素の違いによる測定値への影響についての検討

フルオレセインナトリウム分子とインドシアニングリ

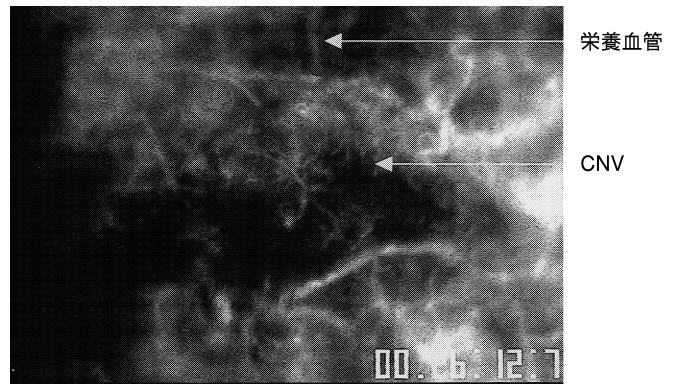


図 4 栄養血管上に設定した2つのプロット。IA画像で同定された栄養血管上に蛍光強度を測定する2点(矢印)を設定した。

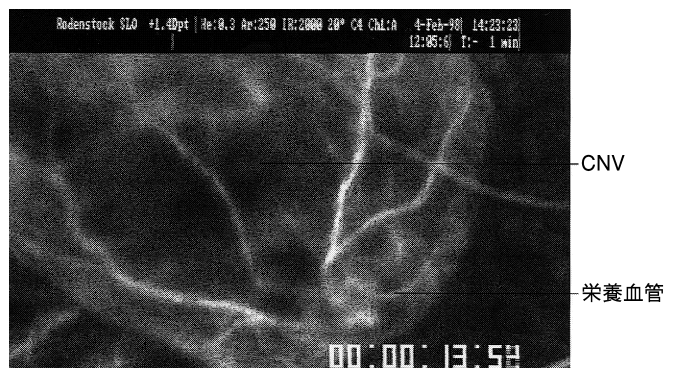


図 5 径が1.5 mm以上の脈絡膜新生血管(CNV)と栄養血管。

ーン分子はともにその多くが、血管内では血漿中のアルブミンと結合している。また、両者とも測定条件が揃えば蛍光強度と色素濃度は比例関係にあることが証明されている⁵⁾¹⁰⁾。したがって、色素希釈法を用いた画像解析をFA画像と同様にIA画像に対して行うことで、血管内の血漿の移動速度から血流速度を求めると考えられる。しかし、両者の蛍光色素の分子量と組成は異なっており、アルブミンと結合して血漿とともに動く分子の割合とフリーの分子の血管内での動きも異なっているため、IA画像を用いた色素希釈法の検討が必要である。そこで、ダブルディテクター-SLOを用いて同時撮影したFA-IA画像上の網膜動脈の上耳側主幹動脈上の同一部分(図1, 2)で、蛍光強度の経時変化を解析し、FA画像から得られた網膜動脈の血流速度とIA画像から得られた網膜動脈の血流速度を比較し、直線回帰分析を用いて両者の相関を検討した。

5. 栄養血管の血流速度の測定と測定値の検討

IAのビデオ造影初期において、症例によっては、脈絡膜動脈系から新生血管網への造影が連続的に確認される。その脈絡膜動脈と新生血管網との間の連結血管を栄養血管とし¹¹⁾、その栄養血管上に2つの測定点を設定し

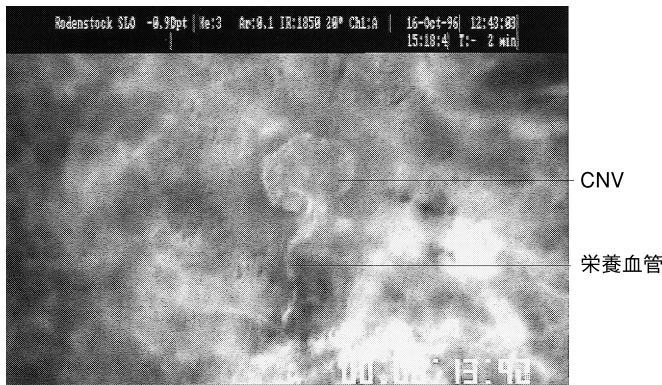


図 6 径が 1.5 mm 未満の CNV と栄養血管.

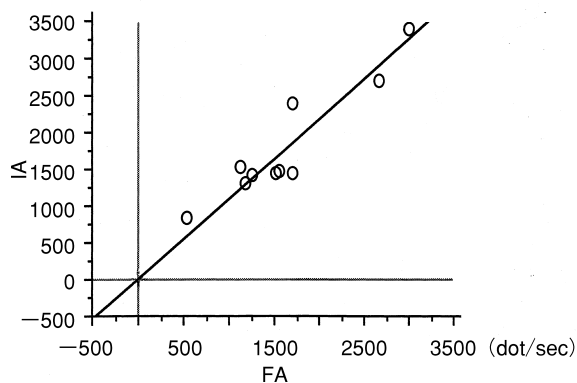


図 7 IA 画像および FA 画像から得られた網膜動脈の血流速度の関係。
FA 画像から得られた網膜動脈の血流速度を横軸に、IA 画像から得られた網膜動脈の血流速度を縦軸にとり得られた回帰直線。回帰式は $y=1.087x$ で、相関係数は 0.98 であった。

て(図 4)、上記の方法で栄養血管の血流速度を測定した。次に、IA 画像上で CNV の径が 1.5 mm 以上の 17 眼(図 5)と 1.5 mm 未満の 12 眼(図 6)の栄養血管の血流速度を比較検討した。両者間の有意差検定には対応のない t 検定を使用した。

III 結 果

1. 蛍光色素の違いによる測定値への影響についての評価

FA 画像解析から得られた網膜動脈の血流速度と、IA 画像解析から得られた網膜動脈の血流速度を表 1 に示す。それぞれの測定値の間には図 7 に示すように、相関係数 0.98 の強い相関関係があり、得られた回帰式は $y=1.087x$ であった。

2. 栄養血管の血流速度

栄養血管の血流速度は 1.9~108.0 mm/sec で、 33.8 ± 32.5 (平均値±標準偏差)mm/sec であった。CNV の径が 1.5 mm 以上の群(17 眼)では 43.4 ± 30.6 mm/sec、1.5 mm 未満の群(12 眼)では 20.3 ± 20.2 mm/sec(表 2)で、両者間に有意差があった($p < 0.05$, 対応のない t

表 1 網膜動脈の血流速度

FA 画像から得られた血流速度 (dot/sec)	IA 画像から得られた血流速度 (dot/sec)
2,670	2,700
546	841
1,553	1,462
1,134	1,525
1,185	1,312
3,000	3,400
1,700	1,439
1,254	1,425
1,516	1,446
1,695	2,376
1,625±726	1,793±778
平均値±標準偏差	

FA：フルオレセイン蛍光眼底撮影 IA：インドシアニンググリーン蛍光眼底撮影

表 2 IA 画像から得られた栄養血管の平均血流速度(mm/sec)

CNV の径	症例数	平均値±標準偏差
1.5 mm 以上	17	43.4 ± 30.6
1.5 mm 未満	12	20.3 ± 20.2
	29	33.8 ± 32.5

CNV：脈絡膜新生血管

検定)。

IV 考 按

近年 SLO 画像装置と周辺機器の進歩により脈絡膜血管の詳細な形態観察や、その血流方向の直視下での観察も可能となった。また、生体眼の脈絡膜循環に対する定量的解析法として、さまざまな方法が試みられているが、IA 画像を利用した報告はない。我々の施設では三原⁹⁾が SLO の FA 画像と色素希釈法を用いて網膜動脈の血流速度を測定し報告したが、SLO の IA 連続画像で栄養血管の血流が観察されれば、この方法を用いて栄養血管の血流を解析し血流速度を測定し得る可能性がある。そこで、本報告では SLO を用いて撮影した IA 画像を色素希釈法で解析し、栄養血管の血流速度の測定を試みた。

色素希釈法を用いたシステムを IA 画像に応用する際、問題となるのは蛍光色素の違いによる測定値への影響であるが、網膜血管を使用しての IA と FA の比較では、両者間において、相関係数が 0.9 以上の強い相関関係が示され、また、回帰式の傾きは 1.087 であった。したがって、蛍光色素の違いに起因するこのシステムの測定値への影響は僅かであり、IA 画像にも色素希釈法を用いた解析が十分可能であると考えた。ただし、このシステムで、血流速度の測定を行う際の脈波の影響についてはロバスト推定法による平均化で対応しているが、血流速度が速く、蛍光輝度が最大に達する時間が心拍周期

(約 1 sec) より短いような場合では、脈波の影響が大きくなりすぎるため、脈絡膜動脈の血流速度測定には適さない。しかし、IA 画像で同定される栄養血管の血流は、脈絡膜動脈の血流より遅く、今回の測定法でも十分可能と考えた。

また、IA 画像では、FA 画像と異なり脈絡膜と網膜の両方の血管系の蛍光輝度の加算も問題となる。そこで、蛍光輝度の測定は栄養血管上で網膜血管系の蛍光輝度の加算を受けない部位で行った。今回の測定では、色素希釈法による解析に適する単独の一本の血管形態をとり、比較的直線的に 1/2 視神経乳頭径程度の走行が同定できるものに限った。そのため、IA 画像上同定された栄養血管全体のうち、約 22% が測定可能であった。このように画像上適したものに限られ、また、造影剤静注投与による侵襲はあるものの、本報告に示した方法によって、レーザースペックル法やレーザードップラ法では検出できない栄養血管の血流速度の測定が可能となった。

栄養血管の血流速度の測定結果には 1.9~108.0 mm/sec と、網膜動脈の血流速度⁹⁾¹²⁾と比較して大きなばらつきがみられた。臨床的に IA で検出される栄養血管は、脈絡膜細動脈とは限らず、部分的には CNV の一部である可能性もあることから、測定箇所によって血流速度の測定値が大きく影響されるし、また CNV の大きさ、血管径、CNV の成熟度などにおいて症例間に大きなばらつきがあり、それらによっても血流速度は大きく異なるものと推測される。

栄養血管の血流速度の平均値は 33.8±32.5 mm/sec であり、これまでに報告のあった、脈絡膜動脈の血流速度¹³⁾¹⁴⁾よりも遅く、網膜動脈の血流速度¹²⁾よりやや速い値であった。栄養血管は、新生血管である流入血管と脈絡膜血管から構成されるが、CNV は成熟してくると正常の微小循環系と同様の血管構築を持つようになると考えられている¹⁵⁾。それに伴って栄養血管の形態、循環動態も変化する可能性は十分考えられ、血流速度は、それらの変化を反映するであろう。

今回の実験では、栄養血管内の蛍光色素濃度の経時変化を測定し、血漿の移動速度から血流速度を求め、大きな CNV を栄養する栄養血管の血流速度は小さな CNV を栄養する栄養血管の血流速度より速い傾向にあった。栄養血管に限らず、末梢血管の血流速度に対する影響については、血管径が小さいほど血流抵抗も大きくなり、速度は小さくなる(ポワズイユの法則)。また、血球成分で最大の血流抵抗となる白血球の活性により血流速度は大きく変化するという報告¹⁰⁾も行われている。このように血漿の移動速度以外に循環動態に関与する因子は多く存在すると考えられ、今後さらに栄養血管の血管径や血流量、血球の移動速度についても解析を行い、その循環動態を明らかにしたい。さらに、栄養血管に対する光凝

固治療に関して、治療成績、血管径および血流速度などの関係に関して研究を行い臨床応用にも役立てたい。実際、Staurenghi ら¹⁷⁾は血管径の小さい栄養血管では閉塞が得られやすいことを述べており、血流速度も栄養血管の閉塞に何らかの関連があるかも知れない。

本論文の要旨は、第 103 回ならびに第 104 回日本眼科学会総会で発表した。稿を終えるに当たり、直接ご指導を賜りました白神史雄助教授、土田陽三先生、ならびにご指導、ご校閲賜りました大月 洋教授に深謝いたします。また、ご協力いただきました教室の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) 玉置泰祐, 川本英三, 江口秀一郎, 新家 眞, 藤居 仁: レーザースペックル現象を利用した脈絡膜末梢循環の生体用二次元解析器の開発. 日眼会誌 97: 602-609, 1993.
- 2) Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H: Non-contact, two-dimensional measurement of tissue circulation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp Eye Res* 60: 373-384, 1995.
- 3) 磯野博明, 木村保隆, 青柳康二, 藤居 仁, 小西直樹: レーザースペックルフローグラフィーによる脈絡膜循環測定. 日眼会誌 101: 684-691, 1997.
- 4) Myriam S, Selim O, Konstantin G, Andy S, Carl E, Josef F: Choroidal laser Doppler flowmetry in healthy subjects. *Arch Ophthalmol* 118: 211-215, 2000.
- 5) Hyvarinen L, Maumenee AE, George T, Weinstein GW: Fluorescein angiography of the choriocapillaris. *Am J Ophthalmol* 67: 653-666, 1969.
- 6) Riva CE, Feke GT, Ben-Sira I: Fluorescein dye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234: 315-322, 1978.
- 7) 小山鉄郎, 松尾信彦, 清水慶一, 井石昭比古, 白神史雄, 岡山英樹, 他: ビデオ蛍光血管造影と画像解析による網膜平均循環時間の測定システム. *Therapeutic Res* 5: 35-40, 1986.
- 8) Koyama T, Matsuo N, Shimizu K, Mihara M, Tsuchida Y, Wolf S, et al: Retinal circulation times in quantitative fluorescein angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 228: 442-446, 1990.
- 9) 三原研一: 走査レーザー検眼鏡と画像解析による網膜動脈血流速度の測定. 眼紀 47: 1393-1397, 1996.
- 10) Mori K, Yoneya S: The superlate phase of indocyanine green angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 586, 1998.
- 11) Shiraga F, Ojima Y, Matsuo T, Takasu I, Matsuo N: Feeder vessel photocoagulation of subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 105: 662-669, 1998.
- 12) 羽鳥 毅, 村岡兼光, 田中隆行, 得居賢二, 古沢

- 信彦, 高橋京一: 走査レーザー検眼鏡による網膜動脈血流速度の測定. 臨眼 46: 901—907, 1992.
- 13) **Fienwald E, Oak SM**: Choroidal microcirculation *in vivo*. *Bibl Anat* 7: 129—132, 1965.
- 14) 松尾信彦: 脈絡膜循環の特異性. 日眼会誌 84: 2147—2206, 1980.
- 15) 白神史雄: 中心窩下脈絡膜新生血管の検出. 臨眼 49: 63—71, 1995.
- 16) **Sutton DW, Schmid-Schonbeim GW**: Elevation of organ resistance due to leukocyte perfusion. *Am J Physiol* 262: 1646—1650, 1992.
- 17) **Staurenghi G, Orzalesi N, Capria A, Aschero M**: Laser treatment of feeder vessels in subfoveal chroidal neovascular membranes. *Ophthalmology* 105: 2297—2305, 1998.
-