

第 108 回 日本眼科学会総会 宿題報告Ⅲ

眼科検査診断法

網・脈絡膜循環評価への新しいアプローチ

米谷 新

埼玉医科大学眼科学教室

共同研究者

森 圭介, 村山耕一郎, 斎藤 民也, 伊藤 真美, 伊藤・西山 洋子, 阿部 友厚, 大木隆太郎
舩澤 伸介, 川崎いづみ, 安齋 要, 金井 要, 樺沢 昌, 渋谷 雅之, 今井 大介, 田北 博保
栃谷百合子, 斎藤 純代, 中島 理幾, 出口 達也, 菅野 順二, 竹内 勝子, 高須 正行(埼玉医科大学眼科学教室)

Tamir Gil, Mike Adel(Applied Spectral Imaging Co.)

渋谷 崇男(群馬大学工学部), 新家 眞(東京大学医学部眼科学教室)

要 約

コンピュータ技術の進歩は、網膜および脈絡膜循環を新しい角度から評価することを可能としている。我々は、このコンピュータの持つ高い情報処理能力を使って、網・脈絡膜循環の評価を行った。

1. 脈絡膜循環の評価

1. インドシアニングリーン(ICG)蛍光眼底造影法の再評価

ICG カメラの改良を目的に物理・化学特性を明らかにした。

- 1) ICG の吸光波長：分光光度計による測定を行い、ICG 色素溶液の最大吸光波長は 780 nm にあり、血清蛋白と結合すると 805 nm に移動することが *in vitro* の研究で確認された。そして、ストップフローメタによる ICG と血清蛋白との結合時間測定では、フルオレセインソジウムが ms であるのに対して、min の単位と著しく長いことが明らかとなった。

この知見から、ICG カメラの励起光源として 780 と 805 nm を発振する半導体レーザーを使い、それぞれ充盈初期、中期から後期画像観察とした。

2) ICG の血清蛋白との結合特性：ICG を投与後得

られた、ヒト血液標本から血清を分離し、血清蛋白免疫電気泳動と polyacrylamide ゲル円板蛋白電気泳動法を行い、その結果を ICG カメラで観察した。その結果、血中に投与された ICG は低比重リポ蛋白(LDL)や高比重リポ蛋白(HDL)のリポ蛋白と結合することが明らかとなった。また、ICG は脂質と親和性があり、特に水溶性のリン脂質と結合し蛍光輝度が高くなることがわかった。

2. ICG の残存蛍光

通常の ICG 造影を行ったのち、24 時間後にその眼底での残存蛍光を観察した。対象は 36 歳以下の若年健常者 8 名、62 歳以上の加齢健常者 9 名と 50～80 歳の加齢黄斑変性(ARMD)と診断された 21 症例 37 眼である。その結果、脈絡膜新生血管(CNV)のある ARMD の 95%、CNV のない ARMD の 73% に地図状低蛍光巣が観察された。一方、年齢対応する加齢健常者には、地図状低蛍光巣は観察されなかった。また、健常者での比較では、加齢とともに残留蛍光輝度が有意に高かった。この所見は、網脈絡膜の加齢変化、特に Bruch 膜のそれを反映しているものと推測された。

別刷請求先：350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 埼玉医科大学眼科学教室 米谷 新

(平成 16 年 8 月 27 日受付, 平成 16 年 10 月 1 日改訂受理)

Reprint requests to: Shin Yoneya, M.D., PhD. Department of Ophthalmology, Saitama Medical School.

38 Morohongo, Moroyama, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan

(Received August 27, 2004 and accepted in revised form October 1, 2004)

3. 正常眼底での ICG 初期流入パターン

改良型 ICG カメラを使い、健常有志者 10 名に I-ICG 造影を行い、その初期流入画像を観察した。年齢は 22~26 歳 [23.4 ± 13 (平均 $\pm$ 標準偏差) 歳] 初期流入は中心窩下に脈絡膜細動脈が網目状観察されるものが 8 眼に、後極部眼底に斑状蛍光が観察される choroidal flush を示すものが 2 眼であった。黄斑部下での脈絡膜血管と血流が豊富であることが確認された。網膜血管の充盈開始前に脈絡膜充盈は完了し、脈絡膜循環は、網膜循環に比べ速いことが示された。

4. 脈絡膜毛細管板での循環動態の観察の試み

初期流入パターンを観察した画像を、さらにコンピュータにより画像解析を行った。記録したビデオ画像から 0.12 秒差のある画像を使い、subtraction 画像を作製した。これを連続 90 枚計 3 秒間相当を作製し、動画観察を可能とした。これにより、脈絡膜血管への血液流量の変化している所が描出される。この結果、黄斑部から周辺部眼底へと遠心状に、ほぼ均等に wave front が約 1 秒に 1 回、拍動性に拡散している様子が観察された。マクロでの脈絡膜毛細管板での血流動態が初めて明らかにされた。

II. 網膜循環の評価

網膜循環を新しい視点から解析する目的で、眼底での酸素飽和度測定のための装置を試作し、その臨床応用を行いその有用性を確認した。

1. 装置の試作

装置は、眼底カメラとサニアック型干渉計とデータ取得と解析ソフトの入ったコンピュータから構成されている。1 ピクセル毎の波長解析が可能であり、酸素飽和度はその程度に応じた色で示され、35 度の眼底画像の上に色表示される。

2. 臨床応用

1) 正常眼底での酸素飽和度測定

健常有志者 10 名で、1 乳頭径以内での網膜

動脈および静脈での酸素飽和度を測定した。その結果、酸素飽和度はそれぞれ 96.65 ± 3.30 (平均値 $\pm$ 標準偏差) %, 56.05 ± 4.69 % であった。

次に、健常有志者 30 名の視神経乳頭部、中心窩、乳頭黄斑間、黄斑部上および下方で測定を行ったところ、酸素飽和度は視神経乳頭から中心窩に向かうに従って酸素飽和度は有意に低くなっていた。中心窩では脈絡膜循環血流量が最も多い場所であり、この結果から、本装置での測定光は網膜色素上皮でほとんど遮断され、得られた酸素飽和度の値は、網膜由来である可能性が高いことが示唆された。

2) 網膜循環障害と酸素飽和度測定

網膜中心静脈閉塞症 (CRVO) を網膜循環障害のモデルとして、重症度の異なる 10 症例のフルオレセイン蛍光造影 (FAG) 所見と測定結果を比較した。FAG による循環障害の程度と測定結果が示され、網膜虚血評価に有用な非観血的検査法であることが確認された。

3) 緑内障での酸素飽和度測定

健常者群と開放隅角緑内障 (OAG) で、傍視神経乳頭網膜および網膜動・静脈の酸素飽和度を測定した。OAG 群で下耳側網膜で有意な、また上耳側網膜でも酸素飽和度の低下傾向が見られた。特に、低眼圧緑内障 (LTG) 眼でその傾向が顕著であった。この酸素飽和度の低下は、同時に行われた Humphrey 自動視野計のプログラム 30-2, SITA による平均値 (MD) と相関が見られた。(日眼会誌 108: 836-862, 2004)

キーワード：インドシアニングリーン蛍光眼底造影法、脈絡膜毛細管板、サブトラクション、網膜酸素飽和度、網膜虚血

A Review

A New Approach for Studying the Retinal and Choroidal Circulation

Shin Yoneya

Department of Ophthalmology, Saitama Medical School

Abstract

One advantage of advanced computer technology is the high throughput with which the retinal and the choroidal circulation can be evaluated from new aspects. To study the choroidal circulation, we first reevaluated indocyanine green video angiography to improve the visualization of indocyanine green (ICG) images, then applied computer technology to

analyze images obtained by an ICG video camera system. We also developed a new instrument to measure oxygen saturation levels in the fundus using spectral retinal imaging technology.

I. Choroidal circulation

1. Reevaluation of ICG video camera system: For this purpose, the bio-chemical nature of ICG

was studied.

- 1) Spectral absorption of ICG : The peak absorption of ICG in distilled water was 780 nm as measured with a spectrophotometer. Its maximum absorption shifted from 780 nm to 805 nm after gradually mixing ICG with human serum protein. Conjugation time of ICG as well as fluorescein sodium with human serum protein was then measured by a stopped flow-meter. It was found that fluorescein sodium conjugated with human serum protein within a few milliseconds, while ICG required more than 600 seconds before equilibrium of the binding was reached. From these observations, we developed a new ICG video system with dual light sources ; one, a 780 nm diode laser for the early dye filling phase, and the other, a 805 nm diode laser for the later phase of ICG angiography.
- 2) Binding properties of ICG in human blood : Blood samples were obtained from three healthy volunteers after intravenous administration of ICG. The resulting plasma samples were fractionated by agarose gel immunoelectrophoresis and polyacrylamide gel DISC electrophoresis. The electrophoretic pattern obtained by each method was observed with an ICG fundus video system. We also studied the affinity of ICG for lipids that are common molecular components of lipoproteins such as high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL). Four kinds of ICG solutions mixed with phospholipid, free cholesterol, esterified cholesterol, and triacrylglycerol were observed with the ICG fundus video system. Both electrophoretic studies showed that ICG bound intensely to HDL and moderately to LDL, and only the solution with phospholipid fluoresced brightly when observed with the ICG fundus video system.
2. Residual fundus ICG fluorescence : Residual fundus fluorescence observed in the late phase of ICG angiography may be delineated differently in normal subjects and in patients with age-related macular degeneration (ARMD). We performed ICG angiography on 8 normal subjects aged below 36 years (8 eyes), 9 normal subjects aged above 62 years (9 eyes), and 21 patients with ARMD aged 50 to 88 years (37 eyes). The intensity and pattern of fluorescence from angiograms obtained in the ultra-late phase, 24 hours after dye injection, was recorded and

analyzed.

In the ultra-late phase, 95% of ARMD eyes with choroidal neovascularization (CNV) showed geographic hypofluorescent lesions. These hypofluorescent lesions occurred in 73% of ARMD eyes without CN, while age-matched normal subjects had no hypofluorescent lesions. The mean intensity of fluorescence in the normal elder subject group was significantly higher than that seen in the normal younger subject group.

These findings may reflect aging change and bio-distribution of lipid on the Bruch-RPE complex.

3. The early dye filling pattern of the choroid : We performed ICG angiography on 10 healthy young volunteers aged 22 to 26 years (23.4 ± 1.3 ; mean $\pm$ standard deviation) using an improved ICG video camera system. ICG (50 mg) dissolved in 2 ml in distilled water was injected through the antecubital vein.

Although the choroidal dye filling varied among subjects, it always began in the macular area. In the 10 subjects, initial dye filling had two patterns : reticular (n=8) and flush (n=2). The choroidal circulation filled completely before the retinal circulation did. Bright fluorescence in the macula and fast blood flow may be correlated with ample blood volume and abundant blood vessels in the macular area.

4. The spreading pattern of ICG fluorescence in the choroid : The ICG images obtained for observing the early dye filling pattern of the choroid were further processed with a computer-assisted image analyzer. Subtracted images were made using the early ICG frames with a time interval of 0.12 second. Ninety frames of time-sequential images for 3 seconds starting from the initial dye appearance in the choroid were prepared to construct an animated image.

In the initial phase of eye filling, patchy fluorescence appeared in the fovea. The fluorescence then spread centrifugally in all directions in a wave-like pulsatile manner towards the peripheral fundus with increasing brightness. Thus an animated video of subtracted images allowed us to evaluate flow dynamics at the level of the choriocapillaris. Using this new approach, pathogenic involvement of choroidal circulation in varied chorioretinal diseases such as central serous chorioretinopathy can be studied with precision.

II. Retinal circulation

We developed a new device to study the oxygen saturation(OS) levels in a wider fundus area. We call this device a spectral retinal image (SRI) system. We are pursuing the possibility of this instrument being in clinics to evaluate chorioretinal diseases.

1. Introduction of the device : The instrument consists of a Sagnac interferometer that has been mounted on top of a fundus camera, and a software module which consists of an acquisition module and an analysis module. The image acquisition process takes 6 seconds during which the fundus is illuminated by the white incandescent light of the fundus camera at the regular power settings. OS values in each pixel of the fundus image with a 35-degree view can then be estimated from the respective spectrum that is obtained by Fourier-transforming the interferometer signals. Each OS value is represented by a specific color, and each pixel of the fundus image is painted accordingly.

2. Clinical applications

- 1) Control study : OS levels of both retinal arteries and veins within a 1 disc diameter (DD) area around the disc were measured from 20 SRIs obtained from 10 healthy volunteers, and were $96.65 \pm 3.30\%$ and $56.05 \pm 4.69\%$, respectively. Then 30 healthy volunteers were recruited for further study in which the OS values were calculated in five retinal regions : 1) juxta-papillary area within 1.75 DD, 2) fovea within 1.0 DD, 3) papillomacular region within 1.0 DD, 4) superior area of the posterior fundus within 1.0 DD, and 5) inferior posterior area of the posterior fundus within 1.0 DD.

The OS level of the juxta-papillary area was the highest, while that of the fovea was the lowest and the other three posterior retinal regions were in the middle. Thus OS levels differed at various areas in the retina with statistical significance.

In spite of abundant choroidal circulation in the fovea, the overlying retina may have a relative by low oxygen level. As the retinal pigment epithelium may be efficient enough to block the effect of the choroid optically, our results may indicate that the OS levels represent the OS of the retina.

- 2) Measurement of OS levels in eyes with retinal circulatory disturbances : Eleven eyes of 10 patients with central retinal vein occlusion (CRVO), which showed various degrees of severity, and 4 fellow unaffected eyes of selected patients were examined by both fluorescein angiography(FAG) and the new SRI system. The fluorescein angiograms were correlated with OS maps that were calculated from the SRI.

OS grading demonstrated by OS maps correlated well with severity of CRVO, as estimated by FAG. Thus our SRI system is noninvasive with reproducible results, and may prove to be a useful clinical tool to evaluate the degree of retinal ischemia.

- 3) Measurement of OS levels in eyes with glaucoma : Forty-seven eyes with open angle glaucoma(OAG) of 47 patients and 21 eyes of 21 age-matched normal subjects were recruited for the study. Twelve eyes with low-tension glaucoma(LTG) were included in the OAG eyes and the rest of the OAG eyes had primary OAG. All patients and normal subjects were examined by SRI. Visual field tests for OAG eyes were done with a Humphrey Field Analyzer using the 30-2 program, Swedish interactive threshold algorithm(SITA). OS levels in the retina at 5 different points : superior, inferior, superio-and inferio-temporal, and nasal region within a juxta-papillary area of $200 \mu\text{m}$ in diameter were calculated from the SRI. OS levels of retinal arteries were also measured and there were no significant differences between OAG and the control group.

OAG eyes showed reduced OS levels in the inferio-temporal retina with statistical significance. This observation was more prominent in LTG eyes. The reduced OS levels observed in OAG eyes correlated well with mean deviation(MD) and the sum of total deviation of the 17 points in corresponding areas in the visual field analysis.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi(J Jpn Ophthalmol Soc 108 : 836—862, 2004)

Key words : Indocyanine green angiography, Choriocapillaris, Subtraction image, Oxygen saturation level, Retinal ischemia

緒 言

コンピュータ技術の発展により、大量の情報が早くに処理することが可能となり、画像診断法は著しく進歩してきている。その代表例は、光干渉断層法(OCT)¹⁾、神経線維層解析装置²⁾、多局所網膜電図(mERG)³⁾など、目白押しといった状態であり、コンピュータ技術の進歩が現在の眼科臨床に密接に関係していることが理解される。これらの多くの画像診断法により、病態の把握がより具体的に可能となってきたことは、上に挙げた検査法でも既に経験されている。OCTによる黄斑円孔の発症機序の解明とGass分類⁴⁾の具体証明はその一つの代表例である^{5)~13)}。

眼底循環の検査法の、ドップラ法¹⁴⁾¹⁵⁾やレーザースペクル法^{16)~18)}なども、コンピュータ技術の進歩により、臨床応用が可能な検査法となっている。我々はインドシアニングリーン(ICG)蛍光眼底造影法の観察・記録装置であるICGビデオ眼底装置の改良を試みる一方、コンピュータによる画像解析法を導入して脈絡膜循環を新たな側面からの観察を行い、興味ある知見を得ることに成功した。

一方、網膜では、カラー眼底写真の撮影が可能であることは、いい換えれば、眼内に入射した観察光が眼底から反射して戻ってきた光をとらえることである。眼底にある物質の持つ、それぞれの特有の波長を解析することにより物質の定量解析が可能であることが考えられる。しかし、そのためには、情報解析のために多量の演算解析が必要となることは想像に難くない。我々はコンピュータ技術を導入し、眼底での酸化ヘモグロビン、還元ヘモグロビンを定量解析し、酸素飽和度を測定することに成功し、その臨床応用を行い有用性を確認したのでここに報告する。

なお、以下に述べる臨床実験は、すべての被験者に実験の目的、意義を説明し、インフォームド・コンセントを得て行われた。

I ICG 蛍光眼底造影法の改良と脈絡膜循環の観察

脈絡膜循環血量は、網膜のそれと比較して100 grm当たり20~30数倍に及んでおり、その役割として網膜外層への酸素供給もさることながら、眼底の冷却にあることが指摘されている¹⁹⁾。脈絡膜毛細管板は、一枚の連続した網目から成る網細血管網であるが、それが網膜色素上皮に裏打ちするかのよう配列している形態から、その役割に納得されるものがある。しかし、Wagenmann²⁰⁾が脈絡膜血管の結紮実験から、脈絡膜動脈は独立した分画を支配している可能性が示唆されており、また臨床的経験からも、脈絡膜毛細管板の形態と臨床所見との間に溝があることが以前から指摘されていた²¹⁾。

一方、脈絡膜循環の理解は蛍光眼底造影法の臨床導入と発展によって飛躍的に深まり^{22)~25)}、その読影の基礎となる脈絡膜血管構築への関心が臨床面からも高くなったと推測される。これを反映してか、第84回日本眼科学会総会(昭和55年)において「脈絡膜循環の諸問題」の主題で宿題報告が行われた。この頃、Mercox樹脂を使った血管鋳型標本作成と、それを走査電子顕微鏡による脈絡膜血管構築の三次元的観察という画期的な方法が開発され²⁶⁾、眼科でも活発に応用されるようになっていた^{27)~31)}。

しかし、このような脈絡膜循環や、血管構築への理解が深まっても、未解決の問題を多く残したままであるといえる。その代表例として、Hayrehの提唱したwater-shed zone説が挙げられる³²⁾³³⁾。脈絡膜動・静脈それぞれに灌流支配領域があり、そのそれぞれの支配領域の接する部位は低血流となり、蛍光眼底造影では低蛍光ゾーンとして観察されるという。しかし、血管鋳型標本での観察から、短後毛様動脈の分布から黄斑部で分水嶺が存在するという説³²⁾に疑問が持たれ³⁴⁾、また、渦静脈の配列も、一様でないことが報告³⁵⁾されている。さらに、最近のICG蛍光眼底造影法による臨床研究では、ヒト眼での脈絡膜静脈の配列は必ずしも上下対象ではなく、Hayrehのいう典型的な渦静脈の分水嶺の存在に疑問を呈することが報告³⁶⁾されている。一方、脈絡膜網細血管板に分葉構造があるという説^{37)~43)}も同様である。この問題については後に詳述をするが、ここでも、形態と造影検査所見との間にまだ埋めきれない溝が残っているといつて良い。

従来の、脈絡膜循環の実験的観察に使用されていたフルオレセイン蛍光造影(FAG)では網膜色素上皮の存在があり、脈絡膜の循環動態や血管構築の観察を、網膜のそれと同等のレベルで行うことが難しいことは、臨床での経験からも容易に理解されている。この問題を克服し、脈絡膜循環を観察することを目的として開発されたのがICG蛍光眼底造影法である^{44)~46)}。その開発の試みは1970年と30年以上も前であるが、赤外フィルムの取り扱いの難しさもあり、臨床応用が進まなかった。しかし、林⁴⁷⁾がビデオカメラによる観察法が臨床応用を容易にし、一方、臨床面ではYannuzziのグループ⁴⁸⁾による加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管の治療に有用であるとの報告があり、その臨床応用が一気に加速した。我々の教室では、ICG眼底造影画像の解像度の向上に取り組む一方、読影の基礎となる色素の物理特性を明らかにした。本稿では、それらの結果と、ICG眼底造影法により明らかとなった脈絡膜循環の特徴と加齢変化、さらには、未だ未解決と考えられる脈絡膜毛細管板での循環動態について、コンピュータ技術を導入して得られた結果について報告する。

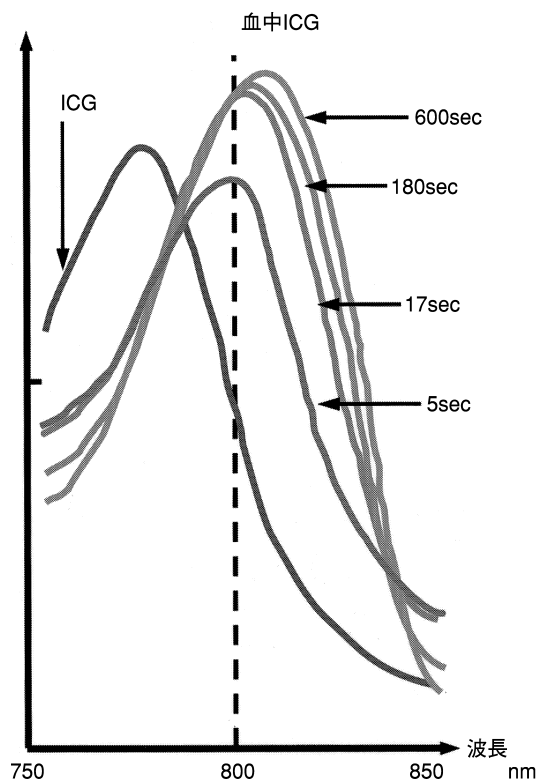


図 1 アルブミンとインドシアニンググリーン(ICG)の結合による最大吸光波長の移動。(文献 50 より引用)

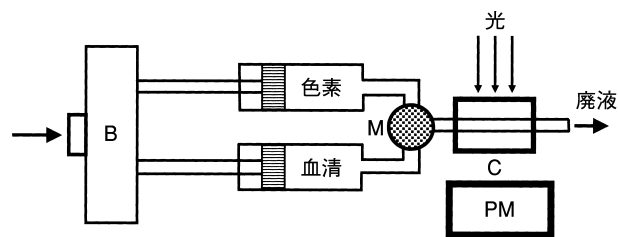
1. ICG 色素の吸光波長と血清蛋白結合特性

1) ICG 色素の最大吸光波長

この研究の目的は、輝度の低い ICG 蛍光を、能率良く励起し、干渉フィルタで取り出すことである。

ICG 溶液の吸光波長を分光光度計(MSP-50 L, 島津)で測定し、780 nm がその最大吸光波長であることを観察した。さらに、ICG 溶液にヒト血清アルブミン溶液を混和し分光光度計で測定した。測定波長の幅を 750 nm から 850 nm に狭めることにより、1 秒に 1 回のスキャンをすることが可能であったが、900 秒の測定時間の間に、混和開始から計 15 回の測定を行った。同じ操作で 3 回の測定を行った。その任意の時間の測定結果を図 1 に示す。この結果から、ICG はヒト血清アルブミンとゆっくりと結合し、その最大吸光波長が 780 nm から 810 nm へと長波長側に移動することが理解された。この事実は、ICG 画像を鮮明するため、撮影装置の励起光と干渉フィルタの波長設計において重要な知見である⁴⁹⁾⁵⁰⁾。

さらに、この ICG 色素の特性を確認する目的で、フルオレセインナトリウムとヒト血清との結合時間をそれぞれ測定し、比較した。それぞれの色素とヒト血清との結合時間はストップ・フロー測定器(RA-401, ユニオン技研)で測定した(図 2)。その結果、フルオレセインナトリウムとヒト血清はミリ秒の単位で結合を完了するのに対して、ICG とヒト血清ではその結合時間は極端



M: 混合器 C: 観測セル PM: 光電子倍增管

図 2 ストップフローメーター構成模式図。

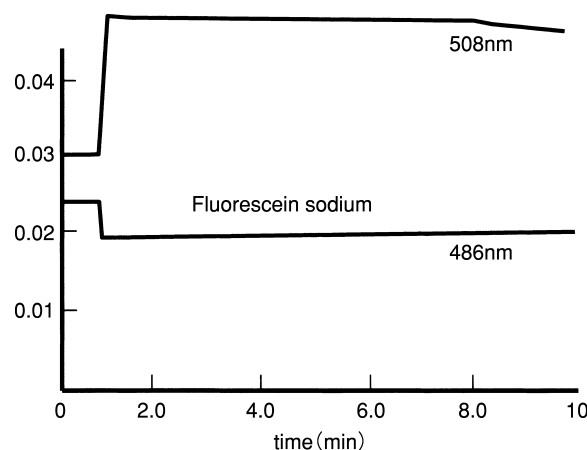
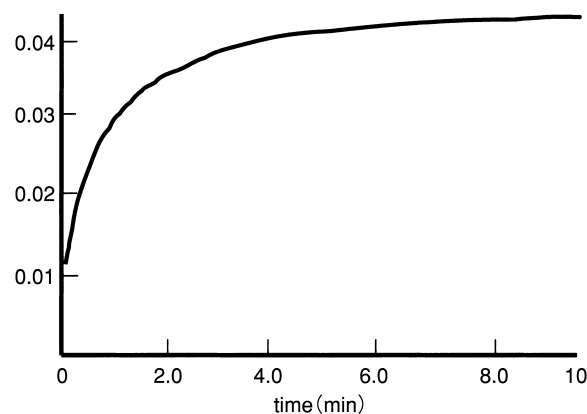


図 3 血清蛋白と ICG およびフルオレセインナトリウム結合時間のグラフ。

縦線は輝度変化を表す。

に延長し、分の単位で結合することが再確認された(図 3)。

ICG 色素の血清蛋白との結合時間が分光光度計による測定結果とストップ・フロー測定法のそれで、若干の差が見られるが、ストップ・フロー測定法でより正確に結合時間が測定されるだけでなく、結合する蛋白が、一方はアルブミンであり、他方はヒト血清であるという違いが関係していることが示唆された。つまり、ICG 色素は必ずしもアルブミンとだけ結合しているのではない可能性があることが理解された。

ICG 水溶液と血清蛋白結合 ICG の最大吸光波長は、

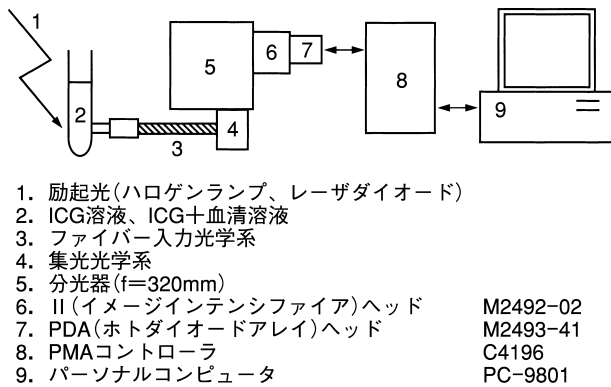


図4 マルチチャンネル検出器の構成模式図。

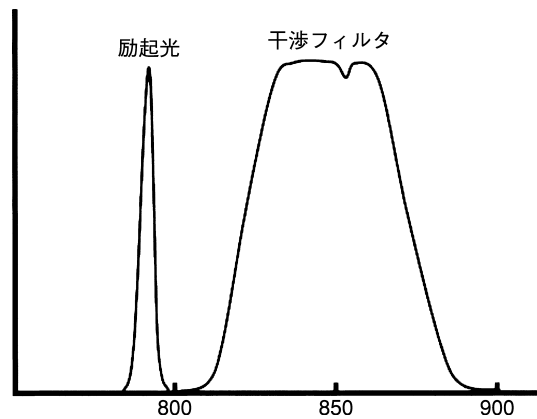


図6 半導体レーザー励起と干渉フィルタの組み合わせ概念図

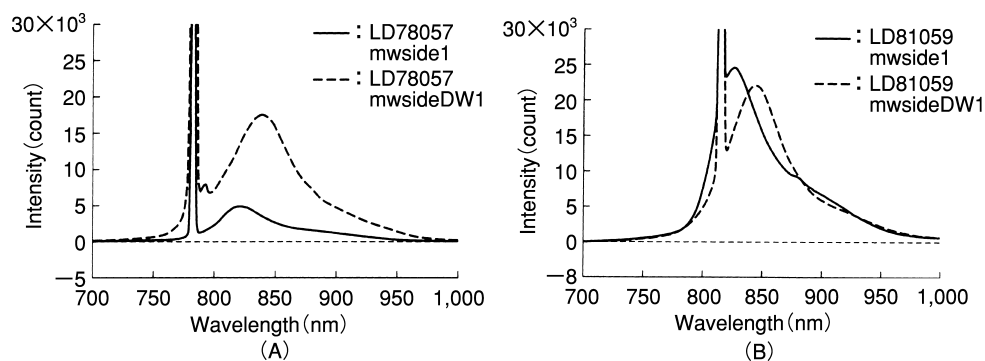


図5

A: ICG 溶液(実線)と ICG 加血清(点線)を 780 nm 半導体レーザーで励起した時の、それぞれが発する蛍光波長。
 B: ICG 溶液(実線)と ICG 加血清(点線)を 810 nm 半導体レーザーで励起した時の、それぞれが発する蛍光波長。

それぞれ 780 nm と 805 nm であったので、各々の波長で励起した場合の蛍光波長を測定した。この実験には、マルチチャンネル検出器(PMA 11, 浜松フォトニクス)を使用し、780 nm と 810 nm の半導体レーザーを励起光源とし、ICG 水溶液、ICG 加血清溶液のそれぞれを励起し、それにより発光した蛍光波長を測定した。図4にその測定方法と図5に測定結果を示す。780 nm 半導体レーザーでは、ICG 水溶液の発する蛍光は 825 nm 前後に、また ICG 加血清溶液では 845 nm 前後にそのピークがあることがわかる(図5 A)。一方、805 nm 半導体レーザーによる励起でも、ICG 水溶液では 825 nm、ICG 加血清溶液では 845 nm 前後にその蛍光波長のピークがあった(図5 B)。この実験結果から、780 nm を励起光源とすると、発する蛍光は 810 nm のそれよりも弱い、偽蛍光を避けるための干渉フィルタの設計が容易であることが、図6から理解される。

以上の知見は、より解像度の良い ICG ビデオ装置設計の基礎となるものである。

2) ICG の血清蛋白との結合特性

ICG 眼底造影法が眼科臨床に導入された初期には、

血中に投与された ICG 色素の 98% がアルブミンと結合するという内科での報告⁵¹⁾が、一般には受け入れられていた。しかし、内科領域ではその後血清蛋白分画法の進歩があり、 α -, β -リポ蛋白を主体とする血清リポ蛋白に結合するとの考えが定着してきている⁵²⁻⁵⁷⁾。ICG の眼内での動態を理解する上で、血中に投与された ICG がどの血清蛋白と結合するかは重要な問題である。ICG の分子量はおよそ 775 であり、単独ではフルオレセインナトリウムと同等の組織透過性を示すことが予測される。一方、アルブミンの分子量は約 7 万であるのに対して、低比重リポ蛋白(LDL)でもその分子量は 200~300 万⁵⁸⁾であり、ICG がいずれに結合するかによって、その組織および血管透過性が大きく変化することが容易に理解される。

内科領域で示された ICG と血清蛋白との結合特性は、*in vitro* での検索結果であり、*in vivo* で同様の結果になるかについては未だ疑問の余地がある。また、実験方法も、複数の蛋白分画法と赤外分光光度計による ICG 蛍光の測定を組み合わせたものであり、間接的に ICG が結合している蛋白を同定するというものであった。

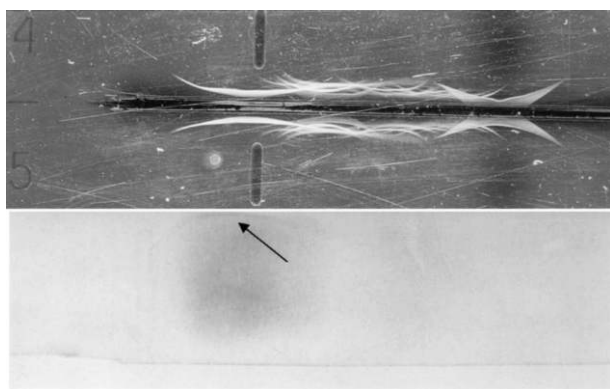


図 7 血清蛋白免疫電気泳動の結果(上段)と、それを脂肪染色をした結果を示す(下段)。
带状に染色(矢印)され、上段での沈降線がリポ蛋白の部位に相当することを示す。

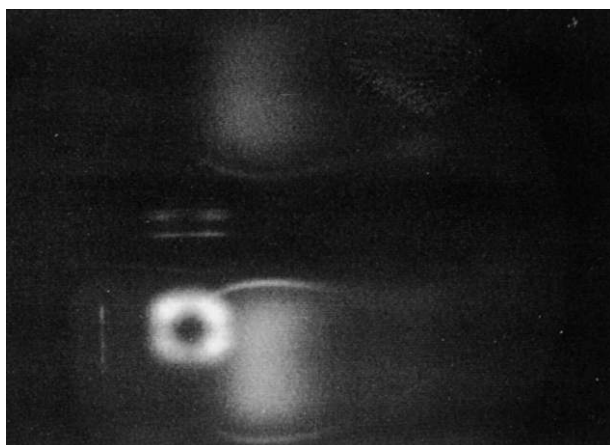


図 8 図 7 の結果を ICG ビデオカメラ装置で観察。
 β -リポ蛋白の免疫沈降線が蛍光を発している。

我々は *in vivo* での ICG の結合特性を、より臨床と直接的に関連させる目的で新たな方法を考案し、ICG と結合する血清蛋白の同定を試み、その結果を報告⁵⁹⁾⁶⁰⁾した。以下にその実験と結果の概略を述べる。

ICG 水溶液(50 mg/2 ml)を健康人の有志者(n=3)の肘静脈より投与し、その 1 分後に採血、遠心器で血清を分離したものを試料とした。

まず、血清蛋白免疫電気泳動を行った後、Fat-Red 7 B 染色(脂質染色)により各蛋白分画と血清リポ蛋白の位置を観察した(図 7)。同一標本を、さらに ICG ビデオカメラ装置で観察したところ、 β -リポ蛋白の免疫沈降線に一致して蛍光が観察された(図 8)。さらに、抗アポ A 1、抗アポ B 抗体を使って、同様に血清蛋白免疫電気泳動を行い、それぞれ高比重リポ蛋白(HDL)と low L-DL の免疫沈降線を得(図 9)、ICG ビデオ眼底装置で観察し、それぞれが蛍光を発しているのを確認した。

この事実を、さらに polyacrylamide ゲル円板蛋白電気泳動法で確認した。これには LDL システム(Lipoprint, Quantimetrix, 米国)を使い、血清試料と脂肪染色

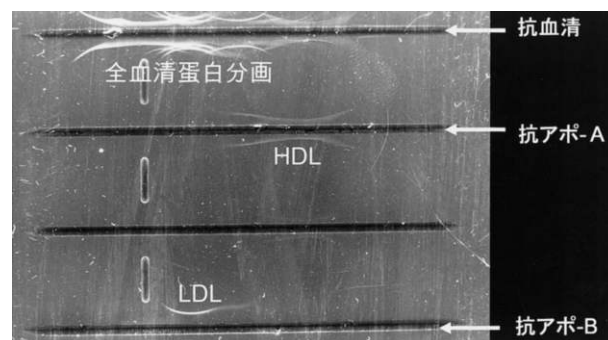


図 9 全血清の蛋白免疫電気泳動の結果と、抗アポ A 1、抗アポ B 抗体を使った免疫沈降線を示す。
それぞれ、高比重リポ蛋白(HDL)、低比重リポ蛋白(LDL)に対応する免疫沈降線が観察される。
これを、後に ICG ビデオカメラ装置で観察。

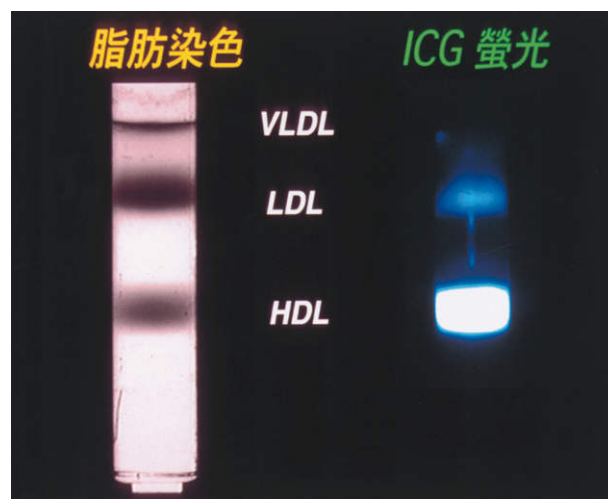


図 10 polyacrylamide ゲル円板蛋白電気泳動法の結果。

脂肪染色により、各種リポ蛋白が縞状に観察される(左)。同じ標本を ICG ビデオカメラ装置で観察。リポ蛋白、特に HDL が強く蛍光を発している(右)。

のためズダンブラックを試料チューブに入れ電気泳動を行った。カラム内はその荷電状態の違いから縞状を呈し、上からカイロミクロン、超低比重リポ蛋白(VLDL)、LDL と HDL に明瞭に分離していた(図 10 左)。これを ICG ビデオ眼底装置で観察すると、LDL および HDL に相当する帯に蛍光が観察された(図 10 右)。しかも、その蛍光輝度は、HDL で LDL に比べより高いことが明瞭であった。この事実は、血清蛋白免疫電気泳動法の結果から、主には LDL に ICG が結合すると考えられたが⁹⁾、免疫沈降線はその一部の蛍光を観察しているものであり、polyacrylamide ゲル円板蛋白電気泳動法での蛍光輝度の方が、LDL および HDL の量的関係と結合力の強さをより反映しているものと考えられる⁶⁰⁾。

以上の結果は、すべての試料で共通であった。

—ICG と脂質の親和性—

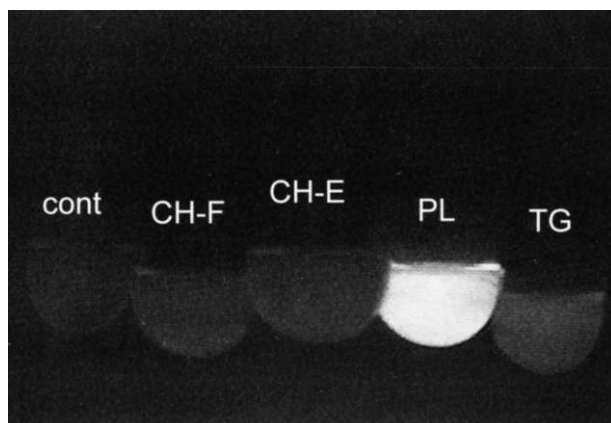


図 11 ICG 水溶液(cont)と ICG と各種脂質のエマルジョンの混和した標本を ICG ビデオカメラ装置で観察した結果。

CH-F: 遊離コレステロール, CH-E: コレステロールエステル, PL: リン脂質, TG: 中性脂肪. リン脂質エマルジョンで蛍光輝度が高いことに注目。

ICG が LDL, HDL と結合することから, その結合部位はそれぞれのリポ蛋白の共通成分である脂質であることが想定された。そこで, 血清リポ蛋白に含まれている脂質であるリン脂質(PL), 遊離コレステロール(Ch-F), コレステロールエステル(Ch-E), 中性脂肪(TG)を薄層クロマトグラフィでヒト血清から分離抽出, 有機溶媒を完全に除去した後, 生理食塩水に混合し, 超音波処理で水溶性の懸濁液状態(リポソーム)にした。これらの懸濁液を, 吸光度計によりそれぞれ濁度が 0.2 になるように希釈した。このようにして作製した脂質懸濁液に ICG 溶液($0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$)を混和し, 同じ濃度の ICG 溶液を対照として ICG ビデオ眼底装置で観察し比較した(図 11)。その結果, PL 懸濁液では均一な蛍光が観察され, その蛍光輝度は対照に比べ著しく高かった。一方, 他の脂質懸濁液の蛍光強度は, 脂質が顆粒状蛍光点として観察されるものの, 蛍光輝度は ICG 水溶液のそれと同等であった。この観察結果から, ICG は PL の親水基に強く結合していることが強く考えられた。

以上の一連の実験で確認された ICG の生化学的および物理特性の理解は, ICG 造影の読影の基礎となるものである。

2. ICG の脂質との親和性の臨床的意義

ICG の生化学的特性や物理特性が, フルオレセインナトリウムのそれと異なりユニークであることが明らかとなったが, 特に ICG の結合する蛋白がアルブミンでなくリポ蛋白であることは, ICG が単なる物理的トレーサーでなく, 生化学的トレーサーとしての意味合いがあると考えられる。例えば, 腫瘍新生血管では LDL レセプターが豊富に存在するが, ICG 造影検査により, ICG が新生血管に取り込まれ, 血管壁が長い時間蛍光を発する可能性も予想される⁶¹⁾。ICG 造影検査では, その後期画像

における残留蛍光は, 単に組織間に色素が存在する組織染色ではなく, 組織の特定の物質と結合して存在する, 生化学的な意味を有する色素染色の可能性が考えられるのである。

我々はこの可能性を追求する目的で, ICG 造影検査実施後 24 時間後の超後期画像での眼底での残留蛍光測定を, 健常眼および加齢黄斑変性(ARMD)眼で行い, 定量的に比較検討した⁶²⁾。なお, この研究は前向き研究である。

1) 症例と方法

対象は, ARMD と診断された連続 21 症例 37 眼と, 対照である 17 名の健常者である。健常者群は, さらに若年者群(8 名 8 眼)と加齢者群(9 名 9 眼)に分け, 計 3 群間で比較を行った。年齢は, ARMD グループで 50~88 歳(66.7 ± 10.2 歳, 平均値 $\pm$ 標準偏差), 健常若年者は 22~36 歳(29.8 ± 4.4 歳)および加齢健常者は 62~77 歳(69.7 ± 5.2 歳)であり, ARMD と加齢健常者群の間には統計学的に有意差はないことを確認した。一方, 若年者群との比較では, 統計学的に有意な差があった($p < 0.01$)。なお, ARMD 症例では, 他の病因による脈絡膜新生血管(CNV)の症例, 網膜下出血のあるもの, 2 乳頭径大より大きい瘢痕病巣のあるものは, 今回の検討症例からは除外した。

FAG と ICG 造影所見から, ARMD 症例 37 眼は CNV のある滲出型 22 眼と, CNV のないドライタイプ 15 眼に分けられた。

ICG 造影には改造型トプコン TRC 50 IA を使用し, ICG 溶液 $50 \text{ mg}/2 \text{ ml}$ を肘静脈より投与した。色素静注後, 初期から後期画像まで, 30 分にわたり通常の撮影を行い, さらに 24 時間後にビデオ撮影を行った。この超後期画像の観察のために, 観察光源の出力を 59 mW に設定した。記録に使用したビデオレコーダーは S-VHS 型(SVO-9500 MD, SONY)である。

2) 画像解析とその妥当性

ICG 投与後 24 時間の超後期画像の背景蛍光の蛍光輝度を IMAGE-net(トプコン)の density probe で, Ito ら⁶³⁾の方法に従って測定した。測定に当たって, $0.01 \sim 10 \mu\text{g}/\text{dL}$ の範囲で, 濃度の異なる 7 種類の ICG 溶液を作製し, ICG ビデオカメラ装置(TRC 50 IA, トプコン)で記録し, その蛍光輝度を測定した。使用したレーザー出力は $2.96 \text{ mW}/\text{cm}^2$ であった。その結果, ICG 溶液と測定した蛍光輝度との間には有意な相関関係があることが確認された(相関係数 0.996 , $p < 0.005$, 図 12)。

3) 超後期画像所見と蛍光輝度測定結果

若年健常者の後極部眼底は, ほぼ均一な背景蛍光を示し, 網膜血管のシルエットが観察された(図 13 A)。一方, 加齢健常者の超後期画像では, 後極部眼底に若年健常者のそれより明るく, 不均一な背景蛍光として観察された(図 13 B)。

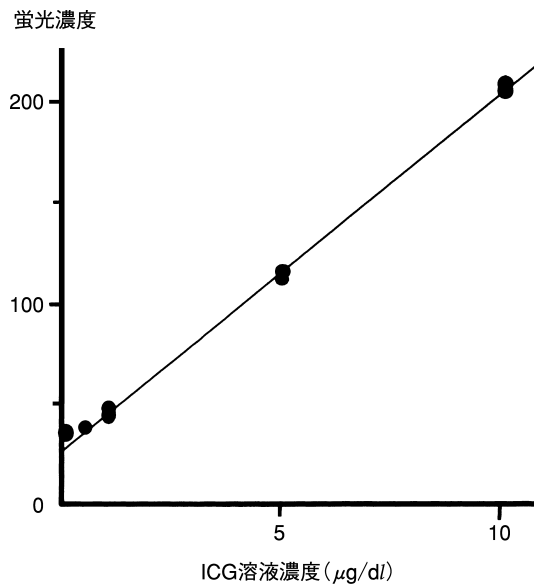


図 12

濃度の異なる ICG 溶液と、ICG ビデオカメラ装置で観察した蛍光輝度の相関を示す。

相関係数 0.996； $p < 0.005$ ； $y = 25.9 + 19.9x$

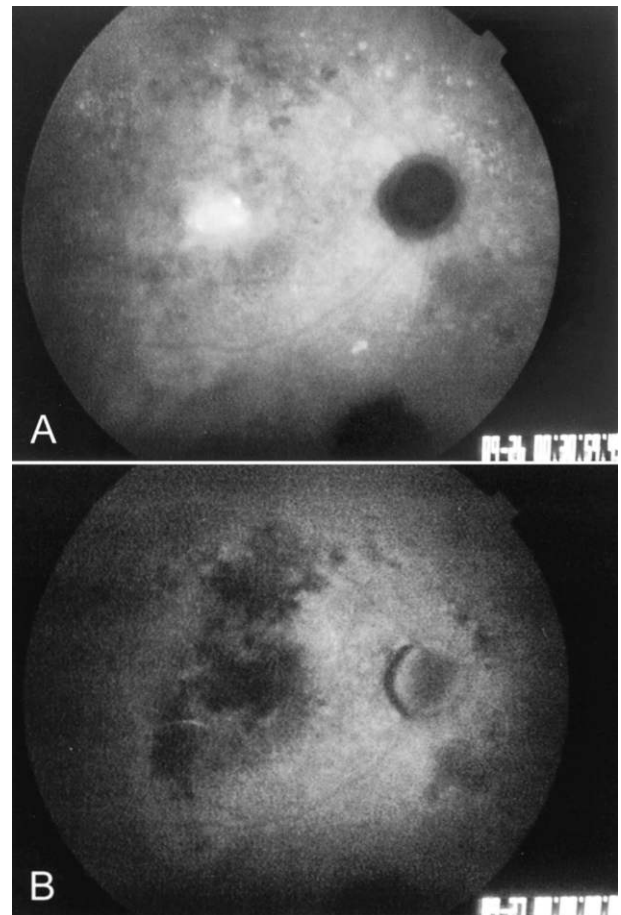


図 14

クラシック脈絡膜新生血管(CNV)の ICG の後期画像では、CNV が過蛍光を示し、また中間周辺部眼底でドルーゼンも蛍光点として観察される(A)。超後期画像では、後極部眼底に地図状の低蛍光巣が見られ、CNV はその中に位置していることがわかる(B)。

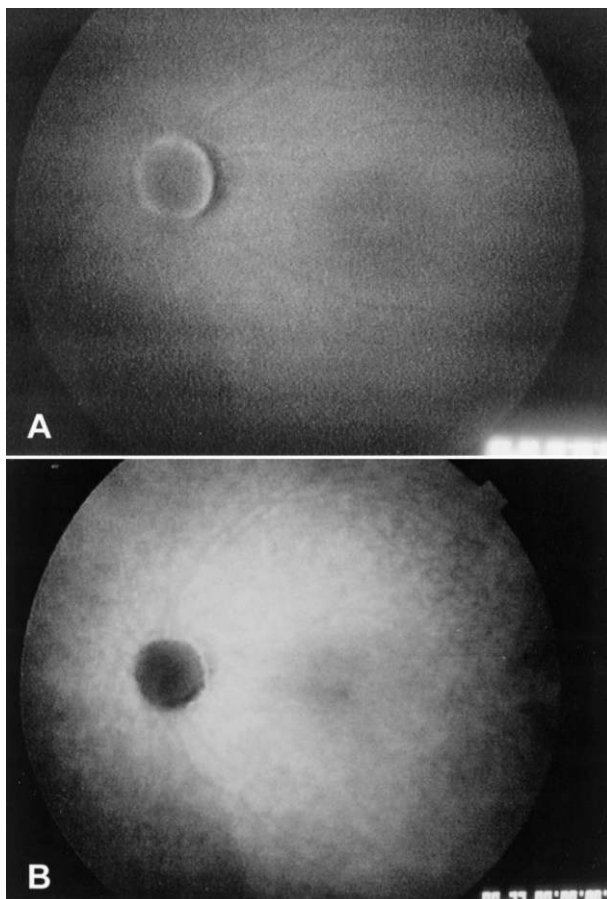


図 13 若年健常者(A)と加齢健常者(B)の超後期画像。

ARMD 眼の超後期画像では、クラシックおよびオカルトタイプ CNV であるかにかかわらず、その後極部眼底に地図状の低蛍光巣がほぼ全例で観察された。そし

て、CNV は、この地図状低蛍光巣の中に存在していた(図 14, 15)。ドライタイプでも、滲出型 ARMD に比べ頻度は低く、また、その範囲も狭い傾向があったが、この地図状低蛍光巣が後極部眼底に観察された(表 1)。

黄斑部の蛍光輝度を測定すると、若年者に比べ、加齢者群でその輝度が有意に高いことが確認された($p < 0.01$, 図 16)。一方、滲出型およびドライタイプの ARMD では、後極部眼底の蛍光輝度は加齢健常者群に比べ低くなり、若年健常者と加齢健常者の値の中間を示した。若年および加齢健常者、滲出性およびドライタイプ ARMD の蛍光輝度測定値は、それぞれ 43.7 ± 2.1 , 91.9 ± 25.6 (平均値 $\pm$ 標準偏差), 65.8 ± 15.1 そして 63.8 ± 15.3 であった。

4) コメント

ICG 投与後 24 時間での後極部眼底における残留蛍光は、加齢とともに蛍光輝度を増し、不均一となることが明らかとなった。一方、ARMD 眼では輝度を増した背景蛍光の中に、地図状低蛍光巣が観察され、CNV が発

表 1 インドシアニングリーン(ICG)超後期画像での地図状低蛍光巣と脈絡膜新生血管(CNV)の頻度と相互の関係.

所見	加齢黄斑変性 CNV(+)	加齢黄斑変性 CNV(-)	年齢対応 健常眼
地図状低蛍光部位	(95%)	11/15(73%)	0/9
地図状低蛍光部位から CNV	21/21(100%)	適用外	適用外

※ CNV 脈絡膜新生血管

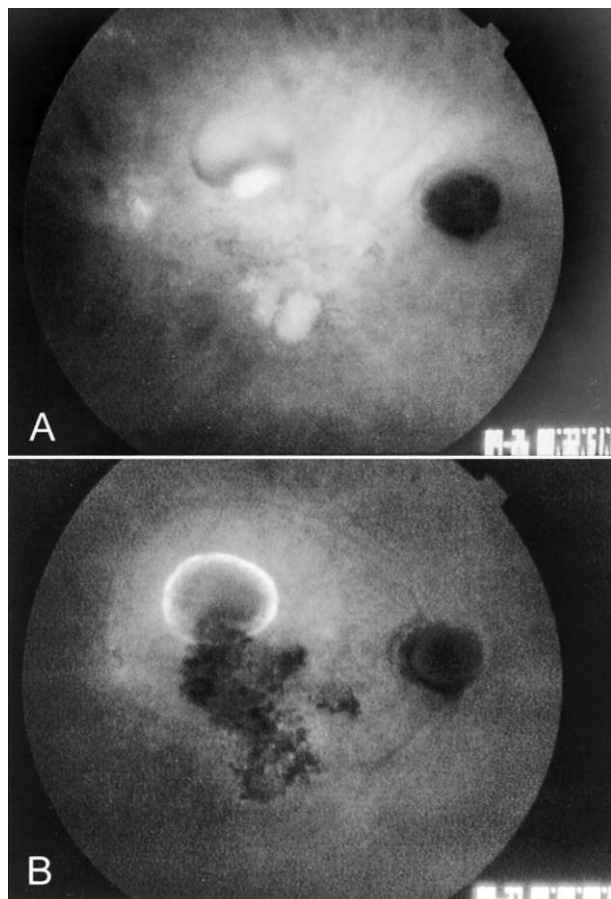


図 15

加齢黄斑変性(ARMD)のオカルト CNV の症例で、通常の後期画像では網膜色素上皮剥離(PED)内および黄斑部下方に色素漏出と貯留が観察される(A)。超後期画像では、PED が過蛍光線で縁取られ、また後極部眼底には低蛍光巣が観察される。クラシック CNV と同様、CNV は低蛍光巣内に位置している(B)。

症していた。

ICG は、腎臓から排出されるのではなく、肝臓から胆汁への排出される⁵¹⁾⁶⁴⁾。肝臓からの ICG 色素の排出は速く、健康人では投与後 15 分で残留 ICG は 10% 以下となり、30 分後には 30 代健康人で 0.56%、60 代健康人で 0.64% である⁸⁾と報告されている。この数値から、ICG 投与 24 時間後の循環血液中の ICG は、あるとしても極微量であることは想像に難くない。しかも、30 代および 60 代での ICG クリアランスに差が見られなかった。この事実から、加齢健常者で観察された残留蛍

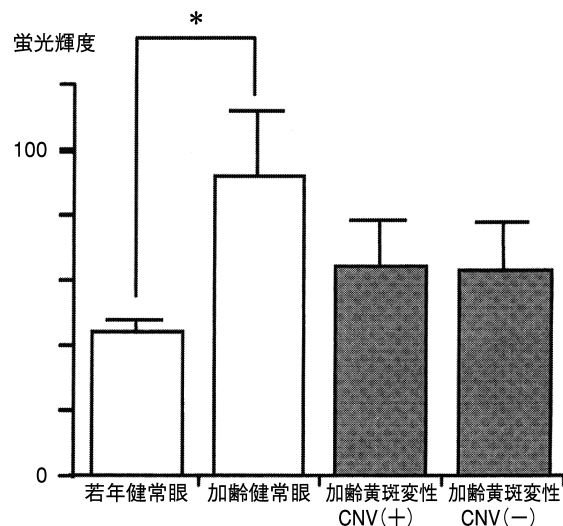


図 16 超後期画像での黄斑部の蛍光輝度測定結果。加齢健常者でその蛍光輝度が若年健常者に比べ有意に高い(*: $p < 0.01$)。

光輝度の若年者に比し有意な増加は、血中に残存した ICG ではなく、血管外に漏出し組織に貯留した ICG を反映した所見であると考えられる。

一方、健常人の ICG 造影所見とそれを基にしたコンピュータ画像解析の結果、加齢とともに後極部眼底の脈絡膜細動脈の数の減少、背景蛍光輝度の低下が観察され⁶³⁾、脈絡膜循環の加齢に伴う変化が明らかとなっている。

ARMD は、脈絡膜循環の加齢変化と密接に関係しているが、直接的に関係しているのは網膜色素上皮および Bruch 膜の病理である⁶⁵⁾⁶⁶⁾。加齢とともに、網膜色素上皮および Bruch 膜に、中性脂肪やリン脂質などの脂質沈着が進行することが Pauleikhoff ら⁶⁷⁾の組織化学的検索によって示されている。中性脂肪は疎水性であり、リン脂質は疎水基および親水基の両者を有している⁶⁸⁾。中性脂肪の蓄積は、網膜色素上皮と Bruch 膜間の水の流れの障害となり、網膜色素上皮剥離の原因となることが推測されている⁶⁷⁾。一方、我々の ICG の生化学的特性の検索の結果、ICG は親水性色素であり、リン脂質と強い結合特性があり、結合により蛍光輝度が高くなることが明らかとなっている⁵⁹⁾⁶⁰⁾。

ICG 超後期画像は、Bruch 膜への脂肪沈着の状態を描出している可能性が高く、親水性の部位は蛍光輝度が

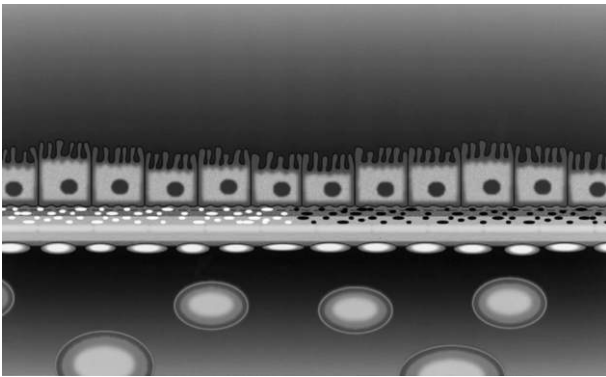


図 17 ICG が Bruch 膜の脂肪沈着を超生体染色することを示す模式図。

疎水性および親水性脂肪は ICG と結合し、それぞれ蛍光輝度が低く、または高く染められる。

高く、中性脂肪の沈着が主体である疎水性の高い領域は蛍光輝度は低いので、ICG 超後期画像では地図状低蛍光巣として観察されるようになると推測された(図 17)。地図状低蛍光巣内で CNV が発症している事実も明らかとなり、この知見も CNV の発症病理を考える上で重要である。

以上の知見から、ICG 造影が FAG と異なり、単なる血管造影検査でなく、組織化学的意味のある生体染色造影法の側面があることが明らかとなった。

3. 改良型 ICG ビデオ眼底撮影装置による脈絡膜血管の造影—初期流入画像の観察—

前述したように、ICG 色素の物理特性の検討とそれ

に伴う ICG 蛍光をとらえるための励起光源および干渉フィルタの見直しにより ICG ビデオ眼底装置を改良した(Yoneya S, et al : ARVO 1994)。本装置は、励起光源として 780 nm および 805 nm 半導体レーザーの 2 種類のレーザーが搭載されている。流入初期画像の観察には 780 nm 半導体レーザーを、ICG 投与後 5 分以降は 810 nm 半導体レーザーに観察光源を切り替えて撮影を行うことを目的としている。この改良型トプコン TRC 50-IA を使い健常眼における ICG の脈絡膜血管への充盈初期画像の観察を行った。記録には、その後の画像解析と容易にするためにデジタルビデオレコーダー(PR-D 80, JVC)を使用した。

観察対象は、健常有志者 10 名 10 眼で、年齢は 21～26 歳(23.4 ± 1.8 歳、平均値±標準偏差)であった。

この観察結果の詳細は既に発表済みであり⁶⁹⁾、ここでは要点のみを記す。

初期流入パターンは、中心窩下を中心に脈絡膜細動脈が網目状に充盈されるもの(10 眼中 8 眼)(図 18)と斑状蛍光と細い血管が後極部眼底に観察される choroidal flush(10 眼中 2 眼)を示すものがあつた(図 19)。いずれも後極部から蛍光輝度を増し耳側周辺部へと拡散していった。鼻側脈絡膜の充盈開始は耳側よりも遅く始まるが、耳側と鼻側の間に充盈遅延による低蛍光帯が 10 眼中 9 眼で観察された。この耳側と鼻側の間に観察される低蛍光帯は上から下に伸びる均一な帯ではなく、その形状は多様であつた(図 20)。また、脈絡膜血管の充盈は、網膜動脈が描出される前に完了していた。

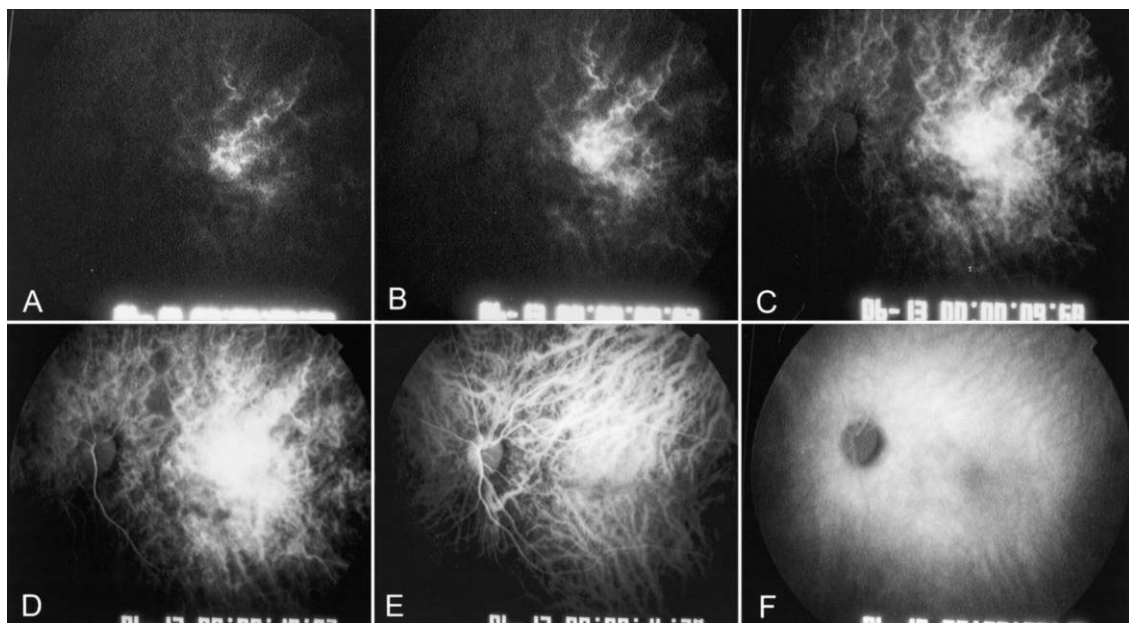


図 18 若年健常者 ICG 造影の実際。

初期充盈画像では網目状パターンを示している(A)。充盈は黄斑部から始まり(A～C)、充盈極期(D)でも黄斑部の蛍光輝度が周辺部眼底に比べ著しく高い。この時期でもまだ網膜動脈の充盈は完了していないことに注目。静脈相では、すでに脈絡膜動脈は観察されない(E)。撮影開始後 30 分では、背景蛍光の中に脈絡膜血管のシルエットが見られる(F)。

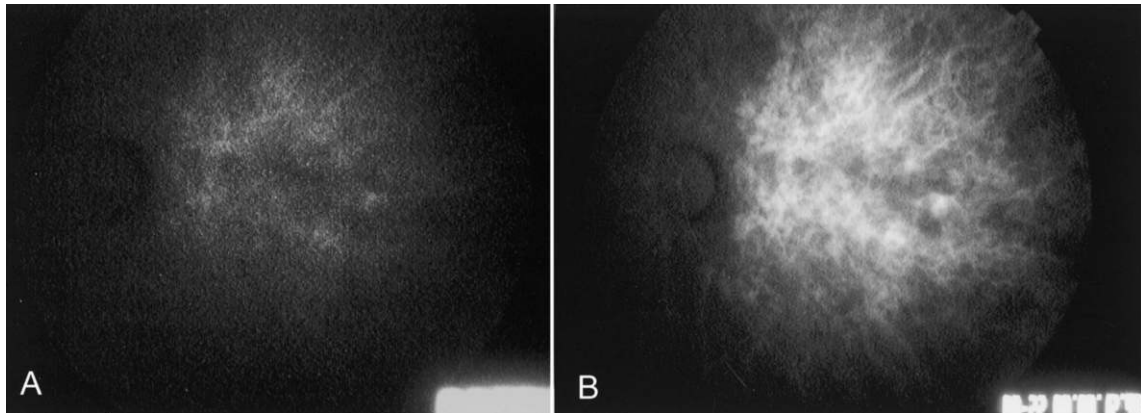


図 19

Choroidal flash を示す初期樹影像(A). 黄斑部の輝度が、周囲よりも高く初期充盈が進行する(B).

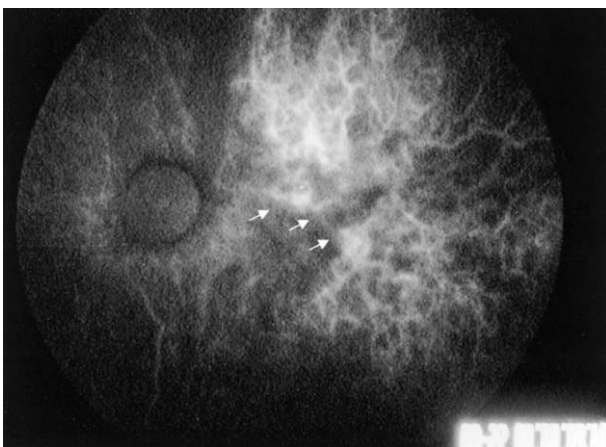


図 20 不規則な形を示す、縦方向に走る充盈遅延と分水嶺.

1) コメント

黄斑部では血流が豊富であることがマイクロスフェアの灌流実験から示され¹⁹⁾, Mercocx 樹脂血管鋳型標本による検索でも、黄斑部で特に血管が豊富に配列していることが観察されている²⁹⁾³⁴⁾³⁵⁾. これらは、サル眼での観察結果であるが、ヒト眼でも同様に後極部眼底での血管配列が豊富であることが、同じ血管鋳型標本で確認されている⁷⁰⁾⁷¹⁾. ICG での造影所見は、これらの脈絡膜循環の生理、解剖学的特徴を直接的に反映した所見であると考えられる. 一方、Hayreh⁷²⁾により報告されている、黄斑部では血管の乏しく血流も少ない分水嶺の存在は、血管鋳型樹脂標本の観察では否定的となっていたが²⁹⁾³⁵⁾, ICG 造影でも観察されなかった. Ito ら⁶³⁾は ICG 造影法に画像解析法を使い、黄斑部では血管の配列が豊富で血流の多いことを述べている.

同様に、Hayreh³²⁾がサル眼短後毛様動脈結紮実験での FAG 所見から、耳側および鼻側網膜はそれぞれ耳側および鼻側短後毛様動脈されておき、その間に分水嶺があると報告しているが、ICG の所見では、この分水嶺の形は不規則であり、また必ずしも全例で観察されな

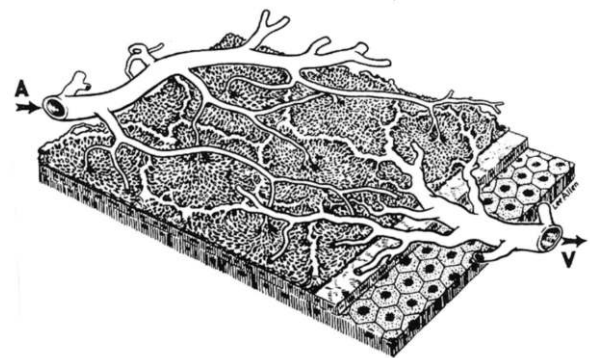


図 21 分葉構造を示す脈絡膜毛細管板の概念図.

文献 38 からの引用

かった. 松尾³⁵⁾は視神経乳頭近傍での耳側および鼻側短後毛様動脈の吻合を観察しており、ICG 所見は、この血管鋳型標本での観察結果と一致しているものと考えられる.

従来の FAG では、脈絡膜充盈は不規則で斑状の蛍光が後極部眼底に choroidal flush として観察されるのみであったが、ICG 造影法では、黄斑部から周辺部眼底に拡散する色素充盈の様子を、より詳細に観察することができた. そして、その所見は、脈絡膜の鋳型樹脂標本による血管構築の観察結果と矛盾しないものであった. 改造型 ICG ビデオ眼底撮影装置では、その解像度の改善により ICG による脈絡膜循環動態を把握することが可能であると結論される.

4. ICG 蛍光造影法による脈絡膜毛細管板での循環動態の観察の試み

脈絡膜毛細管板での血液循環動態の理解には、未だに解剖学的血管構造と、FAG の造影所見との間に埋めきれない溝があるように思われることを既に述べた.

脈絡膜毛細管板の循環動態は、Heyreh³⁸⁾により提唱された概念図が広く受け入れられている(図 21). この知見は、後にヒト眼でのトリプシン消化標本で確認され、脈絡膜毛細管板の 1 ユニットは lobulus と名付けら

れた⁴²⁾。この分葉間には交通がなく、脈絡膜動脈は機能的に終末動脈であることが、それぞれの観察結果から示されている。一方、血管鋳型標本の走査顕微鏡による観察では、黄斑部の脈絡膜毛細管板には分葉構造は見られないとの報告²⁹⁾³¹⁾³⁵⁾⁷¹⁾⁷²⁾が多数である。その中で Yoneya ら⁷⁰⁾はヒト眼での検索で、黄斑部脈絡膜毛細管板の輸入動脈と輸出静脈の配列と数の関係から、lobular pattern は機能的なものであろうと結論した。しかし、後極部の毛細管板の血管配列は密であり、その中を流れる血液が lobulus 相互に交通がない³⁸⁾⁴²⁾ということを実証するには、十分な状況証拠とはならなかった。

ICG の臨床導入によっても、脈絡膜毛細管板の循環動態を観察するには、その解像度は十分でなく、サル眼で実験的知見に止まっていた⁷³⁾。しかし、コンピュータによるデジタル画像を使った画像解析法の進歩があり、ICG 造影に subtraction 法が開発応用された^{74)~76)}。それにより、脈絡膜循環動態の解析を試み、lobulus に拍動性に色素が流入、流出するのを観察している。我々は連続した subtraction 画像から動画を作製し、脈絡膜毛細管板での dye bolus の動きを観察することにより、脈絡膜毛細管板での血流動態を明瞭に観察することに成功したので報告する。

1) 健常眼での観察

(1) 対象と方法

対象は、改良型 ICG ビデオ眼底撮影装置で撮影した、ICG の脈絡膜初期流入画像を、画像解析に使用した。

得られた初期流入ビデオ画像は 0.03 秒に 1 コマ撮影されている。我々は 0.12 秒の差のある (4 コマの差) フ

レームを使い、subtraction 画像を得た。この作業を連続画像で行い (図 22)、結果として 90 枚の subtraction 画像を作製し、3 秒間の動画として観察した。

(2) 結果

Subtraction 画像の動画における脈絡膜毛細管板の充盈パターンは、今回観察した健常若年者すべてで類似していた。

中心窩下に相当する部位から蛍光輝度が高くなり、

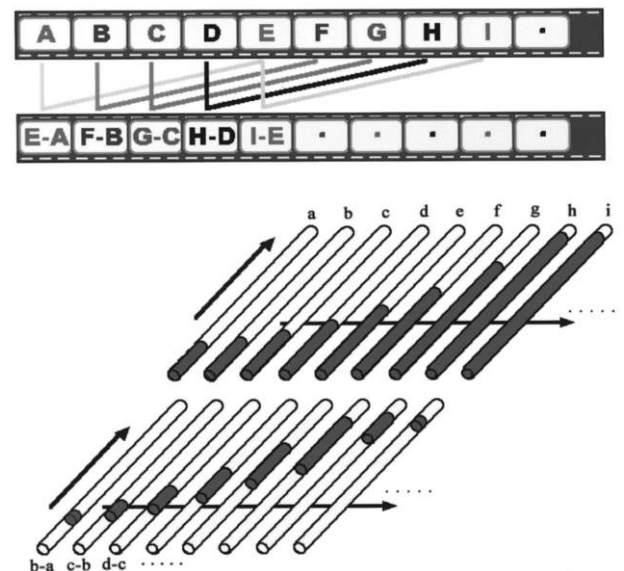


図 22

連続した subtraction 画像を使って動画を作製 (上段)。これにより、変化量の多い部分の動きを観察出来る (下段)。

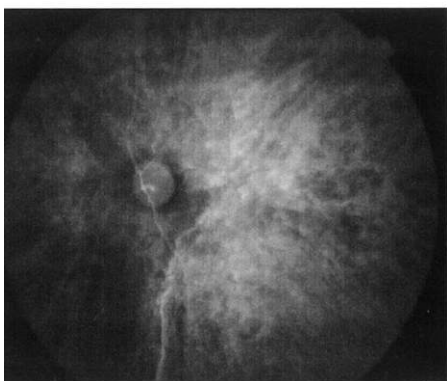


図 23 Subtraction 画像による連続画像の実際。

淡い蛍光が黄斑部から周辺部に向かって拡散する様子が観察される。赤道部に到達すると、新たな波が黄斑部から始まる。左に、通常撮影での初期充盈画像を示す。

ヴェール状蛍光が遠心性に周辺部眼底へと均一に拡散していく様子が観察された(図 23)。一つの波が拡散する途中で、また新たな bolus が中心窩下に観察され、3 秒間に約 3 回程の拍動が確認された。このヴェール状蛍光の中に、明瞭な分葉構造を確認することはできなかった。また、本法においても、黄斑部に分水嶺は観察されなかった。網膜中心動脈での bolus は、脈絡膜での最初の wave front の拡散が完了してから観察された。周辺部に拡散する輝度の高い先端部分を 0.03 秒間隔で 0.6 秒間隔をトレースすると、その間隔は一定ではないことが確認された(図 24)。

(3) コメント

Subtraction 画像を使つての動画観察により、脈絡膜毛細管板での黄斑部から周辺部眼底への wave front の動態を具体的に観察することができた。この wave front が黄斑部から周辺部眼底に拡散していく事実は、サル眼での観察結果と同じであるが⁷⁵⁾、今回の観察は臨床

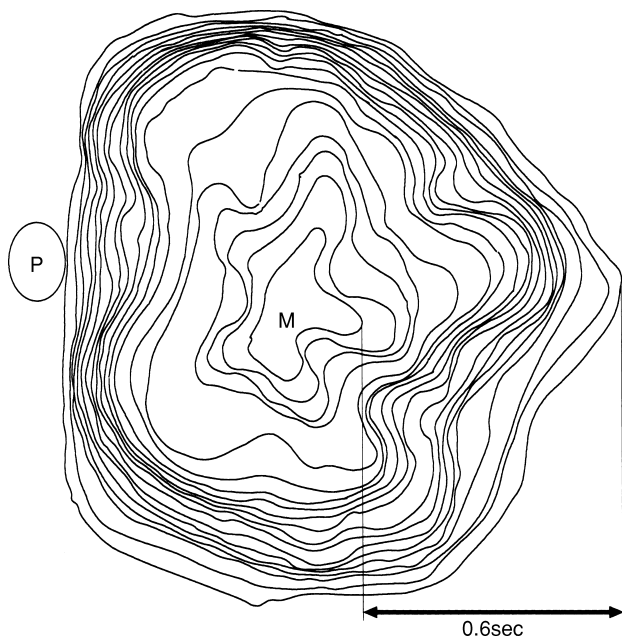


図 24

Subtraction 画像での蛍光斑の縁を、0.6 秒間の連続画像にトレースした結果を示す。広がりの間隔は一定ではない。M：黄斑、P：視神経乳頭

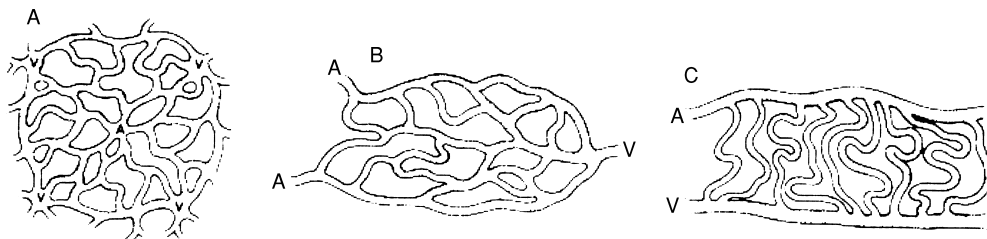


図 25

脈絡膜毛細管板の形態は、後極部(A)、中間周辺部(B)、周辺部(C)で変化し、周辺部にむかって、疎な配列を示す(概念図)。(文献 70 からの引用)

画像から得られた動画であり、より具体的にこの様子が示されていると考える。この subtraction で得られた蛍光が主に脈絡膜毛細管板のそれを反映しているという理論的背景は Flower⁷⁵⁾により示されている。つまり、蛍光輝度変化が、脈絡膜大血管では小さく、脈絡膜毛細管板で大きいことがその前提にある。今回我々が観察した wave front の動きは、脈絡膜毛細管板内での血行動態を反映した所見であると考えられる。

脈絡膜毛細管板の形態は、後極部では密な配列から周辺部に従って、その配列は疎になり(図 25)、血管径も太くなることが報告²⁹⁾³⁵⁾⁷¹⁾されている。そして同時に、流入および流出血管と毛細管板の関係も変化することが知られている⁷⁰⁾⁷⁷⁾。この部位に伴う脈絡膜毛細管板の形態変化は、今回観察した wave front が遠心性に拡散するに適した形態であると考えられる。また、この拡散様式は、脈絡膜毛細管板の果たす役割が、酸素供給よりもむしろ網膜色素上皮のラジエーターの働きが主であるためには、能率の良いものであり矛盾しないものであると思われる。

Flower⁷⁵⁾の報告では、subtraction 画像により lobulus も観察されているが、これは、幼弱なサル眼を使い、静注した ICG 色素も 12.5 mg/ml と成人の体重に換算すると多量であることが関係していると考えられる。また、同じテクニックを使つても、lobulus の観察の容易さは固体によって差があることも報告されている。今回、我々の観察結果では明瞭な lobulus の存在を確認することはできなかったが、これは使用した撮影装置の解像度の限界のため、主に脈絡膜毛細管板の macrocirculation を観察したものであり、microcirculation の観察レベルになかったためと考える。我々の観察は人眼での lobular pattern の存在を否定するものではない。

本法をさらに、眼底疾患に応用することにより、網膜疾患を新しい側面から解析することが可能であり、今後の成果が期待される。

II 網膜酸素飽和度の測定の試みとその臨床応用

1. はじめに

網膜虚血が硝子体新生血管の誘発因子である Patz に

より指摘され⁷⁸⁾、網膜虚血の有無、その範囲の把握は網膜病変の予後を占う、または治療開始を決定する上で重要であることが知られている。網膜虚血の有無を検索する手段として、蛍光眼底造影法が眼科臨床で広く使われ、必須の検査法となっている。しかし、FAG による網膜虚血の評価は、血管床閉塞の有無による造影所見の変化によりなされるものであり、数値化されたものではない。また、検査法そのものが侵襲的であり、使用する造影剤に対するアレルギーが経験され、その実施において心理的制限があることも事実である。

一方、眼底からの反射光の分光解析の重要性が以前から指摘され^{79)~81)}、眼底での酸化一、還元ヘモグロビン、キサントフィル、メラニンなどの定量的測定が眼底病変の理解に有用であることが示されていた。この眼底からの分光解析によって得られる情報は、組織代謝を測定するという意味があり⁸²⁾、従来からある眼底の画像診断法とはその性質が異なるユニークなものであると良い。Van Norren ら⁸⁰⁾、Delori ら⁸¹⁾は、すでに網膜血管での酸素飽和度測定の試みをしており、この方法をさらに発展させることにより、FAG とは違った角度から網膜虚血を定量的に、しかも非侵襲的に測定する可能性があることが示唆されていた。

我々はこの分光解析法の可能性を追求し、新たに眼底での酸素飽和度測定装置を開発した。そして、その装置での臨床応用を試み、その妥当性と意義について検討したので報告する。

装置の構成と理論背景

我々の試作した眼底の酸素飽和度測定装置は、Applied Spectral Imaging Co.(イスラエル)と共同で開発されたが、その基礎となっているのが、spectral karyotyping(SKY 法)⁸³⁾⁸⁴⁾に使用されてされている分光解析法で

ある。

装置は、眼底カメラ、サニャック(Sagnac)型干渉計、coupled charged device(CCD)とフーリエ変換などを行う解析プログラムを持ったコンピュータシステムから構成される(図 26)。

観察対象となる物体、ここでは眼底からの光は、サニャック型干渉計内で 2 つの位相差のある光路に分けられ、得られた 2 本のビームを再び一つにして干渉させることによりインターフェログラムが得られる。それをフーリエ解析を行い、1 ピクセル毎に眼底から反射してきた光の波長成分と強度を測定する。眼内に入射し、眼



図 26 酸素飽和度測定装置。

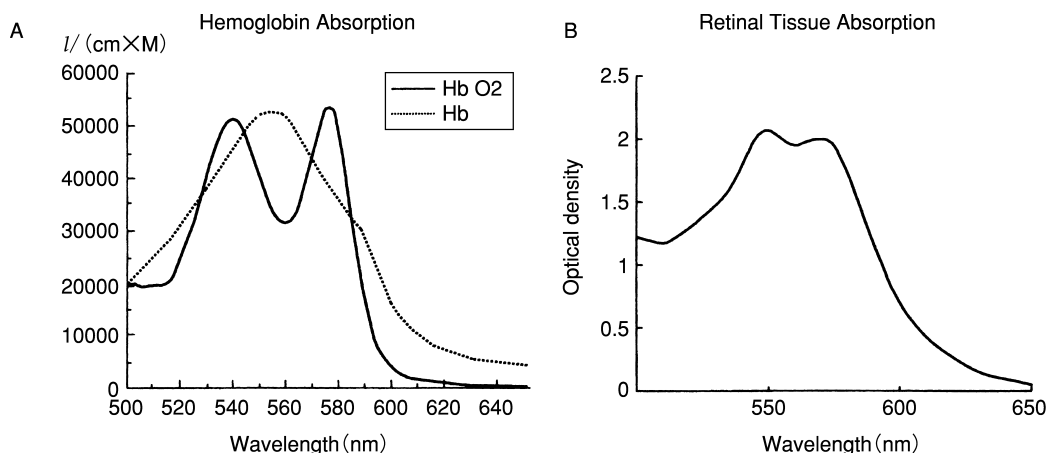


図 27

A は酸化および還元ヘモグロビンの標準吸光率を示す。一方、B は眼底画像 1 ピクセルから得られた波長分布と光学濃度を示す。この光学濃度曲線を A の標準吸光率の曲線にあてはめることにより酸素飽和度を測定する。酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの比率は理論式で得られ、この酸化ヘモグロビンの比が酸素飽和度である。

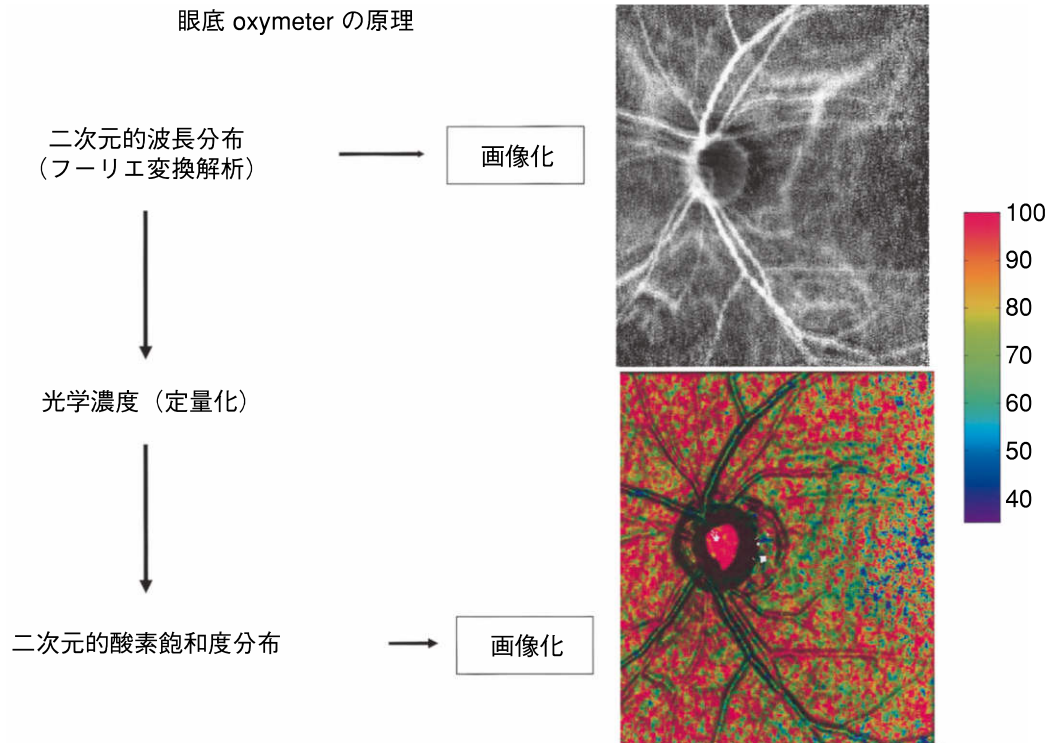
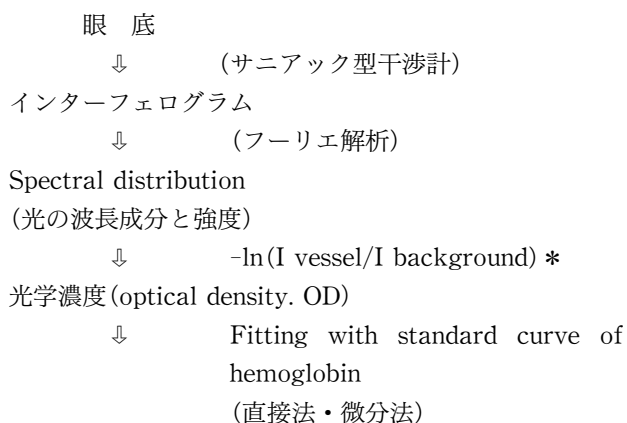


図 28 フーリエ変換した二次元的波長分布と、そこから光学濃度を算出し、酸素飽和度を求めた、二次元的酸素飽和度の分布を示す。1 ピクセル毎の波長分布から酸素飽和度が測定されている。

底から反射してきた光の減衰の程度を計算するために Beer-Lambert の法則が適用される。これにより光学濃度が算出される。得られた波形を、酸化および還元ヘモグロビンの理論吸光率にあてはめ、酸化ヘモグロビンの理論吸光波形にフィッティングさせることにより酸素飽和度を計測する(図 27)。このフィッティングには直接法と微分法があり、微分法では、散乱光による酸素飽和度測定に及ぼす影響が解消される。この一連の流れは、次にフローチャートとして示す。



* $-\ln(I_{\text{vessel}}/I_{\text{background}})$: 背景網膜からのスペクトル分布($I_{\text{background}}$)と網膜血管のスペクトル分布(I_{vessel})の比の自然対数

図 28 は spectral distribution と、この画像から光学

濃度を求め、酸素飽和度測定した結果を示す。このように測定結果は、1 ピクセル毎に 0~100% の酸素飽和度が描出されるが、これにはカラーバーを使い、それぞれの酸素飽和度に応じて異なった色で表示される。

3. 装置の基本性能

この装置では、眼底観察は画角 20 および 35 度での観察と測定が可能である。480~640 nm の範囲で、2 nm ごとのスペクトルデータの取得ができる。測定時間は 6 秒間であるが、アイトラッキングシステムが搭載されている。基本性能は次に示す通りである。

測定時間：6 秒間

観察画像：284×224 ピクセル

解像度：平面 40 μm (画角 35 度の観察時)

再現性：変動係数 5 % 前後

測定限界：径 10~125 μm の血柱

測定誤差： $\pm 10\%$

測定深度：網膜色素上皮~脈絡膜

本装置はまだ実験機器の段階であり、未解決の問題が内在している。その一つとして測定時間が長いことが挙げられる。測定感度を良好にするために測定光の光量を上げているが、そのために固視が難しくなることが経験されている。アイトラッキングシステムが搭載されているが、固視不良は、測定誤差の大きな要因となることが推測される。本装置では、固視の状態はモニタを通して観察することができるが、固視微動の影響は否定できない

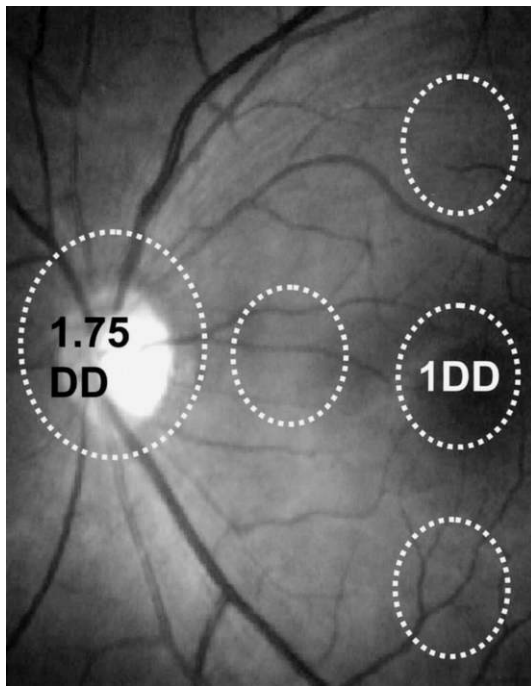


図 29 健常者眼底での酸素飽和度の測定部位。
視神経乳頭では 1.75 乳頭径 (DD)，その他の部位は 1.0 DD の範囲で測定を行った。

い。さらに測定精度を上げるには、測定時間の短縮が必須であると考え。

また、光学系を使用しているため、収差の影響があり、観察画像周辺部での測定精度は落ちることが予測されるが、これは本測定法においては不可避の問題であると考え。

本報告での測定結果は、固視良好であった眼で、同じフレームで 2 回以上測定し再現性のあることが確認されたものを使用した。

酸素飽和度測定の妥当性と有用性を確認する目的で、以下の臨床実験を行った。

1) 健常若年者の網膜酸素飽和度

最初に、健常者 10 名 10 眼から得られた 20 画像から、同一画面で任意の複数の網膜動・静脈の酸素飽和度を測定した。

視神経乳頭から 1 乳頭径以内での動脈では平均 3.9 本、静脈では平均 4.8 本を選び、酸素飽和度を測定した結果、それぞれの平均は動脈は $96.65 \pm 3.30\%$ 、静脈では $56.05 \pm 4.69\%$ であった。

次に、健常有志者 30 名 41 眼の網膜酸素飽和度測定を行った、年齢は 21～77 歳 (38.9 ± 17.8 歳) であった。測定部位は、図 29 に示すように視神経乳頭、黄斑部、および乳頭黄斑間、黄斑部上および下方の後極部網膜の 5 か所であった。測定範囲は、視神経乳頭部では 1.75 乳頭径、その他の部位は 1.00 乳頭径の大きさで、それぞれの部位における酸素飽和度の平均値を算出した。結果は、視神経乳頭部で $86.0 \pm 7.9\%$ 、黄斑部で 60.8 ± 14.1

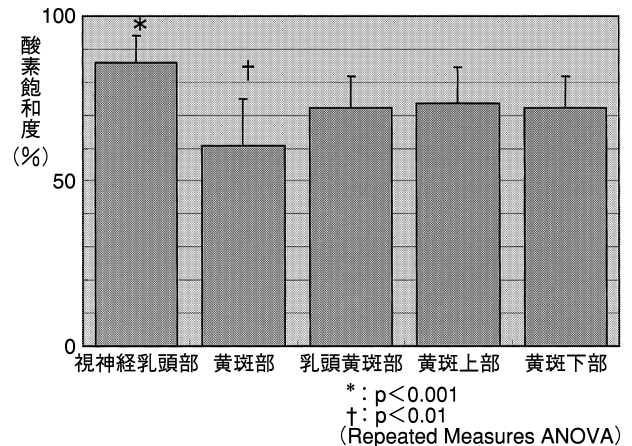


図 30 眼底各部位での測定結果。
視神経乳頭で有意に酸素飽和度は高く、黄斑部で低い。

%, 乳頭黄斑間、黄斑部上・下部でそれぞれ $71.9 \pm 9.8\%$ 、 $73.5 \pm 11.0\%$ 、そして $72.3 \pm 9.4\%$ であり、神経乳頭部では最も酸素飽和度が高く、一方黄斑部では最も低く、それぞれ後極部眼底に比べ有意な差のあることが示された(図 29)。

網膜血流速度および血流量は酸素飽和度の測定値とは直接関係しないことが報告されている。黄斑部が網膜循環の末梢にあることは、解剖学的な事実であるが、この結果から、黄斑部は酸素飽和度の面からも末梢にあることが示されている。勿論、黄斑部では、生理的に無血管帯があり、この黄斑部の解剖学的特徴もこの結果に影響しているものとする。しかし、一方では、黄斑部での脈絡膜血流量は豊富であることを既に本稿の I 項で論じた。本装置の測定光は可視光であることから、本装置による測定結果は網膜酸素飽和度をより反映したものであると考えられる。

今回の測定結果は、今後の酸素飽和度測定法による眼底および視神経疾患における病態生理の解明の基礎となるものである。

(1) 網膜循環障害における酸素飽和度測定

網膜中心静脈閉塞症 (CRVO) は、FAG の所見により ischemic または nonischemic タイプに分けられており、その予後が大きくことが知られている。そして、The Central Retinal Vein Occlusion Study Group により、nonischemic の 38% が、3 年以内に ischemic タイプに進行することが報告⁸⁵⁾されている。虚血の定量化は CRVO の管理において必須である。また一方で、CRVO は網膜虚血の程度を測定するための良い臨床モデルということができる。

我々は CRVO の FAG 所見と酸素飽和度測定結果を比較し、酸素飽和度測定法の臨床応用の可能性について既に検討した⁸⁶⁾。ここでは、その結果の概略に、さらに網膜静脈分枝閉塞症 (BRVO) の結果の一部から併せ得られた知見について述べる。

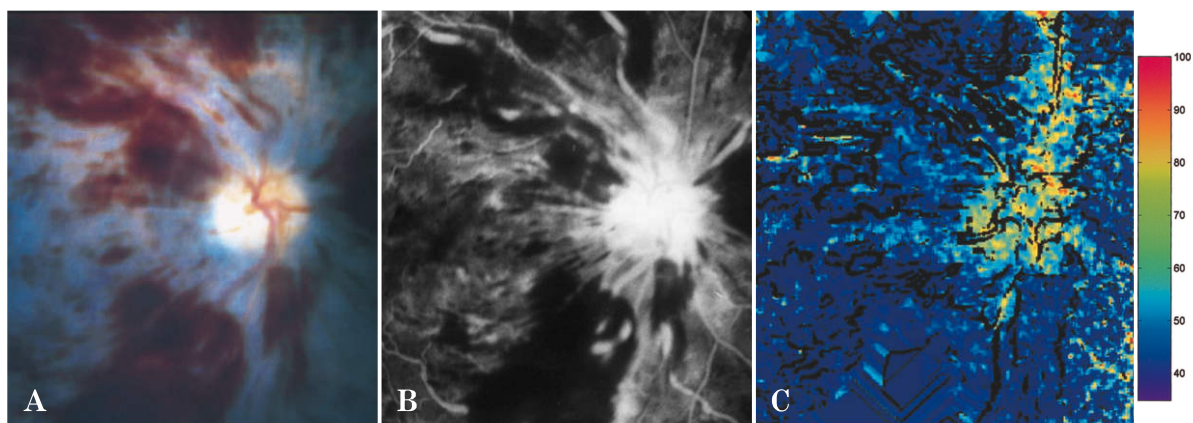


図 31

網膜中心静脈閉塞症(CRVO) (61 歳男性)のカラー眼底写真では出血が高度であり(A), フルオレセイン蛍光眼底造影(FAG)では血管床閉塞が高度で, 視神経乳頭からの蛍光漏出が観察される(B)。網膜分光波長画像(SRI)では眼底全体の酸素飽和度が著しく低下していることが示されている(C)。

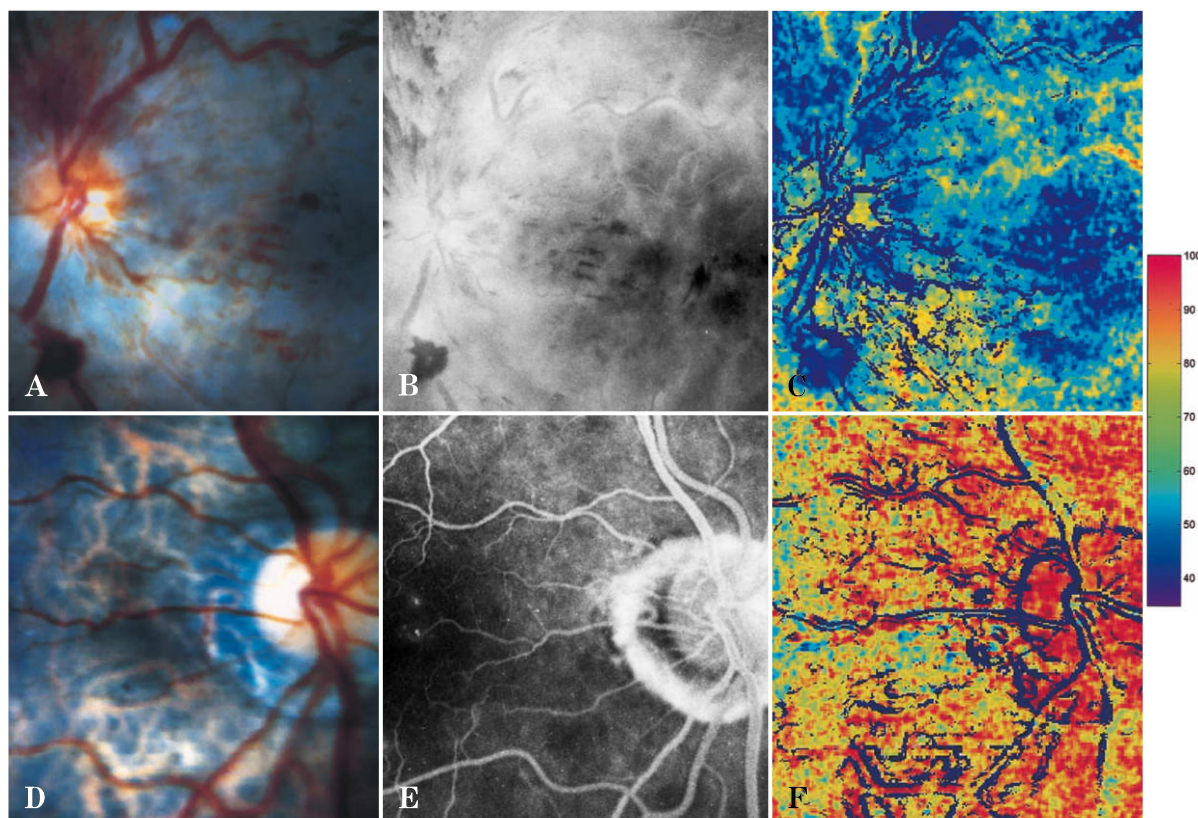


図 32

62 歳女性の CRVO 症例では, 左眼に拡張した静脈と網膜出血が観察される(A)。FAG では静脈からの蛍光漏出が見られるが, 血管床閉塞は確認されない(B)。SRI では, 眼底の酸素飽和度は 50% 前後が優位である(C)。

その対側眼は, 豹紋状を呈しているが出血, 浮腫はない(D)。FAG では, 黄斑部に過蛍光点があるが, 血管床閉塞はみられない(E)。SRI では, 眼底は黄または赤で描出され, 酸素飽和度が高いことがわかる(F)。

対象は, CRVO の新鮮発症例 10 症例 11 眼, 年齢 30 歳から 82 歳 (65.0 ± 17.5 歳) で, 全例に FAG と酸素飽和度測定を行った。また, 血管閉塞のない対側眼 7 眼でも測定を行っている。

代表例を供覧する。

症例 1 は, 63 歳男性で, 眼底写真では, 高度な網膜浅層出血があり, 網膜静脈の拡張・蛇行, およびびまん性の網膜浮腫が観察された(図 31 A)。FAG では, 広範

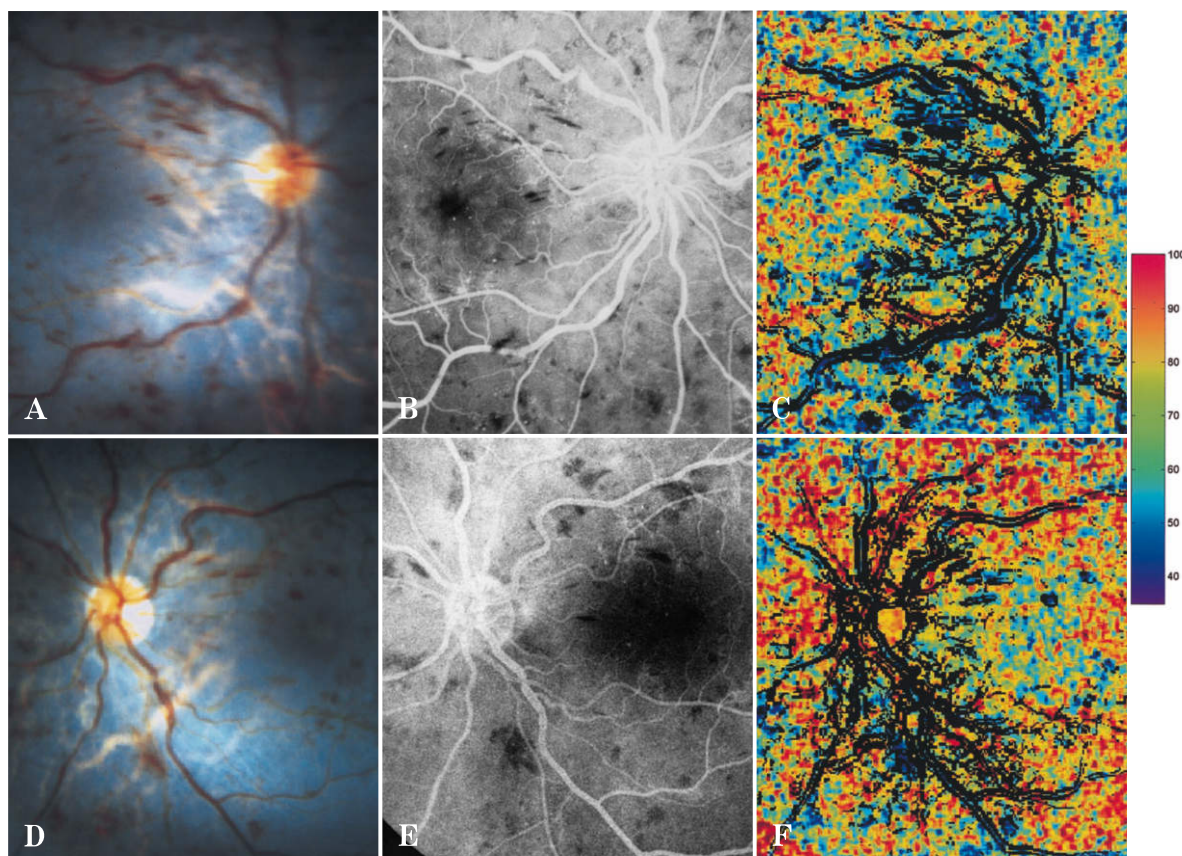


図 33

64 歳男性に発症した両眼性の CRVO で、左右で網膜静脈の拡張・蛇行の程度がことなり (A, D), FAG でも黄斑部でのわずかな蛍光漏出が観察され (B), その重症度で左右差が示されている (B, E). SRI でも右眼で、網膜全体がやや青く描出され、酸素飽和度に左右差がある (C, F).

な血管床閉塞があり、蛇行、拡張した網膜血管壁に色素染色が見られた。また、視神経乳頭およびその近傍には蛍光漏出があった (図 31 B)。網膜分光波長画像 (spectral retinal image, SRI) では、網膜動脈に相当する部位に、線状に緑や黄または赤の点が配列しているのが観察されるが、画面のほとんどが濃い青で埋められ、後極部眼底の広い範囲で酸素飽和度が 40% 以下と描出された (図 31 C)。

症例 2 は、62 歳女性で、患側の眼底写真では、網膜静脈の高度の拡張と網膜動脈の狭細化が観察された。また、黄斑部での網膜出血は軽度であった (図 32 A)。FAG では、網膜静脈からの蛍光漏出が高度であるが、まだ血管床閉塞には至っていないことが理解された (図 32 B)。SRI では、網膜動脈に相当する部位に、黄色の点が線状に配列しているが、その他の網膜は、50% 前後の酸素飽和度を示す青または濃紺の点で不規則模様で描出されていた (図 32 C)。その対側眼では、豹紋状眼底を示すが (図 32 D)、FAG では黄斑部に蛍光点があるが、それ以外には網膜血管には大きな変化は観察されなかった (図 32 E)。この眼底の SRI は、赤の点が優勢であり、眼底全体の酸素飽和度が 70% 以上であった (図

32 F)。

症例 3 は、64 歳男性で、両眼発症の CRVO で、基礎疾患としてマクログロブリン血症が内科的に診断されている。右眼で網膜静脈の拡張・蛇行が左眼に比べ顕著であり (図 33 A, B), FAG でも右眼優位で軽度の血管壁染色や毛細血管からの蛍光漏出が観察された (図 33 B, E)。網膜中心静脈の閉塞の程度は、右眼で進行していると考えられた。SRI では、左眼に比べ右眼で青が優性に描出された (33 C, F)。

CRVO 症例の SRI の検索結果では、SRI は FAG 所見と良く相関し、網膜循環障害および網膜虚血の程度を良く描出していることが理解された。本法は、非侵襲性の検査法であり、容易に繰り返し検査を行うことが可能であるので、CRVO の管理には有用な検査法であると考えられる。また、BRVO での観察結果では、FAG で示される網膜障害領域よりもさらに広い範囲で網膜虚血があることが SRI により観察された (図 34)。この結果から、SRI では網膜虚血の程度とその範囲を具体的に評価できることが示され、本法により、精度の高い網膜虚血の評価が期待される。

繰り返しになるが、SRI による網膜酸素飽和度測定

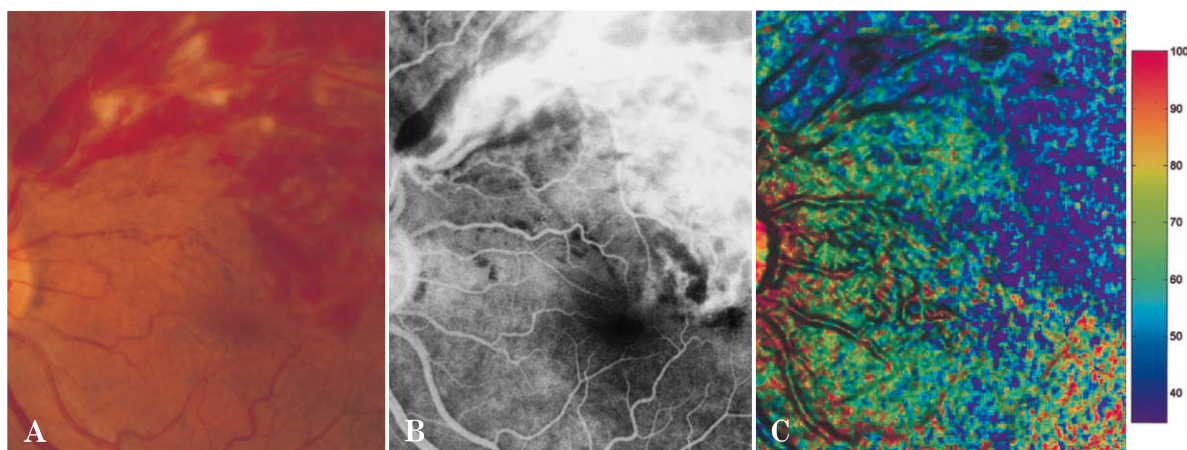


図 34

眼底写真では網膜静脈分枝閉塞症(BRVO)による眼底出血がみられる(A)。FAGでは障害領域につよい過蛍光が観察される(B)。SRIでは、FAGで示される過蛍光部位よりも、より広い範囲で酸素飽和度が低下している(C)。

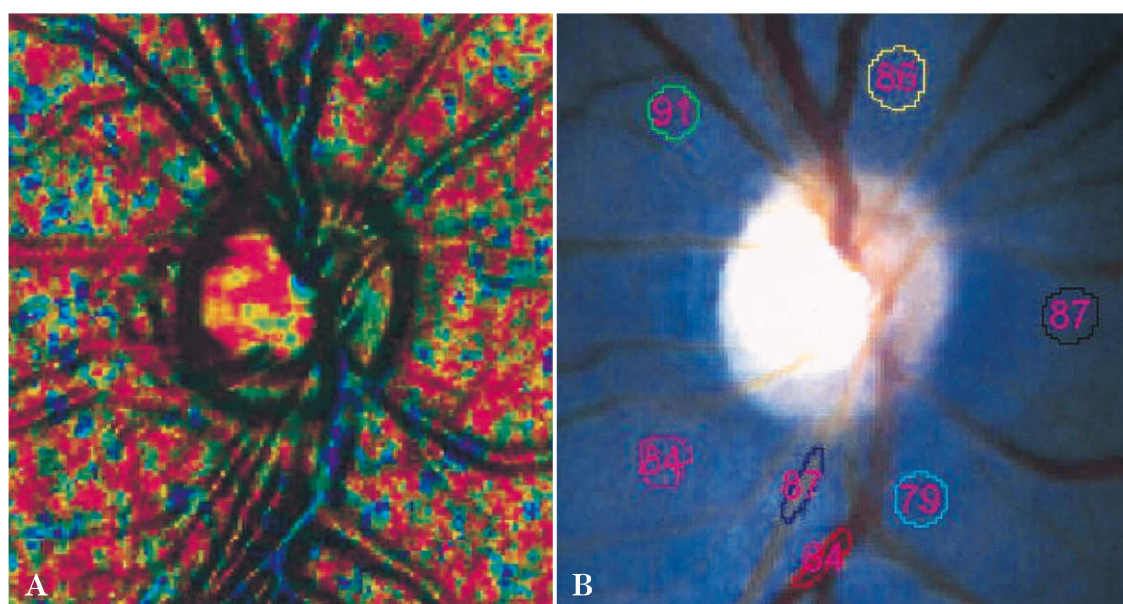


図 35

A：原発開放隅角緑内障(POAG)眼の2次元マップの例。B：可視血管を避けて上方，下方，上耳側，下耳側，鼻側の直径約200 μm の範囲，および動脈・静脈の酸素飽和度(OS)を，乳頭径の約1.75倍の部位で測定した。

法は非侵襲的であるというFAGと区別される利点がある。本臨床実験により，網膜の病態生理の解明だけでなく，CRVOなど，眼循環障害のある眼底疾患評価へ広く応用され，有用な検査法の可能性が示されたと考える。

(B) 緑内障眼での測定の試み

「緑内障眼での視神経萎縮に循環障害が関与しているか」は，現在議論的となっている^{87)~92)}。一方，網膜酸素飽和度測定は，網膜，視神経を代謝の側面から評価できる可能性がある⁸²⁾。この点で，ドップラ法やレーザースペックル法による視神経乳頭および傍視神経網膜での血

流測定とは異なった情報が得られる可能性がある。視神経乳頭近傍網膜の酸素飽和度測定を行い，この可能性について検討した。

対象は，開放隅角緑内障(OAG)患者47人47眼と正常対照者21人21眼である。OAG患者のうち，35眼が眼圧21 mmHg以上の原発性のOAGに属する高眼圧群(POAG群)，12眼が最高眼圧が15 mmHgを超えない正常眼圧緑内障のうちの低眼圧緑内障(LTG群)であった。年齢は30歳以上を対象とし，正常群では31から79歳(51.7 ± 15.9 歳)，OAG群では31~73歳(57.2 ± 11.6 歳)で，統計学的に有意差はなかった($p > 0.1$, unpaired

表 2 開放隅角緑内障患者(OAG)と正常対象者の、
視神経周囲網膜各部における酸素飽和度(OS)および
網膜動・静脈の OS と動静脈の OS の差の比較。

	正常	OAG	p
上方	87.8±10.9	83.1±11.0	0.1772
下方	83.9±10.0	81.2±10.1	0.3687
鼻側	91.0±7.8	84.6±13.8	0.1840
上耳側	87.9±11.1	82.4±11.2	0.0663
下耳側	85.5±10.6	78.3±12.1	0.0235
平均	87.1±8.3	81.7±9.9	0.0320
動脈	84.9±13.9	85.3±8.2	0.8812
静脈	68.0±8.0	64.5±7.8	0.1240
動脈-静脈	17.1±11.2	21.3±8.8	0.1270

Unpaired t-test, p: 危険率

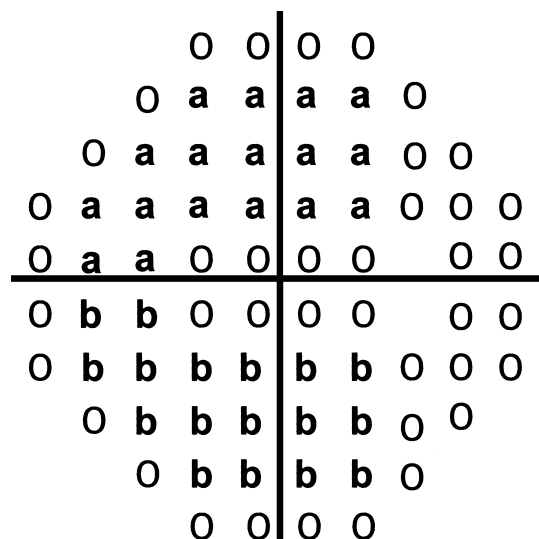
表 3 上 Bjerrum 領域(a)の 17 点の total deviation
(TD)の和と動部位における酸素飽和度(OS), 下
Bjerrum 領域(b)の 17 点の TD の和と OS, 平均値
(MD)と全測定点での OS 平均値, および MD と
上・下耳側網膜 OS の相関を示す。

	p	r
a 領域の TD の和と下耳側 OS	0.0320	0.320
b 領域の TD の和と上耳側 OS	0.5059	0.099
MD と平均 OS	0.0576	0.285
MD と下耳側・上耳側 OS の平均	0.0768	0.261

t-test)。両眼性の OAG の場合、後述プログラムによる平均値(MD)値の低い方の眼が選ばれた。多くの患者は緑内障点眼薬の使用経験がなかったが、あった場合は休薬期間を設けて検査をした。視野は Humphrey 自動視野計のプログラム 30-2, SITA を使用した。酸素飽和度測定直前の眼圧は、正常群で 14.0 ± 2.8 mmHg (平均値±標準偏差), OAG 群で 18.2 ± 4.9 mmHg で統計学的に有意に OAG 群で高かった ($p=0.0021$, unpaired t-test)。

酸素飽和度測定により SRI を得るとともに、図 35 のように可視血管を避けて上方、下方、上耳側、下耳側、鼻側の直径約 200 μ m の範囲、および動脈・静脈の酸素飽和度を、乳頭径の約 1.75 倍の部位で測定した。

結果を表 2 に示す。下耳側で、正常に比べ、OAG 群では有意に酸素飽和度が低下しており、上耳側では低下傾向がみられた(unpaired t-test)。網膜の平均の比較においても、OAG 群で有意な低下が観察された。一方、動静脈およびその差に有意な違いはなかった。今回、LTG 群は眼数が少なかったものの、正常群と paired t-test で比較したところ、上方で 78.2 ± 6.1 ($p=0.0157$), 下耳側で 74.5 ± 9.8 ($p=0.0076$), 鼻側で 76.8 ± 11.8 ($p=0.0056$), 網膜平均で 78.5 ± 7.5 ($p=0.0054$) で、酸素飽和度(OS)が低下している程度がより強いものと思われた。



a: 上 Bjerrum 領域17点
b: 下 Bjerrum 領域17点

図 36 上 Bjerrum 領域(A)の 17 点の total deviation (TD)の和および下 Bjerrum 領域(B)の 17 点の TD の和を求めた。

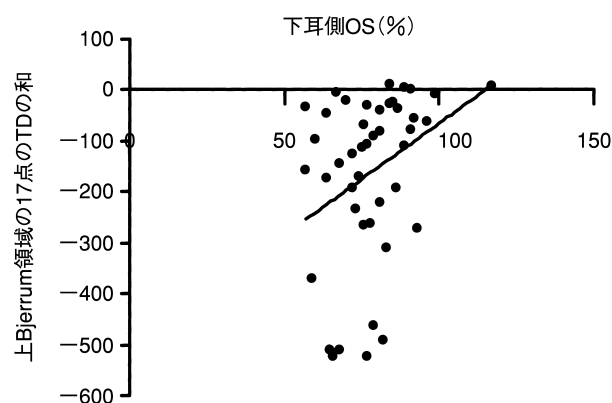


図 37 OAG 群での上 Bjerrum 領域(a)の 17 点の TD の和と下耳側の酸素飽和度の相関。

有意 ($p=0.032$, $r=0.32$) の相関がみられる。

視野は OAG 群で MD 値は -8.5 ± 7.1 であった。今回、図 36 のように上および下 Bjerrum 領域の 17 点の total deviation (TD) の和を求めた。上は a の 17 点、下は b の 17 点である。a の TD の和は -155.9 ± 163.2 で、b の TD の和は -150.2 ± 147.5 であった。前者と下耳側の OS、後者と上耳側の OS の相関を調べたところ、a の TD の和と下耳側の OS で有意であった(表 3 と図 37, $p=0.032$, $r=0.32$)。しかしながら、b の TD の和と上耳側の OS の間には有意な相関はみられなかった。MD 値と網膜の平均 OS および MD 値と下耳側・上耳側の OS の平均の間には相関傾向が見られた(表 3)。

これらのことから、OAG では、網膜の OS に変化があり、それは特に下耳側の有意な低下であるということがいえると思われる。特に LTG でその傾向が強い可能

性があることは、LTG の症例に低血圧、夜間低血圧、血管痙縮、無症候性狭心症⁹³⁾、温度変化に対する指先の循環調節の破綻⁹⁴⁾などの循環調節能の異常と結びつき、網膜レベルにおける循環の自律調節能の異常を示唆するものである。しかし、今回の結果がこれに結びつく所見であるかは不明であり今後の検討を要する。

今回の検討では、症例数も限られており、OAG において酸素飽和度が低下する傾向にある、という事実を述べるにとどめておきたい。しかし、SRI による酸素飽和度測定は、網膜機能を代謝の側面から網膜局所を絶対値で評価するものであり、その点で新しい観点からの緑内障解析や、さらに薬物治療の効果判定に有用な検査法となることが期待される。

最 後 に

ここで紹介した眼底での酸素飽和度測定法の研究は端緒についたばかりである。本文中網膜酸素飽和度としたが、測定装置の三次元的分解能は不明であり、脈絡膜循環の影響は否定できない。しかし、測定光が480~640 nm の可視光であることから、日本人の眼では、情報の多くは網膜からのものと推測し、便宜上網膜酸素飽和度とした。このように、我々の使用した装置にはまだまだ未解決の問題があると考えられる。しかし、ここで述べたように、SRI による酸素飽和度測定法が臨床に有用である可能性について、一連の臨床実験で確認した。そして、未解決の問題があるにしてもなお、余りあるその臨床応用への有用性が、網膜病態生理検索のための新しい検査法であることと併せ確認されたものと結論される。

酸素飽和度測定法は、網・脈絡膜を代謝の面から評価する新しい方法であり、その進歩発展により、眼底疾患および視神経病変の病態生理の解明、薬効の評価などに広く応用されることが期待される。そのためにも、多施設での共同研究が必須であることを強調しておきたい。

文 献

- 1) Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al : Optical coherence tomography. *Science* 254 : 1178—1181, 1991.
- 2) Weinreb RN, Dreher AW, Coleman A, Quigley H, Shaw B, Reiter K : Histopathologic validation of Fourier-ellipsometry measurements of retinal nerve fiber layer thickness. *Arch Ophthalmol* 108 : 557—560, 1990.
- 3) Sutter EE, Tran D : The field topography of ERG components in man-I. The photopic luminance response. *Vision Res* 32 : 433—446, 1992.
- 4) Gass JD : Reappraisal of biomicroscopic classification of stages of development of a macular hole. *Am J Ophthalmol* 119 : 752—759, 1995.
- 5) Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Duker JS, Reichel E, Schuman JS, et al : Optical coherence tomography of macular holes. *Ophthalmology* 102 : 748—756, 1995.
- 6) Gaudric A, Haouchine B, Massin P, Paques M, Blain P, Erginay A : Macular hole formation : New data provided by optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 117 : 744—751, 1999.
- 7) 森 圭介, 阿部友厚, 米谷 新 : 黄斑円孔と偽黄斑円孔における網膜硝子体の断層像と中心窩網膜への牽引様式. *日眼会誌* 103 : 371—378, 1999.
- 8) Spiritus A, Dralands L, Stalmans P, Stalmans I, Spileers W : OCT study of fellow eyes of macular holes. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 275 : 81—84, 2000.
- 9) Mori K, Abe T, Yoneya S : Dome-shaped detachment of premacular vitreous cortex in macular hole development. *Ophthalmic Surg Lasers* 31 : 203—209, 2000.
- 10) Azzolini C, Patelli F, Brancato R : Correlation between optical coherence tomography data and biomicroscopic interpretation of idiopathic macular hole. *Am J Ophthalmol* 132 : 348—355, 2001.
- 11) Haouchine B, Massin P, Gaudric A : Foveal pseudocyst as the first step in macular hole formation : A prospective study by optical coherence tomography. *Ophthalmology* 108 : 15—22, 2001.
- 12) Tanner V, Chauhan DS, Jackson TL, Williamson TH : Optical coherence tomography of the vitreoretinal interface in macular hole formation. *Br J Ophthalmol* 85 : 1092—1097, 2001.
- 13) Spaide RF, Wong D, Fisher Y, Goldbaum M : Correlation of vitreous attachment and foveal deformation in early macular hole states. *Am J Ophthalmol* 133 : 226—229, 2002.
- 14) Riva CE, Harino S, Petrig BL, Shonat RD : Laser Doppler flowmetry in the optic nerve. *Exp Eye Res* 55 : 499—506, 1992.
- 15) Michelson G, Schmauss B : Two dimensional mapping of the perfusion of the retina and optic nerve head. *Br J Ophthalmol* 79 : 1126—1132, 1995.
- 16) 藤居 仁, 新家 眞, 江口秀一郎, 内田研一, 横倉 隆 : レーザー散乱を利用した眼底血流画像化法の開発. *眼科学会誌* 12 : 64—67, 1991.
- 17) 新家 眞 : レーザースペックル法による生体眼循環測定—装置と眼科研究への応用—. *日眼会誌* 103 : 871—909, 1999.
- 18) Isono H, Kishi S, Kimura Y, Hagiwara N, Konishi N, Fujii H : Observation of choroidal circulation using index of erythrocytic velocity. *Arch Ophthalmol* 121 : 225—231, 2003.
- 19) Alm A : Ocular Circulation. In : Kaufman PL, et al (Eds) : *Adler's Physiology of the Eye* 10th ed. Mosby, St Louis, 761—763, 2002.
- 20) Wagenemann A : Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Circulation in den Netzhaut und Aderhautgefäßen auf die Ernährung des Auges, insbesondere der Retina, und

- über die Folgen der Sehnervendurchschneidung. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 36,4 Abt 1—120, 1890.
- 21) **Duke-Elder S, Wybar KC** : System of ophthalmology. In : Vol.II The anatomy of the visual system. Henry Kimpton, London, 351, 1961.
- 22) **Hyvarinen L, Maumenee AE, George T, Weinstein GW** : Fluorescein angiography of the choriocapillaris. Am J Ophthalmol 67 : 653—666, 1969.
- 23) **清水弘一** : 蛍光眼底撮影法—その 5, 脈絡膜循環. 臨眼 22 : 173—181, 1968.
- 24) **Archer D, Krill AE, Newell FW** : Fluorescein studies of normal choroidal circulation. Am J Ophthalmol 69 : 543—554, 1970.
- 25) **Oosterhuis JA, Boen-Tan TN** : Choroidal fluorescence in the normal human eye. Ophthalmologica 162 : 246—260, 1971.
- 26) **Murakami T** : Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. Arch Histol Jpn 32 : 445—454, 1971.
- 27) **Matsusaka T** : Angio-architecture of the choroid. Jpn J Ophthalmol 20 : 330—346, 1976.
- 28) **荒木 実** : 脈絡膜毛細血管の樹脂注型標本による観察. 日眼会誌 80 : 315—326, 1976.
- 29) **糸田川誠也, 福味陽次, 土井治道** : 脈絡膜血管構築の立体的観察, 第 1 報, 脈絡膜血管の正常形態について, 特に黄斑部脈絡膜血管の構築について. 日眼会誌 81 : 678—687, 1977.
- 30) **氏家宣和, 羽生田俊** : 脈絡膜最周辺部および毛様体血管の三次元的構築. 日眼会誌 81 : 662—677, 1977.
- 31) **Shimizu K, Ujiie K** : Structure of ocular vessels. Igakushoin, Tokyo, 1978.
- 32) **Hayreh SS, Baines JA** : Occlusion of the posterior ciliary artery. I. Effects on choroidal circulation. Br J Ophthalmol 56 : 719—735, 1972.
- 33) **Hayreh SS, Baines JA** : Occlusion of the vortex veins. An experimental study. Br J Ophthalmol 57 : 217—238, 1973.
- 34) **宇山昌延** : (日眼宿題報告 脈絡膜循環の諸問題 (III)) : 脈絡膜循環障害の病態について. 1. 脈絡膜血管構築の特異性, 血管鋳型標本による観察. 日眼会誌 84 : 1893—1909, 1980.
- 35) **松尾信彦** : (日眼宿題報告 脈絡膜循環の諸問題) : 脈絡膜循環の特異性. 日眼会誌 84 : 2147—2206, 1980.
- 36) **Mori K, Gehlbach PL, Yoneya S, Shimizu K** : Asymmetry of choroidal venous vascular patterns in the human eye. Ophthalmology 111 : 507—512, 2004.
- 37) **Hayreh SS** : Recent advances in fluorescein fundus angiography. Br J Ophthalmol 58 : 391—412, 1974.
- 38) **Hayreh SS** : The choriocapillaris. Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol 192 : 165—179, 1974.
- 39) **Hayreh SS** : Segmental nature of the choroidal vasculature. Br J Ophthalmol 59 : 631—648, 1975.
- 40) **Dollery CT, Henkind P, Kohner EM, Paterson JW** : Effect of raised intraocular pressure on the retinal and choroidal circulation. Invest Ophthalmol 7 : 191—198, 1968.
- 41) **Perry HD, Hatfield RV, Tso MO** : Fluorescein pattern of the choriocapillaris in the neonatal rhesus monkey. Am J Ophthalmol 84 : 197—204, 1977.
- 42) **Torczynski E, Tso MO** : The architecture of the choriocapillaris at the posterior pole. Am J Ophthalmol 81 : 428—440, 1976.
- 43) **Ernest JT, Stern WH, Archer DB** : Submacular choroidal circulation. Am J Ophthalmol 81 : 574—582, 1976.
- 44) **Kogure K, David NJ, Yamanouchi U, Choromokos E** : Infrared absorption angiography of the fundus circulation. Arch Ophthalmol 83 : 209—214, 1970.
- 45) **Flower RW** : Infrared absorption angiography of the choroid and some observations on the effects of high intraocular pressures. Am J Ophthalmol 74 : 600—614, 1972.
- 46) **Flower RW, Hochheimer BF** : A clinical technique and apparatus for simultaneous angiography of the separate retinal and choroidal circulations. Invest Ophthalmol 12 : 248—261, 1973.
- 47) **林 一彦** : 赤外眼底撮影法. 眼科 27 : 1541—1550, 1985.
- 48) **Slakter JS, Yannuzzi LA, Sorenson JA, Guyer DR, Ho AC, Orlock DA** : A pilot study of indocyanine green videoangiography-guided laser photocoagulation of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. Arch Ophthalmol 112 : 465—472, 1994.
- 49) **米谷 新, 野寄喜美春, 清水弘一** : 赤外蛍光造影法の問題点とその対策. 臨眼 47 : 549—552, 1993.
- 50) **Yoneya S, Noyori K** : Improved visualization of the choroidal circulation with indocyanine green angiography. Arch Ophthalmol 111 : 1165—1166, 1993.
- 51) **Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS** : Indocyanine green : Observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. J Clin Invest 39 : 592—600, 1960.
- 52) **Baker KJ** : Binding of sulfobromophthalein (BS-P) sodium and indocyanine green (ICG) by plasma alpha-1 lipoproteins. Proc Soc Exp Biol Med 122 : 957—963, 1966.
- 53) **Janecek J, Krawczynski K** : Labeling with indocyanine green of serum protein from normal person and patients with acute viral hepatitis. Clin Chem 16 : 1008—1011, 1970.
- 54) **小林敏雄** : 正常ヒト血清蛋白と ICG の結合について. 日消会誌 75 : 306—314, 1978.
- 55) **Kamisaka K, Yatsuji Y, Yamada H, Kameda H** : The binding of indocyanine green and other

- organic anions to serum proteins in liver diseases. Clin Chim Acta 53 : 255—264, 1974.
- 56) 浅香正博, 長瀬 清, 山 英昭, 小林紀夫, 松塚信雄, 齊藤博義, 他: ICG の血中における存在様式に関する研究. 日消会誌 73 : 536—542, 1976.
 - 57) 高田 昭, 高瀬修二郎, 中谷泰康, 森川俊洋: Indocyanine green (ICG) と血漿蛋白との結合についての研究. 肝臓 22 : 217—225, 1981.
 - 58) 斯波真理子, 山中 章: 新生化学実験講座(脂質 1, 中性脂肪とリポタンパク質). 東京化学同人, 東京, 181—227, 1993.
 - 59) 斎藤民也, 小松慶子, 森 茂, 出口達也, 小岩雄, 米谷 新: インドシアニングリーン色素と結合する血清蛋白分画の検討—免疫電気泳動法, 赤外蛍光眼底ビデオ装置を用いた方法—. 日眼会誌 100 : 617—623, 1996.
 - 60) Yoneya S, Saito T, Komatsu Y, Koyama I, Takahashi K, Duvoll-Young J: Binding properties of indocyanine green in human blood. Invest Ophthalmol Vis Sci 39 : 1286—1290, 1998
 - 61) 未発表データ.
 - 62) Mori K, Gehlbach PL, Nishiyama Y, Deguchi T, Yoneya S: The ultra-late phase of indocyanine green angiography for healthy subjects and patients with age-related macular degeneration. Retina 22 : 309—316, 2002.
 - 63) Ito YN, Mori K, Young-Duvall J, Yoneya S: Aging changes of the choroidal dye filling pattern in indocyanine green angiography of normal subjects. Retina 21 : 237—242, 2001.
 - 64) Namishima T, Nambu K: ICG, BSP. Nippon Rinsho 38 : 701—715, 1980.
 - 65) Marshall J: The ageing retina: Physiology or pathology. Eye 1 (Pt 2) : 282—295, 1987.
 - 66) Young RW: Pathophysiology of age-related macular degeneration. Surv Ophthalmol 31 : 291—306, 1987.
 - 67) Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J, Bird AC: Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. Ophthalmology 97 : 171—178, 1990.
 - 68) Glew RH: Lipid metabolism II: pathways of metabolism of special lipids. In: Devlin TM (Ed): Text of biochemistry: With clinical correlation. John Wiley & Sons, New York, 391—435, 1986.
 - 69) Yoneya S, Komatsu Y, Mori K, Deguchi T, Saitoh T, Young-Duvall J: The improved image of indocyanine green angiography in young healthy volunteers. Retina 18 : 30—36, 1998.
 - 70) Yoneya S, Tso MOM: Angioarchitecture of the human choroid. Arch Ophthalmol 105 : 681—687, 1987
 - 71) Fryczkowski AW, Sherman MD: Scanning electron microscopy of human ocular vascular casts: The submacular choriocapillaris. Acta Anat (Basel) 132 : 265—269, 1988.
 - 72) Hayreh SS: Submacular choroidal vascular pattern. Experimental fluorescein fundus angiographic studies. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 192 : 181—196, 1974.
 - 73) Flower RW: Choroidal fluorescent dye filling patterns. A comparison of high speed indocyanine green and fluorescein angiogram. Int Ophthalmol 2,3 : 143—149, 1980.
 - 74) Klein GJ, Baumgartner RH, Flower RW: An image processing approach to characterizing choroidal blood flow. Invest Ophthalmol Vis Sci 31 : 629—637, 1990.
 - 75) Flower RW: Extraction of choriocapillaris hemodynamic data from ICG fluorescence angiograms. Invest Ophthalmol Vis Sci 34 : 2720—2729, 1993.
 - 76) Miki T, Shiraki K, Kohno T, Moriwaki M, Obana A: Computer assisted image analysis using the subtraction method in indocyanine green angiography. Eur J Ophthalmol 6 : 30—38, 1996.
 - 77) Fryczkowski AW, Sherman MD, Walker J: Observations on the lobular organization of the human choriocapillaris. Int Ophthalmol 15 : 109—120, 1991.
 - 78) Patz A: Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. XXXIX Edward Jackson Memorial Lecture. Am J Ophthalmol 94 : 715—743, 1982.
 - 79) Brindley GS, Willmer EN: The reflexion of light from the macular and peripheral fundus oculi in man. J Physiol 116 : 350—356, 1952.
 - 80) Van Norren D, Tiemeijer LF: Spectral reflectance of the human eye. Vision Res 26 : 313—320, 1986.
 - 81) Delori FC, Pfibsen KP: Spectral reflectance of the human ocular fundus. Applied Optics 28 : 1061—1077, 1989.
 - 82) Soenkson DG, Sick TJ, Garini Y: Use of a novel spectral bio-imaging system as an imaging oximeter in intact rat brain. SPIE 2679 : 182—189, 1997.
 - 83) Schröck E, du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Wienberg J, Ferguson-Smith MA, et al: Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. Science 273 : 494—497, 1996.
 - 84) Veldman T, Vignon C, Schröck E, Rowley JD, Ried T: Hidden chromosome abnormalities in haematological malignancies detected by multicolour spectral karyotyping. Nat Genet 15 : 406—410, 1997.
 - 85) The Central Retinal Vein Occlusion Study Group: Natural history and clinical management of central retinal vein occlusion. Arch Ophthalmol 115 : 486—491, 1997.
 - 86) Yoneya S, Saito T, Nishiyama Y, Deguchi T, Takasu M, Gil T, Horn E: Retinal oxygen satu-

- ration levels in patients with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 109 : 1521—1526, 2002.
- 87) **Geijssens HC** : Studies on normal pressure glaucoma. Kugler & Ghedini, Amsterdam, 1991.
- 88) **Harris A, Sergott RC, Spaeth GL, Katz JL, Shoemaker JA, Martin BJ** : Color Doppler analysis of ocular vessel blood velocity in normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 118 : 642 — 649, 1994.
- 89) **Grunwald JE, Piltz J, Hariprasad SM, DuPont J** : Optic nerve and choroidal circulation in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 2329—2336, 1998.
- 90) **Yamazaki Y, Drance SM** : The relationship between progression of visual field defects and retrobulbar circulation in patients with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 124 : 287—295, 1997.
- 91) **Yamazaki Y, Hayamizu F** : Comparison of flow velocity of ophthalmic artery between primary open angle glaucoma and normal tension glaucoma. *Br J Ophthalmol* 79 : 732—734, 1995.
- 92) **Kerr J, Nelson P, O'Brien C** : A comparison of ocular blood flow in untreated primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 126 : 42—51, 1998.
- 93) **Flammer J** : To what extent are vascular factors involved in the pathogenesis of glaucoma? In : *Ocular Blood Flow : New Insights into the Pathogenesis of Ocular Diseases*. HJ Kaiser, Basel. 12—39, 1996.
- 94) **Gasser P, Flammer J** : Blood-cell velocity in the nailfold capillaries of patients with normal-tension or high-tension glaucoma and of healthy controls. *Am J Ophthalmol* 111 : 585—588, 1991.

Comment : 玉井 嗣彦

コンピュータ技術の進歩発展により、網膜および脈絡膜循環を新しい角度から評価することが可能となり、光干渉断層法、神経線維層解析装置、多局所網膜電図など、日々眼科の臨床現場に新しい風が吹いている。

宿題報告「網・脈絡膜循環の評価への新しいアプローチ」で米谷 新教授は、文字通り新しいアプローチとして、脈絡膜循環では画像解析法により脈絡膜毛細管板の循環動態の観察を試みるとともに、網膜循環では酸素飽和度測定装置を開発し、その有用性と臨床応用の可能性を検討している。

フルオレセイン蛍光眼底造影法では、血液網膜関門である網膜色素上皮の存在のため、脈絡膜循環の動態や血管構築の観察は網膜レベルと同等にはできない。1970 年代になって、この問題を解決するためにインドシアニングリーン (ICG) 蛍光眼底造影法が開発されたが、今日では単なる血管造影検査ではなく、組織化学的意味のある生体染色造影法の側面からの読影が必要となっている。本報告では ICG の吸光波長や血糖蛋白との結合特性に再評価を加え、そのための装置の改造がなされているが、subtraction 画像を駆使しての動画観察は画期的なものといえる。

この種の画像解析法により、脈絡膜毛細管板では wave front が黄斑部から周辺部眼底に拡散する様子が観察され、これより、酸素供給よりむしろ網膜色素上皮のラジエーターの働きを主とするために存在する組織ではないかとしている。

分光解析法を駆使した酸素飽和度測定装置では、1 ピクセル毎の波長解析が可能で、酸素飽和度はその程度に応じた色で示され、35 度の眼底画像上に色表示される。本装置の三次元的分解能は不明であり、脈絡膜循環の影響は否定できない。しかし、測定光が 480-640 nm の可視光であることから、日本人の眼では情報の多くは網膜からのものと推測し、網膜ないし網膜血管レベルでの酸素飽和度を測定したものとしている。

固視微動の影響など画像解析上解決すべき問題も残っているが、網膜虚血評価に有用な非観血的検査法であることが、網膜中心静脈閉塞症 (CRVO) や網膜静脈分枝閉塞症 (BRVO) 例で観察された。開放隅角緑内障 (OAG) では、下耳側網膜で有意な酸素飽和度の低下がみられ、また上耳側網膜でも低下傾向がみられた。特に低眼圧緑内障 (LTG) 眼でその傾向が顕著であったことは、網膜レベルにおける循環の自律調節能の異常を示唆するものとも考えられ、新しい観点からの緑内障解析や、さらに薬物治療の効果判定に有用な検査法となることが期待される。