

## ビデオ蛍光眼底造影と画像解析による網膜循環時間の測定

第1報 正常眼での網膜平均循環時間の検討(図7)

清水 慶一 (岡山大学医学部眼科学教室)

Measurement of Retinal Mean Circulation Time in the Normal Eye  
Using Videofluorescein Angiography  
and an Image Analysis System

Keiichi Shimizu

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

## 要 約

新しく開発したビデオ蛍光眼底造影と画像解析による網膜循環時間の測定システムにより、正常眼50眼の網膜の4象限から、4つの領域を任意に選び、網膜平均循環時間を測定した。この結果、4つの領域間には、平均循環時間の有意差はみられず、50眼、196領域全体の網膜平均循環時間は、 $3.00 \pm 1.26$  (mean  $\pm$  SD)秒であった。以上の結果から、正常眼の網膜平均循環時間は、約3秒と考えた。また、網膜平均循環時間の値には、支配する動静脈の分布範囲の重なり方と、各領域の面積が反映していると思われた。(日眼 91: 956—961, 1987)

キーワード：網膜循環、ビデオ、蛍光眼底造影、画像解析、人眼

## Abstract

The mean circulation times of four retinal areas arbitrarily chosen from four retinal segments of 50 normal eyes, were measured by the newly devised system, using a videofluorescence angiography and image analysis system. There were no significant differences between the four retinal areas in terms of mean circulation time. The mean circulation time of the total of 196 retinal areas chosen from 50 eyes was  $3.00 \pm 1.26$  (mean  $\pm$  S.D.) seconds. From these results, the retinal mean circulation time of the normal eye is thought to be about three seconds. Retinal mean circulation time seems influenced by the size of the retinal area itself and by the extent of overlapping area supplied by the artery and vein measured. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 956—961, 1987)

Key words: Retinal circulation, Video, Fluorescein angiography, Image analysis, Human eye

## I 緒 言

フルオロセインを用いた蛍光眼底撮影は、網膜循環障害の診断、治療において、現在、眼科臨床検査の中で最も重要なものの1つとなっている。しかし、蛍光眼底写真は網膜循環の或る特定の時刻における蛍光色素の分布を表現するにすぎず、網膜循環を定量的に

評価するシステムはまだ臨床的に実用化されていない。

1965年、Hickam<sup>1)</sup>は、蛍光眼底造影に色素希釈法の原理を応用すれば、網膜循環の定量化が可能であることを初めて報告した。網膜循環の定量化を行った報告は、その後も多くみられ<sup>2)~7)</sup>、それぞれ蛍光眼底造影像の記録方法、蛍光強度の測定方法、得られた色素希

別刷請求先：700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部眼科学教室 清水 慶一

Reprint requests to: Keiichi Shimizu, M.D. Dept. of Ophthalmol., Okayama Univ. Medical School  
2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(昭和62年5月21日受付) (Accepted May 21, 1987)

積曲線の解析方法等に特色と進歩がみられる。しかし、いずれのシステムも、それぞれが内包する短所のために臨床的に普及するに至っていない。

私達の教室で開発したビデオ蛍光眼底造影と画像解析による網膜循環時間の測定システム<sup>1)</sup>は、超高感度テレビカメラ、画像解析装置、大型コンピューターに移植された非線形最小二乗法プログラム(SALS)を利用し、任意の網膜領域の平均循環時間を確実に求めることができる。今回、色素の注入方法に改良を加え、このシステムを用いて、正常眼の網膜平均循環時間の測定を行った。その結果、正常眼の網膜平均循環時間の分布が明らかになり、更に、網膜平均循環時間の正常値の範囲を提示する上での問題点について検討を加えたので報告する。

## II 方法

### 1. 対象

高血圧症、糖尿病等の全身の疾患がなく、また、検眼鏡的、蛍光眼底撮影上、網膜血管系に異常のない、男性35人、女性10人、計45人の50眼について撮影を行った。この内、男性5人は両眼の撮影を行った。年齢で分類すると、10歳代5人、20歳代5人、30歳代8人、40歳代7人、50歳代11人、60歳代6人、70歳代3人となる。これら50眼の上耳側、下耳側、上鼻側、下鼻側の各象限より任意の1領域を選んで、その領域の網膜平均循環時間を求めた。4象限の内、撮影画角が20度

であるために、3領域しか測定出来ない眼が4眼含まれていたため、計196領域の平均循環時間を求めた。

### 2. ビデオ蛍光眼底撮影

蛍光眼底撮影装置(TRC-50VT, 東京光学機械)に、SIT管内臓、超高感度テレビカメラ(VC7000, 東京電子工業)を接続し、1/30秒間隔で蛍光眼底造影像を3/4インチUマチックビデオテープレコーダー(VTR, CR-8200, 日本ビクター)に記録した。この際、ビデオタイマー(VTG-33, 朋栄)によって、静脈注射時を0とする1/100秒単位の時刻表示を写し込んだ(Fig. 1)。

肘静脈に20Gのエラストー針を挿入し、これに容積2mlの連結チューブ及び三方活栓を連結し色素注入用とした。注入色素は10%フルオレスセイン(フルオレ

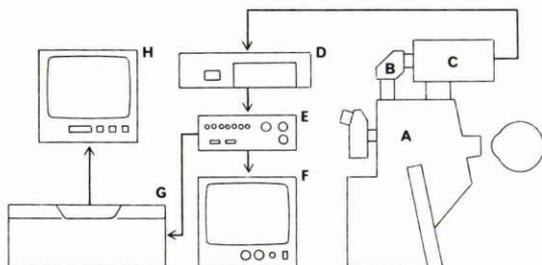


Fig. 1 Blockdiagram of the videofluorescein angiography subsystem. A: fundus camera, B: relay lens, C: low-light TV camera, D: controller of TV camera, E: videotimer, F: TV camera monitor, G: VTR, H: videomonitor

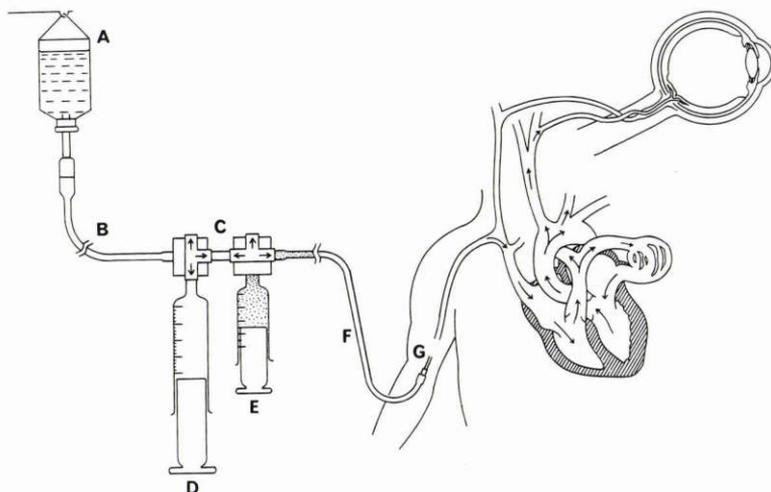


Fig. 2 Injection system. A: normal saline, B: infusion set, C: trifurcated stopcocks, D: normal saline for flushing, E: 10%fluorescein Na, F: extension tube, G: 20G elastic needle

サイト注射液1号<sup>®</sup>、アルコン)を用い、その1ml(100 mg)を予め連結チューブに静かに満たした後に、約20 mlのフラッシュ用生理的食塩水と共に、一気に注入した<sup>9)</sup>(Fig. 2)。

光源は、蛍光眼底撮影装置の観察光を利用し、固視を確実にするために、内部固視標を使用した。被検者には、検査中、この固視標をみるように指示し、超高感度カメラの感度と蛍光眼底撮影装置の観察光の照度を調節しながら安定した固視が得られることを確認の上撮影を行った。励起フィルター(M2699, 東京光学機械)、及び濾過フィルター(M2702, 東京光学機械)は蛍光眼底撮影装置の標準仕様のものを用いた。

画角は視神経乳頭を中心とする20度とし、注入後、約60秒間撮影を行った。システム全体の階調特性として、入射光に対して比例した出力を得るため、超高感度テレビカメラは入射光と出力電圧が線形となる範囲(出力レベル+0.7V<sub>p-p</sub>)で使用した<sup>10)</sup>。また、この範囲ではVTRの入力電圧と出力電圧も線形となることをシンクロスコープにより確認した。

3. 画像解析

再生したビデオ蛍光眼底造影像は、デジタルタイムベースコレクタ(FA-400, 朋栄)によりフリーズされ、カラーデコーダ(DEC-100, 朋栄)によりNTSCテレビジョン信号が、RGB映像信号にデコードされたのち、汎用画像処理解析装置(Luzex5000, ニレコ)に取り込まれた。この画像解析装置により、各血管の経時的な濃淡度を測定しフロッピーディスク上のファイル

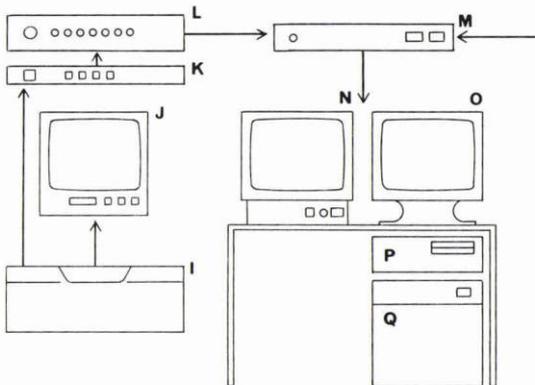


Fig. 3 Blockdiagram of the image analysis subsystem. I: VTR, J: videomonitor, K: digital time base corrector, L: decoder, M: input selector, N: image display, O: control display, P: controller of image processor, Q: image processor

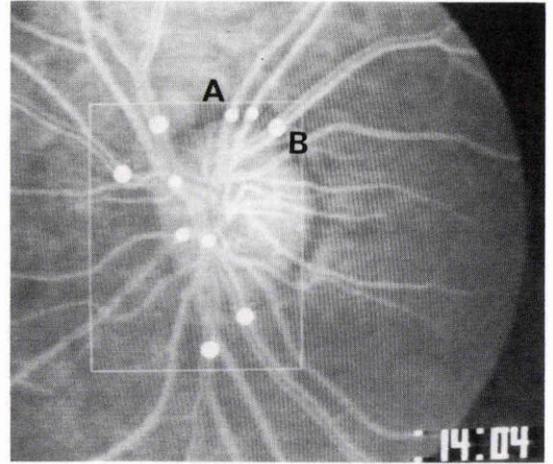


Fig. 4 The processing screen of the image analyser showing a videofluorescein angiogram of a left eye 14.04 seconds after dye injection. Analysed areas set on the temporal superior retinal artery (A), and corresponding vein (B).

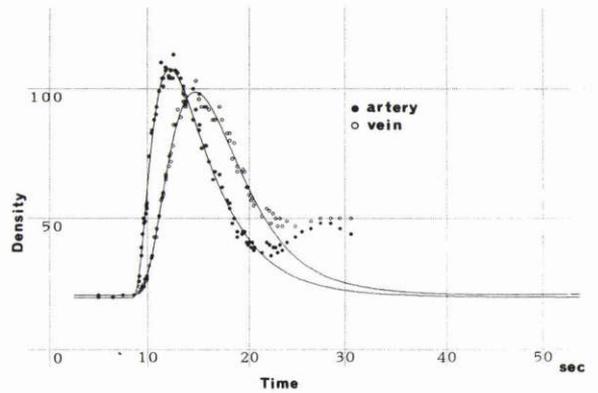


Fig. 5 Fluorescence densities of the temporal superior retinal artery (filled circles) and corresponding vein (open circles) with regression curves. Time is shown in seconds after the dye injection. The unit of density is arbitrary.

に記録した (Fig. 3)。

網膜血管の蛍光強度の測定エリアを血管に内接する円とするならば、蛍光強度と色素濃度との間には比例関係があると見なすことができる<sup>11)</sup>ので、このように設定した円内の濃淡度の平均値を測定した (Fig. 4)。測定は、蛍光色素が網膜動脈に出現する3~4秒前のビデオ画像から、0.2~0.3秒間隔で再循環が始まるまで行った (通常約30秒後)。

### 4. 網膜平均循環時間の計算

1本の血管のデータを、横軸に時間(t), 縦軸に濃淡度(I)をとってプロットすると典型的な色素希釈曲線を示す(Fig. 5), これを最小二乗法を用いて色素希釈曲線の理論式<sup>11)12)</sup>

$$I = k + I_p \text{EXP}(-\alpha \ln^2(t - t_0)/(t_p - t_0)) \quad (1)$$

k: 蛍光色素の網膜動脈出現前の VTR 画像の濃淡度 (背景濃淡度)

I<sub>p</sub>: 濃淡度の最大値

α: 曲線の傾き

t<sub>0</sub>: 蛍光色素が血管に出現した時間

t<sub>p</sub>: 濃淡度の最大値を与える時間

EXP: eを底とする指数

ln: 自然対数

に回帰する。この計算には、大型汎用コンピュータ(ACOS-1000, NEC)に移植されている最小二乗法プログラム SALS を利用した<sup>13)14)</sup>。即ち、複数の血管の経時的な濃淡度を記録したファイルから、1本の血管のデータを取り出し、各パラメータの初期値の設定、再循環部分のデータの切捨てを行い、SALS が使用出来る書式で別のファイルに書き込んだ。このファイルを、画像解析装置のシステムコントローラー(PC 98 XA model 3, NEC)を端末として通信回線を用いて ACOS-1000に転送し、TSS-AF 会話型リモートバッチサブシステム(CARDIN)のもとで、SALS のジョブを実行した。この様にして求めた k, I<sub>p</sub>, α, t<sub>0</sub>, t<sub>p</sub>の値を(1)式に代入して得られる曲線下の面積の時間軸上の重心点(t<sub>m</sub>)が腕網膜平均循環時間を意味する<sup>11)12)</sup>。実際には、

$$t_m = t_0 + (t_p - t_0) \text{EXP}(3/4\alpha) \quad (2)$$

に α, t<sub>0</sub>, t<sub>p</sub>の値を代入すれば、各網膜動静脈の腕網膜平均循環時間(動脈:t<sub>ma</sub>, 静脈:t<sub>mv</sub>)を求めることができる<sup>11)12)</sup>。

1対の網膜動静脈の腕網膜平均循環時間の差 t<sub>mv</sub> - t<sub>ma</sub>を、その動静脈で栄養されている網膜領域の網膜平均循環時間と考えた<sup>14)11)</sup>。

### 5. 統計

1眼について、上耳側、下耳側、上鼻側、下鼻側の各象限から任意に選んだ4領域の網膜平均循環時間を求めた。これを50眼について行い、各領域の平均と標準偏差を計算した。次に、各々の領域間(上耳側一下耳側, 下耳側一下鼻側, 上鼻側一下鼻側, 上耳側一下鼻側, 上耳側一下鼻側, 下耳側一下鼻側)で t 検定を行った。この際、測定できなかった1領域を含む対は

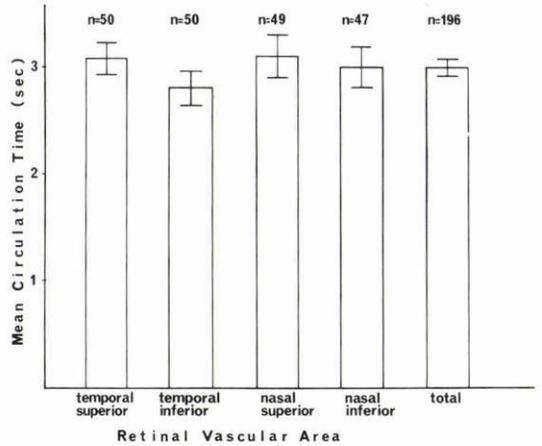


Fig. 6 Mean circulation time in each retinal area. Values indicate means±standard error. There are no significant differences between the four retinal areas.

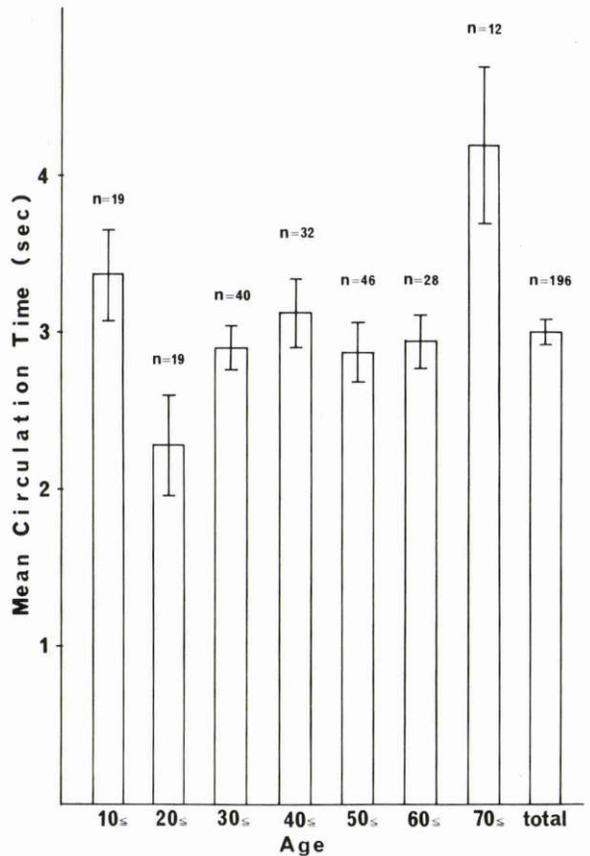


Fig. 7 Mean circulation time in each generation. Values indicate means±standard error.

除外した。更に、年齢から10歳代、20歳代、30歳代、40歳代、50歳代、60歳代、70歳代の各々の群について、測定のできた領域の全ての平均と標準偏差を計算し、各年代間で対応のないt検定を行った。最後に、50眼、196領域の平均と標準偏差を求めた。

### III 結 果

50眼各領域の網膜平均循環時間の平均値と標準偏差は、上耳側 $3.08 \pm 1.05$ 秒 ( $n=50$ )、下耳側 $2.81 \pm 1.24$ 秒 ( $n=50$ )、上鼻側 $3.10 \pm 1.40$ 秒 ( $n=49$ )、下鼻側 $3.00 \pm 1.33$ 秒 ( $n=47$ )であった。また、各領域の平均循環時間の間には、有意差は認められなかった (Fig. 6)。年齢別にみた平均循環時間の平均と標準偏差は、10歳代 $3.37 \pm 1.23$ 秒 ( $n=19$ )、20歳代 $2.28 \pm 1.41$ 秒 ( $n=19$ )、30歳代 $2.90 \pm 0.91$ 秒 ( $n=40$ )、40歳代 $3.12 \pm 1.24$ 秒 ( $n=32$ )、50歳代 $2.87 \pm 1.33$ 秒 ( $n=46$ )、60歳代 $2.94 \pm 0.87$ 秒 ( $n=28$ )、70歳代 $4.20 \pm 1.74$ 秒 ( $n=12$ )であった (Fig. 7)。10歳代と20歳代、20歳代と40歳代、70歳代と、20歳代、30歳代、40歳代、50歳代、60歳代の各年代間に有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。最後に、50眼、196領域全体の平均と標準偏差は $3.00 \pm 1.26$ 秒となった。

### IV 考 按

今回、小山らの開発したビデオ蛍光眼底造影と画像解析による網膜循環時間の計測システム<sup>8)</sup>によって、初めて、正常眼について網膜平均循環時間を測定した結果、 $3.00 \pm 1.26$  (mean  $\pm$  SD) 秒という網膜平均循環時間値が得られた。システムの違いにより、これまでの報告にみられる網膜循環時間との比較は困難であるが、Bulpittら<sup>4)</sup>は、蛍光眼底写真を用いて、 $3.41 \pm 1.68$  (mean  $\pm$  SD) 秒、Eberliら<sup>2)</sup>は、フルオロフォトメトリーを用いて、 $3.9 \pm 1.3$  (mean  $\pm$  SD) 秒という値を報告している。これらの値を参考にすれば、正常眼の任意の網膜領域の平均循環時間値は、約3秒と考えられる。

このシステムは、これまでの網膜循環時間を測定するシステムに比べて

(1) 撮像から測定までの各段階において、階調特性の歪みが少ない。

(2) 一度に何か所もの血管の蛍光強度が、経時的に、正確に測定できる。

(3) 得られた色素希釈曲線を最適の log normal 分布関数に正確、且つ確実に回帰させることができる。

という優れた特色がある。これまでの多くの報告が、いずれも1眼の任意の1領域の網膜平均循環時間を以て、1眼全体の平均循環時間を代表させているのは、各々のシステムにこの様な配慮がなされていなかったためである。従って、これまでの報告にみられる正常眼の網膜平均循環時間値に比べ、今回の結果は、網膜各領域間の循環時間の差をも考慮した上で求めている点が有意義と考えている。

Jungら<sup>7)</sup>は、耳側1/4象限の循環時間は、鼻側1/4象限の循環時間よりも、35%長いと述べているが、今回の検討の結果、各領域間の平均循環時間には、何れも有意差は認められなかった。この様な結果の差異を生む背景には、Jungらの循環時間の代表値が、平均循環時間ではなく、動静脈の造影開始時間の差であること、対象とした眼数が少ないこと等の問題点もあるが、

(1) 対象とする網膜領域の血管床の容積がそれぞれ異なること<sup>4)</sup>。

(2) 任意の動脈を流れた全ての色素がこれと対応する唯一の静脈に戻るわけではない、即ち、網膜領域は完全な閉鎖系ではないこと。

等の問題点があるからである。特に、各領域が完全な閉鎖系であることは、1対の網膜動静脈の腕網膜循環時間の差を、その動静脈で栄養されている網膜領域の網膜循環時間と考える上での前提となっている<sup>10)11)</sup>ので、重要である。従って、網膜平均循環時間の正常値の範囲を示すためには、先ず、これらの問題点を解決することが必要であると考えられる。例えば、支配する動静脈の分布範囲のよく一致した領域を選び、それらの面積について分類した上で、各領域群の循環時間を検討する<sup>4)</sup>ことも、一つの方法と思われる。

循環器科の領域においては、以前から色素希釈法を用いて、心拍量、心臓の短絡量等を測定するシステムがある<sup>9)</sup>。色素注入に関しても、多くの報告があり、Bousvarosら<sup>15)</sup>は色素注入と同時に生食水でフラッシュすることで、最初に描かれる希釈曲線に及ぼす再循環曲線の影響は、殆ど無視出来る程小さくなるのとべている。この様な注入法は、網膜循環時間の測定においても一部の研究者によって応用されており<sup>2)3)16)</sup>、小山らの開発したシステム<sup>8)</sup>に、この注入法を採用することにより、肘静脈から中心静脈までの間の色素の停滞、拡散が少なくなり、色素のみ勢よく注入したものに比べて、はるかに安定した結果が得られるようになった。更に、次のような点でシステムの改良、及び発展の可能性が生まれた。

(1) 色素が一塊となって測定部位まで到達するため、低照度の照明で画像解析に十分耐えられる程度のビデオ蛍光眼底造影像が得られ、このシステムで最も重要な点の一つである安定した固視が容易に得られるようになった。

(2) 少量の色素を繰り返しフラッシュ注入することにより、何回でも色素希釈曲線を得ることができ、網膜循環に影響を及ぼすと考えられる種々の因子についての検討も可能になった。

(2) については、再現性の検討も行っており、この点はシステム全体の再現性の検討とともに次報でまとめたいと思う<sup>17)</sup>。

本研究は文部省科学研究費補助金(課題番号60870061, 研究代表者松尾信彦)の補助を受けた、付記して感謝の意を表する。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲頂きました松尾信彦教授に深謝致します。また、御教示頂きました小山鉄郎講師、御協力頂きました教室の方々に感謝致します。

#### 文 献

- 1) **Hickam JB, Frayser R**: A photographic method for measuring the mean retinal circulation time using fluorescein. *Invest Ophthalmol* 4: 876—884, 1965.
- 2) **Eberli B, Riva CE, Feke GT**: Mean circulation time of fluorescein in retinal vascular segments. *Arch Ophthalmol* 97: 145—148, 1979.
- 3) **Evans PY**: Retinal circulation time: Proceedings of the International Symposium on Fluorescein Angiography, Albi 1969, Basel, Karger, 463—469, 1971.
- 4) **Bulpitt CJ, Dollery CT**: Estimation of retinal blood flow by measurement of the mean circulation time. *Cardiovasc Res* 5: 406—412, 1971.
- 5) **van Heuven WAJ, Malik AB, Schaffer CA, et al**: Retinal blood flow derived from dye dilution curves. *Arch Ophthalmol* 95: 297—301, 1977.
- 6) **Fonda S, Bagolini B**: Relative photometric

measurement of retinal circulation (Dromofluorograms), A television technique. *Arch Ophthalmol* 95: 302—307, 1977.

- 7) **Jung F, Kieseewetter H, Körber N, et al**: Quantification of characteristic blood-flow parameters in the vessels of the retina with a picture analysis system for video-fluorescence angiograms: initial findings. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 221: 133—136, 1983.
- 8) **小山鉄郎, 松尾信彦, 清水慶一**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. *Ther Res* 5: 685—690, 1986.
- 9) **香取 瞭**: 心機能検査としての色素希釈法. *臨床検査* 20: 679—687, 1976.
- 10) **二宮輝雄, 長谷川伸, 和久井孝太郎**: 画像エレクトロニクス講座. 撮像工学(増補版), 東京, コロナ社, 24—25, 1984.
- 11) **Riva CE, Feke GT, Ben-Sira I**: Fluorescein dye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234: 315—322, 1978.
- 12) **Stow RW, Hetzel PS**: An empirical formula for indicator-dilution curves as obtained in human beings. *J Appl Physiol* 7: 161—167, 1954.
- 13) **中川 徹, 小柳義夫**: 最小二乗法による実験データ解析. プログラム SALS, 東京, 東京大学出版会, 1982.
- 14) **小柳義夫**: 最小二乗法標準プログラム SALS 利用の手引き. 東京, 東京大学大型計算機センター, 1983.
- 15) **Bousvaros GA, Palmer WH, Sekelj P, et al**: Comparison of central and peripheral injection sites in the estimation of cardiac output by dye dilution curves. *Circulation Res* 12: 317—321, 1963.
- 16) **Flower RW**: Injection technique for indocyanine green and sodium fluorescein dye angiography of the eye. *Invest Ophthalmol* 12: 881—895, 1973.
- 17) **清水慶一**: ビデオ蛍光眼底造影と画像解析による網膜循環時間の測定. 第2報. システムの再現性についての検討. 日眼 投稿予定.