

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 単純型糖尿病性網膜症眼の網膜循環時間の検討

土田 陽三

岡山大学医学部眼科学教室

要 約

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を用いて、単純型糖尿病性網膜症眼16眼と正常眼31眼を対象に網膜循環時間を測定した。単純型糖尿病性網膜症眼は、蛍光眼底写真上、網膜血管閉塞領域のないことを確認した。網膜循環時間は、静注開始後、網膜動脈記録部に出現する蛍光色素総量の16%、33%、50%、66%、83%に到達するまでの腕網膜循環時間を測定し、対応する動静脈の差で求めた。測定は、単純型糖尿病性網膜症眼61領域、正常眼120領域で可能であった。その結果、単純型糖尿病性網膜症眼では正常眼に比べ、造影前半の網膜循環時間に有意な短縮 ($P < 0.03$) が認められた。これより単純型糖尿病性網膜症では正常人に比べ、血流総量の中で比較的短い循環経路に流れる割合が増加していると推察された。(日眼会誌 95: 73-78, 1991)

キーワード：網膜循環、単純型糖尿病性網膜症、蛍光眼底造影、ビデオ、画像解析

Measurement of Retinal Circulation Times in Non-proliferative Diabetic Retinopathy by Use of Fluorescein Video Angiography and Image Analysis System

Yozo Tsuchida

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

Abstract

Retinal circulation times were measured in all measurable retinal areas using fluorescein video angiography and image analysis systems. The subjects consisted of 16 non-proliferative diabetic retinopathy eyes and 31 normal eyes. In the diabetic eyes no non-perfusion area was found on fluorescein angiograms. Retinal circulation times were measured when 16%, 33%, 50%, 66% or 83% of the total fluorescence volume was reached. Measured retinal areas consisted of 61 areas in diabetic eyes and 120 areas in normal eyes. Retinal circulation times of 50% and under flowed were found significantly shorter in the diabetic eyes than in the normal eyes ($p < 0.03$). These results showed that blood flow volume of the shorter way in retinal circulation might increase in non-proliferative diabetic retinopathy. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 95: 73-78, 1991)

Key words: Retinal circulation, Non-proliferative diabetic retinopathy, Fluorescein angiography, Video, Image analysis

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 土田 陽三
(平成元年12月1日受付，平成2年2月23日改訂受理)

Reprint requests to: Yozo Tsuchida, M.D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received December 1, 1989 and accepted in revised form February 23, 1990)

I 緒 言

蛍光眼底造影法¹⁾の開発によって網膜疾患について多くの知見が得られるようになったが、特に細小血管症を疾患の本態とする糖尿病性網膜症に対して病態の解明のみならず管理や治療方針の決定にも応用され、現在最も重要な検査の1つとなっている。この方法を使った糖尿病性網膜症に関する報告は多数あるが、その多くは蛍光眼底写真により検討されているため網膜循環の動的な評価がされておらず、また眼底変化の少ない早期の網膜症に関する報告も少ない。

1986年小山ら²⁾³⁾は、ビデオ蛍光眼底造影と画像解析装置により任意の網膜領域内の循環時間を測定するシステムを開発した。そこで著者は、今回単純型糖尿病性網膜症を対象として、ビデオ蛍光眼底造影と画像解析を利用したシステムにより網膜循環時間を測定し正常人と比較検討したところ、有意の短縮がみられたのでここに報告する。

II 方 法

蛍光眼底写真上、網膜血管閉塞領域を認めない単純型糖尿病性網膜症患者14例(男性8例, 女性6例)を対象とした。年齢は40歳から60歳までで、平均58.3歳であった。この内2例(男性1例, 女性1例)は両眼について検査する機会を得たので、合計16眼の網膜循環時間を計測することができた。これに対し、同年代の正常者23例31眼(男性16例, 女性7例)を対照群として網膜循環時間を比較検討した。なお、正常眼については、測定可能な全領域の網膜循環時間を測定した。結局、測定可能であったのは単純型網膜症眼において61領域、正常眼において12領域であった。

網膜循環時間は、当教室で開発したビデオ蛍光眼底造影と画像解析を利用した方法で測定した。測定方法については小山ら²⁾³⁾が報告しているが、概要は以下のとおりである。

1. ビデオ蛍光眼底造影 (Fig. 1)

蛍光眼底撮影装置 (TRC-50TV, 東京光学機械) に TV リレーレンズ (1管式1インチ用, 東京光学機械) を介して超高感度 TV カメラ (VC7000, 東京電子工業) を接続し、眼底の蛍光血管造影像を3/4インチ U マチックビデオテープレコーダー (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、静脈注入時を0とする1/100秒単位の時刻表示を写し込んだ。映像はビデオモニター

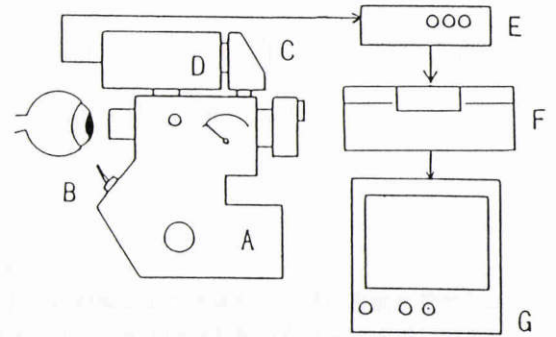


Fig. 1 Fluorescein video angiography subsystem.
A: fundus camera, B: inner fixation target, C: relay lens, D: TV camera, E: video timer, F: videorecorder, G: videomonitor.

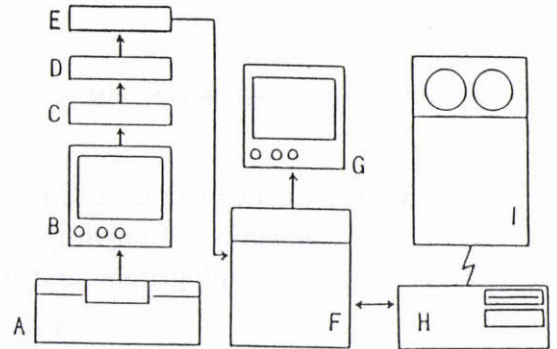


Fig. 2 Image analysis subsystem
A: videorecorder for replaying, B: videomonitor, C: digital time base corrector, D: decoder, E: video interface, F: image analyzer, G: controller of image analyzer, H: videomonitor, I: host computer.

(V-14MR, 日本ビクター) によって監視した。

肘静脈には20G エラスター針 (angiocath®) を留置し、これに容積2mlの連結チューブおよび二連式三方活栓を連結し色素注入用注射筒、フラッシュ用注射筒そして維持輸液を接続した。注入色素は10%フルオレセインを含有する注射液(フルオレサイト注射液1号®, アルコン)を用いた。撮影開始直前に色素1mlをあらかじめ連結チューブに注入しその後ビデオタイマー開始と同時に生理食塩水20mlをフラッシュした。

励起フィルター (M2699) 及び濾過フィルター (M2702) は、蛍光眼底装置の標準仕様のものを用い照度は眼前約250luxとした。確実な固視を得るために内部または外部固視標装置を用いた。撮影画角は20度、

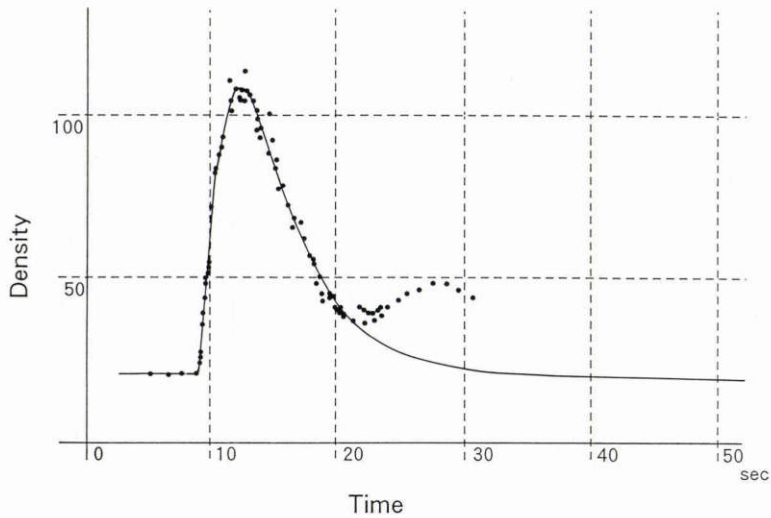


Fig. 3 Fluorescence densities of the temporal inferior retinal artery with regression curves. Time is shown in seconds after the dye injection. The unit of density is arbitrary.

撮影時間は蛍光色素注入後60秒間行なった。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+0.7Vp-p以内）で使用した。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より確認した。

2. 画像解析 (Fig. 2)

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ー (FA-400, 朋栄) によりフリーズされ、そしてカラーデコーダー (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、ビデオインターフェイスを通じ汎用画像処理解析装置 (LUZEX-5000, ニレコ) に取り込んだ。測定エリアは視神経乳頭より1乳頭径以内の各血管に内接する円とし、この円内の黒白濃度の平均値が測定結果となる。このように測定エリアを設定することによって、静脈が層流である際も含めて測定される蛍光濃度は色素濃度を反映している²⁾⁶⁾。使用した画像解析装置は1画面を縦に512画素、横に512画素の密度でデジタル画像処理を行ない、1画素あたりの黒白濃度の解析能力は256段階である。

3. 腕網膜循環時間の計算

各測定エリアの測定データを、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. 3)。再循環までの測定データを

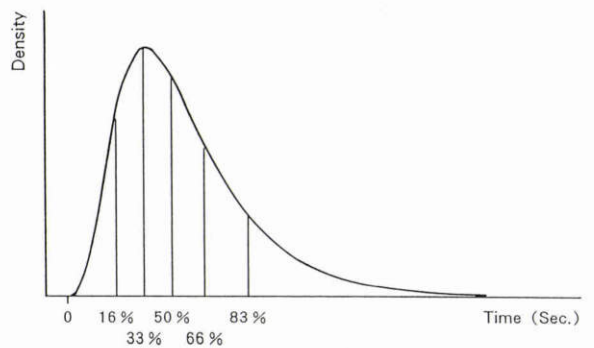


Fig. 4 Time is shown in seconds which reaches each percentage of fluorescence volume.

最小二乗法⁴⁾⁵⁾を用いて色素希釈曲線の理論式⁶⁾⁷⁾

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

(K: 蛍光色素の網膜血管出現前の画像濃淡度, I_p: 蛍光色素曲線の頂点の濃淡度, a: 曲線の傾き, t₀: 血管に蛍光色素が出現した時間, t_p: 蛍光色素曲線の頂点を示した時間, EXP: eを底とする指数, log: 5を底とする自然対数を表わす)

に回帰させた。この計算は、汎用大型コンピューター (ACOS-1000, NEC) に移植されている最小二乗プログラム SALS を利用し、これらの係数を求めた。

様に求めた K, I_p, a, t₀, t_p の値を次式に代入して色素希釈曲線下の面積 (S) をおのおのの血管について求めた。

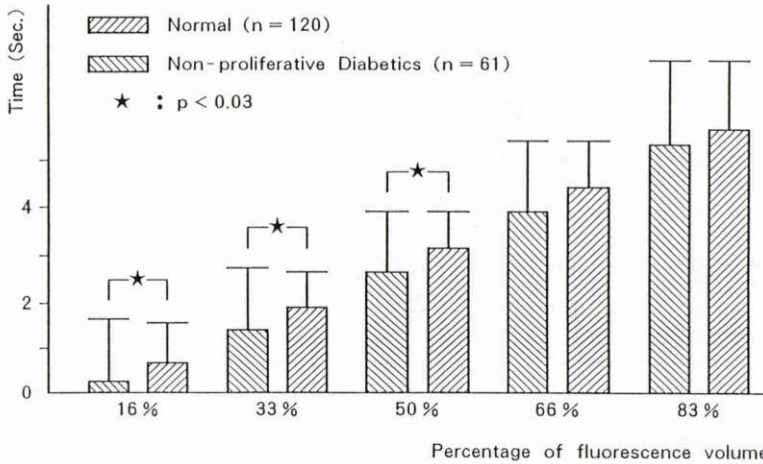


Fig. 5 Circulation time in each percentage of fluorescence volume. Values indicate means±standard deviations.

$$S = I_p(tp - t_0)(\pi/a)^{1/2} \text{EXP}(1/4a)$$

この曲線下の面積は、各々の血管を流れる蛍光色素総量に比例し、また色素希釈曲線の立ち上がり部分は網膜循環の比較的短い経路の状態をよく表わすので⁸⁾、この曲線下の面積を6等分し各面積に到達するまでの時間を求めた (Fig. 4)。

$$tm = t_0 + m((tp - t_0) \text{EXP}(3/4a)) / 3 \quad (m = 1 \sim 5)$$

求められた時間は、静脈注入開始から、各々の記録部に出現する蛍光色素総量の16%、33%、50%、66%、83%が通過するまでの腕網膜循環時間となる。

4. 網膜循環時間の計算

隣合う網膜動脈が同じ灌流領域を支配するものとし、それらの腕網膜循環時間の差をその領域の網膜循環時間と考えた。各群について得られた網膜循環時間の平均と標準偏差を求め、各々の群の間でt検定を行いそれぞれの差の有意性について検討した。

III 結 果

単純型網膜症群16眼の網膜循環時間の平均値と標準偏差は、0.18±1.76秒(16%)、1.48±1.31秒(33%)、2.79±1.16秒(50%)、4.09±1.41秒(66%)、5.40±1.90秒(83%)、正常群31眼全領域では、0.71±0.95秒(16%)、1.94±0.70秒(33%)、3.17±0.75(50%)、4.40±1.05秒(66%)、5.64±1.45秒(83%)であった。t検定を用いて統計学的に検討すると単純型網膜症眼では正常眼に比べ、造影前半の網膜循環時間に有意な短縮(P<0.03)が認められた (Fig. 5)。

IV 考 按

血流中に注入された色素が希釈されることにより循環路の状態を分析する色素希釈法によって、いままで多くの循環動態が明らかにされてきた⁹⁾。今回著者はこの方法を使い、色素注入から網膜の任意の測定点に達する腕網膜時間を対応する動静脈各々につき測定し、それらの差をその領域の網膜循環時間とした。ここで求めた腕網膜動脈循環時間は、個々の色素粒子が体循環の個々の経路を通して網膜中心動脈記録部に出現した時間であり、色素出現時間度数分布は色素希釈曲線によく回帰する。また腕網膜静脈循環時間は、同一体循環を通過して網膜の毛細血管網を通過した後、網膜中心静脈記録部に色素が出現した時間である。今回この腕網膜循環時間を、静注開始後記録部に出現する蛍光色素総量の各割合に達するまでの時間で求めた。例えば静脈注入開始から動脈記録部に色素が出現した後、蛍光色素総量の最初の16%が動脈記録部を通過するまでの時間を16%腕動脈循環時間として求め、同様にして総量の33%、50%、66%、83%が通過するまでの時間を動静脈各々について求めた。そして対応する動静脈の腕網膜循環時間の差をとり、各割合の網膜循環時間を求めた。従って50%網膜循環時間は網膜平均循環時間となる。

さて、網膜中心動脈間が一本の管とすると各割合の網膜循環時間は一定の値を示すはずであるが、実際の計測値では割合が増すごとに延長していた。これは、網膜中心動脈間の毛細血管網が多く異なる長さ

の基本循環経路で構成されているためである。基本循環経路を移動する色素は、各経路ごとの血流抵抗に差違がなければ循環経路の長さの分布に応じた色素到達時間の広がりを示すため、この広がりには網膜中心動脈脈間の長さの多様性を示している。例えば色素通過曲線における上がりの部分は比較的短い循環経路状態を主に示しているわけである⁹⁾。今回の単純型網膜症では、造影前半の網膜循環時間が正常眼に比べ有意に短縮していることから、血流総量の中で比較的短い循環経路に流れる割合が増加していると推察される。

糖尿病性網膜症における網膜血流量に関する報告は幾つかある^{15)~17)}。その多くは、網膜症出現以前より血流量は増加しており、単純型網膜症では網膜症の進行とともに血流量は漸次増加するが増殖型網膜症になると急激に血流量は低下すると報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。単純型網膜症において循環血流量が増加する理由は不明の点が多いが、高浸透圧や代謝産物の蓄積改善などのために網膜の持つ自己調節機能によって血管は拡張し循環血流量は増加するものと言われている¹¹⁾。この自己調整機能により網膜状態を正常に維持しようとするわけであるが、循環異常を代償することが出来なくなると血管閉塞などの微小循環障害をひきおこし、急激に血流量は低下すると考えられる。今回は、蛍光眼底写真上網膜血管閉塞領域を認めない単純型網膜症を対象としたので、自己調節機能による循環血流量の増加が生じていると考えられ、これらの調節機構が造影前半の網膜循環時間の短縮にかかわっているものと考えられた。

また糖尿病性網膜症の網膜平均循環時間に関しても幾つかの報告がなされている。単純型網膜症の軽症のものでは短縮しているという報告¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾があり、単純型網膜症の進行に伴って循環時間は短縮する傾向があるが、何れも有意差はなく、増殖型早期になると逆に正常眼と比べて有意に延長する¹⁴⁾という報告がある。今回の結果でも、網膜平均循環時間に有意の短縮が認められたが、その理由として、前述のとおり血流総量の中で比較的短い循環経路に流れる割合が増加しているため、網膜平均循環時間もこの影響を受けて短縮したものと考えられた。

以上より、軽度の単純型網膜症では代謝異常を補うべく網膜の自己調節機能によって循環血流量が増加し、この影響を比較的短い循環経路が大きく受けるため造影前半の網膜循環時間が正常眼に比べ有意に短縮し、そのため網膜平均循環時間も短縮すると考えた。

稿を終えるにあたり、御指導御校閲を賜りました松尾信彦教授に深謝致します。又、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。

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。

尚、本論文の要旨は第55回日本中部眼科学会にて報告した。

文 献

- 1) Novotny HR, Alvis DL: Method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation* 24: 82-86, 1961.
- 2) 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.
- 3) Koyama T, Matsuo N, Mihara M, et al: Retinal mean circulation time by videofluorescence angiography and image analysis. *Microcirculation an update*. Vol. 2: 77-78, 1988.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Riva CE, Fekete GT, Ben-Sira I: Fluorescein dye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234: 315-322, 1978.
- 7) Stow RW, Hetzel PS: An empirical formula for indicator-dilution curves as obtained in human beings. *J Appl Physiol* 7: 161-167, 1954.
- 8) Fonda S, Bagolini B: Relative photometric measurements of retinal circulation (dromofluorograms). *Arch Ophthalmol* 95: 302-307, 1977.
- 9) 香取 謙: 心機能検査としての色素希釈法. *臨床検査* 20: 679-687, 1976.
- 10) Kohner EM: The problems of retinal blood flow in diabetes. *Diabetes* 25(Suppl 2): 839-844, 1976.
- 11) 鈴木隆次郎: 網膜循環の基礎と臨床. *眼紀* 39: 369-377, 1988.
- 12) Kohner EM, Hamilton AM, Saunders SJ, et al: The retinal blood flow in diabetes. *Diabetologia* 11: 27-33, 1975.
- 13) Soeldner JS, Christacopoulos PD, Gleason RE: Mean retinal circulation time as determined by fluorescein angiography in normal,

- prediabetic, and chemical diabetic subjects. *Diabetes* 25(Suppl 2): 903—908, 1976.
- 14) **Yoshida A, Feke GT, Morales-Stoppello J, et al:** Retinal blood flow alteration during progression of diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 101: 225—227, 1983.
 - 15) **Cunha-Vaz GT, Fonseca JR, Abreu JF, et al:** Studies on retinal blood flow. II Diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 96: 809—811, 1978.
 - 16) **Blair NP, Feke GT, Morales-Stoppello J, et al:** Prolongation of the retinal mean circulation time in diabetes. *Arch Ophthalmol* 104: 991—996, 1986.
 - 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. *日眼会誌* 92: 1230—1234, 1988.
-