

微弱光励起によるビデオ眼底撮影および画像処理システムの開発

武藤 勉*, 葛西 款*, 板橋 隆三*, 玉井 信*, 鈴木 均**, 田崎 京二**

*東北大学医学部眼科学教室, **東北大学医学部第2生理学教室

要 約

蓄積型の高感度カラーCCD (charge coupled device) カメラを導入し, 微弱励起光用蛍光眼底ビデオ検査システムを開発した。システムは蛍光眼底カメラ, ビデオ録画装置および高速画像処理機能を持つパーソナル・コンピュータから構成される。画像データに対して平滑化, デジタル・サブトラクション, 微分処理などをオンラインまたはオフラインで施すことができる。その結果, (1) 微弱な観察光でも鮮明なカラー眼底像を記録でき, 初検者の心理的および物理的な負担を軽減できた。(2) 閃光照射せずに蛍光眼底像を撮影でき, しかも蛍光の充盈過程をリアルタイム連続録画できた。(3) 不鮮明画像については, 録画データに対してオフライン画像処理を加えることにより鮮明画像とすることができた。(4) デジタル・サブトラクション処理によりカエル網膜の任意血管内の血流速を定量化できた。(5) 眼底色調の微妙な部位差を定量的に捕捉でき, 蛍光像との比較を行うことが可能となった。(日眼会誌 95:861-868, 1991)

キーワード: ビデオ蛍光眼底造影, 画像処理, ビデオ録画, デジタル・サブトラクション

Development of Image Processing System for Fundus Video-Angiography with Non-stroboscopic Illumination

Tsutomu Mutoh*, Makoto Kasai*, Ryuzo Itabashi*,
Makoto Tamai*, Hitoshi Suzuki** and Kyoji Tasaki**

*Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine

**Department of Second Physiology, Tohoku University School of Medicine

Abstract

A new recording system for fluorescein video-angiography using a highly sensitive color charge coupled device (CCD) camera was developed. An image processing unit installed in a personal computer made it possible to process video signals from the camera and/or a video tape recorder. Functions of the unit are on-line and/or off-line operations on image data such as smoothing, digital subtraction, differentiation etc. Application of the unit improved the quality of images observed on a monitor screen. This system enabled observation of the ocular fundus with illumination of low intensity, which reduced physical and psychological suffering of patients. In addition continuous and whole sequences of fundus fluorographs were recorded, without using strong stroboscopic lights. Extraction of a clear image from ambiguous records at any moment was possible through off-line processing on the stored data. Furthermore quantification of the blood flow in any blood vessels was possible by subtracting two successive images. With this system, quantitative expression of a slight

別刷請求先: 980 仙台市星陵町1-1 東北大学医学部眼科学教室 武藤 勉
(平成2年6月29日受付, 平成3年1月7日改訂受理)

Reprint requests to: Tsutomu Mutoh, M.D. Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine.

1-1 Seiryomachi, Sendai 980, Japan

(Received June 29, 1990 and accepted in revised form January 7, 1991)

difference in the color of the fundus could be made through calculation of the ratios among R-, G-, and B-components of signals at any place. Finally, comparative study of images of the fundus with natural color could be made with those of fluorography. These features may provide further information on the physiology and pathology of the fundus. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 861-868, 1991)

Key words: Fluorescein video-angiography, Image processing, Video tape recording, Digital subtraction

I 緒 言

1960年 Novotny ら¹⁾によって開発された蛍光眼底造影 (Fluorescein Fundus Angiography 以下, FAG と略す) は, 網脈絡膜疾患特に網膜循環動態および血液網膜柵の病態を知り, その治療方針を定め, 治療経過を追跡するために最も重要な検査法の一つとなっている. 本法を行う機会は, 高齢化社会の進行により糖尿病をはじめとする網膜血管病変を主体とする患者数の増加に伴い, ますます多くなっている. しかも, 的確な診断を行うために, 定性的な情報のみならず定量的な情報を得る事への要求も増している.

FAG による定量化の試みは Hickam²⁾によって開始されたが, 現行の FAG での実用化はされておらず, さらに以下のような問題点も含んでいる. 1) 閃光を頻回照射する必要があるため, 被験者の肉体的及び心理的苦痛が大きい. 2) 症例によっては観察光および励起光照射により, 視細胞外節の不可逆的な傷害や再生遅延を惹起する可能性がある³⁾⁻⁶⁾. 3) 標準量の蛍光物質を投与した場合でも副作用がみられ, 時として重篤な合併症を併発することがある^{7,8)}. 4) 現状では, 毎秒1枚の撮影速度が限界であり, 循環動態を正確かつ詳細に把握するために必要なリアルタイム連続撮影は不可能である.

これらの諸問題を解決するために, 当教室の葛西らはマイクロチャンネルプレートを使って感度を向上させた撮影装置を開発し第91回日眼総会で報告した⁹⁾. 清水らもまた SIT (Silicone Intensified Target) 管を導入して同様の試みを行っている^{10,11)}. しかし, いずれの手法を用いた場合もモノクロームの映像しか得ることができず, 眼底の色調変化に反映される病態に関する情報は失われてしまう.

本研究では, 高感度カラー CCD (Charge Coupled Device) カメラを導入して葛西らの方法⁹⁾を改良し, 諸問題の解決をはかった. 本システムによって FAG 像およびカラー眼底像を完全連続撮影することが可能と

なった. また, 同時に開発した画像処理の手法¹²⁾によって, 網脈絡膜の循環動態を可視化および定量化することが可能になった.

II 実験方法

本装置全体の系統図を図1に示す. その構成は葛西ら⁹⁾のものと同様である. FAG 撮影装置 (コワ PRO-I) のカメラ着脱部分に蓄積型の高感度カラー CCD カメラ (フローベル: 有効画素数 570×480) を取り付け, カメラ制御系 (フローベル HC-1600) に取り付けた. ビデオ信号は録画装置 (ビクター SR5050) と画像解析系に分配される. リアルタイム画像処理は高速演算型のボードを組み込んだパーソナル・コンピュータ (三菱電気 mp286: 表示有効画素数 512×480) によって行われ, 結果は高解像度モニター (三菱電機 FA34WEX: 解像度 1120×750) に表示される. 結果として模擬眼底上の 1cm² は, モニターで 25,500 ドットで表示される. また, 検査開始直後からの原画像情報はすべて録画装置に連続記録される. 詳細な検討が必要な場合には, 録画されたデータをオフライン処理する. 処理結果はビデオプリンターを使って出力される.

蛍光眼底像を得るための手続きは葛西らの報告⁹⁾に従った. まず, ウシガエル (*Rana catesbiana*) を筋弛緩剤 (サクシニルコリン 2mg/kg) で非動化し, 散瞳剤 (ミドリン P[®]) を点眼して眼底カメラの撮影位置に固定した. 注入蛍光物質フルオレセイン・ナトリウム (以

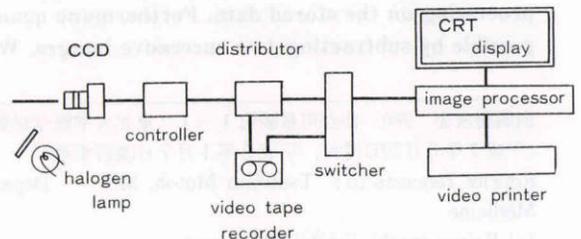


図1 System block diagram

下 Na-F と略す)の血中濃度をヒトの場合と同濃度0.1 mg/ml となるように注入した。ヒトに対しては、NA-F に対する過敏性を検査するために皮内テストを行った。次いで、翼状針で肘静脈を確保し、10%Na-F(フルオレサイト注射液1号[®], アルコン)を約4ml 注入した。光源、励起フィルタおよびバリアフィルタはFAG 装置に標準装備されているものを使用した。光源としては、標準装備されている観察用光源を用い、その照度は400~1,400lux である。撮影用の閃光は使用しなかった。被験者には検査の目的をよく説明し、同意書に署名を得た上で検査を行った。

画像処理用ソフトウェアは階調変換、閾値処理、フレーム加算、平滑化処理、エッジ強調処理、画像間のサブトラクション処理(以下 DSA と略す)、色調分析処理などの機能を持つようにした¹²⁾。

III 結果

装置の動作を確認するために、まずカエルの眼を使ってモデル実験を行った。

葛西ら⁹⁾と同様にカエルの体重から総血液量を算出し、ヒトの場合の血中 Na-F 濃度と等しくなる0.1mg/ml を投与した。眼底に蛍光が現れた直後から約1秒の間に得られたビデオ眼底像を12枚に分け、図2に示す。

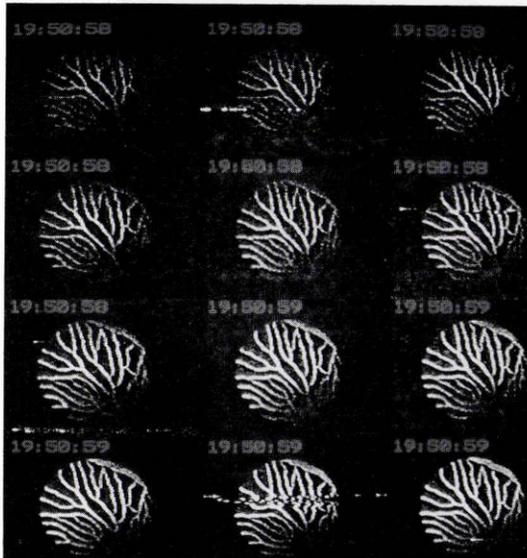


図2 FAG リアルタイム録画(カエル網膜)。左上の数字は観察時間(単位:時,分,秒)を示し、左上より順に横へ進行する。それぞれは0.1秒間隔の画像で全体では約1秒間のNa-F 充盈過程を示す。

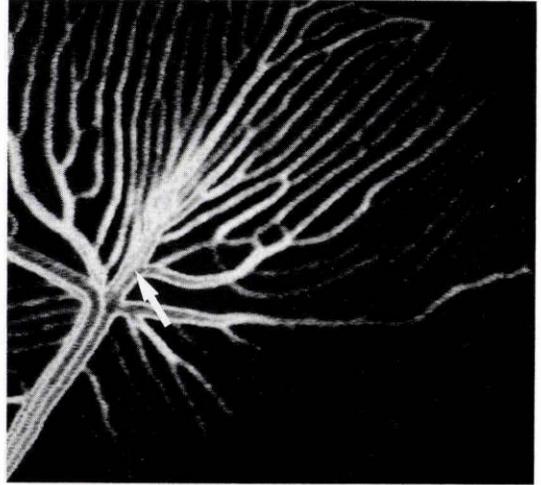


図3 FAG 静止画像(カエル網膜)。任意時点で静止した1コマ画像。層流(矢印)を観察できる。

眼底血管(membrana vasculosa retinae)へのNa-Fの充盈経過が明瞭に観察できる。各フレームの左上には観察時刻を時,分,秒の順に示した。各画像の時間間隔は0.1秒であり、時間の経過にしたがって左上から右へ向かって並べられている。各々の写真は3コマのビデオ画面を加算して得られたものである。6コマの画面を加算して画像を作ると空間分解能のよい鮮明画像が得られる。しかし、この場合は時間分解能が半分に低下する。

Na-Fの充盈過程はすべてビデオ録画されているので、任意時点の静止画像を抽出して観察することができる。例えば、充盈の極めて初期だけに観察される層流現象も確実に画像として捕らえることができる(図3)。100msec後の画像では全ての血管にNa-Fが充満していた。

FAGの初期の過程でNa-Fのフロントを見定め(図4A)、一定時間後の画像(図4B)とのサブトラクション像を作ると、この間に移動したフロントの部分だけが線分として描出される(図4C)。この線分の長さを経過時間とから、着目する血管内を流れる血流の速度を算出できる。このようにして求めた血流の速度は、この例では、約100 μ m/secであった。

本システムはモデル実験において使用に耐える十分な能力を有することが示されたので、引続きヒトの眼底撮影を行った。通常のカラール眼底撮影を行う場合、照射光量を減らすことができるので、被験者は以前のように羞明感を訴えることはない。しかも、従来のカ

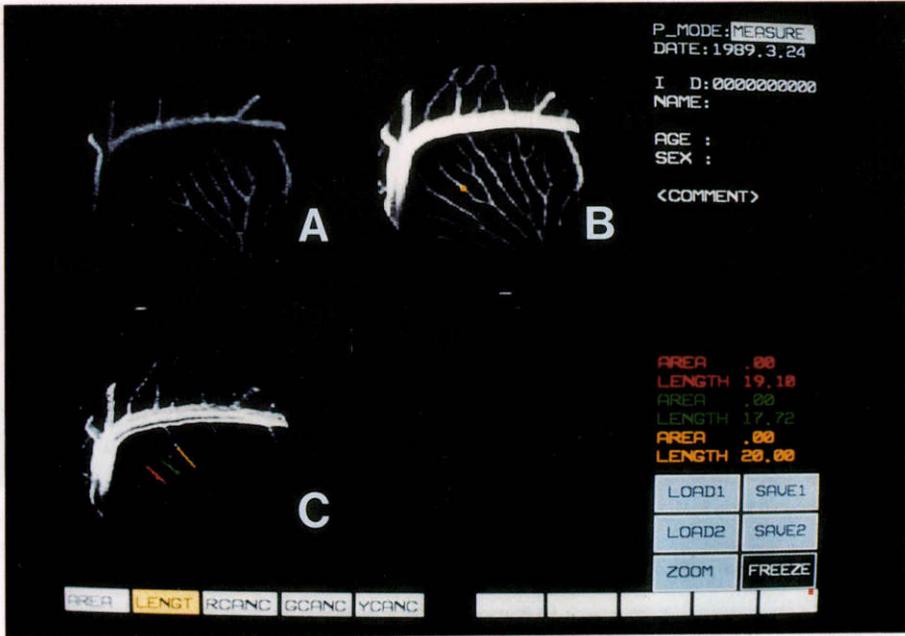


図4 FAGサブトラクション処理画像(カエル網膜)

A: フロントを確定する初期画像, B: Aより約1秒後の画像, C: サブトラクション画像(B-A). 抽出線分をマウスにて測定(赤, 緑, 黄色)すると, 画面右中央に計測結果が表示される.

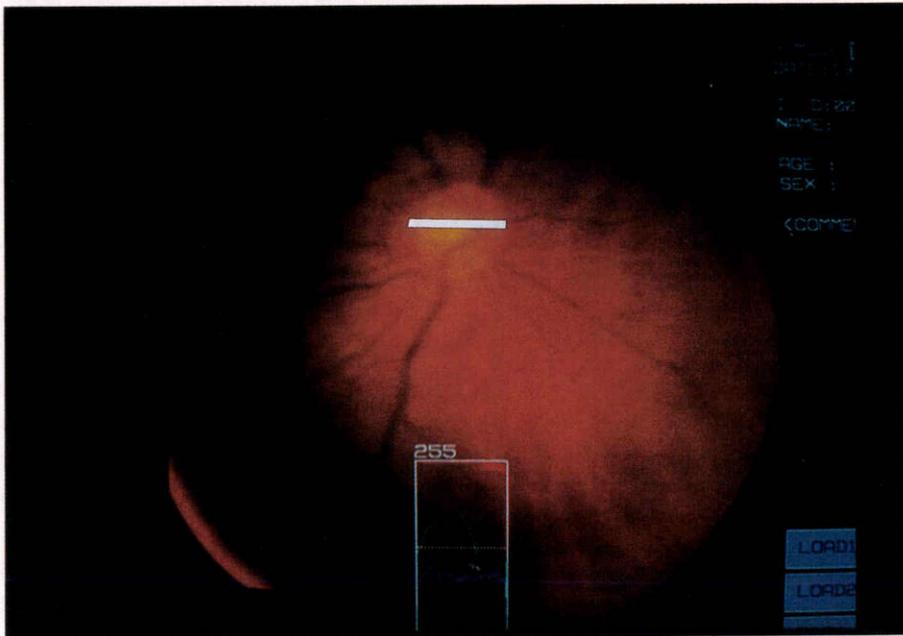


図5 カラー眼底画像(ヒト). 視神経乳頭(白線)におけるR・G・B成分の強度分布図(挿入図). G成分が最も敏感に乳頭陥凹と対応している.

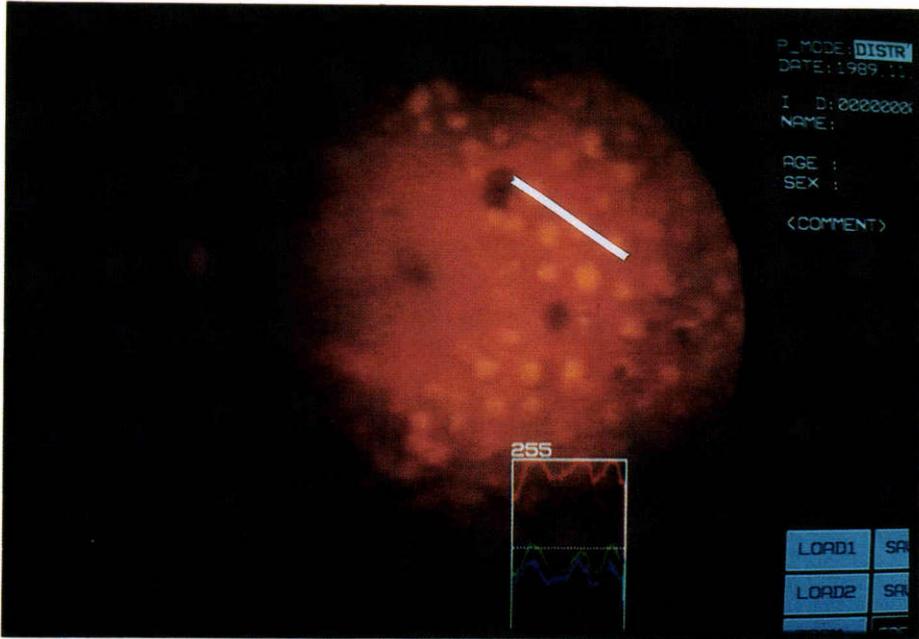


図 6 カラー眼底画像（糖尿病性網膜症）。白線における R・G・B 各成分の強度分布図（挿入図）。光凝固斑に一致して各成分の強度分布が高くなっている。

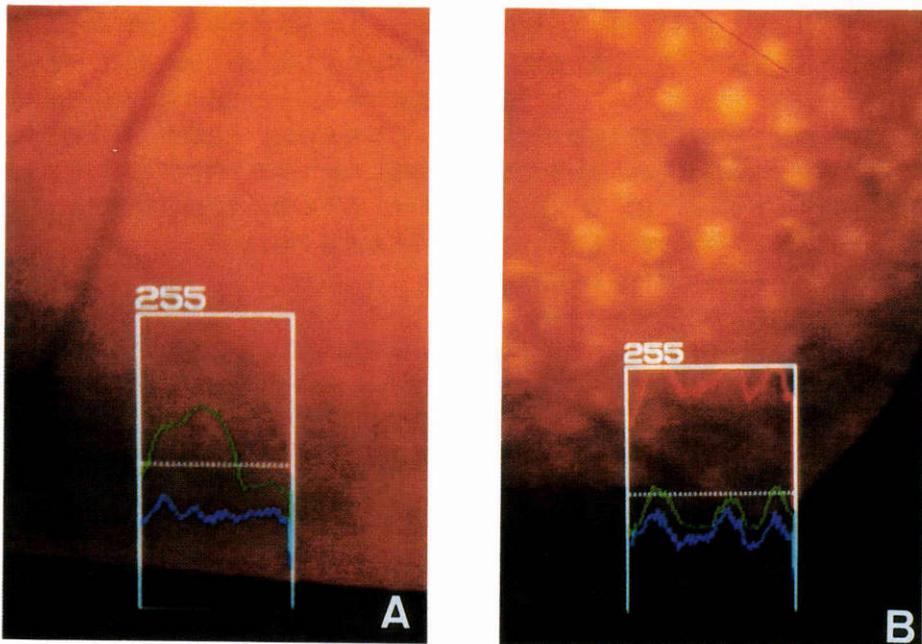


図 7 挿入図の拡大
A：図 5 挿入図の拡大， B：図 6 挿入図の拡大

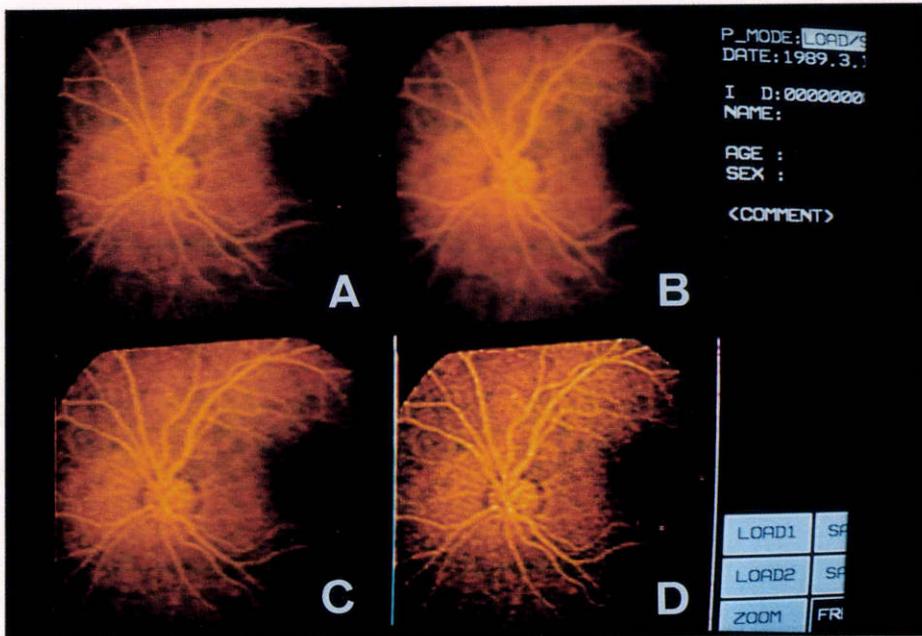


図8 FAGカラー眼底写真(ヒト)

A: NA-F注入後, 約4分経過した眼底像, B: Aに空間的平滑化処理を施したもの, C: Bに微分処理Iを施したもの, D: Cに微分処理IIを施したもの. 血管像が鮮明になっている.

ラー眼底写真と同様な色調の鮮明なカラー眼底像を撮影および録画することができる(図5). 図6には糖尿病性網膜症に光凝固された被験者のカラー眼底像を示す.

多くの場合, 眼底の微妙な色調の差異は重要な知見をもたらす. 周囲の組織との僅かな色調の違いを見る場合, 本来の色で検討するよりも赤(R), 緑(G)および青(B)の三成分に分解し, 特定の成分もしくは成分の組合せについて検討するとその違いがより明確になる例がある. 視神経乳頭部の色を三成分に分解し, 各位置(白い線分)に対するR, G, B成分の強度分布を調べると, RとBの成分は位置によらずに同様であるが, G成分は大きな変動を示している(図5, 図7A). すなわち, 色調の変化を定量的に扱う場合, この例では, G成分を使えば変化を明瞭に表現することができる. また図6においても, 白い線分に対する強度分布を調べると, 三成分とも光凝固斑に一致して変動している(図6, 図7B). ただし, 対象とする部位および疾患によっては他の成分もしくは成分の組合せを使って表現するのがよい結果となることもある.

このような観察および録画の後, 観察光の光路に通

常の励起フィルタおよびバリアフィルタを挿入すればそのまま蛍光眼底観察および録画に移行できる. 図8はNa-F注入後, 約4分経過したときのカラー蛍光眼底像である. 左上の原画像に空間平滑化処理を加えたものが右上の図, また順次, 微分処理I, 微分処理IIを施した後で画像を再構成した例を左下および右下に示す. 右下の像では, 画像の鮮明度も向上し血管走行なども改善された.

IV 考 按

画像増強管を用いて蛍光眼底ビデオ録画する手法¹¹⁾はNa-Fの充盈過程を記録し, 網膜の血流動態を解明する上で強力な手法となってきた. しかし, 従来の研究グループが使用した受光系は確かに高感度ではあるが, 色情報を失うという欠点がある. この欠点は本研究において導入した高感度カラーCCDカメラおよび画像処理システムの組合せによって克服された.

本システムは, 通常の蛍光眼底撮影の場合と同様に, 光路内にフィルタの切り替えだけでカラー眼底撮影から蛍光眼底撮影に移行するように設計されている. 我々が用いた高感度カラーCCDカメラの特徴として,

カラー眼底像の他に像の色成分の強度分布、成分の比率なども定量的に解析することがあげられる。その結果、疾患領域をより明確かつ容易に定めることが可能となった。例えば図5のように、視神経乳頭面上でその解析を行えば緑内障その他により乳頭の色調が変化する場合、それを定量的に把握できることを示している。しかし、観察光の強度に対する色調への影響、視野との相関など今後解明すべき点が残されている。また固視微動、羞明、中間透光体の混濁などによる不鮮明な原画像に対して、画像処理を施し再構成することで画像の鮮明度は向上する(図8)。さらに蛍光眼底像からは定量的な血流動態を把握できるようになれば、両情報の比較検討が容易になると考えられる。

本研究では眼科領域において初めてFAGとDSAを組み合わせることを試みた。これによりカエル眼底(membrana vasculosa retinae)の任意血管内で血流速度の測定ができた(図4)。また、完全連続リアルタイム録画により任意時点での静止およびスローモーション再生が可能となり、眼底の循環動態や血管内の層流現象の観察が容易になった(図3)。

これまでに開発されてきた血流測定法^{13)~16)}は侵襲的であるか、または非侵襲的であっても限られた太さの血管しか対象とできない¹⁷⁾か、あるいは間接的な方法¹⁸⁾であるのに対し、FAG法はそのいずれの制約をも受けない点に特徴がある。もちろん、FAGは心血管系の検査に汎用されている指示薬希釈法と同様の問題を含んでいる¹⁹⁾²⁰⁾。すなわち、指示薬が末梢静脈に捕捉されて希釈曲線が大きく変化し、その結果、蛍光輝度の変化をきたすために正確な流量流速の計測が不可能となる。これに対し、色素注入後に約8mlの生食水でフラッシュすることで、末梢静脈による捕捉の現象が回避され、よい再現性が得られる²¹⁾²²⁾が、一方では希釈曲線の下降脚の勾配に変化をきたし、左右短絡率、逆流のパラメータに影響するため過大算出の可能性も指摘されている²³⁾。これらのことはFAGにおいても当てはまり、流速・流量の算出に際しては希釈曲線の下降脚に相当する部でのDSAは無意味と思われるが、最高色素濃度に達するまでの希釈曲線での定量化は有効であろう。この立場から、本システムで採用したDSAは任意の眼底動静脈の血流速度を迅速に行うことができるという点で画期的である(図4A, B, C)。

ビデオ録画法では一画面を描出するのに約30msecを要し、これが本法の時間分解能の限界である。しか

し、モデル実験(図4A, B, C)で示されたように毛細血管内の流速を求めることはこの時間分解能であっても必ずしも不都合はない。空間分解能の低下を厭わなければ、カメラの走査方式を少し変えれば15msecまで短縮することは可能である。また、固視微動や瞬目、眼底色調の違いにより眼底所見の弁別に差はあるが、面積にして少なくとも約0.15mm四方のものは十分識別可能である。

本システムにより血液網膜層の破壊箇所が明瞭となり、さらに角膜や中間透光体に混濁があるためにいままでは不鮮明な情報しか得られなかった場合のFAGも可能となることが期待される。

本研究は文部省科学研究費補助金(課題番号63870070, 研究代表者 玉井 信)による研究である。なお、本論文の要旨は第93回日本眼科学会総会にて報告した。

文 献

- 1) Novotny HR, Alvis DL: A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation* 24: 82-86, 1961.
- 2) Hickam JB, Frayser R: A photographic method for measuring the mean retinal circulation time using fluorescein. *Invest Ophthalmol* 4: 876-884, 1965.
- 3) Gibbons WD, Allen RG: Retinal damage from long-term exposure to laser radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16: 521-529, 1977.
- 4) Ham WT: Retinal sensitivity to damage from short wave length light. *Nature* 260: 153-154, 1976.
- 5) Calkins JL, Hochheimer BF: Retinal light exposure from ophthalmoscopes, slit lamps, and overhead surgical lamps. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 19: 1009-1015, 1980.
- 6) 小沢哲磨: 一般光源の眼に及ぼす影響. *眼科* 24: 723-729, 1982.
- 7) Stein MR, Parker CW: Reactions following intravenous fluorescein. *Am J Ophthalmol* 72: 861-868, 1971.
- 8) 宇山昌延, 馬嶋昭生, 松井瑞夫, 他: フルオレスセインの副作用と安全性. *日眼会誌* 87: 300-305, 1983.
- 9) 葛西 款, 鈴木 均, 玉井 信, 他: 微弱励起光用眼底ビデオ録画装置. *日眼会誌* 94: 637-644, 1990.
- 10) 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.
- 11) 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* 91: 956-961,

1987.

12) 沓間昌子, 富田英行, 武藤 勉, 他: 微弱励起光による蛍光眼底ビデオ検査システムの開発における画像処理の有用性. 医用電子と生体工学 27: 219, 1989.

13) **Bill A**: A method for quantitative determination of the blood flow through the cat uvea. Arch Ophthalmol 67: 156-162, 1962.

14) **Ernest JT**: Optic disc blood flow. Trans Ophthalmol Soc UK 96: 348-351, 1967.

15) **Friedman E, Kopald HH, Smith TR**: Retinal and choroidal blood flow determined with krypton-85 anesthetized animals. Invest Ophthalmol 3: 539-547, 1964.

16) **Trokel S**: Quantitative studies of choroidal blood flow by reflective densitometry. Invest Ophthalmol 4: 1129-1140, 1965.

17) **Bill A**: Intraocular pressure and blood flow through the uvea. Arch Ophthalmol 67: 336-348, 1962.

18) **Schlegel WA, Lawrence C**: Doppler measurement of vortex vein blood flow in animals. Invest Ophthalmol 8: 201-205, 1969.

19) **Crane MG, Holloway JE, Sears C, et al**: The effect of recirculation on the shape of the arterial concentration curve after an instantaneous injection of indicator. Intern J Appl Rad Isot 7: 97-99, 1959.

20) **Gunnels JC, Gorten R**: Effect of varying indicator injection sites on values for cardiac output. J Appl Physiol 16: 261-264, 1961.

21) **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.

22) 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.

23) 香取 瞭, 白戸那男, 村井雅夫, 他: 指示薬希釈法における末梢注入部位の検討. 心臓 6: 998-1002, 1974.