

インドシアニングリーン蛍光眼底の色素出現速度による 視神経乳頭・脈絡膜循環の検討

—正常と眼圧上昇時—

北西久仁子¹⁾, 張野 正誉²⁾, 谷口いづみ²⁾, 岡本 紀夫²⁾, 小川 憲治²⁾

¹⁾ 泉大津市立病院眼科, ²⁾ 大阪大学医学部眼科学教室

要 約

インドシアニンググリーン赤外蛍光眼底造影とコンピュータ画像解析を用いて、健康成人の視神経乳頭および脈絡膜への色素出現速度の定量化を試みた。その結果、乳頭、脈絡膜の循環を個々に定量的に評価することには限界があったが、乳頭部と黄斑部の色素出現速度の比や数回の検査データの相対比較は可能と思われた。健康成人 12 例 (年齢 23~62 歳) の正常眼圧時の乳頭部 (D) と黄斑部 (M) の色素出現速度の比 (D/M) を 1 とし、吸引カップで 2 段階に眼圧上昇させた時の D/M を算出した。平均眼圧 26.8 mmHg 時の平均 D/M は 1.29, 平均眼圧 38.4 mmHg 時は 1.48 であり、ヒトにおいて眼

圧上昇時には乳頭の循環は脈絡膜よりも眼圧の影響を受けにくいことが示唆された。しかし乳頭において、眼圧 38.4 mmHg 時と正常眼圧時の色素出現速度の比は、正常眼圧時の眼灌流圧と有意に正の相関があり ($p < 0.05$)、眼灌流圧の低い症例は、血流の自動調節機能が機能していないことが疑われた。(日眼会誌 99: 336-341, 1995)

キーワード: インドシアニンググリーン蛍光眼底造影, コンピュータ画像解析, 色素出現速度, 視神経乳頭, 脈絡膜

Optic Disc and Choroidal circulation detected by Dye-filling Rate in Indocyanine Green Angiography

Kuniko Kitanishi¹⁾, Seiyo Harino²⁾, Izumi Taniguchi²⁾,
Norio Okamoto and Kenji Ogawa²⁾

¹⁾ Department of Ophthalmology, Izumiotsu City Hospital

²⁾ Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School

Abstract

Dye-filling rate of optic disc and choroid in normal human subjects was investigated using indocyanine green infra-red videoangiography and computerized image analysis. Only relative changes in the circulation of disc and choroid could be studied and the ratio (D/M) of dye-filling rate in normal subjects (age ranged 23-62) in disc (D) to choroid (M) was reliable. Intraocular pressure (IOP) was elevated to two levels with a pneumatic suction-cup. When D/M at normal IOP was 1, mean D/M was 1.29 when mean IOP was 26.8 mmHg, and 1.48 when mean IOP was 38.4 mmHg. The results suggest that IOP elevation produced less change in the disc

circulation than in the choroid. The ratio of dye-filling rate of the disc at 38.4 mmHg to normal IOP was significantly correlated ($p < 0.05$) with perfusion pressure at normal IOP, showing that the autoregulatory mechanisms in the disc blood flow may possibly reach the limit especially in subjects whose perfusion pressure is low. (J Jpn Ophthalmol Soc 99: 336-341, 1995)

Key words: Indocyanine green infra-red angiography, Computerized image analysis, Dye-filling rate, Optic disc, Choroid

別刷請求先: 595 大阪府泉大津市下条町 16-1 泉大津市立病院眼科 北西久仁子
(平成 6 年 8 月 15 日受付, 平成 6 年 10 月 20 日改訂受理)

Reprint requests to: Kuniko Kitanishi, M.D. Department of Ophthalmology, Izumiotsu City Hospital, 16-1 Gejyo-cho, Izumiotsu-shi, Osaka-fu 595, Japan

(Received August 15, 1994 and accepted in revised form October 20, 1994)

I 緒 言

インドシアニンググリーン (以下, ICG) は, 1973 年に Flower ら¹⁾により赤外蛍光眼底造影に用いられた。当時は眼底カメラが用いられたが²⁾³⁾, 1980 年代後半になって赤外光に対するフィルターの改良やビデオ・カメラが進歩した。そのため, 少量の ICG の静注で, 鮮明な画像をビデオに記録できるようになり, ICG ビデオ赤外蛍光眼底造影法 (以下, ICG 造影) が確立された⁴⁾⁵⁾。ICG 造影の特徴としては, 脈絡膜の造影に適し, ICG 色素がアルブミンと結合して大分子となるため, 血管からの色素漏出が少ない, 脈絡膜から乳頭へ浸潤することがない, ビデオに連続的に記録可能であることがあげられ, 眼底の循環を定量的に捕えるのに適している。これまでにも, ICG 造影を用いて眼循環の定量化が試みられたことがあるが, ビデオ記録を用いたのではなく, fundus reflectometer を用いたものであり, 眼球運動の影響を受けていると想像される⁶⁾⁷⁾。今回, 我々は ICG 造影とコンピューター画像解析を組み合わせる方法を用いた。この方法の利点は, 固視微動の影響を受けずに常に同じ部位を測定すること, 測定部位 (位置, 大きさ) を任意に選ぶこと, 解析を繰り返すことが可能なことである。逆に欠点は, 解析に時間がかかることである。今回はこの方法を用いて, 人の乳頭および脈絡膜の ICG 色素出現速度の半定量化を試みた。そして, 眼圧上昇時の色素出現速度の変化や眼灌流圧との関係について検討したので報告する。

II 実験方法

実験1：再現性の検討

対象は, 健常成人6名6眼 (男性3名, 女性3名, 年齢25~36歳)である。ヘルシンキ宣言に基づき, 実験の目的, 方法, 効果と危険性を被検者に十分に説明した上で, 同意を得てから実験を行った。各人に対し非有意眼をミドリンP[®]点眼により散瞳した後, できる限り同じ条件のもと, 10分間隔で二度 ICG 造影を施行した。方法は, 蒸留水3mlに溶解させた ICG 0.4 mg/kg を5mlの注射器に注入し, 被験者の肘静脈内に留置した翼状針(23G)から, 三方活栓を通して約2秒以内になるべく速く静注し, その後引き続いて, 直ちに生理食塩水2mlでライン内をフラッシュした。眼底カメラは赤外眼底カメラ (TRC-50 IA[®], Topcon) を使用し, 画角は35度, 観察光量は44 mWとした。これは光パワーメーター (TQ 8210[®], Advantest) を用いて実験前に測定した。励起波長システムに内蔵されたフィルターにより780~820 nmで, ICG が脈絡膜静脈に完全に充盈されるまでの画像をS-VHSビデオデッキ (SVO-260[®], Sony) に記録した。各 ICG 造影の前・中・後の血圧, 脈拍も測定した。

記録した画像は, 後日コンピューター画像解析により半定量化した。コンピューター画像解析の方法としては, まず ICG が眼底に出現した瞬間から, 視神経および黄斑部に完全に充盈されるまでの画像を, 記録したビデオテープから毎秒1画像ずつコンピューターに取り込んだ。その画像をコンピューター画像解析装置 (LA-555[®], PIAS) とパーソナルコンピューター (PC 9801 VM[®], NEC) を用いて, 測定領域の輝度をピクセルごとに256階調に定量化した。そして領域全体のピクセルの平均値を色素出現曲線に表し, 直線に近似される部分の起点と終点を用いて色素出現速度を傾きとし, 色素輝度変化量 (ΔI) ÷ 秒 (ΔT) を計算した。測定部位は, 視神経乳頭上のなるべく血管の存在しない場所の約1/4乳頭径と, 黄斑部約2乳頭径の2か所とした (図1)。

実験2：眼圧上昇の実験

対象は, 健常成人12名12眼 (男性7名, 女性5名, 年齢23~62歳)である。まず, 吸引前の正常眼圧を Goldmann (ゴールドマン) 眼圧計で測定後, ICG 造影を施行した。その後, 被験者の耳側結膜上に pressure cup system (Model 50[®], Alcon) の suction cup を装着し, 吸引圧100 mmHg をかけ眼圧を上昇させた。その状態を維持しながら, 眼圧以外はできる限り同じ条件のもとで ICG 造影を施行した。さらに, 吸引圧を200 mmHg にして ICG 造影を繰り返した。吸引と ICG 造影との間隔は2~3分であり, 自動調節能がすでに働いたと考えられる時期に行った⁸⁾。造影の間隔は10~15分とし, 吸引時の眼圧は Alcon Applanation Pneumatograph[®] を用いて測定した。各々の眼底血圧も同時に測定した。眼底血圧の測定方法は, 直像鏡で眼底を観察しながら吸引をかけ, 乳頭上で網膜動脈の拍動が停止してから再び拍動しはじめる吸引圧 (収縮期圧), および拍動が消失する吸

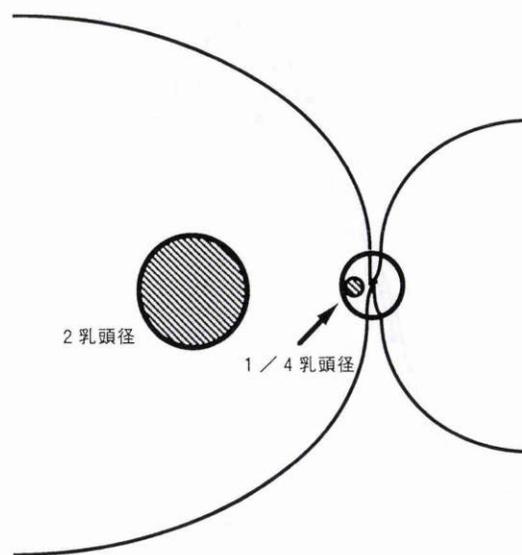


図1 乳頭部, 黄斑部における色素輝度の測定部位。
斜線: 測定部位

引圧(拡張期圧)を測定し、後にその吸引圧での眼圧を測定した。

III 結果

実験 1 :

健常成人 6 名のうち、二度の ICG 造影における乳頭部、黄斑部の色素出現曲線を示す(表 1)。同様の条件で施行したが、色素出現曲線上にばらつきがあった。二度の色素出現速度の差が小さかった例を図 2 に示し、差が大きかった例を図 3 に示した。図 2 の乳頭部の色素出現速度 ($\Delta I/\Delta T$) は、1 回目 9.7, 2 回目 10.3, また黄斑部は 1 回目 12.5, 2 回目 12.5 とほとんど差を認めなかったが、図 3 では乳頭部の色素出現速度は、1 回目 6.9, 2 回目 14.0, また黄斑部は 1 回目 9.8, 2 回目 17.3 と差を認めた。2 度の造影の前後の血圧と脈拍に変動は

表 1 健常成人 6 人のインドシアニングリーン色素出現速度 (上段: 1 回目 下段: 2 回目)

症例	乳頭部 (D)	黄斑部 (M)	D/M	2 回の比の変化 (%)
1	6.5	4.7	1.38	16.7
	13.5	8.4	1.61	
2	3.5	3.9	0.90	27.8
	11.3	9.8	1.15	
3	9.7	12.5	0.78	5.1
	10.3	12.5	0.82	
4	6.6	14.0	0.47	25.5
	7.3	12.4	0.59	
5	6.9	9.8	0.70	15.7
	14.0	17.3	0.81	
6	4.7	7.3	0.64	6.3
	2.4	4.0	0.60	

D/M: 色素出現速度の比 平均値±標準偏差 16±9.6

なかった。個々の症例において乳頭部 (D) の色素出現速度と黄斑部 (M) の色素出現速度の比 (D/M) をとると、その比の変化は $16 \pm 9.6\%$ (平均値±標準偏差) であった。

実験 2 :

健常成人 12 名の正常時, 吸引 100 mmHg 時, 吸引 200 mmHg 時の眼圧および眼灌流圧を表 2 に示す。眼圧はそれぞれ正常時で 15.1 ± 2.8 mmHg (平均値±標準偏差), 吸引 100 mmHg 時で 26.8 ± 2.9 mmHg, 吸引 200 mmHg 時で 38.4 ± 3.3 mmHg であった。眼灌流圧は(平均眼底血圧-眼圧), 平均眼底血圧は $[1/3$ (収縮期眼底血圧-拡張期眼底血圧)+拡張期眼底血圧]として算出した。1 例の色素出現曲線を図 4 に示す。12 例において 9 例は、その色素出現曲線にある一定の傾向を認めた。それは、乳頭部では正常眼圧時に比較し眼圧上昇時の色素出現速度は遅延しているが、吸引 100 mmHg と吸引 200 mmHg 時とでは色素出現速度の差は小さかった。一方、

表 2 実験 2 における各症例の眼圧および眼灌流圧

症例	正常時	吸引 100 mmHg 時	吸引 200 mmHg 時
1	12(30)	25(17)	35(7)
2	17(36)	31(22)	41(12)
3	14(34)	27(21)	38(10)
4	19(32)	26(25)	37(14)
5	16(38)	22(32)	35(19)
6	17(46)	31(32)	46(17)
7	15(26)	24(17)	37(4)
8	14(50)	25(39)	41(23)
9	9(46)	28(27)	40(15)
10	13(33)	25(21)	35(11)
11	18(29)	30(17)	40(7)
12	17(26)	28(15)	36(7)

括弧内は眼灌流圧 単位は mmHg

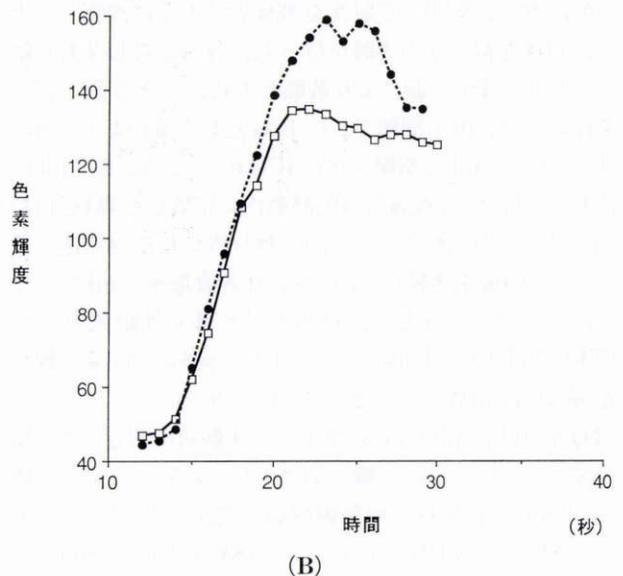
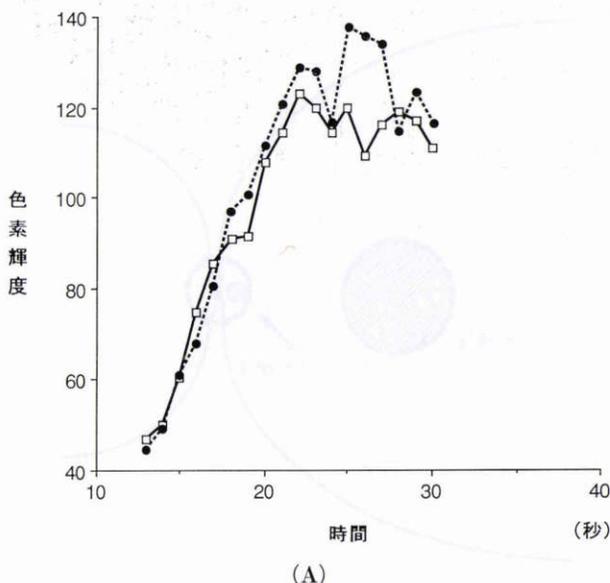


図 2 2 回のインドシアニンググリーン (以下, ICG) 造影で色素出現曲線に変化の小さい例。

乳頭部 (A) 白四角: 1 回目, 黒丸: 2 回目, 黄斑部 (B) 白四角: 1 回目, 黒丸: 2 回目

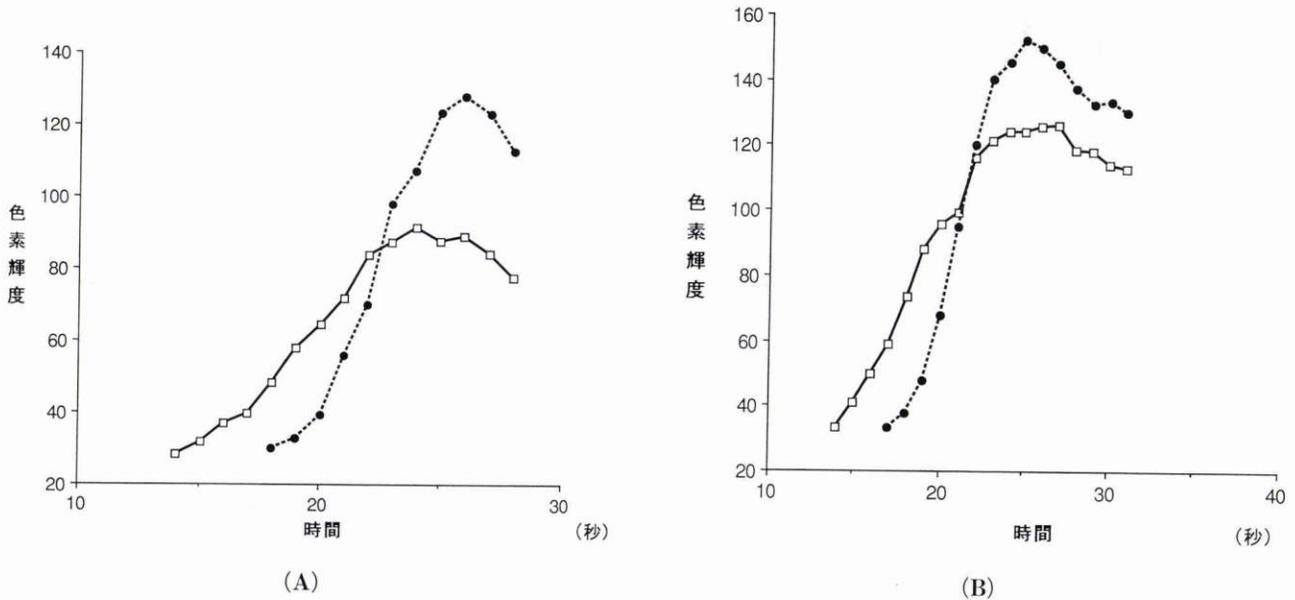


図3 2回のICG造影で色素出現曲線に変化の大きい例.

乳頭部 (A) 白四角：1回目, 黒丸：2回目, 黄斑部 (B) 白四角：1回目, 黒丸：2回目

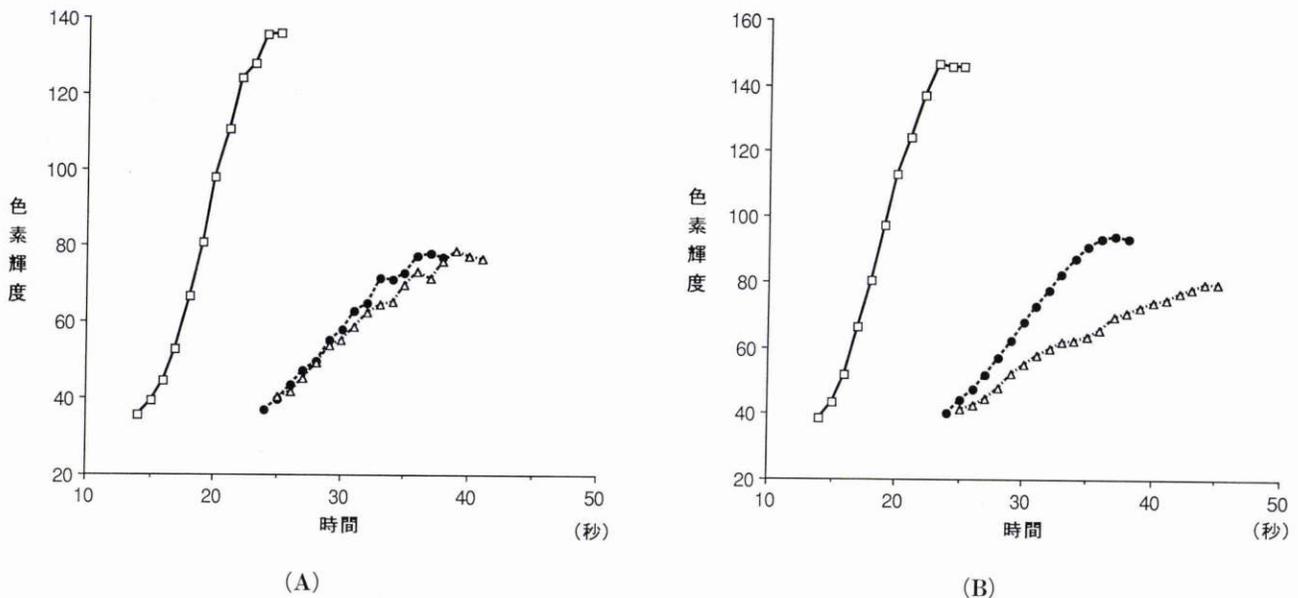


図4 眼圧上昇による色素出現曲線の変化.

乳頭部 (A) 白四角：正常眼圧, 黒丸：吸引100 mmHg, 白三角：吸引200 mmHg, 黄斑部 (B) 白四角：正常眼圧, 黒丸：吸引100 mmHg, 白三角：吸引200 mmHg

黄斑部では正常眼圧時, 吸引100 mmHg時, 吸引200 mmHg時と眼圧が上昇するにつれて色素出現速度は遅延した. しかし眼圧上昇時, 血管走行および色素の流入パターンに変化は認められなかった.

個々の症例について, 正常眼圧時における乳頭部 (D) と黄斑部 (M) の色素出現速度の比 D/M を基準とした時の, 吸引100 mmHg時および吸引200 mmHg時の色素出現速度の比を比較した (表3). すなわち吸引100 mg時は, D/M (吸引100 mmHg時) ÷ D/M (正常眼圧時) とした. その結果, 吸引100 mmHg時と吸引200 mmHg時では D/M は平均 1.29 ± 0.45 , 1.48 ± 0.56 と増加し,

黄斑部における色素出現速度の低下が乳頭部に比較して大きかった.

また, 乳頭部および黄斑部の正常眼圧時色素出現速度を1とした時の眼圧上昇時の色素出現速度を示す (表4). 表4における200 (D) と, 正常時の眼灌流圧との関係をみたところ, 統計学的に有意な ($p < 0.05$) 相関を認めた (図5). すなわち, この時の眼圧 (平均38.4 mmHg) では, 眼灌流圧が低いと乳頭部の色素出現速度が遅延していた. しかし, 脈絡膜の色素出現頻度の比については, 有意の相関を認めなかった.

表3 正常眼圧時を基準とした眼圧上昇時(吸引100 mmHg, 200 mmHg)における乳頭部(D)と黄斑部(M)の色素出現速度の比(D/M)

症例	吸引100 mmHg	吸引200 mmHg
1	0.79	1.11
2	1.12	1.66
3	1.30	1.45
4	1.24	1.13
5	0.98	0.88
6	1.69	2.67
7	1.81	2.25
8	1.52	1.45
9	0.58	0.88
10	0.89	1.18
11	1.50	1.12
12	2.08	1.97

平均値±標準偏差 1.29±0.45 1.48±0.56

表4 正常眼圧時の視神経乳頭(D)および黄斑(M)の色素出現速度を1とした時の眼圧上昇時の色素出現速度

症例	100 (D)	200 (D)	100 (M)	200 (M)
1	0.28	0.25	0.36	0.22
2	1.03	1.0	0.92	0.60
3	0.65	0.48	0.50	0.33
4	1.09	0.76	0.88	0.68
5	1.16	0.89	1.18	1.01
6	0.94	0.87	0.56	0.33
7	0.68	0.38	0.38	0.17
8	1.14	0.69	0.75	0.48
9	0.82	1.28	1.42	1.45
10	1.38	0.74	1.57	0.68
11	0.75	0.19	0.50	0.17
12	0.28	0.48	0.13	0.22

100:吸引100 mmHg 200:吸引200 mmHg

IV 考 按

今回用いた方法は、ビデオに記録した画像を、コンピュータによる画像解析によって色素輝度を256階調に定量化するもので、乳頭部および黄斑部における造影開始時のICG色素輝度を測定し、循環量の定量化を試みた。これまでフルオレセイン蛍光眼底造影を用いて定量化された報告⁹⁾はあるが、今回は前述の理由によりICG造影を用いた。ICGの色素輝度は血管内の色素量と対応があり⁷⁾、サル眼において実験的にも証明されている¹⁰⁾。ICG造影と画像解析を用いて眼底の循環を検討する方法として、Flowerら¹¹⁾¹²⁾は1990年に脈絡膜循環の部位による流入パターンを画像化して検討している。また、Prunteら¹³⁾も同様にビデオ・カメラと画像解析システムを併用して画像を定量化し、ある眼底の一点の輝度の変動係数を求めている。そして、加齢性黄斑変性では、正常者に比べて輝度の変動係数が高く、正常者の方が毛細

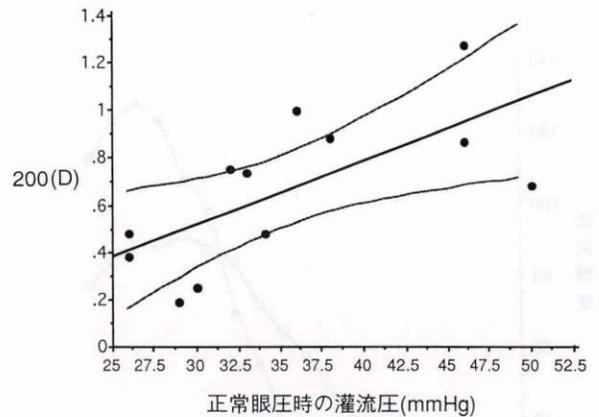


図5 眼圧上昇時(吸引200 mmHg)と正常眼圧時における乳頭部の色素出現速度の比200(D)と眼灌注圧との関係。上下曲線は回帰直線の95%信頼区間。
y=0.27x-0.296, r=0.676

血管流は速いと考えている。しかし、視神経では検討されていない。

これまで、眼圧上昇にはフルオレセイン蛍光眼底造影で網膜および脈絡膜の循環時間が延長し、乳頭周辺の脈絡膜は眼圧上昇の影響を受けやすいことがいわれている¹⁴⁾。また、眼圧上昇時のICG造影では、Flower¹⁵⁾がICG infrared absorption angiographyを用いて、眼圧を網膜中心動脈の拡張期圧まで上昇させると、脈絡膜血管の大きさが小さくなることを報告した。さらに、Piccolinoら¹⁶⁾は後毛様体動脈の流入が良く観察されることを述べている。今回の検討において、血管の形態や流入のパターンには、用いた眼圧のレベルで変化がなかったため、循環量のみ注目して検討した。また、測定部位は組織血流量の把握が非常に意義をもつ黄斑部と乳頭部を検討した。この部位では脈絡膜の太い血管が比較的少ないので、脈絡膜中小動・静脈内のICG量を主にみたことになる。

今回の方法では、脈絡膜、乳頭の循環を個々に評価することは、色素輝度曲線の傾きの変動が大きく困難であった。この理由としては眼循環以外の影響、例えば色素の注入法や注入時間¹⁷⁾と心臓の拍出時期の関係に加えて、励起光の入射角度、角膜の状態などが考えられた。しかし、乳頭と黄斑部の色素出現速度の比の変動は小さかったことから、その比を検討することは可能で意義があると思われた。このことは同条件のもと、上記に示した眼循環以外の影響も同じように影響を受け、打ち消し合ったといえる。

ICG色素は、血中でその98%は血漿アルブミンと結合することが知られている。米谷ら¹⁸⁾は、遊離ICGがアルブミンと結合するのに分単位の時間を要することを述べている。このことは、ICG造影の初期像を解析する上で考慮する必要があるが、今回は可能な限り同じ条件で、しかも10分という短い間隔で色素の注入を繰り返した

ので、色素輝度曲線は結合速度の影響よりも循環量の変動を表していると考えている。ただし、ICGと蛋白との結合は、繰り返しによっても同様の速度で生じると仮定している。

個々の症例において、眼圧上昇時においても色素出現速度が正常眼圧時に比較して変化の少ない例も存在した。このことから、眼圧に対する抵抗性は個々によってかなりの違いがあることが疑われた。その一つの要因として個々の眼灌流圧の影響が考えられ、今回の結果から吸引200 mmHgをかけて眼圧を38.4 mmHgに上昇させた場合、乳頭部での色素出現速度は、眼灌流圧と有意の正の相関があった。すなわち、眼灌流圧が高いほど、正常時に比べた眼圧上昇時の色素出現速度の低下が少なく、血流調節が良いことを示している。吸引100 mmHg時で有意の関係がなかったが、この眼圧38.4 mmHgにおいて眼灌流圧に循環が影響されたことから、自動調節の限界に近づいていると考えられた。ヒトでは乳頭部血流の測定が極めて困難であるので、これまであまり検討されていないが、Rivaら⁸⁾は1982年にレーザードップラー法を用いて乳頭部の毛細血管の血流速度を測定した。その結果、眼圧を段階的に上げていくと、眼圧上昇後いったん低下した血流速度は上昇し、2～3分後には一定の血流速度になる。この変化は血流を保とうとする自動調節能が働いていると解釈されている。しかし、眼圧35～38 mmHgに増加すると、眼圧上昇前の値に戻らなかった。このことは、この眼圧で自動調節能が弱くなっていることを示唆し、今回の結果と共通するところである。

これまで動物実験の結果から、視神経乳頭では眼圧40～50 mmHg以下の範囲で血流の自動調節能が存在するが、脈絡膜には存在しないか、もしくは存在しても弱いと考えられている¹⁹⁾。今回のICG造影とコンピュータ画像解析を用いた検討で、ヒトでも、眼圧上昇時には乳頭の色素出現速度の低下は脈絡膜のそれよりも少なく、乳頭は脈絡膜よりも眼圧の影響を受けにくいことが示唆された。しかし、自動調節能のある乳頭部においてさえも、眼圧約38 mmHgでは、眼灌流圧の低い症例で血流の自動調節能が限界に達している可能性が考えられた。

統計解析に御協力頂きました近畿大学農学部教授米虫節夫先生に深謝申し上げます。

本稿の要旨は、第10回微小循環研究会(平成5年7月1日福島)で報告した。

文 献

- 1) 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.
- 2) Craandijk A, Van Beek CA: Indocyanine green fluorescence angiography of the choroid. *Br J Ophthalmol* 60: 377-385, 1976.
- 3) Chopdar A, Turk AM, Hill DW: Fluorescent infra-red angiography of the fundus oculi using indocyanine green dye. *Trans Ophthalmol Soc UK* 98: 142-146, 1978.
- 4) 林 一彦: 赤外線を利用した機器の進歩. 赤外眼底撮影法. *眼科* 27: 1541-1550, 1985.
- 5) Hayashi K, Hasegawa Y, Tokoro T: Indocyanine green angiography of central serous chorioretinopathy. *Int Ophthalmol* 9: 37-42, 1986.
- 6) Ben-Sira I, Riva CE: Fluorescein diffusion in the human optic disc. *Invest Ophthalmol* 14: 205-211, 1975.
- 7) Riva CE, Ben-Sira I, Feke GT: Flow and diffusion of indocyanine green and fluorescein dyes in the fovea centralis. *Exp Eye Res* 24: 15-23, 1977.
- 8) Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH: Laser Doppler measurement of relative blood velocity in the human optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 241-248, 1982.
- 9) Tuulonen A, Nagin P, Schwartz B, Wu D: Increase of pallor and fluorescein-filling defects of the optic disc in the follow-up of ocular hypertensives measured by computerized image analysis. *Ophthalmology* 94: 558-563, 1987.
- 10) Flower RW, Hochheimer BF: Quantification of indicator dye concentration in ocular blood vessels. *Exp Eye Res* 25: 103-111, 1977.
- 11) Flower RW, Klein GJ: Pulsatile flow in the choroidal circulation: A preliminary investigation. *Eye* 4: 310-318, 1990.
- 12) Klein GJ, Baumgartner RH, Flower RW: An image processing approach to characterizing choroidal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31: 629-637, 1990.
- 13) Prunte C, Niesel P: Quantification of choroidal blood-flow parameters using indocyanine green video-fluorescence angiography and statistical picture analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 226: 55-58, 1988.
- 14) Swietliczko I, David NJ: Fluorescein angiography in experimental ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 70: 351-363, 1970.
- 15) 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.
- 16) Piccolino FC, Borgia L, Zingirian M: Indocyanine green choroidal videoangiography during induced intraocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 115: 817-818, 1993.
- 17) Riva CE, Ben-Sira I: Injection method for ocular hemodynamic studies in man. *Invest Ophthalmol* 13: 77-79, 1974.
- 18) 米谷 新, 野寄喜美春, 清水弘一: 赤外蛍光眼底造影法の問題点とその対策. *臨眼* 47: 549-552, 1993.
- 19) Alm A: Ocular circulation. In: Hart WM Jr (Ed): *Adler's Physiology of the Eye*. 9th ed, Mosby-Year Book, St Louis, 198-227, 1992.