

〔原著〕

高解像度 Optical Coherence Tomography Angiography による脈絡膜毛細血管板の加齢変化の検討

今泉 公宏, 石龍 鉄樹, 菅野 幸紀, 加藤 寛, 田中啓一郎
則川 晃希, 本庄純一郎

福島県立医科大学大学院医学研究科眼機能再建学
(受付 2023 年 7 月 6 日 受理 2024 年 10 月 24 日)

Age-dependent changes in the macular choriocapillaris imaged with high-resolution optical coherence tomography angiography.

Kimihiko Imaizumi, Tetsuju Sekiryu, Yukinori Sugano, Yutaka Kato, Keiichiro Tanaka, Koki Norikawa and Junichiro Honjo

Department of Ophthalmology, Fukushima Medical University School of Medicine.

要約：【目的】 脈絡膜毛細血管板（CC）の異常は加齢黄斑変性などの疾患を引き起こす可能性が指摘されている。近年、optical coherence tomography angiography（OCTA）の登場により、CC を定量的に計測することが可能となってきたが、CC の血管径は数 μm と微細で、加齢変化を正確に評価した報告は少ない。今回、市販機では最も解像度が高い SPECTRALIS® OCT Angiography Module（Heidelberg 社）を用いて CC 血管密度を計測し、画像処理法による差を検討するとともに、年齢および眼軸長との関係を検討した。

【方法】 健常人 91 例（男性 60 眼、女性 31 眼、平均 49.0 歳、眼軸長平均 24.4 mm）の正常眼を対象とした。SPECTRALIS® OCTA を用いて、黄斑部を中心に約 $3 \times 3 \text{ mm}$ の範囲を撮影した。網膜色素上皮から 20–49 μm の画像を用い、Otsu 法、Phansalkar 法、Multiscale Hessian enhancement（MHE）-Otsu 法の 3 つの画像処理法で CC 血管密度を算出した。3 つの画像処理法の計測結果から年齢、眼軸長との関係を検討した。

【結果】 全 91 眼の CC 血管密度平均値は Otsu 法 $39.45 \pm 3.33\%$ 、Phansalkar 法 $43.89 \pm 7.29\%$ 、MHE-Otsu 法 $54.34 \pm 2.01\%$ だった。各画像処理法の CC 血管密度平均値における一元配置分散分析を行った結果、それぞれの画像処理法の CC 血管密度平均値に独立して有意な差があった（ $F(2, 270) = 211.5, p < 0.001$ ）。加えて、Tukey-Kramer test を用いた多重比較で各画像処理法の CC 血管密度平均値の全ての組み合わせで $p < 0.001$ と統計的に有意な差が認められた。CC 血管密度と年齢の相関は Otsu 法 $r = -0.66, p < 0.001$ 、Phansalkar 法 $r = -0.66, p < 0.001$ 、MHE-Otsu 法 $r = -0.64, p < 0.001$ でいずれの計測法でも有意な負の相関を示した。CC 血管密度と眼軸長の相関は Otsu 法では $r = 0.22, p = 0.043$ と弱い正の相関があったが、Phansalkar 法では $r = 0.18, p = 0.091$ 、MHE-Otsu 法では $r = 0.19, p = 0.068$ で、いずれも有意な相関を認めなかった。

【結論】 正常眼において CC 血管密度は年齢とともに減少するが、眼軸長変化による CC 血管密度変化は少ないと考えられた。3 つの画像処理法の中で MHE-Otsu 法が最も組織学的な CC 血管密度を測定していると考えられた。CC 血管密度の測定は脈絡膜の加齢性変化を推定する指標となりうる考えられた。

索引用語： 脈絡膜毛細血管板，網膜色素上皮，光干渉断層撮影，光干渉断層血管撮影，2 階調化

Abstract： Purpose：To assess the correlation the choriocapillaris（CC）vascular density in the macula between age and axial length using the SPECTRALIS® OCT Angiography Module（Heidelberg）.

Methods : This study included 91 normal eyes of 91 healthy individuals between the ages of 24 and 79 years old. We imaged an area of 3×3 mm centered on the macula using the SPECTRALIS® OCT Angiography Module. The CC vascular density was calculated using three image processing methods : Otsu method, Phansalkar method, and Multiscale Hessian enhancement (MHE)-Otsu method, using images 20–49 μm from the subretinal pigment epithelium. Continuous variables were compared using one-way analysis of variance (ANOVA). Associations of CC vascular density and axial length were analyzed by Pearson correlation.

Results : The mean CC vascular density of 91 eyes was $39.45 \pm 3.33\%$ for the Otsu method, $43.89 \pm 7.29\%$ for the Phansalkar method, and $54.34 \pm 2.01\%$ for the MHE-Otsu method. A one-way ANOVA in the mean CC vascular density for each imaging method showed a significant differences ($F(2, 270) = 211.5, p < 0.001$). The correlation between CC vascular density and age was statistically significant differences (all $p < 0.001$) as follows : Otsu method $r = -0.66$; Phansalkar method $r = -0.66$; MHE-Otsu method $r = -0.64$. The correlation between CC vascular density and axial length was significantly differences for the Otsu method, $r = 0.22, p = 0.043$, but not for the Phansalkar method, $r = 0.18, p = 0.091$, and for the MHE-Otsu method, $r = 0.19, p = 0.068$. There was no significant correlation between age and axial length ($r = 0.098, p > 0.35$).

Conclusions : CC vascular density in normal eyes decreased with age. CC vascular density in normal axial eyes was considered to be less affected by axial length.

Key words : choriocapillaris, retinal pigment epithelium, optical coherence tomography, optical coherence tomography angiography, binarization

I. 緒 言

脈絡膜は、網膜外層、視細胞を栄養する血管に富む組織で、視機能の形成、維持に大きな役割を果たしている。脈絡膜血管は毛様動脈由来で、その血流は眼内血流の90%以上を占め、組織血流量はおよそ500–2,000 ml/min/100 gといわれている¹⁾。脈絡膜は、網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium ; RPE) から Bruch 膜、脈絡膜毛細血管板 (choriocapillaris ; CC)、脈絡膜中大血管 (Sattler 層と Haller 層)、脈絡膜上層で構成される²⁾。CC は組織学的に RPE の強膜側約 5 μm の位置にあり、約 6.9 μm の厚みを持つ板状小葉構造を持つ密な毛細血管網となっており、視細胞に酸素と栄養分を供給している。脈絡膜循環は加齢とともに減少するといわれている^{3–5)}。Ramrattan らは組織学的検討から CC 血管密度は約 70% で、年齢とともに減少し 100 歳では血管密度はおよそ 40% になると報告した⁶⁾。臨床的にこのような CC の減少は、疾患の発症につながる可能性があり、加齢黄斑変性、糖尿病網膜症で CC の毛細血管密度が減少することが報告されている^{7,8)}。生体眼で CC の加齢性変化を計測することは疾患発症の予測や病態解明につながると考えられる。

臨床における脈絡膜観察は、これまでは主にインドシアニングリーン赤外蛍光眼底造影検査 (indocy-

anine green angiography ; IA) を用いて行われてきた。しかし、IA では約 0.2 秒前後で CC の充盈が完了するため、実験的な観察は可能であるが、臨床での評価は困難であった⁹⁾。近年、開発された光干渉断層血管撮影 (optical coherence tomography angiography ; OCTA) は、光干渉断層計 (optical coherence tomography ; OCT) を発展させた機器で、脈絡膜血管を非侵襲的に描出することを可能にした^{10–12)}。OCTA は OCT で眼底を高速スキャン (80,000 ~ 100,000 scan/sec) し、同一部位の画像差分を解析し、変化した部分すなわち血流を描出することにより血管像を構築する。

組織学的検討では CC 血管径は 10 ~ 20 μm と報告されている^{6,13)}。OCTA による観察では、RPE により走査光が減衰、散乱するため CC の鮮明な画像を得ることは難しい。OCTA の機種には約 1,000 nm 前後の波長を使用する swept source OCTA (SS-OCTA) と 800 nm 前後の波長を使用する spectral domain OCTA (SD-OCTA) の2種類がある。SS-OCTA は、高速で深達性が高く RPE 下の CC の描出に有利であるが、約 1,000 nm の長波長を使用するため、側方解像度は 20 μm 程度にとどまる。一方、SD-OCTA はより解像度を高くすることが可能であるが、RPE により減衰するため CC の描出は困難である。また、スキャン速度に限界があり、眼球運動によるアーチファクトの影響を受けやすい。近年市

販された SPECTRALIS® OCTA Module (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) (SP-OCTA) は、リファレンススキャンと OCT スキャンの 2 つのスキャンによる独自のアイトラッキングシステム (TruTrack TM) が備わっており、たえず動いている目に対しても眼底の位置を正確に認識し、全く同じ位置での OCT 撮影が可能となった。それにより、高解像度 (側方解像度 $5.7\mu\text{m}$) の画像が得られ、理論的には SP-OCTA で CC の描出と評価が可能である。

従来の OCTA では CC 形態を直接計測することは困難であったため、CC の flow-void (血流の無信号領域) を測定し CC 形態を評価していた¹⁴⁾。CC の flow-void の測定には自動局所閾値化による Otsu 法¹⁵⁾、Phansalkar 法¹⁶⁾ による 2 階調化と、これに Multiscale Hessian Hesse 行列による血管強調法 (Multiscale Hessian enhancement: MHE)^{17,18)} による強調処理を加えた 3 つの画像処理法が行われていた。SS-OCTA で計測した Al-sheikh らは Otsu 法を使用し、健常眼の CC 血管密度は約 44.4% と報告している¹⁹⁾。また、SD-OCTA で計測した Uji らは MHE 法を使用し、健常眼の CC 血管密度は約 61.9% と報告している²⁰⁾。両者の CC 血管密度の差は OCTA の機器の違い、画像処理法の違い、CC の描出が不正確であった可能性などが考えられる。今まで SP-OCTA を使用した CC 形態の評価の報告はなく、SP-OCTA により CC を高解像度で描出できる可能性が期待できる。

今回、市販機では最も解像度が高い SP-OCTA を用いて CC 血管密度を計測し、画像処理法による差を検討するとともに、CC 血管密度と年齢および眼軸長との関係を検討した。

II. 方 法

本研究は福島県立医科大学倫理委員会の承認を得て行った (倫理委員会承認受付番号 2700)。本研

究の対象は、2018 年 5 月 22 日から 2018 年 9 月 7 日までに福島県立医科大学にて OCTA 撮影を行った健常人 91 例 (男性 60 例, 女性 31 例, 24 歳~79 歳, 平均 49.0 歳) を対象とした (表 1)。各年齢層の症例数は 20-39 歳が 28 例, 40-59 歳が 37 例, 60 歳-79 歳が 26 例だった。除外項目は以下のとおりである。① 眼軸長が 22 mm 未満, 27 mm 以上, ② 角膜疾患の既往, ③ 黄斑疾患, 眼内疾患の既往, ④ 糖尿病など微小血管循環に影響を与える全身疾患の既往, ⑤ OCTA の信号強度が 6/10 未満, ⑥ 本研究に同意しない者を除外した。

対象者全員に眼科的検査 (他覚的屈折検査, 角膜形状解析, 光学式眼軸長測定, OCT と OCTA による黄斑部撮影) を実施した。他覚的屈折検査はオートレフラクトメーター TONOREF® III (Nidek, Gamagori, Japan) を, 眼軸長測定は IOL Master® 700 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) を, OCT は SPECTRALIS® (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) を使用した。全データは前向きに集められ, データ収集, 対象者名を匿名化した後, データ解析を行った。

OCTA による画像の取得

自然瞳孔下に SP-OCTA で約 $3\times 3\text{ mm}$ ($798\times 798\text{ pixel}$) の画像を撮影した。SP-OCTA では内蔵ソフトウェアにより RPE を基準に平坦化した画像が自動的に作成され, 任意の厚さの血管画像を平坦化した正面視画像として表示される (図 1A)。その際, 画像化する厚さと範囲も自由に選択することができる。本研究では, RPE 下縁から $20\text{--}49\mu\text{m}$ の範囲を選択した (図 1B)。

画像解析

画像の処理には ImageJ version 1.51a (National Institutes of Health)²¹⁾ と MATLAB (Mathworks, Natick, MA, USA) を用いた。最初に ImageJ に網膜全層の OCTA 画像 (図 1C) と, 図 1B で選択した範囲の OCTA 画像 (図 1D) を取り込み, 網膜全層

表 1. 対象

症例 (N=91)	
年齢 (mean \pm SD) (範囲)	49.0 \pm 15.6 歳 (24-76)
性別 (男/女)	男性 60 眼/女性 31 眼
眼軸長 (mean \pm SD) (範囲)	24.36 \pm 0.8 mm (22.29-26.16)
等価球面屈折値 (mean \pm SD) (範囲)	-1.24 \pm 2.08D (-6.75+3.75)

本研究対象者

年齢, 性別, 眼軸長, 等価球面屈折値の平均, 標準偏差 (SD), 範囲

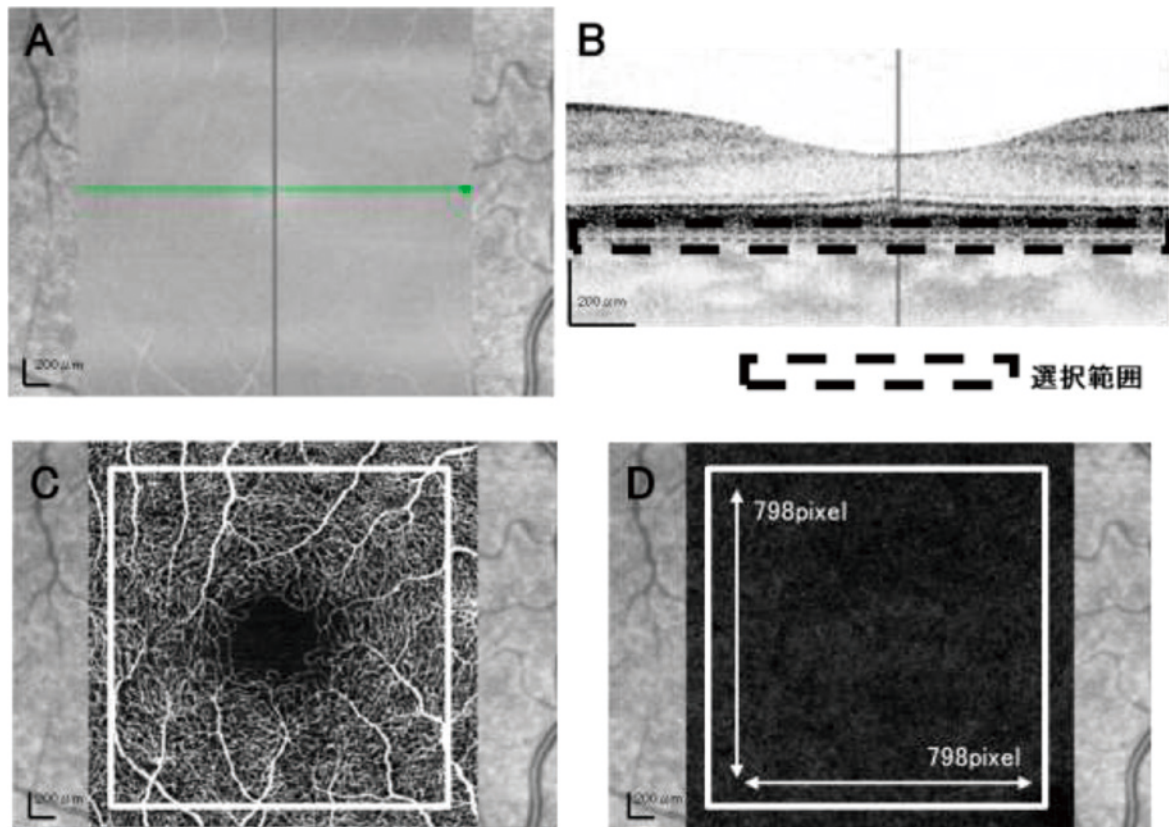


図 1. 測定範囲の決定

A) 網膜中心窩の正面視画像。B) 網膜中心窩の OCT 断層像：網膜色素上皮下縁から 20-49 μm の点線の範囲を選択した。C) 網膜全層の OCTA 画像：網膜全層の OCTA 画像をもとに目視で中心窩の中央を決定。決定した位置を中心に 798×798 pixel の正方形を作図した。D) 図 B の点線の範囲の OCTA 画像：図 C の正方形を図 D に投射，同部位を切り出して画像処理に使用した。

の OCTA 画像（図 1C）の中心窩中央を目視で指定し 798×798 pixel の正方形画像に位置合わせを行った。この正方形画像を選択した範囲の OCTA 画像（図 1D）にオーバーレイし，798×798 pixel の正方形画像を切り出した。

OCTA を含め眼底画像は被検者の眼軸長により倍率が変わるため既報に基づき画像の倍率補正を行った²²⁾。網膜上の物体の実際の大きさを t ，OCT の測定値を s ，OCT のカメラに関する倍率を p ，眼軸長に関する倍率を q [$q=0.01306 \times (\text{眼軸長}-1.82)$] とすると次の式が成り立つ。

$$t=p \times q \times s$$

切り出した図 1D の OCTA 画像を上記の式で倍率補正を行い，ImageJ で 8 ビットグレースケール画像に変換した（図 2A）。Otsu 法，Phansalkar 法の 2 階調化の設定は，既報と同様に 2 階調化の領域を半径 15 pixel，閾値レベルを算出する parameter を 0 に設定し¹⁰⁾，血管領域を白色として 2 階調化を行った（図 2B, C）。MHE-Otsu 法では切り出した画像

を MATLAB の Hessian based Frangi Vesselness filter を用いて血管強調画像を作成し，前出の Otsu 法と同様に 2 階調化を行った（図 2D）。3 つの画像処理法で 2 階調化した画像を ImageJ で血管に相当する白色部分の pixel 数を計測した。画像全体に占める血管面積を CC 血管密度とした。

I. CC 血管密度と年齢，眼軸長との相関性を検討

全 91 眼を対象に 3 つの画像処理法を用いて CC 血管密度を計測し，年齢，眼軸長との関連を検討した。

II. 各画像処理法における再現性の検討

同一検者により，各年代から 4-5 人ずつ選び 25 眼の各画像処理法における再現性を検討した。同一の OCTA 画像を画像解析と同様の方法で，ImageJ を用いて網膜血管像の中心窩中央を目視で位置合わせした後，再度 3 つの画像処理法で 2 階調化し CC 血管密度を求めた。1 回目と 2 回目の計測結果から各画像処理法における再現性の検討を行った。

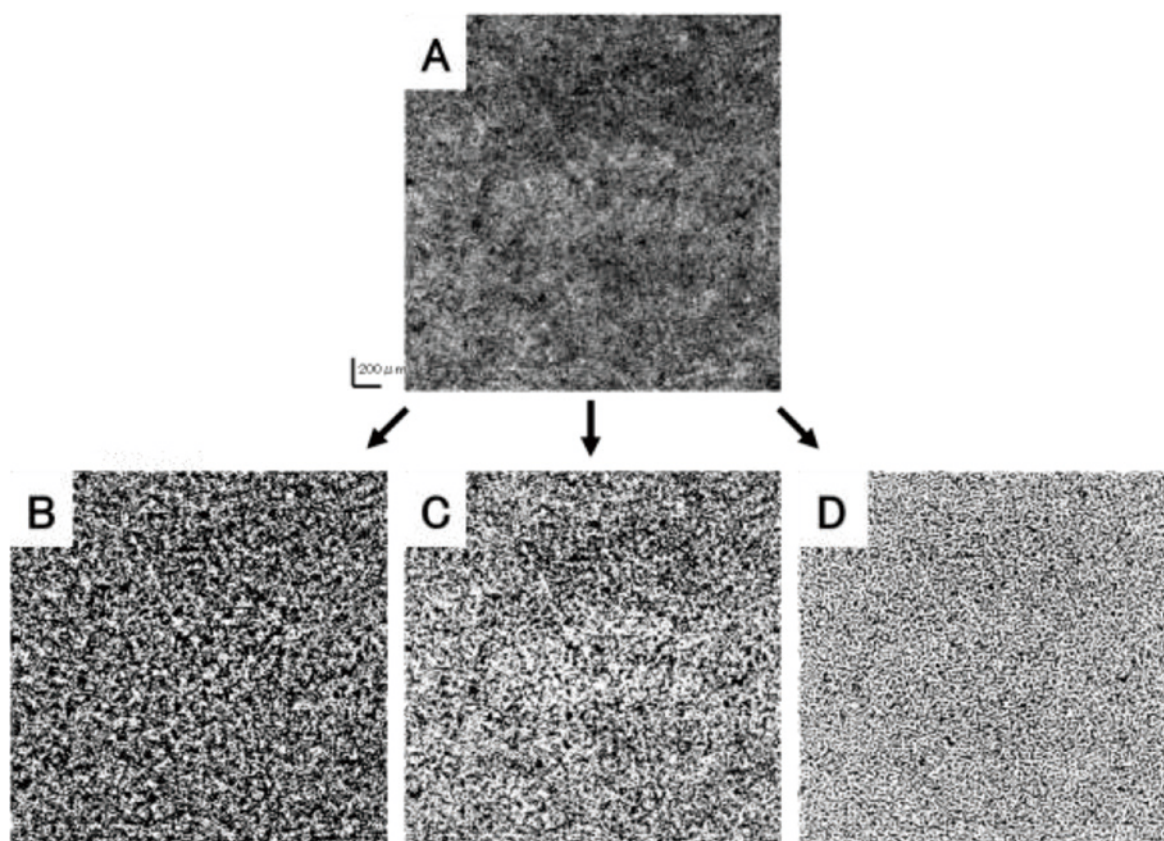


図 2. 脈絡膜毛細血管板画像の 2 階調化
A) 図 1 で切り出した画像を 8 bit grayscale に変換した画像。B) Otsu 法, C) Phansalkar 法, D) Multiscale Hessian enhancement-Otsu 法による 2 階調化画像。

統計分析

統計分析は統計ソフトウェア JMP (SAS Institute, Cary, NC) を使用した。年齢, 眼軸長, CC 血管密度について平均, 標準偏差 (standard deviation; SD) を求め, 各画像処理法と年齢, 眼軸長の相関係数 r , r の有意水準 p 値を求めた。各画像処理法の CC 血管密度平均値における一元配置分散分析を行い, 加えて Tukey-Kramer test を使用し多重比較を行った。CC 血管密度のばらつき, 再現性については変動係数 (coefficient of variation; CV), 級内相関係数 (intraclass correlation coefficients; ICC) を算出し, 系統誤差を検出する目的に Brand-Altman 分析を行った。0.05 未満の有意水準 p 値を統計的に有意とした。

III. 結 果

各画像処理法の画像を拡大すると, Otsu 法では他の画像処理法と比べ白色の血管面積が少なく描出されていた。Phansalkar 法では Otsu 法より白色の血管面積は多かったが, 他の画像処理法に比べ血管の管腔構造が不明瞭だった。MHE-Otsu 法では他の

画像処理法に比べ血管面積が多く, 管腔構造が保たれていた (図 3)。

I. 各画像処理法における再現性の検討

再現性の検討結果を表 2 に示す。25 眼の 2 回の計測値を平均した CC 血管密度平均値は Otsu 法 $40.20 \pm 3.08\%$, Phansalkar 法 $45.31 \pm 7.01\%$, MHE-Otsu 法 $54.72 \pm 1.82\%$ だった。各画像処理法の CC 血管密度平均値における一元配置分散分析を行った結果, 画像処理法の有意な効果があった ($F(2, 147) = 165.2, p < 0.001$)。加えて, Tukey-Kramer test を用いた多重比較では, 各画像処理法の全ての組み合わせで $p < 0.001$ と統計的に有意な差が認められた。

各画像処理法の CV は Otsu 法が 0.077, Phansalkar 法が 0.15, MHE-Otsu 法が 0.033 で, CV は MHE-Otsu 法で最小, Phansalkar 法で最大であった。ICC は Otsu 法で 0.99, Phansalkar 法で 0.99, MHE-Otsu 法で 0.98 となり, 全ての測定法で高値であった (表 2)。

Bland-Altman 分析では Otsu 法の 2 回計測値のばらつきが最も小さい結果だった。Brand-Altman 分

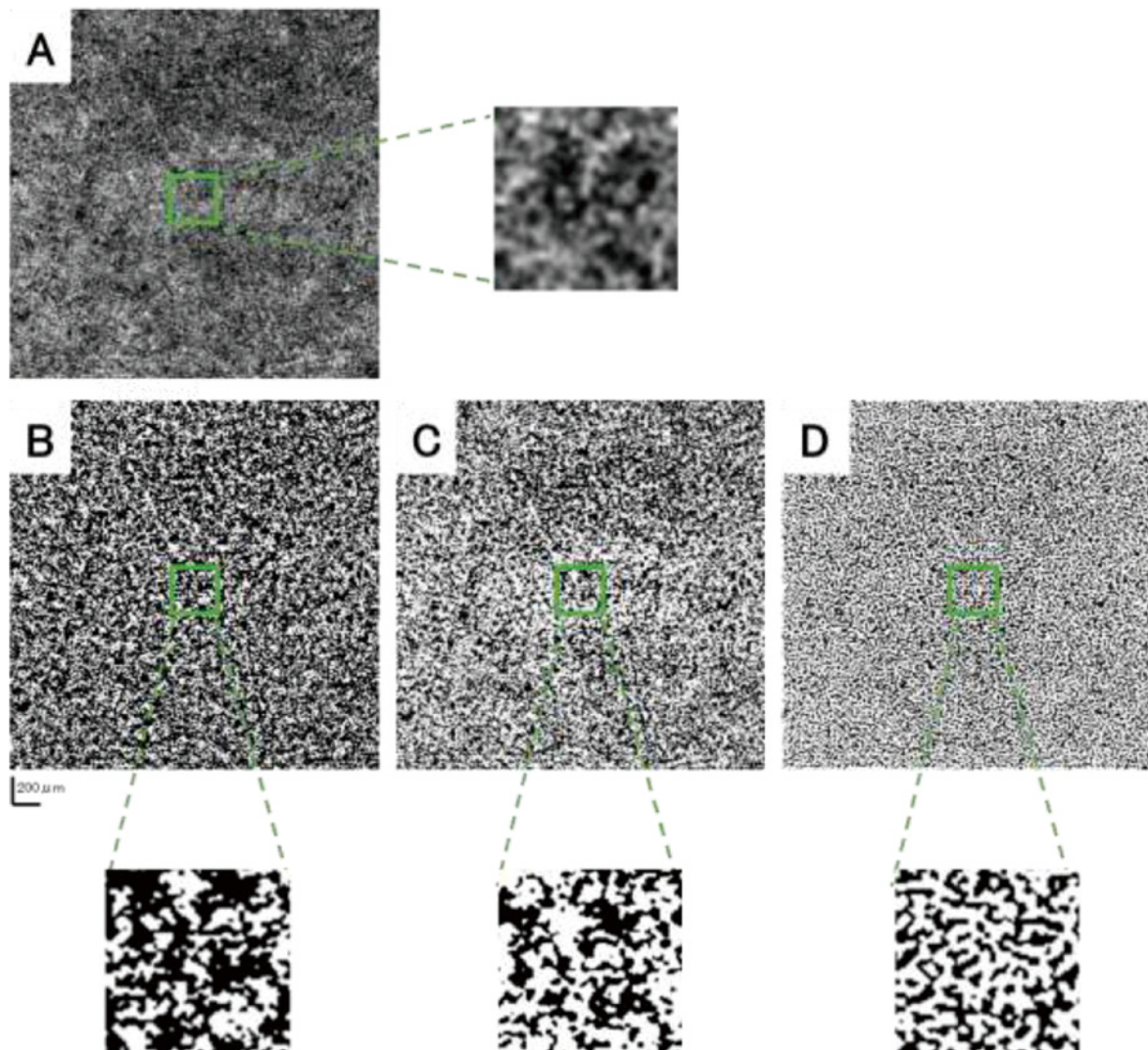


図3. 2階調化画像の拡大図

図2の画像の中心約100×100 pixelを拡大。B), C), D)の白色部分を血管として血管密度を測定。A) 図1で切り出した画像を8 bit grayscaleに変換した画像。B) Otsu法, C) Phansalkar法, D) Multiscale Hessian enhancement-Otsu法による2階調化画像。

表2. 各計測法における再現性の検討

		CC 血管密度 (%) (mean±SD)	CV	ICC
Otsu 法	1 回目	40.23±3.09	0.077	0.99
	2 回目	40.18±3.07	0.076	
Phansalkar 法	1 回目	45.29±6.71	0.15	0.99
	2 回目	45.35±7.29	0.16	
MHE-Otsu 法	1 回目	54.70±1.84	0.034	0.98
	2 回目	54.75±1.79	0.033	

任意に選択した対象25眼を目視による中心の決定を2度行い1回目と2回目の計測値を比較

Otsu法, Phansalkar法, MHE (Multiscale Hessian enhancement)-Otsu法の2回計測時の脈絡膜毛細血管板(CC), 変動係数(CV), 級内相関係数(ICC), SD; standard deviation

析の結果を求めると Otsu 法 $r=0.0002$, $p=0.90$, Phansalkar 法 $r=0.52$, $p=0.0075$, MHE-Otsu 法 $r=0.23$, $p=0.2687$ であった。Phansalkar 法では CC 血管密度が高くなると誤差が大きくなる比例誤差を認めた。いずれの計測法でも 2 回目と 1 回目の差の平均値の $\pm 1.96SD$ が 0 を含んでおり、加算誤差は認

めなかった (図 4)。

II. CC 血管密度と年齢、眼軸長の相関性を検討
対象 91 眼全例における年齢の平均値は 49.0 ± 15.6 歳、眼軸長は 24.36 ± 0.8 mm であった (表 1)。

CC 血管密度平均値は Otsu 法 $39.45 \pm 3.33\%$, Phansalkar 法 $43.89 \pm 7.29\%$, MHE-Otsu 法

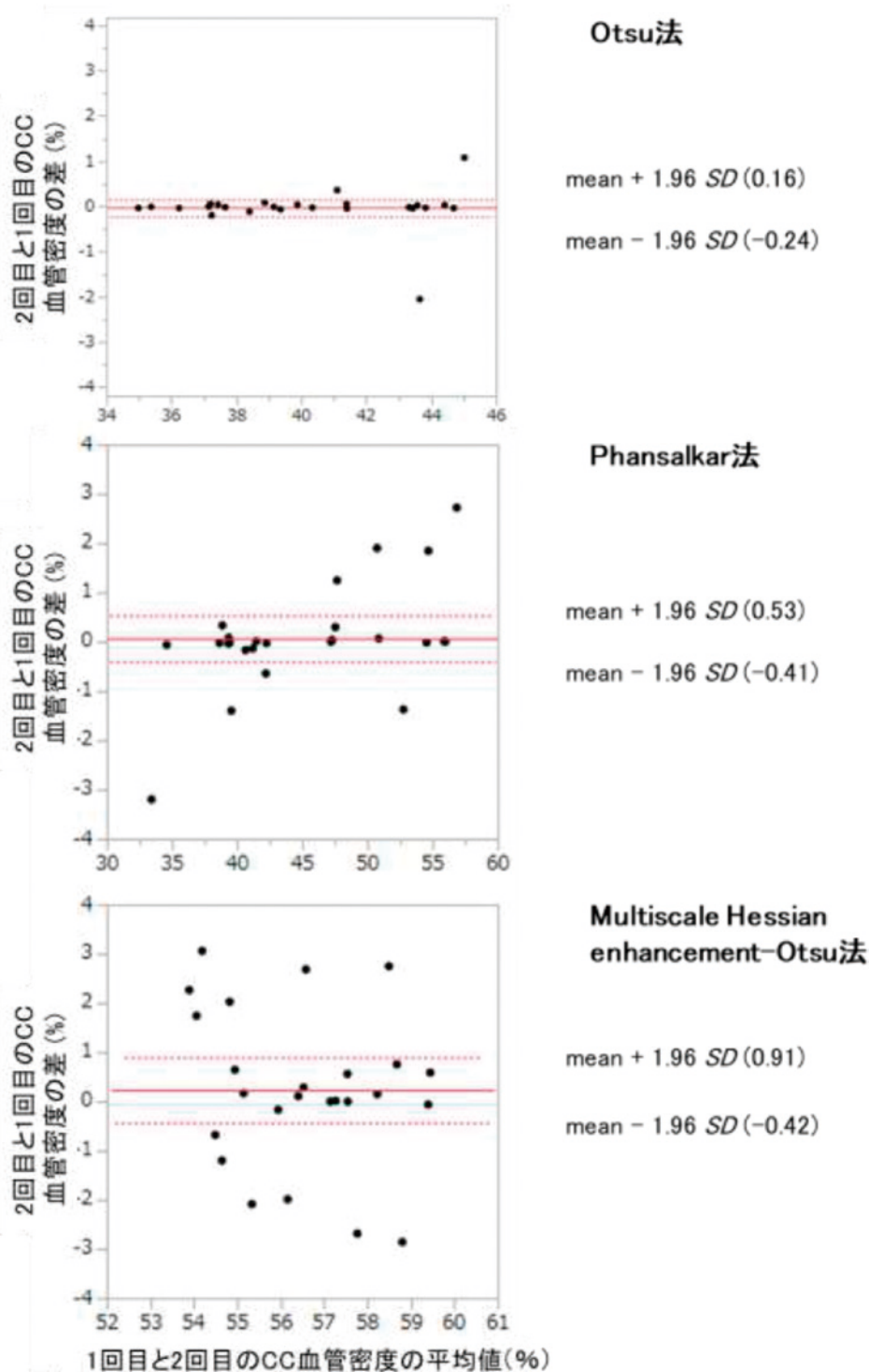


図 4. 各画像処理法における Bland-Altman 分析
CC ; choriocapillaris
SD ; 標準偏差

54.34±2.01% だった (表3)。各画像処理法の CC 血管密度平均値における一元配置分散分析を行った結果、画像処理法の有意な効果があった ($F(2, 270) = 211.5, p < 0.001$)。加えて、Tukey-Kramer test を用いた多重比較で各画像処理法の CC 血管密度平均値の全ての組み合わせで $p < 0.001$ と統計的に有意な差が認められた。各画像処理法の CC 血管密度平均値を比較すると、MHE-Otsu 法が最も Ramrattan らの組織学的検討の値に近い結果となった⁶⁾。

CC 血管密度と年齢の相関は Otsu 法 $r = -0.66, p < 0.001$, Phansalkar 法 $r = -0.66, p < 0.001$, MHE-Otsu 法 $r = -0.64, p < 0.001$ でいずれの計測法でも有意な負の相関を示した (図5)。RMSE (root mean square error) は MHE-Otsu 法で 1.56 と最も低値であった。

CC 血管密度と眼軸長の相関は Otsu 法では $r = 0.22, p = 0.043$ と有意な正の相関があったが、Phansalkar 法では $r = 0.18, p = 0.091$, MHE-Otsu 法では $r = 0.19, p = 0.068$ で、いずれも有意な相関を認めなかった (図6)。

年齢と眼軸長の相関性を検討したところ、 $r = -0.098, p = 0.35$ で有意な相関はなかった。

IV. 考 察

本研究では従来の機種より側方解像度が高い SP-OCTA を使用し、画像処理法による差を検討するとともに、CC 血管密度と年齢および眼軸長との関係を検討した。

CC 血管密度についての既報を表4に示す。解像度は不十分と考えられるが、過去の OCTA を用いた報告で、平均値と SD が報告されていたことから、それらの値を算出し、比較検討を行った。SD-OCTA を用いた Wang らは CV 値が 0.074 と報告している²³⁾。我々の計測では 0.077 (Otsu 法), 0.15 (Phansalkar 法), 0.033 (MHE-Otsu 法) となっており Otsu 法で計測された過去の報告に類似してい

た。MHE 法では Sugano らは CV 値が 0.054 とやや低い数値を報告していたが²⁴⁾、我々の検討でも MHE-Otsu 法で CV が低くバラツキが少ないと推定された。Brand-Altman 分析では2回の計測値のばらつきは Otsu 法で最も小さかった。その理由として、MHE-Otsu 法は CC 血管密度の測定値が高かったためばらつきが大きくなり、Otsu 法は CC 血管密度の測定値が低かったためばらつきが小さかったと考えられた。Phansalkar 法では比例誤差を認め、計測値が大きくなるほど誤差が大きくなるため、性状が異なり CC 血管密度のばらつきが大きい対象を比較する場合は不適と考えられた。

各画像処理法による CC 血管密度の差について

各画像処理法の CC 血管密度平均値は Otsu 法 39.45±3.33%, Phansalkar 法 43.89±7.29%, MHE-Otsu 法 54.34±2.01% と、各画像処理法の全ての組み合わせで CC 血管密度平均値に有意な差が認められた。その理由について検討すると、自動局所閾値化による Otsu 法と Phansalkar 法の差は2階調化のアルゴリズムの違いによって抽出される血管領域が大きく変わるためと考えられた。MHE-Otsu 法は MHE 行列による血管強調処理が行われることで血管領域が大きくなるため他の画像処理法と比べ CC 血管密度が大きくなったと考えられた。3つの画像処理法の中で MHE-Otsu 法の CC 血管密度が最も Ramrattan らの組織学的検討の値に近いこと⁶⁾、CV 値が低くバラツキが少ないことから SP-OCTA を使用した CC 血管密度の測定には MHE-Otsu 法が最も適していると考えられた。

CC 血管密度と年齢との関係について

年齢と CC 血管密度との関係については、Ramrattan らは組織学的検討で CC 血管密度は年齢と共に減少しすることを報告している⁶⁾。この報告によれば、CC 血管密度は20歳台で約70%、60歳台で約55%となっている。同年代の健常対象者の CC 血管密度を SS-OCTA で計測した Al-sheikh らの報告では CC 血管密度は約44.4%¹⁹⁾、SD-OCTA で計測した Wang らの報告では約44.5%としており、両者の報告は同様の結果であった²³⁾。今回我々の研究はやや平均年齢が高いが、自動局所閾値による2階調化法で求めた CC 血管密度は39.5% (Otsu 法), 43.9% (Phansalkar 法) となり Al-sheikh, Wang らの報告に近い値となった。MHE を用いた過去の報告では、Sugano らの報告の CC 血管密度は60.8%²⁴⁾、Uji らの報告では61.9%となっている²⁰⁾。

表3. 各画像処理法の CC 血管密度の平均値

	CC 血管密度 (%) (mean±SD)
Otsu 法	39.45±3.33%
Phansalkar 法	43.89±7.29%
MHE-Otsu 法	54.34±2.01%

Otsu 法, Phansalkar 法, MHE (Multiscale Hessian enhancement)-Otsu 法の脈絡膜毛細血管板 (CC) 血管密度の比較

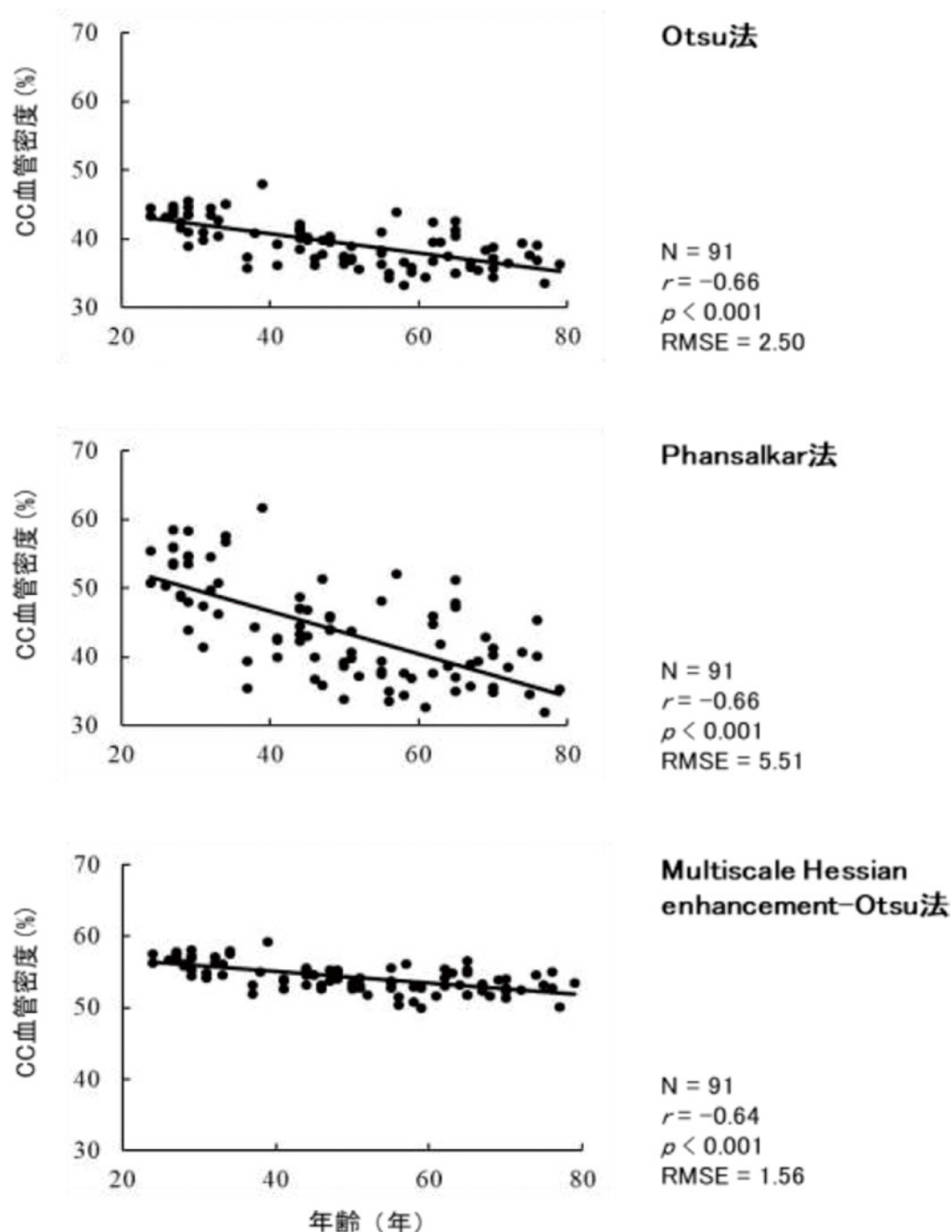


図 5. 各画像処理法における脈絡膜毛細血管板血管密度と年齢との相関
 CC ; choriocapillaris
 RMSE ; root mean square error

本研究ではやや平均年齢は高いが CC 血管密度 54.3% (MHE-Otsu 法) と近い結果となった。同一年代健常者を対象とした場合、計測機器に関わらず同じ画像処理法を用いることで、類似の結果が得る可能性が示唆された。現在 SD-OCTA, SS-OCTA とともに多くの機種が使用されているが、それぞれの計測データの画像処理法を統一することで、比較が可能となる可能性があると考えられた。

CC 血管密度の平均に関しては、組織学的検討では全年齢の平均が 65.5% とされており⁶⁾、MHE を使った計測が最も近い数値となるが、組織学的検討よりも低い数値となっている。この理由として、Ramrattan らは CC 血管径の外側まで計測しており、CC 血管密度が高く測定された可能性が、また、ホルムアルデヒドによる血管平滑筋の弛緩作用により血管内腔が拡張したため CC 血管密度が高く測定さ

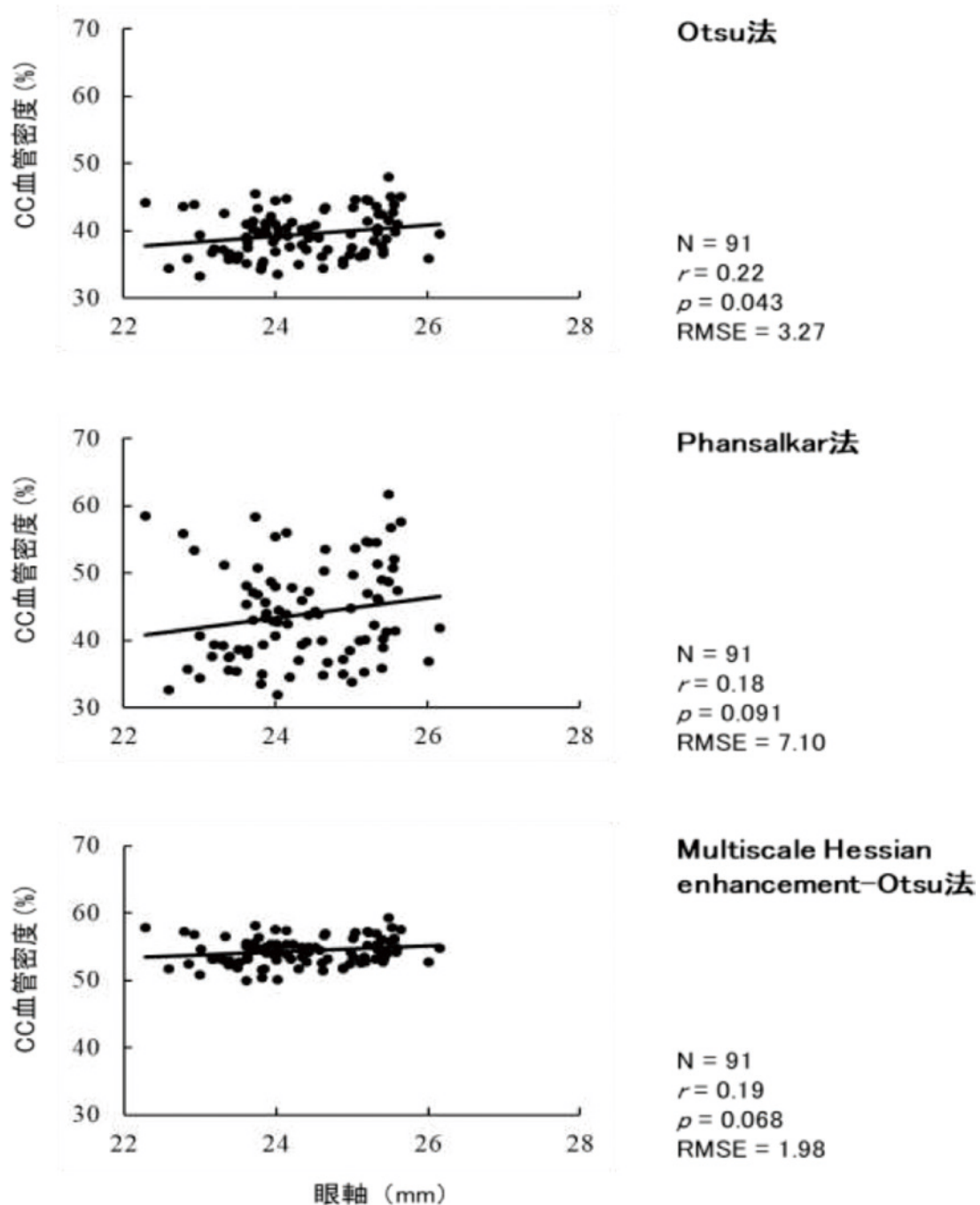


図6. 各画像処理法における脈絡膜毛細血管板血管密度と眼軸との相関
 CC; choriocapillaris
 RMSE; root mean square error

れた可能性がある。実験的ではあるが、補償光学を用いた OCTA でより正確に計測した報告でも CC 血管密度は 54.4% とされており、組織標本と比較し、生体眼の CC 血管密度はやや低い可能性もある²⁵⁾。SD-OCTA では RPE, Bruch 膜によるアーチファクトがあるため描出されない血管があり CC 血管密度が低く計測された可能性も考えられる。

組織学的報告と同様 OCTA を用いた CC 血管密度

の検討においても年齢とともに CC 血管密度が低下することが確認された。腎臓などの全身臓器においても加齢とともに血管密度が減少し機能が低下するといわれている²⁶⁾。また、脈絡膜においても加齢により脈膜厚が減少することが報告されている²⁷⁾。加齢により血管密度が減少するメカニズムははっきりとしていないが、加齢による血管硬化により脈絡膜に還流する血流が減少すること、加齢による慢性炎

表 4. 脈絡膜毛細血管板血管密度に関する既報

著者	眼数	平均年齢；範囲 (歳)	平均眼軸長；範囲 (mm)	対象	CC 血管密度 (%)	血管径 (μm)	変動係数	機器	画像解析法
Ramrattan ^a	96	61.0；6-100	—	剖検眼	65.5	9.0	—	光学顕微鏡	組織学的研究
Olver ^b	—	—	—	剖検眼	—	16-20	—	電子顕微鏡	組織学的研究
Kurokawa ^c	9	42.0；26-68	24.4；23.3-26.1	健常眼	54.4	17.4	—	AO-OCTA	MHE
Wang ^d	105	35.9；17-64	23.8；21.4-28.2	健常眼	44.5	22.1-22.5	0.074	SD-OCTA [†]	平均+1SD の 2 階調化
Uji ^e	17	35.1；24-49	—	健常眼	61.9	22.8	0.066	SD-OCTA ^{††}	MHE
Al-Sheikh ^g	36	37.5；28-59	—	健常眼	44.4	—	0.070	SS-OCTA ^{†††}	Otsu
Sacconi ^f	72	47.4；20-80	24.0；21.7-25.3	健常眼	74.2	11.5	0.066	SS-OCTA ^{††††}	Phansalkar
Sugano ^h	35	27.9；22-49	—	健常眼	60.8	19.1	0.054	SS-OCTA ^{††††}	MHE
本研究	91	48.0；24-76	24.4；22.3-26.2	健常眼	39.5		0.077	SP-OCTA ^{†††††}	Otsu
					43.9		0.15		Phansalkar
					54.3		0.033		MHE-Otsu

CC；脈絡膜毛細血管板 SD；標準偏差

AO-OCTA；adaptive optics optical coherence tomography angiography SS-OCTA；swept source optical coherence tomography angiography

SD-OCTA；spectral domain optical coherence tomography angiography MHE；Multiscale Hessian enhancement

†；RTVue XR Avanti ††；Cirrus 5000 with AngioPlex †††；DRI OCT Triton ††††；PLEX Elite 9000 †††††；SPECTRALIS® OCTA Module

a：Ramrattan RS, et al. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. Invest Ophthalmol and Vis Sci. 1994；35：2857-2864.

b：Olver JM. Functional anatomy of the choroidal circulation：Methyl methacrylate casting of human choroid. Eye 1990；4：262-272.

c：Kurokawa K, et al. Adaptive optics optical coherence tomography angiography for morphometric analysis of choriocapillaris. Biomed Opt Express. 2017；8：1803-1822.

d：Wang Q, et al. Vascular density in retina and choriocapillaris as measured by optical coherence tomography angiography. Am J Ophthalmol. 2016；168：95-109.

e：Uji A, et al. Choriocapillaris imaging using multiple en face optical coherence tomography angiography image averaging. JAMA Ophthalmol. 2017；135：1197-1204.

f：Al-Sheikh M, et al. Quantitative features of the choriocapillaris in healthy individuals using swept-source optical coherence tomography angiography. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina. 2017；48：623-631.

g：Sacconi R, et al. Quantitative changes in the ageing choriocapillaris as measured by swept source optical coherence tomography angiography. Br J Ophthalmol. 2019；103：1320-1326.

h：Sugano Y, et al. Morphometrical evaluation of the choriocapillaris imaged by swept-source optical coherence tomography angiography. Clin Ophthalmol 2018；12：2267-2276.

症で毛細血管が減少する事などが考えられる。加齢により血管内皮のみで構成される CC 血管密度が減少することは、毛細内皮障害が脈絡膜血管全体の加齢性変化に関与している可能性がある。今後 CC 血管密度と脈絡膜厚および脈絡膜体積などの比較検討が必要である。

眼軸長と CC 血管密度について

眼軸長と脈絡膜の関係については OCT を用いた研究で、眼軸長と脈絡膜厚が負の相関にあることが報告されているが²⁸⁾、眼軸長と CC 血管密度を組織学的に検討した報告はほとんどない。Hirata らは、電子顕微鏡的にひよこの近視眼の CC 毛細血管構造を調べ、近視眼で CC 毛細血管密度が有意に減少していることを報告している²⁹⁾。

OCTA の報告では、Al-Sheikh らは眼軸長 26.5 mm 以上の強度近視眼において眼軸長と CC 血管密度が負の相関にあることを報告している³⁰⁾。その理由として、脈絡膜が網膜外層に酸素と栄養を供給していることが知られているが、近視によって誘発された網膜の菲薄化、減少により、これを維持す

るための脈絡膜血流が適応的に減少している可能性、また、近視による機械的な伸びは、血管の直線化と狭窄、および関連する分岐の減少を引き起こすことにより CC の流量欠損の面積が増加する可能性などが考えられている。

一方、Wang らは、中心窩の表在性網膜小血管、毛細血管ネットワーク密度、深部網膜毛細血管ネットワーク密度、および絨毛毛細血管密度を検討し、眼軸長と相関していなかったことを報告している²³⁾。その理由として、Bruch 膜厚は眼軸長と相関しないという報告から³¹⁾、Bruch 膜直下の CC 血管密度も眼軸長と関連していない可能性、また、乳頭黄斑間の眼軸長の伸長は Bruch 膜のない乳頭周囲脈絡網膜萎縮の拡大によって引き起こされるという報告もあり³²⁾、眼軸長の伸長と CC 血管密度が関連しない可能性が考えられている。

本研究では眼軸長と CC 血管密度に有意な相関を認めず、Wang らの報告と同様であった²³⁾。今回の研究対象には長眼軸長が含まれなかったため、脈絡膜構造に大きな変化がなかったことが原因と考えて

いる。有意差はなかったが眼軸と CC 血管密度に正の相関があった理由として、次の2つのことが考えられた。一つは若年者で眼軸長が長い傾向にあり、年齢によって CC 血管密度が上昇した可能性が考えられた。もう一つは、OCT 本体が眼軸長に合わせて自動的に補正する内部システムを持っているが、長眼軸眼では倍率補正に誤差が生じやすいため、その誤差により CC 血管密度が上昇した可能性が考えられた。

研究限界

今回の我々の研究では CC 血管密度の値が既報と同様で各画像処理法で再現性を確認できたが、いくつかの研究限界を認める。再現性の確認は、同一画像で行われており、撮影時期、散瞳状態等を変えた場合の再現性について検討していない。3つの画像処理方法は自動化されておらず、OCTA 撮影後に目視による位置決定が必要なため、複数の検者では再現性が低くなると考えられる。

今後は複数の検者による再現性の確認、画像処理方法の自動化が必要である。また、今回は同一の OCTA で撮影を行ったが、OCTA 機器の違いについても検討が必要である。既報との比較において、機器の違い、画像処理法の違いがあるため、計測結果の比較検討は困難である。複数の機器で画像処理法の再現性を検討し、その妥当性が確認できれば、統一的な画像処理法の開発につながる可能性がある。今回、加齢により CC 血管密度が減少することを確認できたが、健常眼のみを対象としており、加齢黄斑変性などの眼疾患、高血圧症や糖尿病などによる全身疾患の CC 血管密度の変化については不明である。

結語

強度近視、強度遠視を含まない正常眼軸眼においては、CC 血管密度は年齢とともに減少し、眼軸長の変化による影響は少ない。CC 血管密度の測定は脈絡膜の加齢性変化を推定する指標となりうると考えられた。既報との比較で画像処理法の違いが CC 血管密度に影響することが明らかとなった。今後は機器の違いを超えた脈絡膜血管構造の比較の目的で画像処理法のさらなる検討が必要である。

引用文献

- 1) Leonard L, Siv N, James H, et al. Adler's Physiology of the Eye 11th Edition. ISBN-13 : 978-0323057141. 255.
- 2) Flower RW. Physiology of the developing ocular

vasculature. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1988; **24** : 129-146.

- 3) Borrelli E, Uji A, Sarraf D, et al. Alterations in the choriocapillaris in intermediate age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; **58** : 4792-4798.
- 4) Pauleikhoff D, Spital G, Radermacher M, et al. A fluorescein and indocyanine green angiographic study of choriocapillaris in age-related macular disease. *Arch Ophthalmol.* 1999; **117** : 1353-1358.
- 5) Kitaya N, Nagaoka T, Hikichi T, et al. Features of abnormal choroidal circulation in central serous chorioretinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2003; **87** : 709-712.
- 6) Ramrattan RS, Schaft TL, Mooy CM, et al. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol and Vis Sci.* 1994; **35** : 2857-2864.
- 7) Biesemeier A, Taubitz T, Julien S, et al. Choriocapillaris breakdown precedes retinal degeneration in age-related macular degeneration. *Neurobiology of Aging.* 2014; **35** : 2562-2573.
- 8) Cao J, McLeod S, Merges CA, et al. Choriocapillaris degeneration and related pathologic changes in human diabetic eyes. *Arch Ophthalmol.* 1998; **116** : 589-597.
- 9) Yannuzzi LA, Flower A, Jason S, et al. Indocyanine Green Angiography 1st Edition. ISBN-13 : 978-0815197744. 36.
- 10) Spaide RF. Choriocapillaris flow features follow a power law distribution : implications for characterization and mechanisms of disease progression. *Am J Ophthalmol.* 2016; **170** : 58-67.
- 11) Al-Sheikh M, Akil H, Pfau M, et al. Swept-Source OCT Angiography Imaging of the Foveal Avascular Zone and Macular Capillary Network Density in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; **57** : 3907-3913.
- 12) Alten F, Heiduschka P, Clemens CR, et al. Exploring choriocapillaris under reticular pseudodrusen using OCT-Angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016; **254** : 2165-2173.
- 13) Olver JM. Functional anatomy of the choroidal circulation : Methyl methacrylate casting of human choroid. *Eye* 1990; **4** : 262-272.
- 14) Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK. Image Artifacts in optical coherence angiography. *Retina.* 2015; **35** : 2163-2180.
- 15) N. Otsu. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans Syst Man Cybern.* 1979; **9** : 62-66.
- 16) Phansalkar N, More S, Sabale A, et al. Paper ID 154 : Adaptive local thresholding for detection of nuclei in diversity stained cytology images. *Proc International*

- Conf Commun Signal Process. 2011 ; 218-220.
- 17) Frangi AF, Niessen WJ, Vincken KL, et al. Multiscale vessel enhancement filtering. In : Wells WM, Colchester A, Delp S, editors. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention, Lecture Notes in Computer Science*. Berlin, Heidelberg : Springer ; 1998 : 130-137.
- 18) Sato Y, Nakajima S, Shiraga N, et al. Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. *Med Image Anal*. 1998 ; 2 : 143-168.
- 19) Al-Sheikh M, Falavarjani KG, Pfau M, et al. Quantitative features of the choriocapillaris in healthy individuals using swept-source optical coherence tomography angiography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2017 ; 48 : 623-631.
- 20) Uji A, Balasubramanian S, Lei J, et al. Choriocapillaris imaging using multiple en face optical coherence tomography angiography image averaging. *JAMA Ophthalmol*. 2017 ; 135 : 1197-1204.
- 21) Girish V, Vijayalakshmi A. Affordable image analysis using NIH Image/ImageJ. *Indian J Cancer*. 2004 ; 41 : 47.
- 22) Garway-Heath DE, Rudnicka AR, Lowe T, et al. Measurement of optic disc size : equivalence of methods to correct for ocular magnification. *Br J Ophthalmol* 1998 ; 82 : 643-649.
- 23) Wang Q, Chan S, Yang JY, et al. Vascular density in retina and choriocapillaris as measured by optical coherence tomography angiography. *Am J Ophthalmol*. 2016 ; 168 : 95-109.
- 24) Sugano Y, Sekiryu T, Furuta M, et al. Morphometrical evaluation of the choriocapillaris imaged by swept-source optical coherence tomography angiography. *Clin Ophthalmol*. 2018 ; 12 : 2267-2276.
- 25) Kurokawa K, Liu Z, Miller DT. Adaptive optics optical coherence tomography angiography for morphometric analysis of choriocapillaris. *Biomed Opt Express*. 2017 ; 8 : 1803-1822.
- 26) Xu X, Wang B, Ren C, et al. Age-related impairment of avascular structure and functions. *Aging Dis*. 2017 ; 8 : 590-610.
- 27) Margolis R, Spaide RF. A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol*. 2009 ; 147 : 811-815.
- 28) Ikuno Y, Kawaguchi K, Nouchi T, et al. Choroidal thickness in healthy Japanese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 ; 51 : 2173-2176.
- 29) Hirata A, Negi A. Morphological changes of choriocapillaris in experimentally induced chick myopia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1998 ; 236 : 132-137.
- 30) Al-Sheikh M, Phasukkijwatana N, Dolz-Marco R, et al. Quantitative OCT angiography of the retinal microvasculature and the choriocapillaris in myopic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017 ; 58 : 2063-2069.
- 31) Jonas JB, Wang YX, Zhang Q, et al. Macular Bruch's membrane length and axial length. The Beijing Eye Study. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0136833.
- 32) Jonas RA, Wang YX, Yang H, et al. Optic disc-fovea distance, axial length and parapapillary zones. The Beijing Eye Study. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0138701.