

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本医学写真学会雑誌（1998）36巻3号:P59～66.

メディカルレンズによる角膜生体染色撮影

福井勝彦、菅野晴美、加藤祐司、五十嵐弘昌

## メディカルレンズによる角膜生体染色撮影

福井勝彦 1), 菅野晴美 1)、加藤祐司 1)、五十嵐弘昌 2)

1) 旭川医科大学眼科学講座

2) 釧路赤十字病院眼科

## **Corneal Vital Staining of Photography by Medical Lens**

Katshuko Fukui1), Harumi Kanna MD1), Yuji Kato MD1), Hiromasa Igarashi MD,PhD1)

1) Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College, Asahikawa, Japan

(4-5-3 Nishikagura, Asahikawa 078-8510, Japan)

2) Kushiro Red Cross Hospital

(21-14 Shineimachi, Kushio 085-0032, Japan)

**Abstract:**

To take photographs of corneal epithelial defect, we used corneal vital staining(FLUOR-I-STRIP A.T, Ayerst., New York, USA), a close-up photography system with fluorescent filters(exciter filter,[WRATTEN Gelatin Filter No.47B, Kodak,Rochester, New York, USA]), and barrier filter [WRATTEN Gelatin Filter No.58, Kodak, Rochester, New York, USA]),and a medical lens(Medical-Nikkor Auto 200mm F5.6, Nikon, Tokyo, Japan) with a long focal distance that was attached to a 35mm single-reflex camera body(Nikon F2 Photomic A, Nikon, Tokyo, Japan) .The exciter filter was positioned in front of a ring stroboscopic lamp, and the barrier filter was backward the plane shutter in the camera. The photographic conditions were as follows magnification change, 1x; lens aperture, F5.6(maximum); and flashbulb, 60Wsec. This method was dependent on patient position, because the working distance was long although the exposure was high powered. However, this method required a certain degree of experience, because the patient' s head was unfixed and the lens aperture was opened maximally. We concluded that this system can be useful clinically when a photo slit-lamp is not available.

**Key words:**

corneal epithelial defect; corneal vital staining; fluorescent filters; medical lens; WRATTEN Gelatin Filter

## I. 緒言

生体眼における角膜は透明であるため、角膜上皮欠損<sup>1)</sup>はかなり高倍率で観察しても撮影は難しいことが多く、角膜上皮欠損の程度や治療効果の判定は細隙灯顕微鏡<sup>2)</sup>を用いたフルオレスセイン染色法<sup>3)</sup>による観察が一般的である。そのため、細隙灯顕微鏡による検査所見<sup>4)</sup>の評価は検者の主観に左右される。また、客観的な評価をするための記録手段として開発されたフォトスリット<sup>5)</sup>は、座位で頭部を撮影装置に付属する顎台と額当てに固定するため、体位が制限された術後の患者やベットから移動が不可能な患者への応用は困難である。そこで、今回我々は高倍率の撮影でも作動距離が長く、医学領域で近接撮影用に普及している長焦点メディカルレンズ<sup>6)</sup>に35mm一眼レフレックスカメラを装着した撮影装置に、フルオレスセイン-Naの最大吸収波長<sup>7)</sup>に一致するゼラチンフィルター<sup>8)</sup>を用いて、体位に制限されない角膜上皮病変の撮影の可能性について検討した。

## II. 方法

### 1. 装置

日本光学工業社製35mm一眼レフレックスカメラ Nikon F2 Photomic A (Nikon, Tokyo, Japan) に撮影レンズとして同社製の固定焦点式メディカルレンズ Medical-Nikkor Auto 200mm F5.6 を装着した撮影装置を用いた。フルオレスセイン角膜染色の蛍光撮影用フィルターは励起用フィルターとして撮影レンズに内蔵されているリング状ストロボの前方に

Kodak Wrattent Gelatin Filter No.47B<sup>8)</sup> (Eastman kodak, N.Y, USA) (図 1) を装着し、濾過用フィルターとしてカメラのシャッター膜とフィルム面の間に Kodak Wrattent Gelatin Filter No.58<sup>8)</sup> (Eastman kodak, N.Y, USA) を装着した (図 2A)。さらに、上皮欠損部の蛍光観察用フィルターとして視感透過率の良い Kodak Wrattent Gelatin Filter No.47A<sup>8)</sup> (Eastman kodak, N.Y, USA) をファインダー接眼窓部 (図 2B) に装着し、ファインダースクリーンも透明度の高い M マット (Nikon, Tokyo, Japan) に交換した。

## 2. 対象

点状フルオレスセイン標本および、ヒト角膜における臨床応用を検討した。標本はフルオサイト注射液 1 号 8 (Alcon, Tex, USA) を PH7.4 の 0.1mol/L リン酸緩衝液で  $10^{-3} \sim 10^{-6}$  g/mL の四段階に希釈し、白色の台紙に約 1m の上方の距離よりスプレーして、点状フルオレスセイン噴霧標本 (約 100 ~150個/cm<sup>2</sup>) を作成した。臨床例として、4 症例 4 眼を対象として用いた。症例は正常人角膜 (症例 1), 角膜ヘルペス<sup>1)</sup> による潰瘍 (症例 2), 点状表層角膜炎<sup>1)</sup> (症例 3), 糖尿病網膜症<sup>9)</sup> (症例 4) の硝子体手術後の角膜びらん<sup>1)</sup> であった。

## 3. 撮影方法

点状フルオレスセイン噴霧標本はフィルムや濾過フィルターの効果など、撮影条件によって点状フルオレスセインが、写真結果としてどのように捉えられるか検討するために、本法の青色光励起フィルターと濾過フィルターを組み合わせ、白黒ネガフィルムで撮影し

たものと一般的なフォトスリットによる撮影条件である青色光励起フィルターによるカラーポジフィルム撮影として、装置から濾過フィルターを取り外し、青色光励起フィルターと高感度のカラーズライド用フィルムを用いて行った。本装置を複写台に装着し、1 倍の倍率変換補助レンズを装着し、絞り値は撮影レンズの最大絞り値の F5.6 に固定、内蔵式リング状キセノン放電管の最大閃光出力 60Ws で行った。したがって作動距離は 221mm であった。

臨床例のヒト角膜は滅菌済のフルオレスセインナトリウム 1mg 含有試験紙、(FLUOR-I-STRIP.A.T, Ayerst., N.Y, USA) を用いて生体染色し、同一の撮影条件 (1 倍, F5.6) で角膜の正面から撮影した。比較対象として歩行、座位が可能で一定時間頭部を固定できる被検者はフォトスリット (コーワ社製, SC-1200, Tokyo, Japan) を用いて前眼部撮影<sup>5)</sup> および青色光励起フィルターによる角膜フルオレスセイン染色のカラー撮影<sup>5)</sup> を行った。

#### 4. 感光材料と現像処理

本法の撮影フィルムには Tri-X pan 400 (Eastman Kodak, N.Y, USA) を用い、点状フルオレスセイン噴霧標本の青色光励起フィルターによるカラーポジフィルム撮影は Ektachrome Dyna EX (ISO400 Eastman Kodak, N.Y, USA) を用いた。フォトスリットの前眼部撮影および角膜フルオレスセイン染色のカラー撮影にはインスタントフィルム (ポラロイド 600Film 8, Polaroid, MA, USA) もしくは、カラーズライド用フィルムの Ektachrome Dyna EX を用いた。撮影フィルムの Tri-X pan 400 はスーパープロドール 8

(富士写真フィルム, Tokyo, Japan) を用い 20 度 9 分 (ISO1600 相当) で増感処理を行った。カラーポジフィルムの Ektachrome Dyna EX はメーカー指定のプロラボ現像所にて現像した。

### III. 結果

#### 1. 点状フルオレスセイン標本

フルオレスセインの最大吸収波長である 480nm 付近に波長特性をもつ Kodak Wrattentn Gelatin Filter No.47B と Ektachrome Dyna EX カラースライド用フィルムを用いて撮影した写真では、点状フルオレスセインは  $10^{-4}$  g/ml が最もコントラストが高く  $10^{-3}$  g/ml と  $10^{-5}$  g/ml の濃度の点状標本では微細なフルオレスセインは不明瞭であった。また、 $10^{-6}$  g/ml の濃度ではフルオレスセインを捉えることはできなかった (図 3 左)。一方、本法の Kodak Wrattentn Gelatin Filter No.47B と Kodak Wrattentn Gelatin Filter No.58 を用いて Tri-X pan 400 で撮影した写真でも、 $10^{-6}$  g/ml の濃度ではフルオレスセインを捉えることはできないものの、 $10^{-4}$  g/ml が最もコントラストが高く、さらに  $10^{-3}$  g/ml と  $10^{-5}$  g/ml の濃度でも点状標本のフルオレスセインを明瞭に確認することができた。したがって、本法は希釈されたフルオレスセインの広い範囲を網羅していた。

#### 2. 正常角膜 (症例 1)

図 4 に本法による正常人の角膜フルオレスセイン染色撮影を示す。角膜上皮欠損のない正常人の角膜染色撮影では、眼瞼と角膜との間に形成される涙液層 (tear meniscus) にフ

ルオレスセインの蛍光が認められるものの角膜上にフルオレスセインの蛍光は認めなかった。

### 3. 角膜ヘルペス（症例2）

角膜ヘルペスによる潰瘍の前眼部写真とフォトスリットおよび本法による角膜フルオレスセイン染色撮影を示す（図5）。角膜ヘルペスは角膜表層の潰瘍性病変の代表的な病気で自覚症状として異物感，羞明，流涙を主訴とし，細隙灯顕微鏡所見では角膜上皮の病巣部は樹枝状を呈していた。角膜ヘルペスは一般的に片眼性で再発性の高い疾患で，発熱，外傷，ストレス，日光などが誘因となり遅延化することがある。前眼部写真（図5a）では角膜輪部から中心部へ病巣部が左右に広がった境界部の不明瞭な白色の混濁として観察された。フォトスリットを用いた青色光励起フィルターによる角膜フルオレスセイン染色カラー撮影（図5b左）では，典型的な樹枝状の形状を伴った角膜上皮の障害部を撮影することができるものの境界部は高輝度の蛍光が拡散し不明瞭であった。一方，本法ではフルオレスセインを，濾過フィルターで選択的に透過させるので，樹枝状角膜上皮の障害部の境界部は明瞭に捉えることができた（図5b右）。

### 4. 点状表層角膜炎（症例3）

点状表層角膜炎<sup>1)</sup>は，微細な点状の多発性上皮欠損を臨床的特徴とする疾患で，非常に多くの原因疾患があり，前眼部所見や検査結果から適切な治療を行うことが重要である。なかでも軽微な角膜表層上皮びらんは，細隙灯顕微鏡でのフルオレスセイン染色下でしか



観察<sup>1)</sup>できない。図 7 に点状の角膜表層上皮びらんが角膜の破裂間に認められた症例を示す。フォトスリットに青色光励起フィルターを用いた角膜フルオレスセイン染色カラー撮影では (図 6a) その存在を捉えることが困難であったのに対して、本法では、確実に点状の角膜表層上皮びらんを捉えることができた (図 6b)。

#### 5. 硝子体術後の角膜びらん (症例 4)

糖尿病網膜症では、高度な硝子体内の出血や網膜に対する牽引の強い増殖期の場合、硝子体内の出血の除去や硝子体の癒着・牽引を解除する目的で直接眼底に治療を加える硝子体切除術<sup>9)</sup>を施行する。長時間に及ぶ硝子体手術では、角膜上皮の浮腫のため上皮が脱落したり眼内の視認性向上<sup>10)</sup>のため、角膜上皮を擦過することがある。術後、重症の糖尿病では遅延性上皮欠損<sup>11, 10)</sup>となる場合もあり、角膜上皮の観察は眼部への感染防御のためにも重要である。本症例は脱落した角膜上皮の治癒過程を撮影した例を示す (図 7a ~ d)。本法では、角膜上皮びらんが、再生していく過程を床上臥位のままで明瞭に撮影することができた。

#### IV. 考案

1882 年に Pfuger, 1888 年に Straub らにより最初にフルオレスセイン色素が外眼部疾患の診断に応用された。さらに、前眼部の検査装置として細隙灯顕微鏡 (スリットランプ) は 1911 年に Gullstrand<sup>2)</sup> が基本装置を試作して以来、さまざまな装置が開発<sup>2)</sup>され、今日では前眼部の透光体組織の他覚的検査法として普及し診断や経過観察に欠くことのでき

ない検査手段<sup>3, 4)</sup>となった。その後、角膜上皮障害の程度や治癒過程の判定には、フルオレスセインを用いて生体染色後、細隙灯顕微鏡による観察が一般的となった。角膜上皮の欠損部にたまったフルオレスセインはごく薄い濃度でも青色光フィルターで励起されると 540nm 付近の波長域に輝度をもつ明るい緑色調の蛍光を示し、詳細な検査所見として捉えることができる。角膜上皮疾患に対する細隙灯顕微鏡検査所見は、検者の主観により判断されるため、客観的評価や記録手段として、撮影光源と撮影装置の付属した細隙灯顕微鏡（フォトスリットランプ）による撮影<sup>6)</sup>が施行される。しかし、フォトスリットランプによる撮影は、顎台と額当てに被検者の頭部を一定時間固定する必要があり対象が制限される。今回、我々が行ったメディカルレンズを用いたクローズアップ撮影装置に蛍光フィルターを装着した角膜染色撮影の試みは、被検者の体位に制限されない角膜染色撮影を可能とするため、今後、種々の原因で起こる角膜上皮障害の客観的評価法として広範囲の診療施設への導入を容易にするものと考えている。

我々が、使用した固定焦点式メディカルレンズの特徴は、以下の三点が挙げられる。第一に最大閃光出力 60Ws のストロボがレンズ前部に内蔵されている。第二に、倍率変換用補助レンズを併用して撮影倍率が決定でき、絞り値の変換によって露出補正が可能である。第三に、35mm 一眼レフレックスカメラに装着した撮影装置が約 1.5kg と軽量でレンズの焦点距離が 200mm と長く、高倍率の撮影にもかかわらず作動距離が長くとれる。本装置で角膜上皮の欠損部にたまったフルオレスセイン色素を撮影するには、被写体の蛍光色素を励起する照度と蛍光用フィルターが必要となる。メディカルレンズには先に述べた最大閃光出力 60Ws の輝度を有するストロボが内蔵されているため、蛍光色素の励起は比較的

容易に行える。蛍光フィルターは撮影装置のリング状ストロボの形状やカメラ本体のシャッター膜面に装着が容易であったゼラチンフィルターを用いた。ゼラチンフィルターは干渉フィルターに比較して波長特性は劣るものの低価格で広く普及している。この方法ではフィルターの透過率<sup>8)</sup>により、フィルム露光量が低下するためフィルムの増感処理のみならず撮影装置による露出補正が必要となる。固定焦点方式メディカルレンズでは絞り値の変換により露出補正が可能であるため、本装置でもフルオレスセインの蛍光を充分捉えることが可能であった。また、レンズ焦点距離が長いほど、被写体から離れて撮影することができる。これは、体位制限のある被検者にとって有用であり、角膜全体から強膜までを含む撮影倍率1倍(24mm×36mm)では作動距離は221mmとなり撮影場所に制限されず、硝子体手術直後はもとよりベットサイドでの経過撮影も可能であった。

次に、本装置を用いて、希釈したフルオレスセインの点状フルオレスセイン噴霧標本を撮影し、フィルムや濾過フィルターなどの撮影条件が変わると微細なフルオレスセインが、写真結果としてどのように捉えられるかを検討した。一般的に白黒フィルムでは被写体の色彩を再現することができないが、カラーフィルムより階調を広く再現することができる。また、リバーサル(ポジ)フィルムよりネガティブフィルムのほうがラチチュード(露出許容範囲)が広いので、濃度の薄い微細な点状フルオレスセイン色素でも鮮明に捉えることが可能と考えられる。本法による白黒フィルム撮影では、濾過フィルターの効果も相まって青色光フィルターによるカラー撮影に比較して広い濃度域においてコントラストが高かった(図4)。フルオレスセイン角膜染色撮影のフィルムは、濾過フィルターを用いて蛍光を選択的に捉える場合、蛍光部分と非蛍光部分との明暗比が大きくなる。したがって、

天文写真などの、明暗比が非常に大きい被写体を撮影すると同様、ラチチュードの広い白黒ネガティブフィルムの選択が良いということを示唆している。

角膜の客観的な評価には、角膜の正常部分と上皮欠損部が明瞭に捉えられてる必要がある。従来のフォトスリットランプの撮影光源に青色光励起フィルターを挿入して撮影したフルオレスセイン角膜染色カラー写真<sup>5)</sup>では、正常角膜部分は青色光励起フィルターの青色でマスクされる。一方、角膜上皮欠損部の緑色調の蛍光所見は写真上では、青緑色(シアン)として捉えられ、微細な欠損部が瀰漫性に広がった症例では、正常角膜部分と上皮欠損部の色調が同系色となり明瞭なコントラストを得ることが困難であった(図 6a)。しかし、今回の方法ではこのような症例でも、フルオレスセインを励起するフィルターのみならず、フルオレスセインを選択的に透過する濾過フィルターを用いることによって、上皮欠損を明瞭に捉えることができた(図 6b)。これらのことから、フルオレスセインを用いた角膜上皮欠損の撮影には、蛍光用励起フィルターと濾過フィルターを使用し白黒ネガティブフィルムで撮影したほうが、臨床例でも微細な欠損部の描出には効果的と考えられた。この方法は、フォトスリットでの角膜上皮欠損の撮影においても応用可能<sup>11 - 13)</sup>である。本法による撮影上の注意点としては、被検者の頭部を固定せず最大絞り値の手持ち撮影であるため、焦点深度は小さくなり、撮影にはある程度の経験を要する。高齢化社会の到来に伴い、長期入院中の高齢者でベットからの移動すら困難な症例では、一定時間頭部を固定するフォトスリット撮影<sup>5)</sup>は難しく、写真による病状の評価や記録が制限される。本法では被検者の体位制限があっても撮影が可能であり客観的評価法として手軽に行える有用な検査手段と思われた。また、メディカルレンズは医学領域において近接撮影

用に広く普及しておりフォトスリットランプを有しない施設での角膜染色撮影法として広く普及する可能性を持っている。今後、本装置の臨床への応用をさらに、検討すると共に、焦点方式の異なる内焦方式（ズーム方式）のメディカルレンズなどの装置でも同様な検討していきたい。

## まとめ

医学領域で近接撮影用に普及している長焦点メディカルレンズに 35mm 一眼レフレックスカメラを装着したクローズアップ装置に蛍光用フィルターを用いてフルオレスセイン角膜染色撮影の有用性を検討した。その結果、今回検討した装置は、頭部を固定せず最大絞り値の手持ち撮影であるため、焦点深度は小さくなり撮影にはある程度の経験を要するものの、微細な角膜上皮欠損を捉えることができ、充分満足できる画像を得ることができた。本法は、フォトスリットランプを有しない施設はもとより、被検者のいかなる体位制限があっても撮影が可能であり、広範囲な臨床応用が期待される。

## 文献

1. 木下 茂, 大橋裕一編:角膜クリニック, 医学書院, 東京, 1990.
2. 清水由規, 三田哲夫, 水谷由紀夫:眼科 Mook, No.3, 眼科一般検査法, 細隙灯顕微鏡検査(前眼部), 三島済一, 塚原 勇, 植村恭夫編, 185-201, 金原出版, 東京, 1978.
3. 松井瑞夫 :眼科検査法ハンドブック, 細隙灯顕微鏡検査, (生体染色検査法), 湖崎 克, 松井瑞夫, 丸尾敏夫編: 352-355, 医学書院, 東京, 1985.
4. 秋谷 忍:眼科検査法ハンドブック, 細隙灯顕微鏡検査, (前眼部観察法), 湖崎 克, 松井瑞夫, 丸尾敏夫編, 348-352, 医学書院, 東京, 1985.
5. 糸井素一, 金上貞夫:スリットランブーその使い方と写真の撮り方, メディカル葵出版, 1982. 東京, 1988.
6. 金上貞夫:眼科検査法ハンドブック, 前眼部写真, (角膜・水晶体・結膜), 湖崎 克, 松井瑞夫, 丸尾敏夫編, 413-417, 医学書院, 東京, 1985.
7. 長瀧重智:眼科診療プラクティス6 (眼底造影写真の読み方), 眼底造影法, 造影色素とその代謝, 本田孔士, 編, 24-26, 文光堂, 東京, 1993.
8. Eastoman Koak Company:科学・技術用途のコダックフィルター, Eastoman Koak

Company, 1982.

9. 竹内 忍：眼科診療プラクティス 20, 糖尿病眼科診療, 対牽引性網膜剥離硝子体手術, 田野保雄編, 84-89, 分光堂, 東京, 1995.

10. 池田恒彦：眼科診療プラクティス 20, 糖尿病眼科診療, 硝子体の手術後の管理と再手術, 田野保雄編, 90-93, 分光堂, 東京, 1995.

11. 三井幸彦, 松原 稔：蛍光角膜及び蛍光虹彩撮影法の試みとその意義, 眼科 10, 287-296, 1969.

12. 伊藤紘佑, 安田信行, 金上貞夫：新しい前眼部蛍光造影照明装置, 日本眼科写真協会誌, Vol.8, No2, 4-7, 1991.

13. Katsuhiko Fukui, MT, Hiromasa Igarasi, MD., Hironari Isobe, MP, Akitoshi Yoshida, MD., and Hong-Ming Cheng, OD, PhD : Anterior Segment Fluorescein Angiography Using Improved Photo Slit-Lamp, The Journal of Ophthalmic Photography, Vo.17, No2, 54-60, 1995.

### <図の説明>

図1 Medical-Nikkor Auto 200mm F5. 6 と Nikon F2 Photomic A の撮影装置  
(リングストロボの前方(↑)に蛍光用励起フィルターを装着した。)

図2 蛍光用濾過フィルターの装着部(A)、観察用フィルターの挿入部(B)  
(カメラのシャッター膜面に蛍光用濾過フィルター装着した。)

図3 点状フルオレスセイン標本  
(本法による写真は青色フィルターによるカラー撮影に比較してコントラストも高く, 広い濃度範囲を網羅していた。)

図4 正常角膜のフルオレスセイン染色撮影。

図5a 角膜ヘルペスの前眼部写真(症例2)

図5b 症例2の角膜フルオレスセイン染色写真の比較  
(樹枝状の角膜上皮障害が観察できる。)

図6a 症例3のフォトスリットランプ(Kowa社製, SC-1200)の青色フィルターによるカラー撮影(ポラロイド600®)では微細な上皮欠損は不明瞭。

図6b 症例3の本法による角膜フルオレスセイン染色写真  
(フォトスリットランプによる撮影に比較して上皮欠損が明瞭に描出されている。)

図7a 症例4(手術直後)

図 7b 症例 4 (手術後 1 日目)

図 7c 症例 4 (手術後 2 日目)

図 7d 症例 4 (手術後 3 日目)



图 1

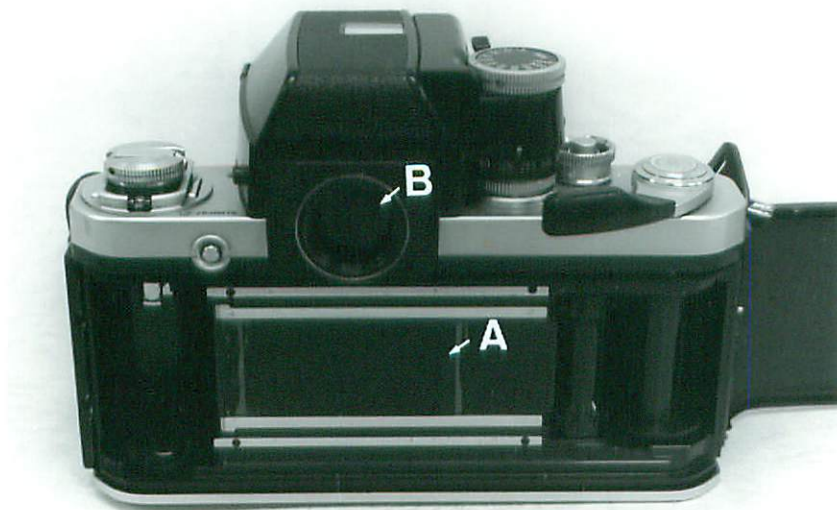


图 2

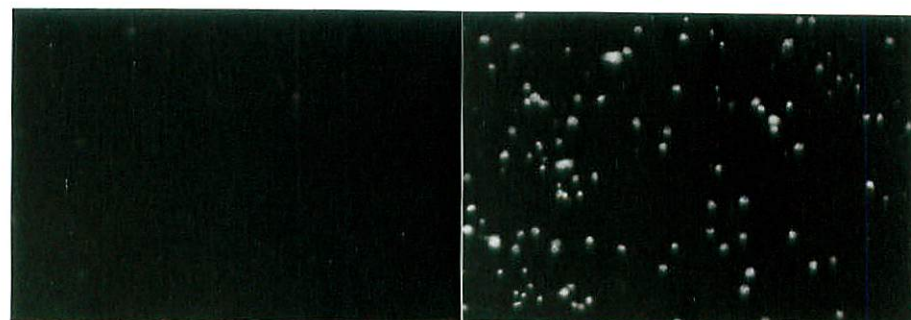


F-Na 濃度 (g/ml)

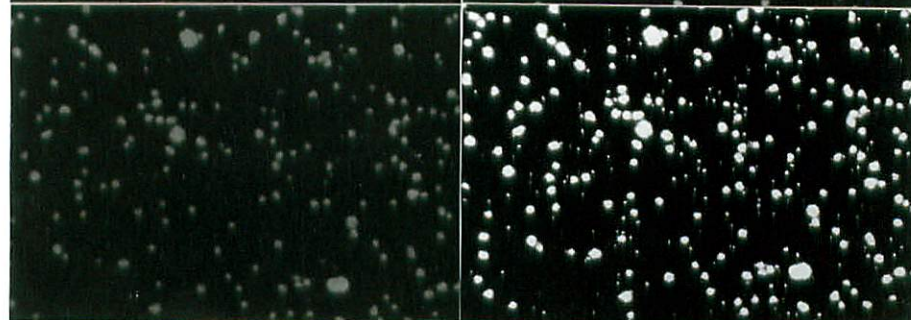
青色光よるカラー撮影

本法

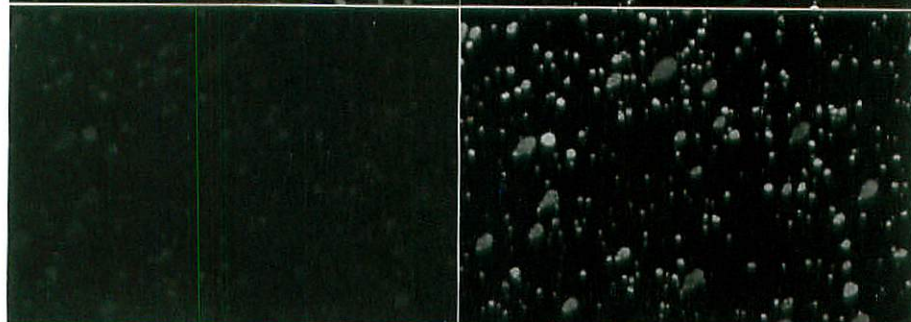
$10^{-3}$



$10^{-4}$



$10^{-5}$



$10^{-6}$

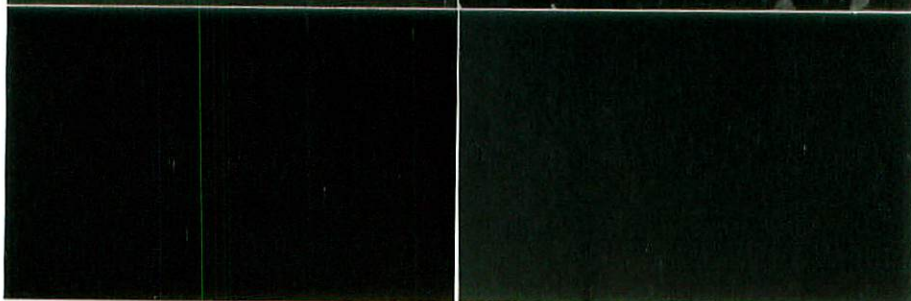


図 3

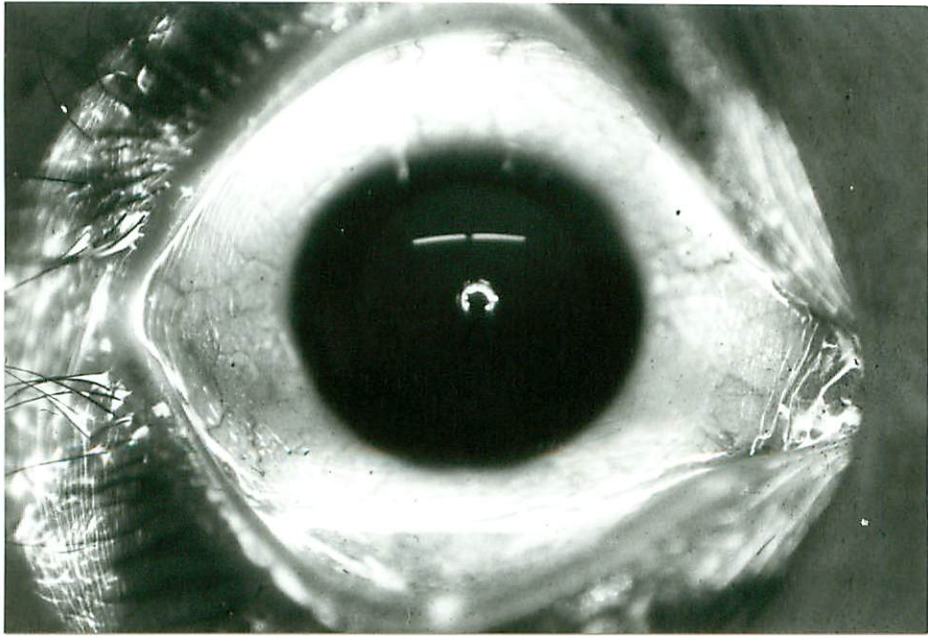


图 4

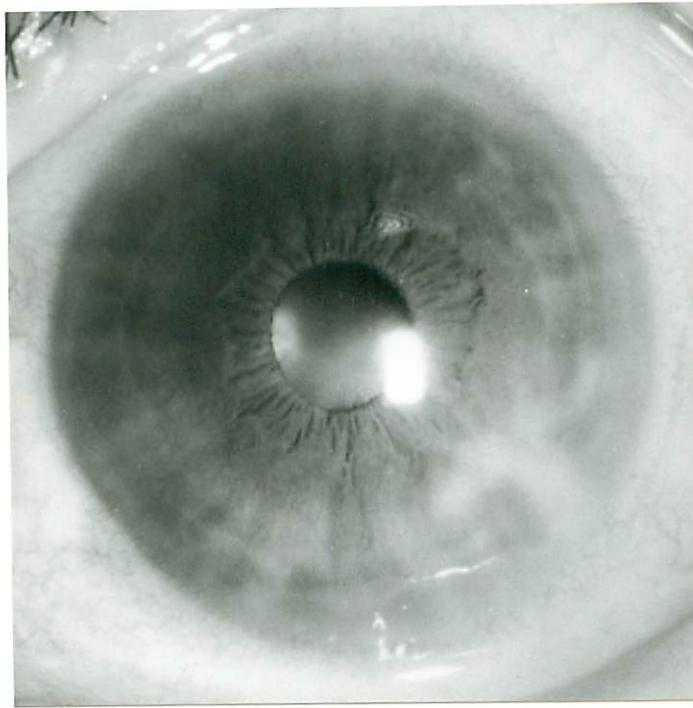
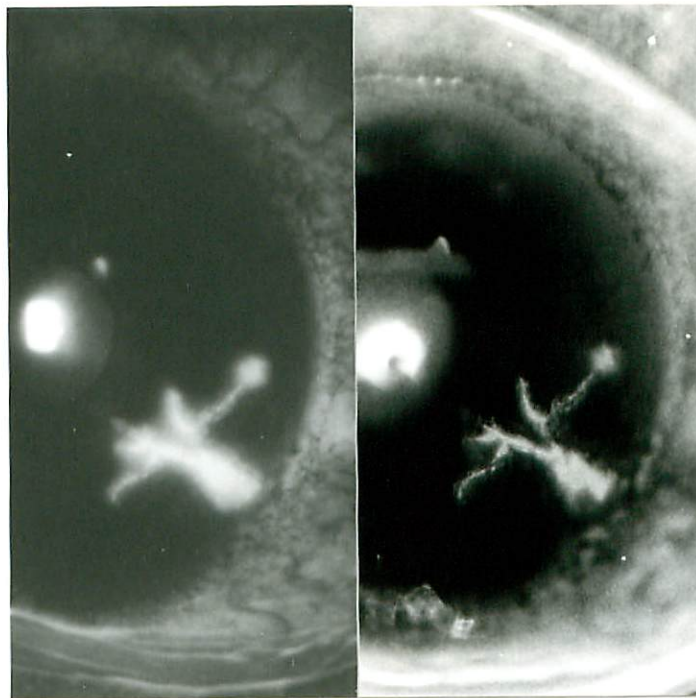


図5 a



(フォトスリット)

(本法)

図5 b

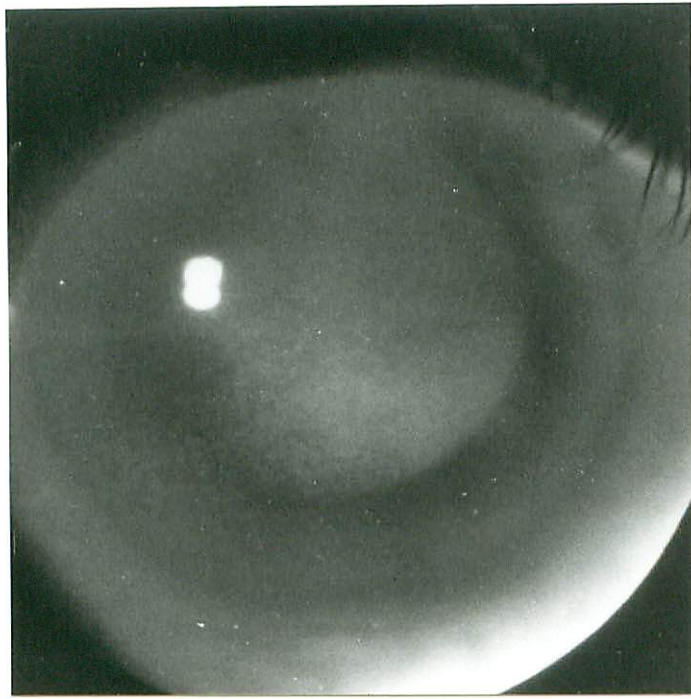


图 6 a

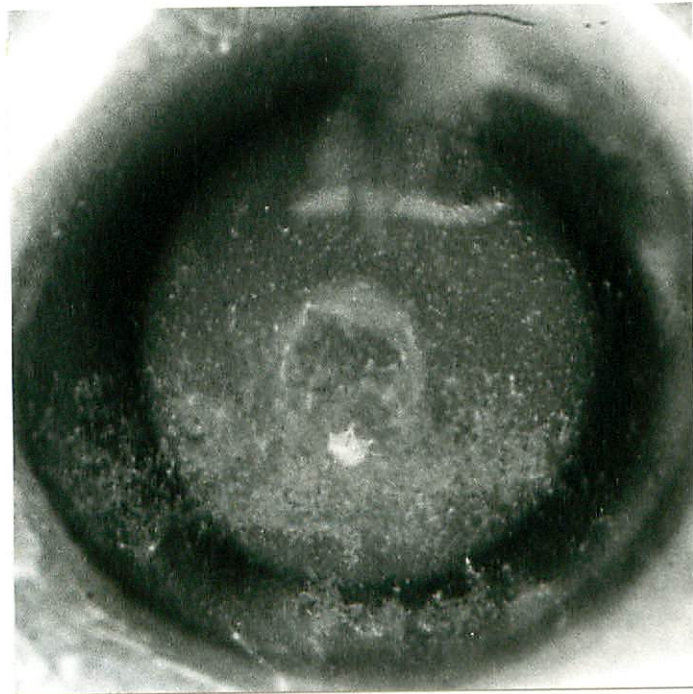


图 6 b

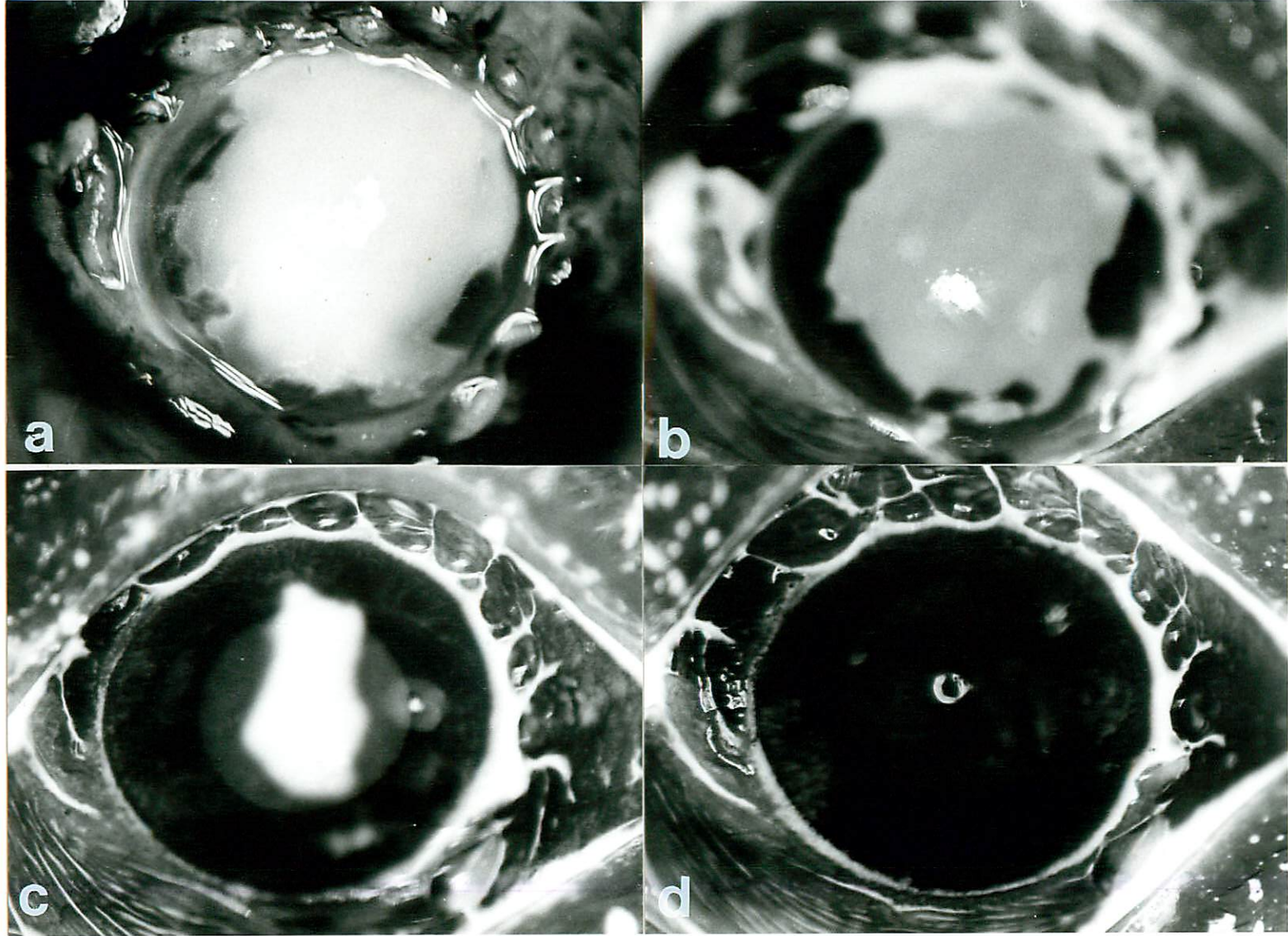


图 7