

超高分辨率 OCT 角膜上皮厚度自动测量的重复性研究

徐肃仲, 叶欣杰, 许哲, 杨纯, 沈梅晓

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(No. 2013KYA132);温州市科技局项目(No. Y20110058;No. Y20110103)

作者单位:(325027)中国浙江省温州市,温州医科大学附属眼视光医院斜弱视专科

作者简介:徐肃仲,女,硕士,主治医师,研究方向:斜视、弱视的诊治以及低视力的康复治疗。

通讯作者:沈梅晓,女,博士,讲师,研究方向:眼科 OCT 及其临床应用. shenmxiao7@hotmail.com

收稿日期:2013-09-12 修回日期:2013-11-11

Study of repeatability of corneal epithelium thickness profiles automatically measured by ultra - high resolution OCT system

Su-Zhong Xu, Xin-Jie Ye, Zhe Xu, Chun Yang, Mei-Xiao Shen

Foundation items: Supported by Medical and Healthy Technology Plan of Zhejiang (No. 2013KYA132); Supported by Program of Wenzhou Science and Technology Bureau (No. Y20110058; No. Y20110103)

Specialized Department of Strabismus and Amblyopia, the Affiliated Eye Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Mei - Xiao Shen. Specialized Department of Strabismus and Amblyopia, the Affiliated Eye Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China. shenmxiao7@hotmail.com

Received:2013-09-12 Accepted:2013-11-11

Abstract

• **AIM:** To assess the repeatability of thickness profiles of corneal epithelium produced by automatic hierarchic algorithm that was applied to images obtained by a custom-built ultra - high resolution OCT (UHR - OCT) system.

• **METHODS:** Eighteen left eyes of 18 subjects (23.2±0.9) years; mean age±standard deviation) were imaged twice on non-consecutive days by a custom-built ultra - high resolution OCT (UHR - OCT) system. A hierarchic algorithm based on the axial gradient information and a shortest path search was developed to measure the corneal epithelial thickness profiles from the SD - OCT images.

• **RESULTS:** There was good correlation between the automatic and manual hierarchy positions of the epithelium ($p > 0.05$, paired t -test). The average epithelial thickness of the 6mm central corneal region

determined by the automatic hierarchic algorithm was $52.1 \pm 2.1 \mu\text{m}$, ranging from $50.3 \pm 1.8 \mu\text{m}$ to $53.2 \pm 2.4 \mu\text{m}$ along the horizontal meridian. The epithelial thickness differences between automatic and manual hierarchy by the UHR - OCT systems were $0.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$. The intraclass correlation coefficients (ICC) and coefficients of repeatability (CoR) with repeated UHR - OCT measurements for epithelial thickness were 0.90 ± 0.05 and $1.44 \pm 0.01 \mu\text{m}$ respectively.

• **CONCLUSION:** Regarding UHR - OCT system, the custom - developed automatic hierarchy has good repeatability and accuracy for measuring the thickness of corneal epithelium.

• **KEYWORDS:** automatic hierarchy; ultra-high resolution OCT; corneal epithelium

Citation: Xu SZ, Ye XJ, Xu Z, *et al* . Study of repeatability of corneal epithelium thickness profiles automatically measured by ultra-high resolution OCT system. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013; 13(12):2475-2478

摘要

目的:研究基于自动分层算法的超高分辨率谱域 OCT (UHR-OCT)用于角膜上皮厚度测量的重复性。

方法:使用自行搭建的 UHR-OCT 系统采集 18 例健康受试者(年龄 23.2±0.9 岁)左眼的图像,应用一种基于轴向梯度信息和最短路径的分层算法对得到的 SD-OCT 图像进行边界探测获取角膜上皮厚度。

结果:自动与手动的上皮分层的位置有很好的相关性($P > 0.05$, 配对 t 检验)。自动算法获取的 6mm 范围平均上皮厚度为 $52.1 \pm 2.1 \mu\text{m}$, 范围从 $50.3 \pm 1.8 \mu\text{m}$ 到 $53.2 \pm 2.4 \mu\text{m}$, 与手动分层之间的角膜上皮厚度差异为 $0.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 。UHR-OCT 自动算法重复测量上皮厚度的组内相关系数 ICC 和可重复性系数 CoR 分别为 0.90 ± 0.05 , $1.44 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 。

结论:对于超高分辨率 OCT,自动分层方法在角膜上皮厚度测量中有着很好的准确性和可重复性。

关键词:自动分层;超高分辨率 OCT;角膜上皮

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.12.33

引用:徐肃仲,叶欣杰,许哲,等.超高分辨率 OCT 角膜上皮厚度自动测量的重复性研究.国际眼科杂志 2013;13(12):2475-2478

0 引言

人类的角膜上皮能自我更新且高度活跃。它由 5~7 层细胞构成,中央的厚度大约是 $50 \sim 52 \mu\text{m}^{[1-3]}$ 。其厚度保持稳定,从而维持角膜的屈光力。上皮在中央 2mm 直径区平均占角膜屈光力的 1.03D,在 3.6mm 直径区占 0.85D^[2]。上皮厚度的变化可以影响角膜屈光手术的精

确性^[4]。上皮厚度的变化可能与一些特定的角膜疾病的发病机制和进展有关,例如圆锥角膜^[5]和角膜扩张^[6]。此外,角膜上皮的状态能够帮助鉴别圆锥角膜的透明边缘与变性边缘^[7]。因此,精准的活体测量上皮厚度的方法对临床诊断角膜疾病和帮助筛选角膜屈光手术的患者作用巨大。

许多成像技术已经被用来测量角膜上皮厚度,如共焦显微镜^[8],光学测量方法^[5]和超高频超声^[4]。所有这些技术都需要通过间接或直接接触角膜来测量中央角膜上皮的厚度。谱域光学相干断层扫描仪(SD-OCT)具有较高的成像速度、分辨率和灵敏度,能在非接触的情况下清晰的对角膜上皮层和前弹力层成像^[3,9,10]。因此SD-OCT高度适用于测量角膜上皮厚度。许多商业化的SD-OCT系统有着眼前节的成像功能,如Optovue RTVue(Optovue Inc., Fremont, CA, USA)^[11]和Cirrus HD-OCT(Carl Zeiss Meditec Inc., Jena, Germany)^[12]。而自行搭建的实验室SD-OCT可以获取小于5 μm 的超高分辨^[3,9,10],对角膜细微结构的成像具有更强的分辨能力。在以往的研究中,使用SD-OCT系统通过手动或半自动的方法测量中央角膜上皮厚度,其测量角膜上皮厚度的可靠性和重复性的文章已相继有过报道^[3,10]。

在这篇观察性的研究中,我们使用自行搭建的超高分辨率OCT(UHR-OCT)系统采集图像,应用自行设计的自动分层算法得到角膜上皮厚度,并研究其上皮厚度测量的准确性和重复性。

1 对象和方法

1.1 对象 这项研究经温州医学院的研究伦理办公室批准。18例健康受试者(男10例,女8例)参与了这项研究,平均年龄23.2 \pm 0.9岁。每位受试对象都已知情同意,所有实验内容符合《赫尔辛基宣言》的伦理学标准。参加本研究的受试者均无眼病史、创伤史、手术史、近期眼部用药史或配戴隐形眼镜史。使用仪器:自行搭建的UHR-OCT的系统结构和性能在我们之前发表的论文中已详细描述过^[3,10],现简述如下。该OCT使用3模块的超级发光二极管(SLD)光源,中心波长为840nm和光谱带宽为100nm,系统分辨率约为3 μm (角膜组织中)。经校准后的扫描深度为1.85mm,扫描宽度设定为8mm。UHR-OCT的获得速度为每秒24K A-线,每个B-扫描图像包括1.85mm的扫描深度(对应1365像素)和8mm的扫描宽度(对应2048像素)。

1.2 方法

1.2.1 图像处理 我们用自行开发的软件对UHR-OCT进行图像处理,该软件能自动检测角膜上皮的边界。边界的分层是基于梯度信息和最短路径搜索^[13]。梯度信息是从总体的轴向强度梯度结果中得到的。该算法采用梯度信息创建图形。图中每个像素都被分配权重值,例如大的梯度值权重小。基于优化算法的最短路径搜索动态编程技术用于检测的UHR-OCT角膜上皮的边界(图1)。正如在先前报道的使用OCT眼前段成像^[14],UHR-OCT角膜图像的处理需要校正空气-上皮界面上的光线折射引起的图像变形。我们根据斯涅耳定律提出了一种用于折射校正的方法,得到第二边界的真正位置^[14]。上皮厚度定于沿垂直于上皮第一边界方向的两界面之间的距离,用来计算角膜厚度的折射率为1.376。所有的图像处理算法,用MATLAB(Mathworks Inc., Natick, MA, USA)实现。

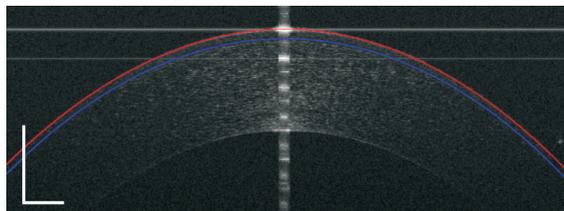


图1 使用动态规划分割出的空气-上皮界面(红线)和上皮-前弹力层界面(蓝线)。

1.2.2 实验步骤 所有被试者被要求上午7:00之前醒来。在同一周内,使用自行搭建的UHR-OCT系统分两次拍摄左眼的图像(上午10:00至下午4:00)。所有图像是由同一检查者使用同一OCT系统拍摄得到。拍摄UHR-OCT图像时,每个受试者被要求注视一个定位在右眼前面的目标。通过注视目标的运动调节左眼的注视点,达到每次图像拍摄对准的目的。为测试自动化算法的鲁棒性,采用该算法对受睫毛或因远离图像零延时线而造成低信噪比的图像进行分析。由两位作者(ZX和MS)使用ImageJ软件(NIH, Bethesda, MD, USA)对获得的18张图片进行手动分层,与自动结果进行比较,以测试算法的准确性。

统计学分析:所有的数据都是使用SPSS 17.0处理。为了详细精准的测量从鼻侧至颞侧的区域,将每个图像的角膜顶点设置为原点,在对应弦距的水平方向上,测量厚度的区域为直径6mm角膜上皮区域。为进行数据分析及计算,所有的数据沿弦距上的水平方向等间隔,间距为0.5mm。应用配对t检验研究两次测量间或者手动与自动测量间是否有统计学差异。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。为检测自行开发分层算法用于测量上皮厚度的精确性,我们使用可重复性系数(CoR)和组内相关系数(ICC)^[15]对结果进行评价。CoR的定义为对于相同受试对象的两次测量的差异的2倍标准偏差^[15]。ICC指的是个体的变异度占总的变异度的比例。

2 结果

UHR-OCT系统能够获得高分辨率的图像,应用自动分层算法可以成功识别出上皮的边界(图2A)。此算法也能应用于一些较低信噪比的图像,这些图像由于采图深度远离零延迟线而造成的低信噪比(图2B)或者睫毛产生的伪影(图2C)导致图像质量欠佳。这些图片和高质量的图像相比,上皮厚度差异小于2 μm (图2D)。应用在UHR-OCT图像的自动分层算法得到的沿水平方向的上皮厚度平均52.1 \pm 2.1(50.3 \pm 1.8~53.2 \pm 2.4) μm 。手动分层在上皮-空气界面和上皮-前弹力层界面有相近的分界位置(图3),手动和自动分层得到的上皮厚度平均差异为0.4 \pm 0.3 μm ,沿着水平经线中央直径为6mm的范围内,手动和自动分层得到的角膜上皮厚度没有明显的统计学差异($P > 0.05$,配对t检验)。使用UHR-OCT系统获得的2次重复测量结果没有显著的差异($P > 0.05$,配对t检验)。表1显示UHR-OCT沿水平方向在中心直径6mm内的CoR为1.44 \pm 0.01 μm ,ICC为0.90 \pm 0.05。

3 讨论

基于低相干干涉测量的原理,OCT能对角膜及视网膜的各层进行很好的成像。在本研究中,我们使用自行搭建的超高分辨率OCT(UHR-OCT)系统采集图像,应用自行设计的自动分层算法得到角膜上皮厚度,并研究其上皮

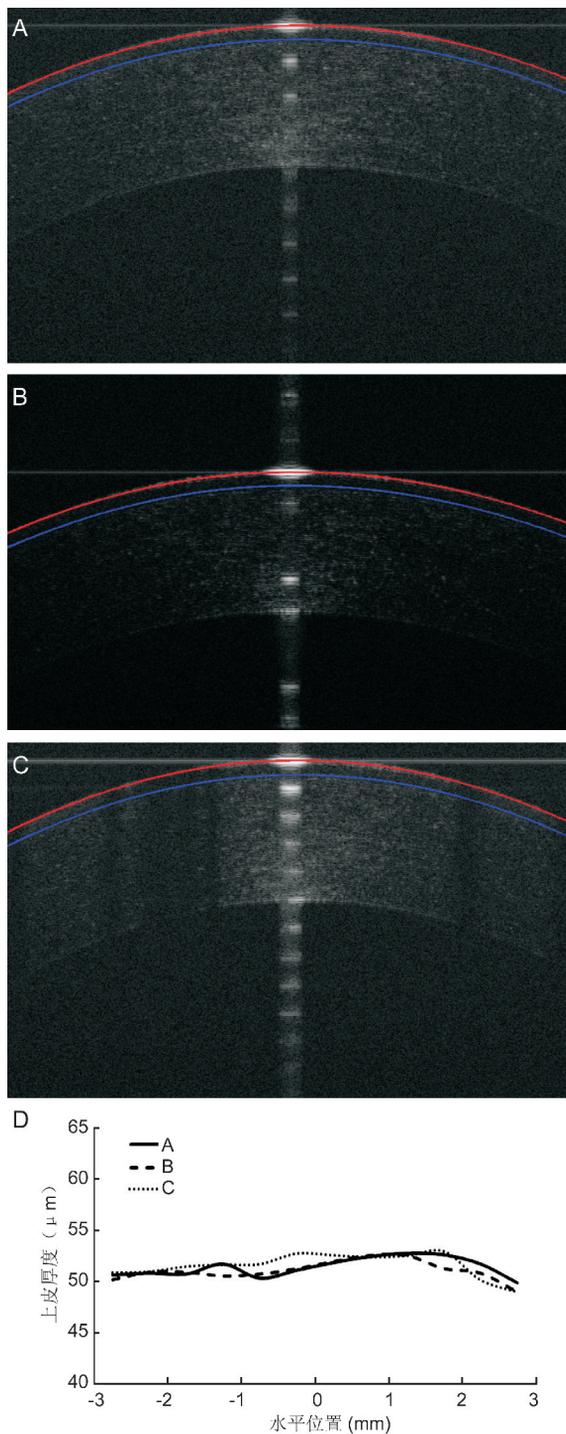


图2 应用于UHR-OCT图像的自动分层算法的可行性 A:高质量图像的分层结果;B:低信噪比质量欠佳图像的分层结果;C:有睫毛伪影图像的分层结果;D:以上三种不同质量图像得到分层结果的差异。

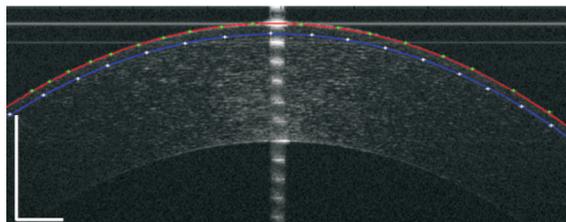


图3 手动分层与自动分层的对比。

厚度测量的准确性和重复性。UHR-OCT具有 $3\mu\text{m}$ 的超高分辨率成像功能,能够对泪膜、角膜上皮和前弹力层进

表1 两次重复测量进行自动分层得到角膜上皮厚度的可重复性

位置(mm)	组内相关系数	可重复性系数(%)	可重复性系数(μm)
-3.0	0.87	3.04	1.55
-2.5	0.85	3.11	1.61
-2.0	0.89	3.27	1.71
-1.5	0.95	2.06	1.09
-1.0	0.97	1.92	1.02
-0.5	0.96	2.23	1.19
0.5	0.96	2.41	1.28
1.0	0.95	2.73	1.44
1.5	0.91	3.08	1.61
2.0	0.87	2.83	1.46
2.5	0.82	3.24	1.65
3.0	0.84	3.27	1.64
均值	0.90	2.77	1.44
标准差	0.05	0.49	0.01

注:位置表示水平方向上与角膜中心的距离,鼻侧用负值表示,颞侧用正值表示。

行清晰成像,在我们之前的研究中已有相关报道^[9,10]。本文研究结果表明,基于UHR-OCT图像的自动分层算法能够在体精确测量人眼角膜上皮厚度,此方法将有助于提高角膜相关疾病的诊治。

在这项研究中,我们通过与手动测量方法的比较,验证基于超高分辨率OCT图像的自动分层算法测量角膜上皮厚度的准确性,这在此前无相同报道。我们比较了UHR-OCT系统和RTVueOCT系统测量的角膜上皮厚度。采用自动算法获取的上皮厚度在6mm范围内的平均值 $52.1\pm 2.1\mu\text{m}$,与手动测量得到的上皮厚度平均差异仅为 $0.4\pm 0.3\mu\text{m}$,这个结果表明自行开发的自动分层算法对角膜上皮厚度的测量具有很好的准确性,同时我们的研究实验也表明我们的算法能够对不同UHR-OCT图像质量进行处理,具有较好的稳定性。

至于测量的精度,自动分层的平均CoR为 $1.44\pm 0.01\mu\text{m}$,ICC为 0.90 ± 0.05 。Sin等^[1]的研究发现,使用手动对Cirrus HD-OCT images获得的图像进行分层,中央上皮厚度为第一和第二高峰之间的距离,此种方法也应用在许多其他的研究中^[3,16]。他们得到的角膜上皮厚度测量的CoR为 $6.5\mu\text{m}$,ICC为 0.73 ^[1]。用相同的Cirrus HD-OCT,Prakash等^[12]使用一个内置的卡尺工具软件测量上皮厚度,他们得到的CoR和ICC分别为 $4.5\mu\text{m}$ 和 0.93 ,不同观察者之间的CoR和ICC分别为 $6.5\mu\text{m}$ 和 0.87 。我们的UHR-OCT图像自动分层得到,中央角膜两侧 0.5mm 范围的CoR分别为 $1.19, 1.28\mu\text{m}$,各个位置的ICC为 0.96 。这些值都明显小于已有的报道结果^[1,12]。我们测量的角膜上皮厚度具有更好的重复性具有多方面的原因。首先,我们的OCT系统拥有超高的轴向分辨率(约 $3\mu\text{m}$),具有较好的图像质量;其次,手动测量方法可能由于主观识别产生一些错误及偏差,自动分层算法确定上皮边界能够有效减少这些误差。

此研究也有一定的局限性。首先,我们在测量上皮厚度分布来验证自动分层算法时,只应用在OCT图像的水平方向测量上。上眼睑闭合和睫毛的遮挡,会在垂直方向

上带来更多的假象,有可能影响测量精度;其次,本文只纳入18例进行分析,样本量偏少,在今后的研究中,我们将采用本文的方法通过大样本量研究圆锥角膜和屈光手术后角膜上皮厚度的改变,期望帮助临床医师圆锥角膜的诊断和手术的安全性评估。

参考文献

- 1 Sin S, Simpson TL. The repeatability of corneal and corneal epithelial thickness measurements using optical coherence tomography. *Optom Vis Sci* 2006;83(8):360-365
- 2 Simon G, Ren Q, Kervick GN, et al. Optics of the corneal epithelium. *Refract Corneal Surg* 1993;9(1):42-50
- 3 Ge L, Shen M, Tao A, et al. Automatic segmentation of the central epithelium imaged with three optical coherence tomography devices. *Eye Contact Lens* 2012;38(3):150-157
- 4 Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M. Change in epithelial thickness profile 24 hours and longitudinally for 1 year after myopic LASIK: three-dimensional display with Artemis very high-frequency digital ultrasound. *J Refract Surg* 2012;28(3):195-201
- 5 Haque S, Simpson T, Jones L. Corneal and epithelial thickness in keratoconus: a comparison of ultrasonic pachymetry, Orbscan II, and optical coherence tomography. *J Refract Surg* 2006;22(5):486-493
- 6 Padmanabhan P, Aiswaryah R, Abinaya PV. Post-LASIK keratectasia triggered by eye rubbing and treated with topography-guided ablation and collagen cross-linking--a case report. *Cornea* 2012;31(5):575-580
- 7 Camoriano GD, man-Ullah M, Purba MK, et al. Toric collagen copolymer phakic intraocular lens to correct myopic astigmatism in eyes with pellucid marginal degeneration. *J Cataract Refract Surg* 2012;38(2):256-261

- 8 Chan KY, Cheung SW, Lam AK, et al. Corneal sublayer thickness measurements with the Nidek ConfoScan 4 (z Ring). *Optom Vis Sci* 2011;88(10):1240-1244
- 9 Lian Y, Shen M, Jiang J, et al. Vertical and horizontal thickness profiles of the corneal epithelium and Bowman's layer after orthokeratology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(1):691-696
- 10 Ge L, Yuan Y, Shen M, et al. The role of axial resolution of optical coherence tomography on the measurement of corneal and epithelial thicknesses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(1):746-755
- 11 Pang CE, Vanathi M, Tan DT, et al. Evaluation of corneal epithelial healing under contact lens with Spectral-domain anterior segment optical coherence tomography (SD-OCT). *Open Ophthalmol J* 2011;5:51-54
- 12 Prakash G, Agarwal A, Mazhari AI, et al. Reliability and reproducibility of assessment of corneal epithelial thickness by fourier domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(6):2580-2585
- 13 Yang Q, Reisman CA, Wang Z, et al. Automated layer segmentation of macular OCT images using dual-scale gradient information. *Opt Express* 2010;18(20):21293-21307
- 14 Yuan Y, Chen F, Shen M, et al. Repeated measurements of the anterior segment during accommodation using long scan depth optical coherence tomography. *Eye Contact Lens* 2012;38(2):102-108
- 15 Bland JM, Altman DG. Measurement error. *BMJ* 1996;313(7059):744
- 16 Muscat S, McKay N, Parks S, et al. Repeatability and reproducibility of corneal thickness measurements by optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):1791-1795