

两种软件测量黄斑中心凹下脉络膜厚度的比较

崔晓剑^{1,2}, 李林^{1,2}, 郭疆², 靳婕², 王婧²

¹汕头大学医学院, 广东 汕头

²深圳市第二人民医院/深圳大学第一附属医院, 广东 深圳

收稿日期: 2021年10月19日; 录用日期: 2021年11月3日; 发布日期: 2021年11月22日

摘要

目的: 评估Image J软件和Cirrus-HD OCT内置软件测量脉络膜厚度的一致性和重复性。方法: 研究纳入102人204只眼, 采用增强成像技术(enhanced depth imaging, EDI), 以6.0 mm线段对黄斑部水平及垂直方向进行五线高扫描。使用EDI技术获得脉络膜全层图像后应用Image J软件及Cirrus-HD OCT内置软件分别测量黄斑中心凹下脉络膜厚度(subfoveal choroidal thickness, SFCT)后, 进行Bland-Altman分析、运用组内相关系数(intraclass correlation coefficient, ICC)及重复性系数(repeatability coefficient, Rc)比较两种软件测量脉络膜厚度结果的一致性和重复性。结果: Image J软件及Cirrus-HD OCT内置测量软件测定SFCT的结果分别为 $224.55 \pm 42.91 \mu\text{m}$ 和 $222.78 \pm 43.80 \mu\text{m}$; 两组方法学比较ICC值为0.985 ($P < 0.05$); 两种软件的一致性界限(limits of agreement, LoA)为 $-13.956 \sim 17.505 \mu\text{m}$ 。Cirrus-HD OCT内置测量软件的重复性系数为 $11.2764 \mu\text{m}$; Image J软件重复性系数为 $9.0694 \mu\text{m}$, 低于前者。结论: 两种软件对于黄斑中心凹下脉络膜厚度的测量结果有很好的一致性, 但Image J软件的重复性优于Cirrus-HD OCT内置测量软件, 因此, 在未来的临床应用或研究中, 建议使用Image J软件测量脉络膜厚度。

关键词

脉络膜厚度, 光学相干断层扫描, 一致性, Bland-Altman分析

Comparison of Subfoveal Choroidal Thickness Measured by Two Kinds of Software

Xiaojian Cui^{1,2}, Lin Li^{1,2}, Jiang Guo², Jie Jin², Jing Wang²

¹Shantou University Medical College, Shantou Guangdong

²Shenzhen Second People's Hospital/The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong

Abstract

Objective: To investigate the agreement and repeatability of choroidal thickness measurements determined by Image J software and Zeiss Cirrus HD-OCT intrinsic software. **Methods:** One hundred and two study participants (204 eyes) were enrolled in this research. Five line scanning by Cirrus-HD OCT with enhanced depth imaging (EDI) was performed on the area of fovea at the vertical and horizontal azimuth with scanning length of 6.0 mm. The subfoveal choroidal thickness was measured manually by Image J software and Cirrus-HD OCT intrinsic software. The agreement and repeatability of two kinds of software were described by Bland-Altman analysis, intraclass correlation coefficient (ICC) and repeatability coefficient (Rc). **Results:** The mean (\pm s) subfoveal choroidal thickness was $224.55 \pm 42.91 \mu\text{m}$ for Image J software and $222.78 \pm 43.80 \mu\text{m}$ for the Cirrus-HD OCT intrinsic software. The ICC of two kinds of software was 0.985 ($P < 0.05$), and the limits of agreement (LoA) were $-13.956 \sim 17.505 \mu\text{m}$. As compared with Cirrus-HD OCT software ($11.2764 \mu\text{m}$), the repeatability coefficient is lower calculated by Image J software ($9.0694 \mu\text{m}$). **Conclusion:** There was a good agreement between Image J and Cirrus-HD OCT software. The repeatability of measurement implied by Image J software was better than the Cirrus-HD OCT software. Thus, the Image J software should be used for measuring the choroidal thickness in future study.

Keywords

Choroidal Thickness, Optic Coherence Tomography, Agreement, Bland-Altman Analysis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脉络膜介于巩膜和视网膜之间,富含血管和黑色素。脉络膜厚度定义为视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)高反射线外缘至巩膜内层反射线的垂直距离。组织学上从外向内主要包括脉络膜上组织(构成脉络膜上腔)、大血管层、中血管层、脉络膜毛细血管层和 Bruch 膜,具有多种重要功能,如温度调节,血液供应等[1]。目前发现其厚度变化与糖尿病视网膜病变、近视性黄斑病变、AMD 等疾病相关,在这些疾病中发现脉络膜厚度都出现了变薄的现象[2];高度近视患者中,脉络膜厚度明显变薄,其程度与等效球镜度及后巩膜葡萄肿高度相关[3]。目前有许多研究应用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)技术及增强成像技术(EDI)扫描出高清脉络膜全层图像,并对脉络膜厚度进行测量[3] [4] [5] [6]。本研究中,我们使用 EDI 技术获得脉络膜全层图像后分别应用 Image J 软件及 Cirrus-HD OCT 内置测量软件测量黄斑中心凹下脉络膜厚度,并进行 Bland-Altman 分析、运用组内相关系数及重复性系数探讨两种软件测量脉络膜厚度的一致性和重复性[7] [8] [9],为临床研究提供参考。

2. 对象与方法

2.1. 研究对象

选取 2020 年 6 月至 2020 年 12 月在深圳市第二人民医院眼科就诊的青少年患者 102 例 204 只眼,其中男 37 例,女 65 例,年龄 7~17 岁,平均(10.97 ± 2.05)岁,等效球镜 -6.50 到 0.38 D ,平均 $-2.53 \pm 1.26 \text{ D}$ 。

纳入标准：1) 年龄 6~17 岁，最佳矫正视力 ≥ 1.0 ，配合 OCT 的检查，且眼底无明显异常者；2) 排除眼部手术外伤史，眼底病变的患者。本研究内容符合《赫尔辛基宣言》中的伦理学标准。所有患者及其监护人同意参加本研究并签署知情同意书。

2.2. 方法

一般检查：所有入选患者均采用 RM-8000B 型自动电脑验光仪(日本 Topcon 公司)进行电脑验光，然后进行主觉验光，屈光度以主觉验光度数为准。视力采用国际标准对数视力表，最佳矫正视力(BCVA)采用小数记录。常规裂隙灯显微镜检查，包括角膜、晶状体。

黄斑中心凹下脉络膜厚度的测量：采用 Cirrus HD OCT (Carl Zeiss Meditrc Inc, 型号 4000)，应用 EDI 模式，以 6 mm 线段对黄斑部水平及垂直方向进行五线高清扫描，取经黄斑中心凹 0 度的线条分析，在高清图像下观察受检者黄斑中心凹下脉络膜形态。脉络膜厚度定义为：视网膜色素上皮高反射线外缘至巩膜内层反射线的垂直距离。采用两种软件测量：1) 用 Image J 软件测量经过黄斑中心凹水平切面的中心凹下脉络膜厚度；2) 用系统自带测量工具测量经过黄斑中心凹水平切面的中心凹下脉络膜厚度。所有检查均由同一位检查者完成。参考 Bland、Altman 介绍的方法[7]，只取第一次测量值进行两种方法间的比较；同时计算每种方法的平均值及重复测量的差值，进行统计学分析。

3. 统计学分析

测量数据在适用条件方面的表现总称为数据行为(data behavior)。应用标准 Bland-Altman 方法有三个条件：一是差值的平均趋势在测量范围内保持不变，表现为图中散点分布于 x 轴平行，通过差值与均值的直线回归分析判定；二是差值的散布程度在测量范围内保持一致，表现为图中散点分布在同宽的离散带内即方差齐同，通过差值与均值直线回归分析的残差绝对值对均值的回归分析判定；三是差值的分布呈正态分布，通过直方图和正态性检验判定[10][11]。

以 SPSS20.0 统计软件做相关分析，描述同一样本两种软件测定结果的关系，用 Bland-Altman 方法及组内相关系数评价两种软件的一致性。Bland-Altman 法统计量计算需给出两种软件测量结果差值的均数和 95%波动范围，即 95%一致限(95% LoA, $x \pm 2s$)；图示以两种软件测量结果的差值为纵轴(y 轴)、两种软件测量结果的均数为横轴(x 轴)绘制散点图，并在图中用不同的线段标注出反映差值均数、0 值和 95% LoA 的横线(Bland-Altman 图)；

95% LoA 可通过计算校正后的标准差得到，公式如下图所示：

$$S_c = \sqrt{s_0^2 + \frac{1}{4}s_1^2 + \frac{1}{4}s_2^2} \quad (1)$$

$$95\%LoA = \bar{d} \pm 2S_c \quad (2)$$

Bland-Altman 法的参数估计，需将 LoA 的抽样误差考虑在内，要对 95% LoA 的 2 个限值进行置信区间估计。计算公式：

$$\bar{d} \pm 2S_c \pm t_{1-\beta/2, n-1} S_c \sqrt{\frac{3}{n}} \quad (3)$$

重复性系数通过计算每种软件两次测量结果差值的标准差获得，重复性系数既是该标准差的两倍[7]。公式如下：

$$R_c = 2S_d \quad (4)$$

S_0 代表两种软件重复测量均值之间的差值的标准差； S_1 代表 Image J 两次测量 SFCT 差值的标准差；

S_2 代表 Cirrus-HD OCT 内置测量软件两次测量 SFCT 差值的标准差; S_d 代表每种软件两次测量结果差值的标准差; \bar{d} 代表两种软件测量结果差值的平均值; n 代表每种方法中参与者的样本量。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

4. 研究结果

4.1. 两种软件测量 SFCT 的数据行为分析

从表 1 可以看到, 本组数据差值趋势保持不变, 斜率 $b = -0.021$ 与 0 的假设检验, $P > 0.05$, 即斜率与 0 的差异无统计学意义; 两种方法测量值的差值方差齐同($P > 0.05$); 同时差值的分布呈正态分布($P > 0.05$), 因此, 该组数据行为良好(well-behaved data), 满足应用 Bland-Altman 分析法的条件[10][11]。

Table 1. The data behavior measuring SFCT of two kinds of software

表 1. Image J 和 Cirrus-HD OCT 内置测量软件测量 SFCT 结果的数据行为情况

应用条件		是否满足条件
差值趋势保持不变	斜率 $b = -0.021$ $P = 0.088$	满足
方差齐同	斜率 $b = -0.007$ $P = 0.265$	满足
正态分布	偏度 0.176, 峰度 -0.656 $K-S$ 检验 $P = 0.308$	满足

4.2. 两种软件测量 SFCT 的相关分析

Image J 软件及 Cirrus-HD OCT 内置测量软件测定 SFCT 的结果分别为 $224.55 \pm 42.91 \mu\text{m}$ 和 $222.78 \pm 43.80 \mu\text{m}$; $Y = 1.006X - 3.108$; $R^2 = 0.972$, $P < 0.05$ 。见图 1。

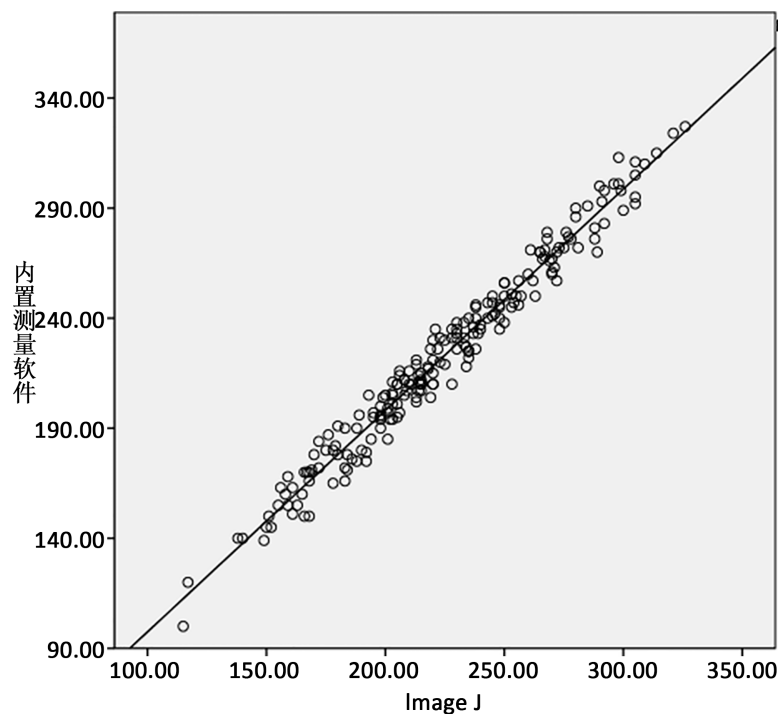


Figure 1. Scatter plot of correlation between the measurements of two different methods ($R^2 = 0.972$, $P < 0.05$)

图 1. 两种不同方法测量值之间的相关性散点图($R^2 = 0.972$, $P < 0.05$)

4.3 组内相关系数

以两种软件测量 SFCT 的结果为度量变量, 我们利用 SPSS 计算组内相关系数。两组方法学比较 ICC 值为 0.985, 95%置信区间为(0.981, 0.989)。

4.4. Bland-Altman 分析

两种软件测定差值与对应均值绘制 Bland-Altman 散点图, 以两种软件测量结果的差值为纵轴(y 轴), 两种软件测量结果的均数为横轴(x 轴)绘制散点图, 并在图中用不同的线段标注出反应差值均数、0 值和 95% LoA 的横线, 算出两种软件测量结果差值的均数为 1.775 μm , 95%波动范围($\bar{x} \pm 2s$)为-13.956 μm 到 17.505 μm 之间。图 2 显示, 两组方法学比较, 95%的 LoA 区间为约 2% (4/204)的点在 95%一致性界限以外, 在一致性界限范围内, ImgeJ 测量与内置软件测量相比, 差值的绝对值最大为 19 μm 。考虑到 LoA 的抽样误差, 我们要对 LoA 范围进行置信区间的估计。一致性上限的置信区间为 15.624~19.386 μm , 一致性下限的置信区间为-15.837~-12.075 μm , 因此一致性界限的 95%置信区间的上下界限之间为-15.837~19.386 μm 。所有的点都在该区间内, 表明两种软件之间有很好的 consistency。

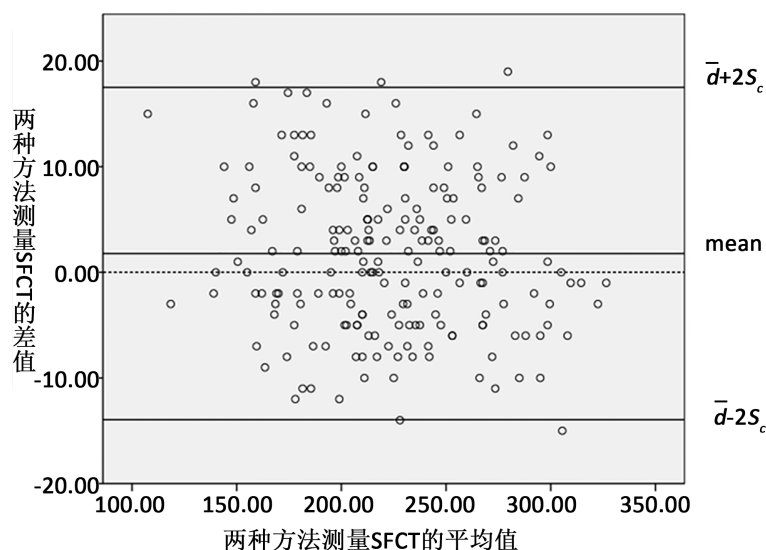


Figure 2. The Bland-Altman analysis, the graph evaluated the agreement of two different methods.

图 2. 两种不同测量方法的 Bland-Altman 分析

4.5. 重复性系数

通过公式(4)计算得出的结果, Image J 软件的重复性系数为 9.069 μm , 低于 Cirrus-HD OCT 内置测量软件的重复性系数(11.276 μm)。

5. 讨论

我们分别使用 Image J 软件和 Cirrus-HD OCT 内置测量软件进行黄斑中心凹下脉络膜厚度测量并比较两种软件测量结果的一致性和重复性。我们采用了 Bland-Altman 分析法, 结果显示一致性限度为-13.956 μm 到 17.505 μm 之间, 一致性界限的上限 95%的置信区间为 15.624~19.386 μm , 下限 95%的置信区间为-15.837~-12.075 μm , 一致性界限的 95%置信区间的上下限之间为-15.837~19.386 μm , 两种软件测量结果的差值都在该区间内; SFCT 的 ICC 值为 0.985 ($P < 0.05$), 以上结果说明两种软件之间有很高的一致性;

对于两种软件各自测量的两次结果, Image J 的重复性系数(9.0694 μm)低于内置软件(15.176 μm), 说明 Image J 的两次测量差值的离散程度比内置软件小, 重复性更好。

目前, 多种 OCT 能够测量脉络膜厚度, 如 Heidelberg Spectralis (德国 Heidelberg 公司)、Topcon3D-2000 OCT (日本 Topcon 公司)及 Zeiss Cirrus HD-OCT (德国 Carl Zeiss 公司) [3] [4] [5] [6]。Ikuno 等人评价了 SD-OCT 与 High penetration OCT 两种仪器之间测量脉络膜厚度的可重现性, 发现两种仪器测量结果有很高的可重现性[12]; Lau JK 等人则比较 SD-OCT 两次测量同一位置脉络膜厚度的重复性, 结果重复性良好[13]; 而本研究采用的是 Zeiss Cirrus HD-OCT, 使用 EDI 模式得到清楚的脉络膜图像, 并使用两种测量软件对同一张脉络膜图像测量, 发现这两种软件一致性好, Image J 软件的重复性系数(9.0694 μm)低于内置测量软件(15.176 μm), 重复性更好。Wei chen 等人使用了 SD-OCT 获取脉络膜图像, 同样比较了 Image J 软件与内置软件测量脉络膜厚度的一致性及其重复性, 他们的研究中, 一致性界限为-18.437~63.949 μm , 一致性界限的上限 95%的置信区间为 16.102 μm 到 111.796 μm , 下限 95%的置信区间为-66.29 μm 到 21.41 μm , 因此该研究认为两种方法的一致性界限 95%的置信区间过宽, 得出两种方法不具备一致性的结论, 这与该研究应用了错误的 t 值计算一致性界限上下限的 95%置信区间有关[14]; 他们的研究中 Image J 的重复性系数为 27.3525 μm , 内置软件的重复性系数为 39.919 μm , 远大于本实验的结果。

对于 Bland-Altman 分析法, 其标准的用法有着三个条件需要满足: 一是差值的平均趋势在测量范围内保持不变, 表现为图中散点分布于 x 轴平行, 通过差值与均值的直线回归分析判定; 二是差值的散布程度在测量范围内保持一致, 表现为图中散点分布在同宽的离散带内即方差齐同, 通过差值与均值直线回归分析的残差绝对值对均值的回归分析判定; 三是差值的分布呈正态分布, 通过直方图和正态性检验判定[10] [11]。但在实际中很多研究并未严格按照该标准应用[15], 本研究数据满足以上 3 个条件, 因此采用了 Bland-Altman 分析法。

目前应用 Bland-Altman 一致限 LoA 进行方法比较研究的一致性评价得到普遍认可, 但在研究中不能直接使用差值散点位于 95% LoA 两个限值之间的百分比是否大于 95%, LoA 在概念上属于统计描述的范畴, 只反映了所测量样本特征, 未涉及对总体的推断, 为进行一致性的正确评价, 需考虑 LoA 的抽样误差, 应对 LoA 范围进行置信区间估计, 即对 LoA 进行参数估计需要分别进行下限和上限的置信区间估计, 但在很多方法学比较研究中很少提供置信区间的估算[16] [17]。

总之, Image J 软件与 Cirrus-HD OCT 内置测量软件测量脉络膜厚度的一致性高, 两者间可相互替代, 但 Image J 软件的重复性较 Cirrus-HD OCT 内置测量软件好, 因此在临床应用中, 建议使用 Image J 软件测量脉络膜厚度。

我们的研究有一些限制, 对于脉络膜偏厚的情况下, 并非每个图像都能清楚地显示脉络膜 - 巩膜的边界, 这可能增加测量的误差, 需要 OCT 技术进一步的发展解决。

参考文献

- [1] Nickla, D.L. and Wallman, J. (2010) The Multifunctional Choroid. *Progress in Retinal and Eye Research*, **29**, 144-168. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.12.002>
- [2] 何吕福, 王晓华, 温旭. 脉络膜厚度研究进展[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(10): 949-954. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.10.021>
- [3] Wang, S.M., Wang, Y., Gao, X.M., et al. (2015) Choroidal Thickness and High Myopia: A Cross-Sectional Study and Meta-Analysis. *Ophthalmology*, **15**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1186/s12886-015-0059-2>
- [4] Manjunath, V., Taha, M., Fujimoto, J.G. and Duker, J.S. (2010) Choroidal Thickness in Normal Eyes Measured Using Cirrus-HD Optical Coherence Tomography. *American Journal of Ophthalmology*, **150**, 325-329. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2010.04.018>
- [5] Margolis, R. and Spaide, R.F. (2009) A Pilot Study of Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography of the

- Choroid in Normal Eyes. *American Journal of Ophthalmology*, **147**, 811-815. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.12.008>
- [6] Flores-Moreno, I., Lugo, F., Duker, J.S., *et al.* (2013) The Relationship between Axial Length and Choroidal Thickness in Eyes with High Myopia. *American Journal of Ophthalmology*, **155**, 314-319. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2012.07.015>
- [7] Bland, J.M. and Altman, D.G. (1986) Statistical Methods for Assessing Agreement between Two Methods of Clinical Measurement. *The Lancet*, **327**, 307-310. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)90837-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)90837-8)
- [8] 李镒冲, 李晓松. 两种测量方法定量测量结果的一致性评价[J]. 现代预防医学, 2007, 34(17): 3263-3266.
- [9] 方积乾, 陆盈. 现代医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 81-84.
- [10] Ludbrook, J. (2010) Confidence in Altman-Bland Plots: A Critical Review of the Method of Differences. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **37**, 143-149. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05288.x>
- [11] Wood, R.J. (2010) Bland-Altman beyond the Basics: Creating Confidence with Badly Behaved Data. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **37**, 141-142. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05320.x>
- [12] Ikuno, Y., Maruko, I., Yasuno, Y., Miura, M., Sekiryu, T., Nishida, K. and Iida, T. (2011) Reproducibility of Retinal and Choroidal Thickness Measurements in Enhanced Depth Imaging and High-Penetration Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **52**, 5536-5540. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6811>
- [13] Lau, J.K., Cheung, S.W., Collins, M.J., *et al.* (2019) Repeatability of Choroidal Thickness Measurements with Spectralis OCT Images. *BMJ Open Ophthalmology*, **4**, e000237. <https://doi.org/10.1136/bmjophth-2018-000237>
- [14] Chen, W., Wang, Z.T. and Zhang, H. (2012) Comparison of Choroidal Thickness Measured by Two Methods. *International Journal of Ophthalmology*, **5**, 348-353. <https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2012.03.19>
- [15] Berthelsen, P.G. and Nilsson, L.B. (2006) Researcher Bias and Generalization of Results in Bias and Limits of Agreement Analyses: A Commentary Based on the Review of 50 Acta Anaesthesiologica Scandinavica Papers Using the Altman—Bland Approach. *Acta Anaesthesiol Scandinavica*, **50**, 1111-1113. <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2006.01109.x>
- [16] Hamilton, C. and Stamey, J. (2007) Using Bland-Altman to Assess Agreement between Two Medical Devices—Don't Forget the Confidence Intervals. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, **21**, 331-333. <https://doi.org/10.1007/s10877-007-9092-x>
- [17] Bland, J.M. and Altman, D.G. (2003) Applying the Right Statistics: Analyses of Measurement Studies. *Ultrasound Obstet Gynecol*, **22**, 85-93. <https://doi.org/10.1002/uog.122>