

## レーザースペックル眼底循環解析装置を用いた視神経 乳頭循環測定の水素クリアランス法による評価

杉山 哲也, 戸田 恵美, 小嶋 祥太, 内海 隆, 東 郁郎

大阪医科大学眼科学教室

### 要 約

視神経乳頭末梢循環を近年開発されたレーザースペックル眼底循環解析装置により測定し、水素クリアランス法(吸入式)による組織血流量測定と比較検討した。正常白色家兎(6匹)において、二酸化炭素吸入およびエンドセリン-1全身投与により視神経乳頭血流量を増減させ、両方法による同時測定を行った。水素クリアランス法で測定した視神経乳頭組織血流量は二酸化炭素(10%)吸入により約22%増加し、エンドセリン-1( $10^{-10}$ mol/kg)静脈内投与により約19%減少した。レーザースペックル法で求めた normalized blur (NB)値と視神経乳頭組織血流量の相対値間には、有意で高い正の相関性(相関係数

0.92,  $p < 0.01$ )が認められた。この結果、今回の実験における血流量の変動幅では、視神経乳頭 NB 値の変化は視神経乳頭組織血流量の変化を反映していることが示され、レーザースペックル法を視神経乳頭循環測定に臨床応用する際の基礎的な根拠が得られた。(日眼会誌 100: 443-447, 1996)

キーワード: レーザースペックル眼底循環解析装置, Normalized blur (NB)値, 視神経乳頭, 水素クリアランス法, 組織血流量

## Comparative Measurement of Optic Nerve Head Circulation using Laser Speckle Circulation Analyser of Ocular Fundus and a Hydrogen Clearance Method

Tetsuya Sugiyama, Megumi Toda, Shota Kojima,  
Takashi Utsumi and Ikuo Azuma

Department of Ophthalmology, Osaka Medical College

### Abstract

The microcirculation in the optic nerve head (ONH) was measured using the recently developed laser speckle circulation analyser for the ocular fundus. The measurements were compared to those of the capillary blood flow (CBF) obtained by the hydrogen clearance method. The ONH blood flow was measured using both methods simultaneously in six normal albino rabbits. The blood flow was increased by inhalation of carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ) and reduced by systemic administration of endothelin-1 (ET-1). 10%  $\text{CO}_2$  inhalation showed a CBF increase of about 22% in the ONH in the hydrogen clearance method, and intravenous injection of ET-1 at  $10^{-10}$  mol/kg decreased the reading by about 19%. A significant correlation ( $r=0.92$ ,  $p < 0.01$ ) was found

between the relative values of NB (Normalized blur, by laser speckle method) and CBF in the ONH. This result indicates that the change of NB in the ONH shares the same accuracy as hydrogen clearance method within the range of our present experiment. This study provides a fundamental basis for the clinical application of the laser speckle method in measuring ONH circulation. (J Jpn Ophthalmol Soc 100: 443-447, 1996)

Key words: Laser speckle circulation analyser of ocular fundus, Normalized blur, Optic nerve head, Hydrogen clearance method, Capillary blood flow

別刷請求先: 569 大阪府高槻市大学町2-7 大阪医科大学眼科学教室 杉山 哲也  
(平成7年10月17日受付, 平成8年1月23日改訂受理)

Reprint requests to: Tetsuya Sugiyama, M.D. Department of Ophthalmology, Osaka Medical College,  
2-7 Daigaku-cho, Takatsuki-shi, Osaka-fu 569, Japan

(Received October 17, 1995 and accepted in revised form, January 23, 1996)

## I 緒 言

近年、視神経乳頭および脈絡膜末梢循環動態の非侵襲的解析法として、レーザースペックル法を利用した解析装置が開発され<sup>1)~3)</sup>、一部で臨床応用も開始されている<sup>4)</sup>。レーザースペックル法による normalized blur (NB) 値とは、眼底に照射され、散乱したレーザー光が干渉し合っ形成されるスペックルパターンのぶれを表す値で、本来、血流速度の指標と考えられている<sup>2)</sup>。脈絡膜については動物実験で NB 値が colored microsphere 法によって求めた組織血流量と正の相関関係にあることが明らかにされている<sup>3)</sup>が、視神経乳頭については他の血流測定法による測定値との相関性に関してこれまで報告されておらず、NB 値の定量性や意義についての検討は十分とはいえない。今回我々は、視神経乳頭において、水素クリアランス法によって求められる組織血流量とレーザースペックル法によって得られる NB 値の相関性について検討するため、白色家兎を対象とし、視神経乳頭血流量が増減する条件下で両方法の同時測定を行ったところ、興味ある結果を得たので報告する。

## II 実験方法

実験動物として、眼底検査で異常を認めないことを確認した成熟白色家兎 6 匹 6 眼 (体重 2.6, 2.85, 2.9, 3.1, 3.05, 3.15 kg) を用いた。全身麻酔薬としてウレタン 1.0 g/kg を腹腔内投与し、約 2 時間後の安定した麻酔深度下で実験を行った。

水素クリアランス法による視神経乳頭組織血流量の測定には電解式 (吸入式) 組織血流計 (RBF-222, バイオメディカルサイエンス社) を用いた。使用した関電極は直径 200  $\mu\text{m}$  の針状白金電極 (1 本電極, ステンレスパイプ:



図1 視神経乳頭に刺入した針状関電極とレーザースペックル法による解析部位。  
関電極を刺入した部位と隣接し、かつ表に血管のない部位 (四角) をレーザースペックル法で解析した。

BE-NS 450-30, バイオメディカルサイエンス社) である。ミドリリン P<sup>®</sup> (参天製薬) によって散瞳させ、制御糸により眼球をやや上転位に軽く固定した状態で、関電極を毛様体偏平部 (輪部から 3 mm 後極側) から硝子体中に挿入し、ビトレクトミー用レンズを用いた直視下で視神経乳頭の下側周辺部 (図 1) に血管を損傷しないよう注意しつつ、浅く刺入した。なお、実験終了後、致死量のペントバルビタールナトリウム (ネンプタル<sup>®</sup>) 静注により屠殺して眼球摘出し、電極刺入部を光学的顕微鏡 (ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色) で組織学的に検討し、比較的表層に留まっていることを確認した。また、不関電極は頭部皮下に埋没した。自発呼吸下で吸入用マスクにより 10% 水素 (残りは空気) を流量 5~6 l/分 で 5 分間吸入させた後、吸入を停止し、その際に得られる水素濃度のクリアランス曲線からコンピューターにより半減期を求め、組織血流量を算出した。

一方、レーザースペックル法による眼底循環解析装置としては laser speckle circulation analyser-II (LSCA-II, 藤居ら)<sup>2)</sup> を用い、測定部位は視神経乳頭の表に血管のない部位のうち、水素クリアランス法の電極刺入部と隣接する 0.42×0.42 mm (画角 30°) の領域 (図 1) を選んで固定し、100×100 画素全体の NB 値の平均値を測定値として用いた。なお、LSCA-II では 98 フレーム分の画像がメモリー記録され、これをマイクロコンピューターで解析するが、ある画素の NB 値は次式により定義される<sup>2)</sup>。

$$NB = I \text{ mean} / D \text{ mean}$$

(I mean: その画素における反射光量レベルの 98 フレーム分の平均値, D mean: その画素における反射光量レベルと I mean との偏差の絶対値の 98 フレーム分の平均値)

血流速度が高いほど、パターンのぶれが速くなり、D mean が小さくなる結果、NB 値は大きくなると考えられる。

水素クリアランス法による組織血流量、レーザースペックル法による NB 値の測定をそれぞれ 3 回 (15 分

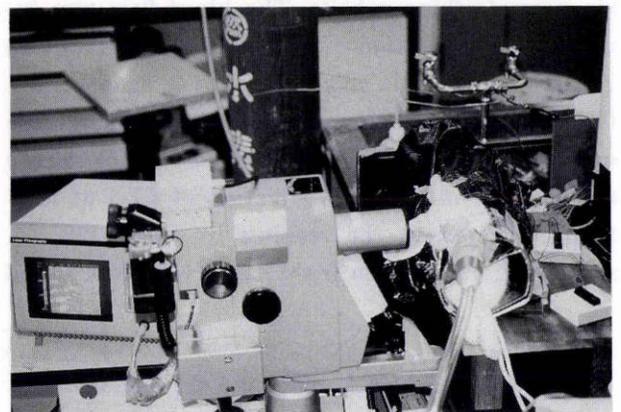


図2 水素クリアランス法とレーザースペックル法による同時測定を行っている概観。

表1 視神経乳頭組織血流量の変化

	A	B	C	D	E	F	平均値±標準偏差
処置前	52.2	45.2	54.4	62.5	52.6	42.3	52.4±7.5
CO <sub>2</sub> 吸入直後	67.3	59.6	66.3	76.6	61.6	53.1	64.1±8.0 (1.22)
15分後	60.7	53.1	64.0	70.9	56.9	46.3	58.7±8.6 (1.12)
30分後	57.5	48.2	58.1	64.0	55.4	37.8	53.5±9.2 (1.02)
ET-1投与15分後	41.3	40.4	39.5	55.5	45.0	34.3	42.7±7.2 (0.81)
30分後	47.6	39.7	37.3	56.6	44.2	38.8	44.0±7.2 (0.84)

A～Fは別個体を示す。括弧内は、各時点での平均値の処置前の平均値に対する相対値を示す(以下、同じ)。単位は ml/min/100 g. ET-1: エンドセリン-1

表2 視神経乳頭 normalized blur (NB)値の変化

	A	B	C	D	E	F	平均値±標準偏差
処置前	10.8	13.8	8.0	9.2	8.2	10.2	10.0±2.1
CO <sub>2</sub> 吸入直後	14.4	19.2	12.0	11.6	10.4	11.2	13.1±3.3 (1.31)
15分後	12.2	18.0	10.2	9.8	9.2	10.6	11.7±3.3 (1.17)
30分後	11.8	14.6	7.4	8.8	7.8	9.6	10.0±2.7 (1.00)
ET-1投与15分後	7.4	10.2	5.8	7.8	7.4	8.2	7.8±1.4 (0.78)
30分後	8.4	11.8	5.4	8.2	6.8	8.4	8.2±2.1 (0.82)

表1を参照。

毎)と5回(5分毎)行って、いずれもがほぼ安定していることを確認し、それらの平均値を処置前の測定値とした(この処置前の測定から、各個体毎にそれぞれの測定法の変動係数を算出した)。10% 二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)を吸入用マスクにより5分間吸入させた直後、15分後、30分後に両方法による同時測定を行った(図2)。なお、水素クリアランス法は1回の測定に10分前後を要するため、各々1回の測定値そのままを、レーザースペックル法は各々5回測定の平均値を各々の時間における測定値とした(以下、同様)。

その後、水素クリアランス法による組織血流量がほぼ元のレベルに戻っていることを確認した上で、エンドセリン-1(ET-1, 10<sup>-10</sup>mol/kg)を耳静脈内に投与し、15分後と30分後に両方法による同時測定を行った。

### III 結 果

今回の実験における視神経乳頭組織血流量、NB値の再現性の指標として、変動係数(標準偏差/平均値×100%)を処置前の各個体毎に求めたところ、前者は3.3, 5.1, 4.4, 5.4, 3.4, 5.4(平均4.5%)、後者は12.0, 5.9, 8.8, 4.3, 9.8, 3.9(平均7.5%)となった。

水素クリアランス法による組織血流量の変化は表1のごとくで、CO<sub>2</sub>吸入直後に平均22%の増加を認めたが、30分後にはほぼ投与前の値に戻った。また、ET-1静注後は減少し、15分後に平均19%、30分後に平均16%の減少率であった。

レーザースペックル法によるNB値の変化は表2のごとくで、CO<sub>2</sub>吸入直後に平均31%の増加を認めたが、

30分後にはほぼ投与前の値に戻った。また、ET-1静注後は減少し、15分後には平均22%、30分後に平均18%の減少率であった。

組織血流量とNB値との相関性について検討したところ、図3のごとく、有意の正の相関を認めた(相関係数0.38, p<0.05)。一方、各個体毎に処置前の平均値を1として両者の相対値(相対的組織血流量と相対的NB値)を求め、相対値同士の相関性について検討したところ、図

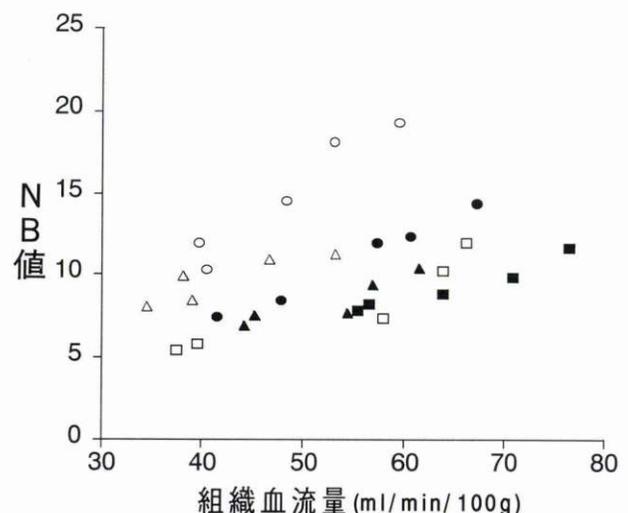


図3 視神経乳頭における組織血流量と normalized blur (NB)値の関係。

同じシンボルは同一個体でのデータであることを示す(●: A, ○: B, □: C, ■: D, ▲: E, △: F. 以下、同じ)。両者の間に有意な正の相関を認める(相関係数  $r=0.38$ ,  $p<0.05$ )。

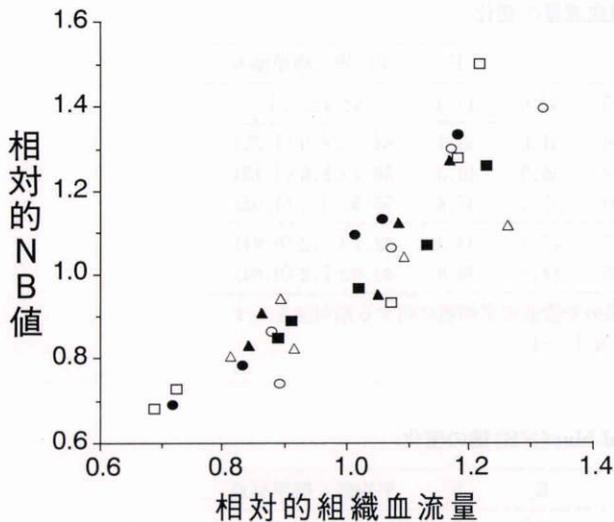


図4 視神経乳頭における相対的組織血流量と相対的NB値の関係。

両者の間に有意で高い正の相関を認める(相関係数  $r=0.92, p<0.01$ )。

4のごとく、有意で高い正の相関(相関係数0.92,  $p<0.01$ )を認めた。

#### IV 考 按

レーザースペックル法による眼底循環解析装置は一部で臨床応用されつつあり<sup>4)</sup>、今後、種々の眼疾患や治療と測定値などとの関連性について研究が進められていくものと考えられるが、その定量性や意義についての検討は未だ十分とはいえない。特に視神経乳頭循環については、レーザースペックル法による測定値と他の血流測定法による測定値との相関などに関して直接的に検討した報告は現在のところ見当たらない。本研究は視神経乳頭循環をレーザースペックル法と水素クリアランス法により同時測定し、比較検討した初めての報告である。

今回用いた吸入式水素クリアランス法は代表的な組織血流量測定法で、その定量性についてもいくつかの報告<sup>5)6)</sup>がある。さらに、細い電極を用いることによって狭い領域の測定も可能であることから、視神経乳頭組織血流量の測定にも適しており、それについての報告<sup>7)~9)</sup>も散見される。電極刺入による侵襲が避けられないため、現状では眼科臨床に应用するのは無理があるが、基礎実験において組織血流量とその変化を捕える方法として、信頼性は高いと思われる。なお、今回の実験における水素クリアランス法、レーザースペックル法の変動係数は各々4.5%、7.5%で、いずれも比較的高い再現性を認めた。

本実験では、視神経乳頭組織血流量を増やすため、二酸化炭素(10% CO<sub>2</sub>)を吸入させた。動脈血CO<sub>2</sub>分圧の上昇や吸入によって脳血流量、網膜や脈絡膜の血流量が増加すると報告<sup>10)~16)</sup>されている。すなわち、ヒトの脳血流量は5~7% CO<sub>2</sub>吸入により75%増加し<sup>11)</sup>、家兎の脈絡膜

では10% CO<sub>2</sub>吸入により約10%増加した<sup>16)</sup>との報告がある。今回の結果から、視神経乳頭では平均22%の増加で、脳血流(ヒト)よりは少ないが、脈絡膜血流よりは多い増加を示すことが明らかになった。吸入直後が最大で、以後、元に戻る傾向を示したのは、脈絡膜でCO<sub>2</sub>吸入後、時間経過に伴う増加は認めなかったという報告<sup>16)</sup>と合致する。

一方、組織血流量を減らすため、エンドセリン-1(ET-1)を静脈内投与した。ET-1投与(局所および全身)によって視神経乳頭や脈絡膜の組織血流量が有意に減少することは既に報告<sup>17)~20)</sup>されている。今回全身投与としたのは、局所投与(硝子体内投与)という操作そのものがレーザースペックル法による測定に影響を及ぼす可能性を懸念したためである。今回のET-1の投与量は、血圧などの全身循環に大きな変化を生じないことを既報<sup>17)20)</sup>によって確認済みの量であり、今回の結果における平均19%の減少は、その際の我々の報告<sup>17)20)</sup>における減少率(約20%)とほぼ同じであった。

今回の検討の結果、視神経乳頭におけるNB値と組織血流量とは有意な正の相関を認め、特に相対的NB値と相対的組織血流量との間には有意で高い正の相関を認めた。したがって、少なくとも今回の変化率の範囲においては、視神経乳頭NB値の変化は組織血流量の変化を反映しているといえ、脈絡膜NB値についての報告<sup>3)</sup>とも合致していた。

以上、視神経乳頭におけるNB値(相対的NB値)は組織血流量の指標と考えてもよいことが水素クリアランス法を用いた検討により明らかにされ、今後の視神経乳頭末梢循環についての臨床研究に重要な基礎的根拠が得られた。

稿を終えるに当たり、九州工業大学情報工学部藤居 仁教授のご指導ならびに中村眼科中村隆平先生のご援助に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 玉置泰裕, 川本英三, 江口秀一郎, 新家 真, 藤居 仁: レーザースペックル現象を利用した視神経乳頭末梢循環の生体用二次元解析機の開発. 日眼会誌 97: 501-508, 1993.
- 2) 玉置泰裕, 川本英三, 江口秀一郎, 新家 真, 藤居 仁: レーザースペックル現象を利用した脈絡膜末梢循環の生体用二次元解析機の開発. 日眼会誌 97: 602-609, 1993.
- 3) 玉置泰裕, 川本英三, 新家 真, 江口秀一郎, 藤居 仁: レーザースペックル現象を利用した視神経乳頭および脈絡膜末梢循環の血流測定—指標 normalized blur の定量性について—. 日眼会誌 98: 162-168, 1994.
- 4) 玉置泰裕, 富田 憲, 新家 真, 永原 幸, 富所敦男, 小西直樹, 他: レーザースペックル現象を利用した人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流連続測定機の試作. 日眼会誌 99: 601-606, 1995.
- 5) Auckland K, Bower BF, Berliner RW: Measure-

- ment of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res* 14: 164—187, 1964.
- 6) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 充信, 間中信也, 平川公義, 佐野圭司: 水素クリアランスによる脳局所血流量の測定—方法および Venous Out Flow 法との相関—. *脳神経* 30: 47—54, 1978.
  - 7) Ernest JT: Optic disc blood flow. *Trans Ophthalmol Soc UK* 96: 348—351, 1976.
  - 8) Kimura Y, Nitta A, Takayama H, Shimizu R: The effect of raised intraocular pressures on blood flow in the optic nerve head in monkeys. *Chibret Int J Ophthalmol* 5: 24—31, 1987.
  - 9) 八田史郎: 眼圧が白色家兎視神経乳頭に及ぼす影響. *日眼会誌* 97: 181—189, 1993.
  - 10) Revich M: Arterial  $P_{CO_2}$  and cerebral hemodynamics. *Am J Physiol* 206: 25—35, 1964.
  - 11) 後藤文男, 海老原進一郎: 脳循環—とくに化学的調節機序と autoregulation をめぐる問題—. *臨床生理* 1: 317—325, 1971.
  - 12) Frayser R, Hickam JB: Retinal vascular response in breathing increased carbon dioxide and oxygen concentrations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 3: 427—431, 1964.
  - 13) Trokel S: Effects of respiratory gases upon choroidal hemodynamics. *Arch Ophthalmol* 73: 838—842, 1965.
  - 14) Friedman E, Chandra S: Choroidal blood flow. III. Effects of oxygen and carbon dioxide. *Arch Ophthalmol* 87: 70—71, 1972.
  - 15) Alm A, Bill A: The oxygen supply to the retina. II. Effects of high intraocular pressure and of increased arterial carbon dioxide tension on uveal and retinal blood flow in cats. *Acta Physiol Scand* 84: 306—319, 1972.
  - 16) 栗本清伸: 脈絡膜循環に及ぼすガスの影響—第2報. 炭酸ガスの影響—. *眼紀* 46: 399—402, 1995.
  - 17) 杉山哲也, 奥 英弘, 守屋伸一, 清水一弘, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン-1の眼循環に及ぼす影響. *日眼会誌* 97: 678—682, 1993.
  - 18) 浪川雄一, 堀内二彦, 高橋寧子: 眼循環の研究—エンドセリンの脈絡膜血流量に与える影響—. *眼紀* 44: 406—410, 1993.
  - 19) 岡田大造: エンドセリンの脈絡膜循環に及ぼす影響. 第1報. 全身投与による影響. *眼紀* 45: 143—147, 1994.
  - 20) Sugiyama T, Moriya S, Oku H, Azuma I: Association of endothelin-1 with normal tension glaucoma—Clinical and fundamental studies—. *Surv Ophthalmol* 39 (Suppl): S49—S56, 1995.