

アルゴンレーザーを光源に用いた高速度蛍光眼底撮影

櫻井 寿也¹⁾, 生野 俊樹¹⁾, 魚里 博¹⁾
原 嘉昭¹⁾, 西信 元嗣¹⁾, 高須 正行²⁾¹⁾奈良県立医科大学眼科学教室, ²⁾株式会社トプコン

要 約

アルゴンレーザーを光源とし、高速度高感度カメラを使用した新しい蛍光眼底撮影システムを開発した。この装置は蛍光眼底カメラに高速度カメラ、高速度動作記録装置とアルゴンレーザーを接続し、撮影速度は毎秒200フレームである。アルゴンレーザーを光源に用いた場合、通常の照明よりも低照度で高速度蛍光眼底撮影が可能で

あった。今回のシステムは、網膜血管内の蛍光色素先端部が決定できることから、網膜血管血流速度比の測定に有用であると考えられた。(日眼会誌 102:295—299, 1998)

キーワード：蛍光眼底撮影, アルゴンレーザー, 網膜血流

High-speed Recording of Fluorescein Fundus Angiography Using an Argon Laser as the Illumination Source

Toshiya Sakurai¹⁾, Toshiki Ikuno¹⁾, Hiroshi Uozato¹⁾, Yoshiaki Hara¹⁾,
Mototsugu Saishin¹⁾ and Masayuki Takasu²⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Nara Medical University, ²⁾Topcon Corporation

Abstract

We constructed a new fluorescein fundus angiography system using a speedy and sensitive fundus camera and an argon laser apparatus as the illumination source. The system consists of a fluorescein fundus camera, a high-speed camera, a digital recorder, an argon laser apparatus, and a cathode ray tube (CRT) monitor. The frame speed was 200 frames/s. It was possible to record high speed fluorescein angiography with lower illumination by us-

ing an argon laser as the illumination source. This system allowed us to measure the rate of blood flow in the retinal vessels because it easily detected the dye front in the retinal vessels. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 295—299, 1998)

Key words: Fluorescein angiography, Argon laser, Retinal blood flow

I 緒 言

網膜血流を測定する方法にはさまざまな報告があり、また臨床応用が試みられている^{1)~10)}。これらの方法のうち、蛍光眼底撮影法は広範囲の網膜血流動態が同時に観察できることから、一度の検査で網膜中心動脈の網膜内第1分枝から第2、第3分枝の各細動脈の網膜血流動態の評価も可能である。しかし、この方法の最大の欠点は、蛍光色素の先端部の同定ができないことである。この点を改善する目的で、我々は通常の蛍光眼底撮影(以下、FAG)を高速度で行い、網膜動脈血流について多くの情報が得られることを報告¹¹⁾¹²⁾してきた。これはまず、1秒

間に数多くの画像を撮影することにより前述の欠点を補えるものと考えた。しかし、高速度撮影を行うには撮影時に過剰の光量が必要となり、新たな問題が発生した。FAGにおいて光量を上げると、画質の低下から測定精度の妨げとなる。また、被検者への苦痛も増大し、延いては網膜光障害も起こしかねない。そこで、今回はFAGの原理から励起効率を向上させ、全体的な撮影光量を減少させる目的からレーザーの波長特性を利用し、488 nmのアルゴンレーザーを光源に用いることを考案した。アルゴンレーザーは走査型レーザー検眼鏡(以下、SLO)におけるFAGの光源として使用され、網膜黄斑部毛細血管の血流測定に応用されている¹⁰⁾¹³⁾。ただ、SLOを用いた場

別刷請求先：634-0813 奈良県橿原市四条町 840 奈良県立医科大学眼科学教室 櫻井 寿也
(平成9年9月4日受付, 平成9年12月8日改訂受理)

Reprint requests to: Toshiya Sakurai, M.D. Department of Ophthalmology, Nara Medical University, 840 Shijo-cho, Kashihara-shi, Nara-ken 634-0813, Japan

(Received September 4, 1997 and accepted in revised form December 8, 1997)

合,単位時間当たりの撮影画像数が限られ静止画像の解像度が良くないので,網膜主幹動脈の血流測定には適当ではない.光源の照明方法はSLOではスキャン(走査)方式であるが,従来型ハロゲンランプと同様にリング(均一)照明方式を用いた.今回の実験では,アルゴンレーザーを光源に用いた高速度のFAGの際に,従来の光源に比べ光量がどのように変化するかを検討した.

II 実験方法

1. 装置

本装置全体の系統図を示す.市販の蛍光眼底カメラ(TRC-50 X, トプコン社, 図1 A)の光源をハロゲンランプからアルゴンレーザー(図1 G)に変えた.蛍光眼底撮影の際,励起光をアルゴンレーザー 488 nm の単一波長とし,濾過フィルターは520~530 nm にピークを有するトプコン社眼底カメラの干渉フィルターを利用した.記録したデータは画像解析装置(IMAGEnet, トプコン社)を用いて解析した.今回の装置は蛍光眼底カメラの本体部分にリレーレンズ(1 インチ TV カメラ用)(図1 B)を介して高速度カメラ(HAS-200 R, 菱光社)(図1 C)を接続した.撮影した画像はいったん高速度動作記録装置(高速画像メモリーボード, 菱光社)(図1 D)にデジタル記録される.同時にアナログ像を保存目的のため,S-VHS ビデオテープレコーダー(図1 E)で録画した.撮影中の映像はTV モニター(図1 F)によって監視される.また撮影時,光量を測定する目的で,眼底カメラの対物レンズから角膜面に相当する距離でパワーメーター(オプチカルパワーメーター TQ 8210, アドバンテスト社)(図2)を用い,光源がアルゴンレーザーの場合とハロゲンランプの場合でそれぞれ照光量に相当する出力を測定した.今回用いた高速度カメラは,水平 504 画素,垂直 242 画素を有し,撮影速度は200 フレーム/秒の取り込みを可能とする.一方,高速度動作記録装置は最大記録量 1,536 画像である.この両者を組み合わせた性能は,例えば10 ルックス程度の低照度下でも200/秒の録画ができる程度である.今回の実験では,デジタル画像を画像解析装置を用いて解析した.さらに,画像の管理保存目的でアナログ出力(S-VHS ビデオ)を併用した.使用した画像解析装置は水平 512 画素,垂直 512 画素,白黒濃淡度の輝度解析は256 階調である.血流速度は蛍光色素先端部を完全に同定するには難しいので,より客観的な指標として8ビット256 階調の中間値が得られる場所を求めて測定した.

2. 予備実験

まず,模型眼を対象として撮影条件を決定するため予備実験を行った.模型眼の眼底に相当する部分に内径0.6 mm の塩化ビニール樹脂製チューブを通し,チューブに蛍光色素が流入する様子を撮影した.2種類の光源,すなわちアルゴンレーザーの場合とハロゲンランプの場合,双方で同一条件による高速度のFAGを行い,同時に

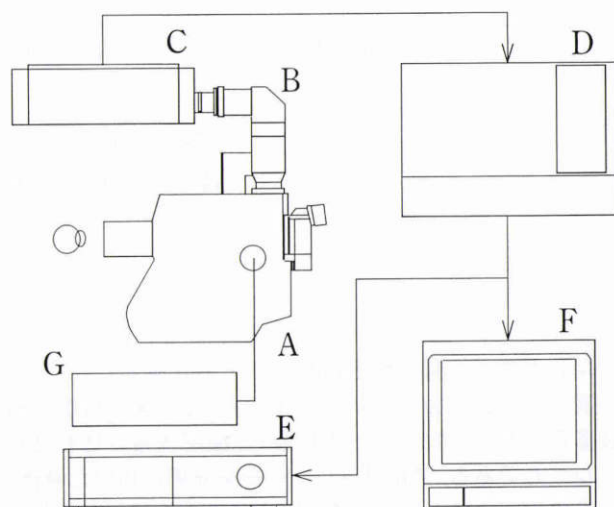


図1 系統図.

A: 蛍光眼底カメラ B: リレーレンズ
C: 高速度カメラ D: 高速度動作記録装置
E: S-VHS ビデオテープレコーダー F: TV モニター
G: アルゴンレーザー

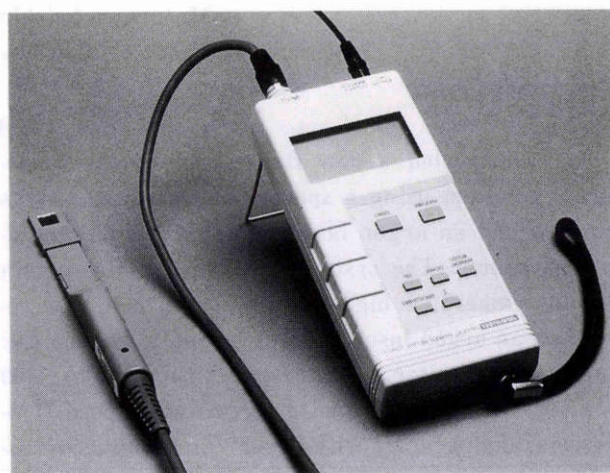


図2 パワーメーター.

撮影時の光量を測定した.高速カメラの撮影速度は200 フレーム/秒,撮影画角35度とした.両者の撮影光量測定時の画像比較は,チューブ内を流れる蛍光色素先端部を画像解析装置を用い,8ビット256階調の中間値128の輝度が得られる画像を参考にした.

3. 有色家兎の実験

対象は,成熟有色家兎2匹2眼を用いた.有色家兎の麻酔には塩酸ケタミン(ケタラール®)10 mg/kg とキシラジン塩酸塩(セラクタール®)4 mg/kg を筋注した.蛍光色素は10%フルオレセインナトリウム(フルオレサイト®)7 mg/kg を使用し,予め確保した耳介静脈に直接蛍光色素の入った注射器を接続し色素を注入した.アルゴンレーザー光源の出力は予備実験から得られた結果を基に0.3 mW に設定,撮影速度は毎秒200 フレーム,撮影画角は35度,撮影時間は蛍光物質が視神経乳頭に出現後

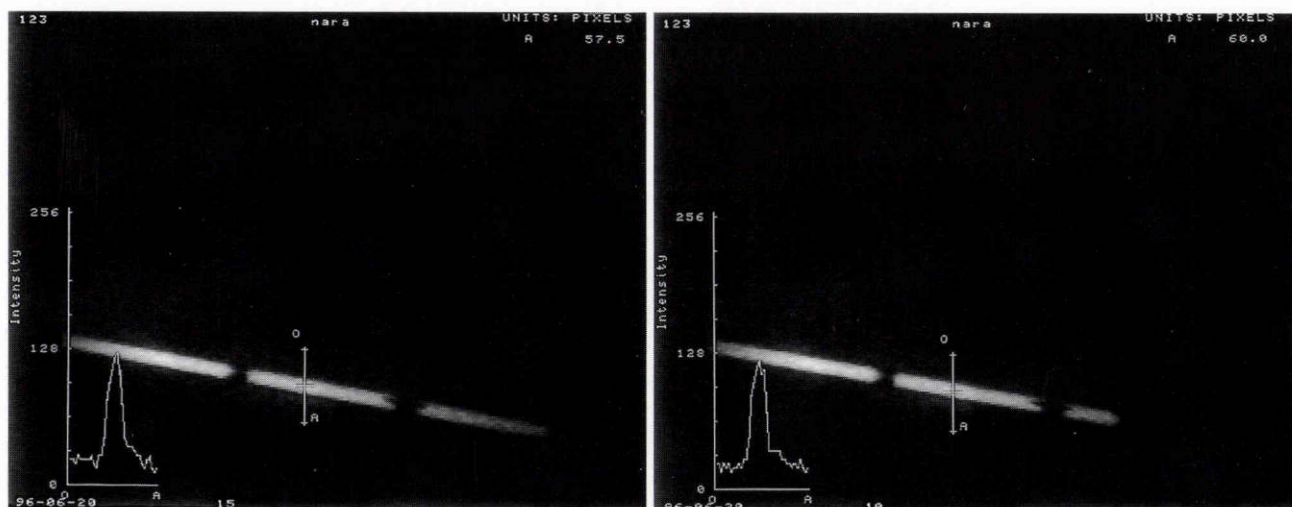


図3 チューブの中を流れる蛍光色素.

左：アルゴンレーザー光源使用, 右：従来型ハロゲンランプ光源使用

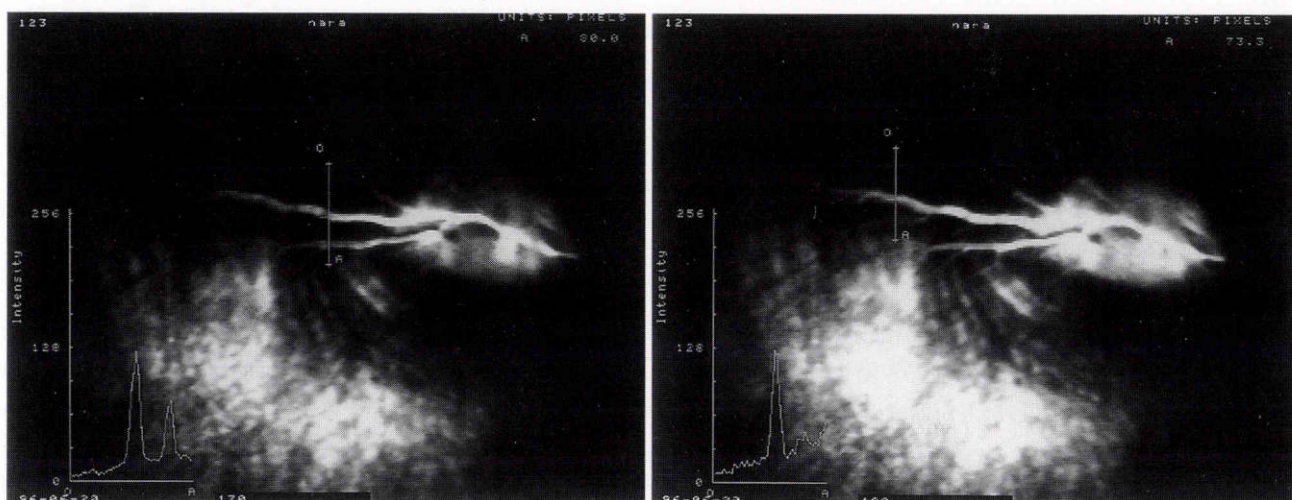


図4 有色家兎における蛍光眼底撮影像.

図中の緑色の直線により輝度値を測定し、蛍光色素先端部を決定.

2つの画像には0.1秒間の時間差があり、その間の先端部の移動距離が得られる.

約2秒間とした。得られた画像から、画像解析装置に1フレームごとに再生し、網膜動脈内を進行する蛍光色素の輝度値から色素先端部を決定した。今回の蛍光色素先端部は、完全に同定するには難しいため輝度値を一定に設定し、先端部の同定を客観的なものとし、8ビット256階調の中間値128の輝度が得られる場所とした。また、予備実験同様に高速度の有色家兎FAGの際に光量を測定した。

III 結 果

1. 装 置

アルゴンレーザーを光源に用いた今回の装置により、高速度でのFAGが可能であった。高速度動作記録装置の最大記憶容量は1,536画像で、単位時間の記憶容量と記録時間の積は一定となる。ただ、最大記憶容量を超えて入力したときは、記録がいわゆる上書きされるので単位

時間記録容量を考慮し、撮影時間を設定するのは比較的容易であった。

2. 予 備 実 験

模型眼のチューブを流れる蛍光色素の像を図3に示す。図3左がアルゴンレーザー、右がハロゲンランプをそれぞれ光源に用いた画像である。輝度測定用の縦の緑色線で蛍光色素先端部と思われる部位の輝度値を測定し、それぞれ128の値を表示した場所である。アルゴンレーザーを光源に用いた今回の装置において、高速度のFAGが可能であった。また、このように模型眼における2種類の光源で、高速度のFAGを行う場合に必要な光量に相当する出力を表1に示す。

3. 家 兎

アルゴンレーザーを光源に用いた場合の高速度蛍光眼底撮影像を図4に示す。視神経乳頭に蛍光色素が出現して血管内を蛍光色素の先端が進行する状態を図4に示

表1 2種類の光量測定結果

	アルゴンレーザー	従来型ハロゲンランプ
模型眼	1.1	1.5
有色家兎	1.5	3.0

単位: mW

す。画像は200フレーム毎秒で高速度動作記録装置にデジタル録画した。蛍光色素の先端部は輝度測定線で輝度値128の部位とし、図中に示した(図4縦の緑色線)。2つの画像には0.1秒間の時間差があり、先端部の移動距離から速度を算出すると、家兎Aの蛍光色素の平均移動速度は9.73 mm/秒、家兎Bは14.1 mm/秒であった。今回の蛍光色素先端部は256階調の中間値である128の輝度値とし、先端部の輝度値の測定は画像の1画素ごとに施行した。縦の緑色線が輝度測定線である。また、有色家兎において2種類の光源を用いて高速度撮影を行う際に必要な出力を表1に示す。

IV 考 按

今回の装置により、予備実験および有色家兎の実験から、アルゴンレーザーを光源使用したFAGの高速度撮影が可能であった。また、FAGの高速度撮影時にアルゴンレーザーを光源に用いることで、従来型のものよりも少ない光量での撮影が可能であった。これはレーザーの波長特性を生かし、FAGの効率化がはかれたためである。したがって、高速度でFAGを行う場合には、光源をアルゴンレーザーで使用した方が効率の良い撮影方法の1つであると考えられる。

網膜血管は生体内で唯一、非観血的に血管性状を観察することが可能である。網膜循環測定は、主にレーザードップラー法^{2)~4)}、レーザースペックル法^{5)~7)}などさまざまな測定方法が研究されている。これらの方法では、①血流速度算出が容易、②非侵襲、③繰り返し測定可能であるなどの特徴を有している。しかし、これらは一度の検査で測定範囲が限られるため、多地点の情報を同時に測定することはできない。それに対し、我々の方法は複雑な原理を必要とせず、一度の検査で同時に複数点の情報が得られる特性を有する。このため、FAGを利用し、高速度で撮影を行う方法を試みてきた。ただし、高速度カメラの性質上、撮影には過剰な光量を必要とし、光量が少ないと撮影画像の画質の低下を招くという問題をかかえている。また、光量を上げると、被検者への影響が大きく、撮影条件(開眼状態、固視など)が悪化し、結果的に画質の低下を招くことにもなる。測定する対象に応じた光量と画質のバランスをとる必要があった。そこで、我々はアルゴンレーザーを光源に用いた装置を使用し、高速度のFAGを試みた。蛍光色素の先端部の同定は、我々の手法では完全なものではない。しかし、先端部の輝度を数値化し、測定を簡便なものとするため、中間値128を代表値とした

方法は客観性を有している。網膜動脈血管中の蛍光色素先端部をより明確にするには、色素を動脈内注入することも考えられるが、生体人眼への使用を目標としているため、できる限り通常の蛍光眼底撮影に近いものとするため、色素は静脈内注入とした。また、測定結果については今回の手法が試作の段階であることから、過去のFAGによる結果や他の手法による結果とは比較検討を行わなかった。この実験から、アルゴンレーザーを光源に用いることで、従来の光源に比べ励起効率が良くなり全体的な光量が減らせた。この方法は、レーザー光源を使用するため、網膜光障害が危惧される。今回の結果は、アルゴンレーザー出力1.5 mW(角膜面上)、撮影時間は実質的には数秒であるが、他の時間も含めて眼底照射時間は約30秒であった。American National Standard Instituteの規格には、アルゴンレーザーの最大露光許容量(maximum permissible exposure)は $4.53 \times 10^{-1} \text{ W}$ となっている。したがって、出力1.5 mW(角膜面上)では数十分まで可能ということになる。角膜面上の光が眼底全体を照らす方法であり、拡散していることから、網膜への単位面積当たりのエネルギー量の低下が予想される。したがって、安全基準を満たしているものと思われる。また、露光時間をもっと短縮するには、レーザー光源を断続的に発する照射方法を用いれば照明時間を減少できるものとする。今回の実験はその基礎実験でもあり、高速度でFAGを行う場合、アルゴンレーザーは光源として有用であると考えられた。最終目標である相対的血流速度的解析、つまり画像解析を行うにはできるだけ高画質な画像が要求される。今後は、高速撮影に加え、高解像度の数百万画素を有したカメラで、できる限り照度を低く撮影でき得る装置が必要となる。

この論文の要旨は、第5回国際レーザー学会で発表した。

文 献

- 1) Riva CE, Feke GT, Ben-Sira I: Fluorescein dye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234: 315—322, 1978.
- 2) Riva CE, Ross B, Bnedek G: Laser Doppler measurement of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Invest Ophthalmol* 11: 936—944, 1972.
- 3) Feke GT, Goger DG, Tagawa H, Delori FC: Laser Doppler technique for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *IEEE Transactions Biomedical Engineering* 34: 673—680, 1987.
- 4) Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH, Petrig BL: Blood velocity and volumetric flow rate in human retinal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26: 1124—1132, 1985.
- 5) 田川 博: Bidirectional Laser Doppler 法を用いた網膜循環量の測定。日眼会誌 92: 318—325, 1988.

- 6) Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH: Laser Doppler velocimetry study of the effect of pure oxygen breathing on retinal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 47—51, 1983.
 - 7) Suzuki Y, Masuda K, Ogino K, Sugita T, Aizu Y, Asakura T: Measurement of blood flow velocity in retinal vessels utilizing laser speckle phenomenon. *Jpn J Ophthalmol* 35: 4—15, 1991.
 - 8) 玉置泰裕, 川本英三, 新家 真, 江口秀一郎, 藤居 仁: レーザースペクル現象を利用した網膜末梢循環の生体用二次元解析機の開発. *日眼会誌* 98: 47—54, 1994.
 - 9) 永原 幸, 玉置泰裕, 新家 真, 藤居 仁: レーザースペクル現象を利用した網膜血管血流速度の測定—第一報 第二分枝以後の網膜静脈血流速度の測定—. *日眼会誌* 101: 173—179, 1997.
 - 10) Sebastian W, Oliver A, Horst T, Bernd B, Friedrich J, Martin R: Retinal capillary blood flow measurement with a scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmology* 98: 996—1000, 1991.
 - 11) 櫻井寿也, 桜井一郎, 魚里 博, 原 嘉昭, 西信元嗣: 超高速度カメラを応用した蛍光眼底撮影(有色家兔網膜動脈の解析). *あたらしい眼科* 11: 475—477, 1994.
 - 12) 櫻井寿也: 蛍光眼底撮影に超高速度高感度カメラを応用した網膜血流解析システム. *日眼会誌* 99: 778—783, 1995.
 - 13) Wolf S, Arend O, Reim M: Measurement of retinal hemodynamics with scanning laser ophthalmoscopy. Reference values and variation. *Surv Ophthalmol* 38: 95—100, 1994.
-