Bidirectional Laser Doppler 法を用いた網膜循環量の測定（図9，表2）

田　川　　博（旭川医科大学眼科）
Gilbert T. Feke
J. Wallace McMeel（Eye Research Institute of Retina Foundation, Boston）

Bidirectional Laser Doppler Technique in the Measurement of Retinal Blood Flow

Hiroshi Tagawa
Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical Collage
Gilbert T. Feke, J. Wallace McMeel
Eye Research Institute of Retina Foundation, Boston

要　約

Bidirectional laser Doppler 法を用いて正常者の網膜循環量を測定し，同法の再現性を検討するとともに，網膜疾患での循環障害の定量的評価を試みた．網膜血管中の平均最大赤血球速度（$\overline{V}$）は **bidirectional laser Doppler** 流速計を用いて，測定部の血管直径（**D**）は眼底写真より計測され，$\overline{V}$と **D** より血流量（**F**）を算出した．6耳側動脈の2回の測定誤差は$\overline{V}$，**D**，**F** 共に約10%以内であり，高い再現性を示した．正常15耳側動脈の測定平均値は$\overline{V}$が6.8cm/sec，**D** が129μm，**F** が26.9μl/min であり，測定された各動脈での **F** は **D** の約4乗に正の相関を示し，**Poiseuille** の法則が正常網膜主動脈で成立していることが証明された．網膜中心動脈閉塞症の **F** 値は正常値及び **Poiseuille** の法則に基づく理論値と比べ著しく低下していた．増殖型糖尿病性網膜症では，汎網膜光凝固により約60%**F** 値が減少した．今後，同法が網膜疾患における診断と治療の一指標となることが強く示唆された．（日眼　92：318—325，1988）

キーワード：**Bidirectional laser Doppler** 法，網膜血流量，**Poiseuille** の法則，糖尿病性網膜症，網膜中心動脈閉塞症

Abstract

The bidirectional laser Doppler technique was used to measure the retinal blood flow rate, F, in the temporal retinal arteries of normal subjects. Mean red blood cell velocity, $\overline{V}$, was obtained using the bidirectional laser Doppler velocimetry and vessel diameter, D, was obtained from 575 nm monochromatic fundus photographs. F was calculated using $\overline{V}$ and D. To assess the reproducibility of blood flow measurements, results on $\overline{V}$, D, F were obtained from 6 temporal arteries and then repeated at the same sites after one month. The measurements differed by 10%. On average in 15 temporal arteries of 6 normal subjects, $\overline{V}$ was 6.8cm/sec, D was 129μm, and F was 26.9μl/min. The measured relationship between F and D was $F \propto D^4$, and this indicates that there is Poiseuille flow in the major retinal arteries. These data provide standards for evaluating abnormal flow rates in pathological conditions. Measurements of reduced blood flow in two patients, one following central retinal artery occlusion, and one following panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy, are

別刷請求先：078-11　旭川市西神楽4—5—3—11　旭川医科大学眼科学教室　田川　　博
（昭和62年9月21日受付）
Reprint requests to: Hiroshi Tagawa, M.D.　Dept. of Ophthalmol., Asahikawa Medical College
4-5-3-11 Nishikagura, Asahikawa 078-11, Japan
(Accepted September 21, 1987)

used to illustrate the use of the standards. Our results indicate that retinal blood flow measurements using bidirectional laser Doppler technique would be useful in diagnosing and monitoring the effects of therapy in cases of retinal diseases. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92 : 318—325, 1988)

Key words : Bidirectional laser Doppler technique, Retinal blood flow, Poiseuille flow, Diabetic retinopathy, Central retinal artery occlusion

I 緒　言

眼科領域における血液循環測定法としては，生体顕微鏡を用いる直接観察法[1]，放射性同位元素などを用いるクリアランス法[2]，マイクロスフェアーを用いるトレーサー法[3]，熱電対法[4]，水素クリアランス法[1]など種々の方法が考案されてきた．しかしながら，これらの方法は網膜もしくは生体に侵襲性が高く，動物レベルの応用にとどまっているのが現状である．臨床的に網膜循環量を測定可能な唯一の方法として色素希釈法[5]がある．しかし色素希釈法では，血液中の色素粒子の速度を測定しており，色素粒子が小さなためにランダムな運動を生じ測定精度に問題があり，色素が血管より漏出する糖尿病性網膜症などの疾患では正確な測定ができないなどの問題があった．さらに，同法は色素を体内に注入するという点で完全に非侵襲的な方法とはいい難い．

我々は臨床的に網膜循環動態を評価することを究極の目的として，bidirectional laser Doppler 法[6]を開発した．同法は，測定部位の網膜血管を観察しながら測定でき，一定波長のレーザーを用いて赤血球の速度を測定しているために精度が高く，かつ非侵襲的に赤血球速度の絶対値を測定できるなど優れた特徴をもった方法である．今回我々は，同法を用いて正常者の網膜循環絶対量を測定し，同法の再現性を検討した．さらに，得られた正常値を用いて，網膜疾患における網膜循環障害の定量的な評価を試みた．

II 方　法

1. 血流量測定法

網膜血流量は単位時間内に血管横断面積を通過する血流量で示される．すなわち，個々の網膜血管における絶対血流量，F，は

$$F=\frac{1}{2}\cdot\frac{\pi D^2}{4}\cdot V \qquad \cdots\cdots（式1）$$

で示される．1/2は定数であり，Poiseuille の法則が網膜血管で成立することが条件となるが，これについては後に述べることとする．$\frac{\pi D^2}{4}$は血管横断面積であり，血管直径，D，は眼底写真より計測される．V は血管の中央での最大血流速度であり，bidirectional laser Doppler 流速計によって測定される．

網膜動脈では拍動により血流速度が変化しているために，平均最大血流速度，$\overline{V}$は

$$\overline{V}=\frac{1}{T}\cdot\int_0^T V(t)\,dt \qquad \cdots\cdots（式2）$$

で示される．T は一心拍時間であり，V (t) は瞬間の血流速度である．しかし，この V (t) を継時的に得ることは困難なことが多い．このため，収縮期と拡張期で測定値が比較的容易にかつ安定して得られることより，$\overline{V}$は

$$\overline{V}=V（拡張期）+1/2\,[V（収縮期）-V（拡張期）] \qquad \cdots\cdots（式3）$$

の近似式で得られる．正常人10名において式2との比較を行なったところ，式3の近似式は誤差5％と高い近似性を示し，以後$\overline{V}$はこの近似式を用いて算出した．

2. Bidirectional laser Doppler 流速計

Laser Doppler 流速計の原理は Doppler の法則に基づいている（図1）．我々の開発した laser Doppler 流速計は細隙灯に He-Ne レーザーを装置したもので，レーザー光を網膜血管に照射し，その Doppler 偏位を生じた散乱光を2方向で同時に測定することにより，赤血球の絶対速度を計測できる（図2）．

装置の詳細については既に報告されているが[6]，その概要を図3に示した．我々の bidirectional laser Doppler 流速計での V の計算式は，

$$V=\frac{1}{n}\cdot\frac{\lambda}{\Delta\alpha\cdot\cos\beta}\cdot|\Delta f_1-\Delta f_2| \qquad \cdots\cdots（式4）$$

である．n は血柱の屈折率，λ はレーザーの波長，$\Delta\alpha$ は眼内での2方向の散乱光のなす角度，β はレーザーの照射光および散乱光のなす平面と測定されている血管とのなす角度，Δf_1-Δf_2は2方向の散乱光中の各々 Doppler 偏位を生じた周波数の差である．

3. 血管直径測定法

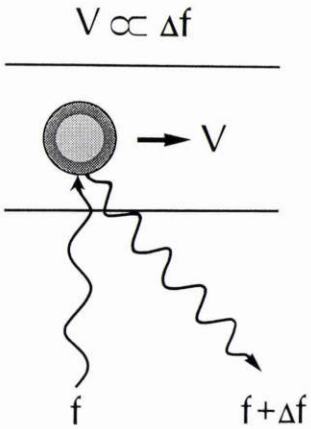


図1　Doppler の法則．血管中を一定の速度(V)で流れている赤血球に一定周波数(f)のレーザーが照射されたとき，その散乱光の周波数は Δf の偏位を生じ，その Δf は V に正比例する．

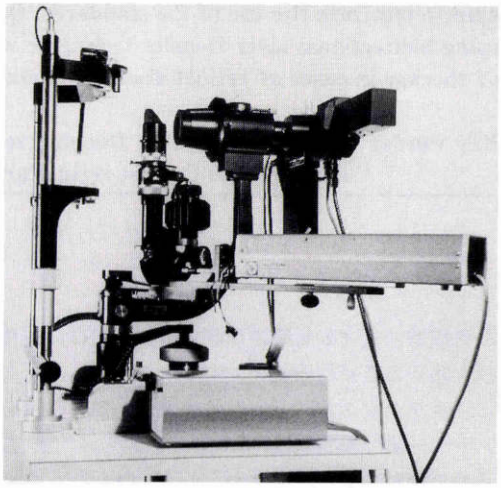


図2　Bidirectional laser Doppler 流速計測定部．Nikon の細隙灯顕微鏡に He-Ne レーザーが装着されている．レーザー光は照明光とともに眼内に照射される．眼底を観察しながら，レーザー光を血管上に合わせ，その散乱光を2方向の fiber optics で同時に測定する．

測定部位の血管直径は575nm の干渉フィルターを介して撮影された眼底写真のネガを拡大投影して測定された（図4）．

4. Bidirectional laser Doppler 法の再現性

Bidirectional laser Doppler 法の再現性を確認するために，正常人4人，6耳側動脈の $\overline{V}$，D を測定し，1カ月後の同部位での測定値との誤差について検討し

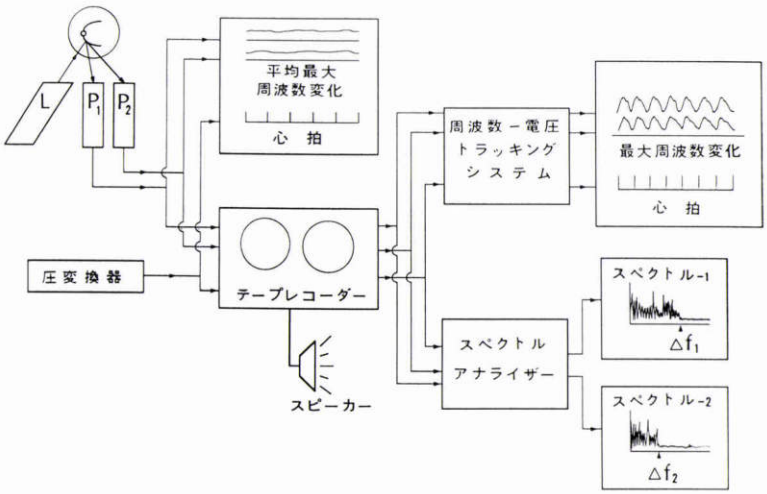


図3　Bidirectional laser Doppler 流速計の記録，解析装置の模式図．血管に照射されたレーザー光（L）の2方向での散乱光は，各々photomultiplier（P1，P2）で増幅され，テープレコーダーに記録される．同時に圧変換器を用いて心拍を記録し，また散乱光の平均最大周波数変化をモニターし磁気テープの限界内で記録されていることを確認している．次に記録されたデーターを再生し，周波数—電圧—トラッキング・システムを介して，大まかな最大周波数変化と心拍を同時に print out し，最も良い状態で記録されている部位を確認する．次にスペクトル・アナライザーを用いて，同部位の散乱光中の Doppler 効果により偏位した周波数変化（Δf_1，Δf_2）を2方向で同時に記録する．

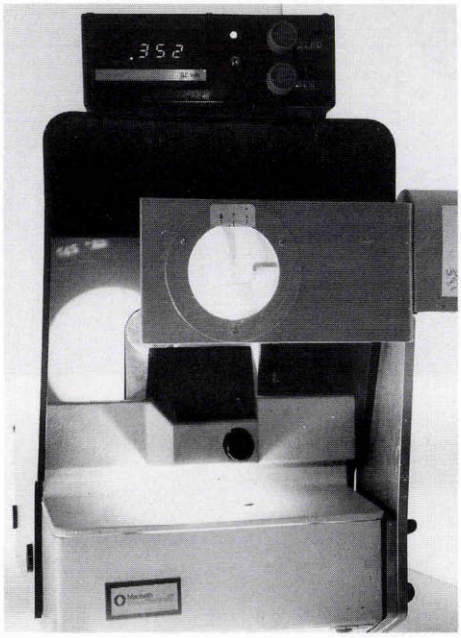


図4　血管直径の測定器．測定器はMacbeth V-135 slide viewerにマイクロメーターを装置されており，575nmの干渉フィルターを介して撮影された眼底写真のネガをスクリーンに14倍に拡大投影し，その血管径を測定する．マイクロメーターに直結したポインターは水平方向に移動し，投影された血管の辺縁に合わせるようにして測定する．

た．

5．正常者及び網膜疾患を伴った症例での測定

正常者における網膜循環動態の指標を得るために，若年正常者（25～35歳），6人，15耳側動脈での$\overline{V}$，Dを測定し，Fを算出した．測定部位は視神経乳頭辺縁より1～2乳頭径の部位での上耳側または下耳側動脈で，乳頭辺縁から測定部の間で分岐のない血管である．次に網膜中心動脈閉塞症の患者と，増殖性糖尿病性網膜症患者の汎網膜光凝固治療前後の測定を行なった．

III 結　果

1．再現性

6耳側動脈での初回測定値に対する，同一部位での1カ月後の測定値の誤差を表1に示した．測定された$\overline{V}$の誤差は−10.8～+11.1%，Dの誤差は−4.8～+0.8%であり，共に極めて高い再現性を示した．尚，各々のDは5回の測定値の平均値として得られた．Dと$\overline{V}$とより算出されたFの誤差は−8.9～+9.4%であった．以上のように$\overline{V}$，D，Fともに約10%の誤差内に収まっており，bidirectional laser Doppler法を用いた網膜血流量の測定が，ヒトにおいて高い再現性を有していることが証明された．

表1　平均血流速度（$\overline{V}$），血管直径（D），血流量（F）の再現性．
R＝右眼．L＝左眼．ST＝上耳側動脈．IT＝下耳側動脈．$\overline{V}$（%），D（%），F（%）は初回測定に対する，同一部位での1カ月後の測定値の誤差である．

正常者	眼	測定部位	$\overline{V}$(%)	D(%)	F(%)
1	R	ST	+2.6	-4.8	-7.0
2	R	ST	+6.1	-3.2	-0.7
2	L	IT	-7.7	0	-7.1
3	L	ST	+4.8	-3.4	-2.3
4	R	ST	-10.8	+0.8	-8.9
4	L	IT	+11.1	-0.8	+9.4
平均±SD			+1.0 ± 8.5	-1.9 ± 2.2	-2.8 ± 6.7

表2　正常眼及び中心動脈閉塞症での網膜循環動態．
正常値は正常者6人，15耳側動脈より得られた．$\overline{V}$＝平均血流速度．D＝血管直径．F＝血流量．理論$\overline{V}$値は式7を，理論F値は式6を用いてDより算出された．

	$\overline{V}$ (cm/sec)	D (μm)	F (μℓ/min)	理論$\overline{V}$値 (cm/sec)	理論F値 (μℓ/min)
正常者 6人，15耳側動脈					
正常値	6.8 ± 1.1	129 ± 10	26.9 ± 6.6		
網膜中心動脈閉塞症					
患　眼	2.8	115	8.7	5.1	16.2
健　眼	6.0	127	22.8	6.2	24.0

2．正常者の測定

若年正常者6人，15耳側動脈での測定値を表2に示した．Dは平均値が129μm，1SDが10μmであり極めて個体差が少なかった．さらに，測定された動脈のうち，比較的太い耳側動脈では測定部より末梢で鼻側に延びる分岐を有するものが，細い耳側動脈ではその鼻側動脈の分岐が耳側に延びているものがあり，典型的な配列を示した耳側動脈におけるD値の個体差はさらに小さかった．$\overline{V}$，F，は比較的大きな個体差を示していたが，これらの値はDの値に大きく左右される傾向が認められた．

次に，流体力学におけるPoiseuilleの法則が網膜血管中で存在するか否かを検討した．Poiseuilleの法則

は次の

$$F=\frac{\pi}{128}\cdot\frac{\Delta P}{\Delta L}\cdot\frac{1}{\eta}\cdot D^4 \qquad \cdots\cdots(式5)$$

で示される．$\Delta P/\Delta L$ は血管長当たりの圧差で，η は血液粘稠度である．すなわち，F はDの4乗に正の相関を示すことになる．さらに式1を式5に代入すると，$\overline{V}$ はDの2乗に正の相関を示すことになる．そこでDが100μm 以上の血管について，正常者のDとFの値を両対数のグラフに示すと，その回帰直線は

$$\log F=3.95\times\log D-6.93 \qquad \cdots\cdots(式6)$$

であった．すなわち，FはDの3.95乗に正の相関を示し（$r=0.87$, $p<0.0001$），この3.95乗という値はPoiseuille の法則による4乗に極めて近く，血管直径が100μm 以上の網膜動脈で Poiseuille の法則が成立していることが確認された．同様に，正常者の $\overline{V}$ とDを両対数のグラフにとり，その回帰直線を求めると

$$\log\overline{V}=1.95\times\log D-3.31 \qquad \cdots\cdots(式7)$$

であり，$\overline{V}$ はDの約2乗に正の相関を示した（$r=0.66$, $p<0.005$）．このことから，式6と7とを用いて，DよりFと $\overline{V}$ を算出することができ，これを正常血管における理論値とした．

以上に示した正常値と理論値を用いて網膜疾患を伴う網膜循環動態の評価を試みた．

3. 網膜疾患を伴う網膜循環動態の評価

症例1—患者は53歳の女性で，半年前に突然の右眼視力低下を訴え，近医を受診し，右眼網膜中心動脈閉塞と診断された．精査目的で Retina Associates, Boston に紹介され，初診時視力は右眼矯正20/30，左眼矯正20/15であった．蛍光眼底撮影では，右眼のすべての網膜動脈の著しい狭細化が認められ，動脈での蛍光出現は著しい遅延を示したが，下耳側に延びている毛様—網膜動脈には異常は認められなかった（図5）．右眼の中心視野検査では，図6に示したように著しい視野欠損を認めたが，中心視野は保たれていた．左眼にはすべての検査で異常を認めなかった．

網膜循環障害の定量的な評価を目的とし，bidirectional laser Doppler 法を用いて右眼の下耳側に延びている比較的太い毛様—網膜動脈と，左眼の下耳側動脈（図7）での $\overline{V}$，D，Fの測定を施行した．患眼の $\overline{V}$，Fは健眼の値及び正常値と比べ著しい低下を示したが，健眼と正常眼の間には差が認められなかった（表2）．次に，$\overline{V}$ とFの理論値を比較すると，患眼の実測値は著しい低下を示し（各々，−45%，−46%）たが，健眼の実測値は差を認めなかった．

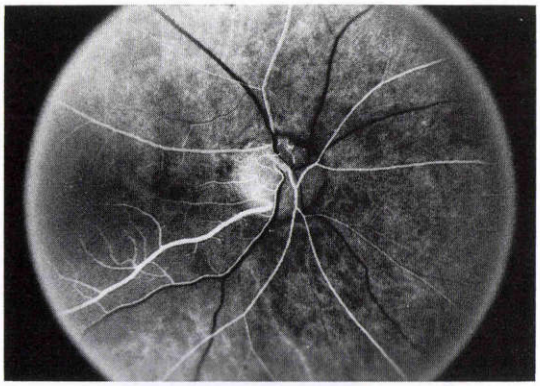


図5　蛍光眼底写真（症例1）

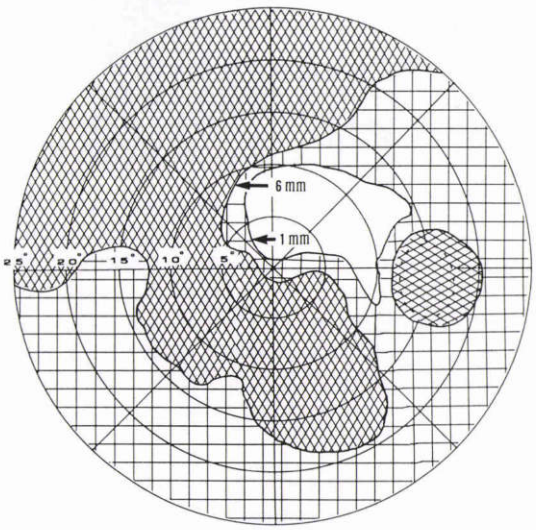
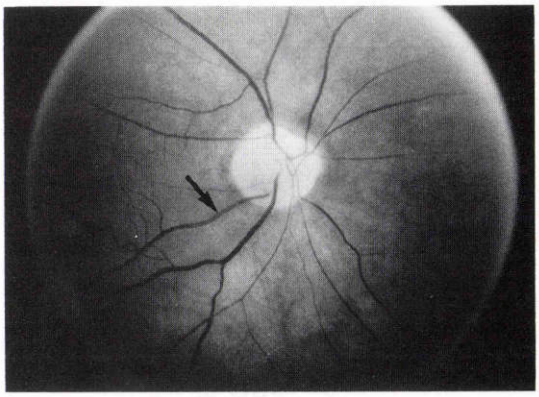
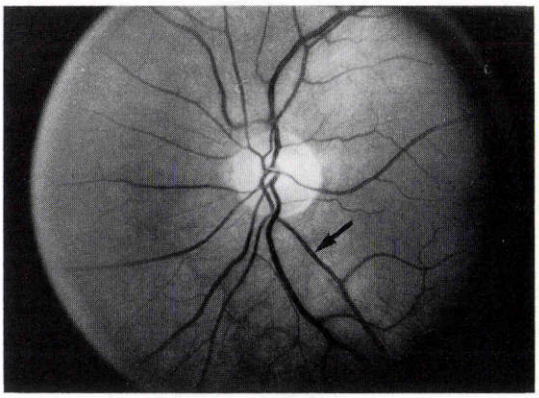


図6　中心視野（症例1）．オートプロット・タンジェント・スクリーン法を用いて径1.0mm と6.0mm の視標で行なった．

症例2—患者は26歳の女性で，11歳でインスリン依存型糖尿病を発症し，半年前に近医にて左眼増殖型糖尿病性網膜症に対して汎光凝固が施行されている．両眼の精査目的で Retina Associates, Boston に紹介された．初診時視力は右眼20/25，左眼20/30であり，両眼に軽度の白内障が認められた．右眼眼底検査では視神経乳頭辺縁から下方にかけての新生血管と後極部の網膜出血及び軟性白斑が認められ，左眼眼底検査では汎網膜光凝固による瘢痕と視神経乳頭辺縁の新生血管の残存が認められた．右眼蛍光眼底撮影では新生血管及び多数の microaneurysm からの色素漏出と鼻側の広汎な無血管野が認められ，左眼では同様に新生血管



7a



7b

図7　眼底写真（症例1）．aは右眼，bは左眼であり，各々の矢印は右眼毛様—網膜動脈及び左眼下耳側動脈での測定部位を示している．

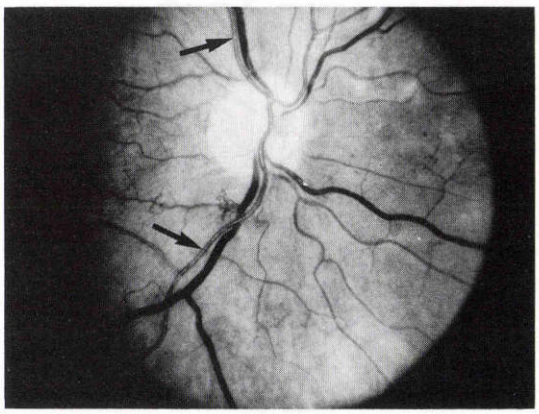


図8　眼底写真（症例2）．各々の矢印は上耳側及び下耳側動脈での測定部位を示している．

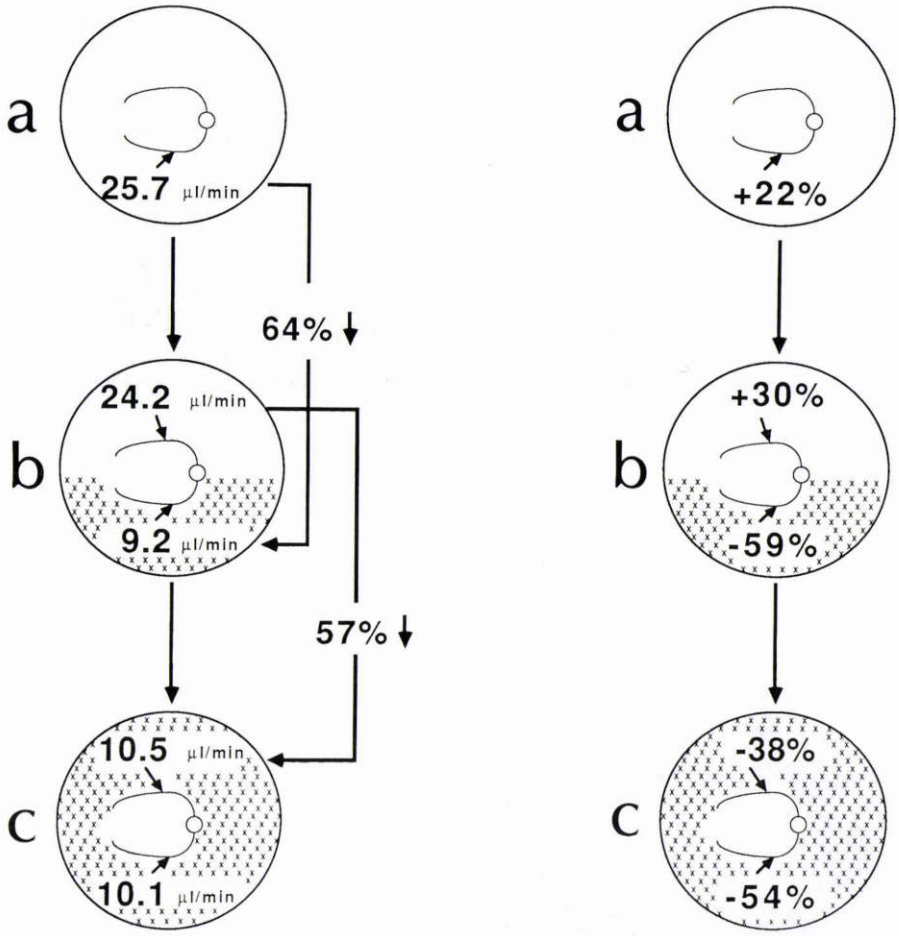
と少数のmicroaneurysmからの色素漏出が認められた．以上の所見より，右眼に対して2回に分けて汎光凝固が施行された．

汎網膜光凝固の網膜循環動態への影響を評価することを目的として，汎網膜光凝固前後に右眼の上耳側及び下耳側動脈に対してbidirectional laser Doppler法を施行した（図8）．1回目は右眼の光凝固直前，2回目は下半分に対する光凝固3週間後，3回目は上半分に対する光凝固10週後である．右眼の上耳側及び下耳側動脈でのF値を図9-Aに示した．光凝固前に比べ，下耳側動脈のF値は光凝固3週後に著しく減少し（−64%），光凝固10週後にも低値のままであった．同様に上耳側動脈のF値も，光凝固により著しく減少（−57%）した．血管直径Dから算出された正常者での理論F値（式6）と比較すると，光凝固前に実測されたF値は22%，30%と増加を示していたが，光凝固後のF値は著しく低下していた（図9-B）．

IV　考　　案

Laser Doppler法は，1972年にRivaら[7]により網膜血管の血流速度測定に応用できることが報告されて以来，種々の疾患[8)~10)]での網膜循環動態の解明に用いられてきた．しかしながら，これらの報告では，網膜血管からのレーザーの散乱光を一方向のみで記録するunidirectional laser Doppler法が用いられている．この方法は相対的変化を捉えることができるが，Doppler効果による周波数の変化がレーザーと血管との角度依存性をもつため，その絶対量を論じることができなかった．今回我々が開発したbidirectional laser Doppler法[6]では，血管からの散乱光を2方向で同時に測定することにより，血流速度の絶対値を非侵襲的に測定することが可能となった．

Bidirectional laser Doppler法については，Rivaらも独自の方法を開発している[11]．彼らの方法はデーターの測定法に関して，眼底カメラを改良しているためコンタクトレンズを必要としない点，またレーザーの入射光と散乱光のなす平面を網膜血管に重複できるよう回転できる点など優れた長所を持っている．しかしながらデーターの解析法については，我々の開発した周波数—電圧—トラッキングシステムを用いていないため，テープレコーダーに記録されたデーターを音声で確認し，記録が良好と思われる部位を数カ所で無作為に分析し得られたスペクトルの平均より血流速度



9-A　　9-B

図9（A）　光凝固前後の血流量とその変化（症例2）．a＝光凝固直前．b＝下側1/2汎網膜光凝固3週後．c＝上側1/2汎網膜光凝固10週後．上耳側及び下耳側動脈での血流量は各々の1/2汎光凝固後著しい低下を示した．（B）：実測された血流量と理論値との比較．上耳側及び下耳側動脈での血流量は理論値と比較して，光凝固前に増加していたが，各々の光凝固後に著しい低下を示した．

を求めている点に問題がある．すなわち，この方法では得られたスペクトルが最大血流速度を示す血管中央部から測定されている保証がなく，実際の血流速度よりかなり低い値を示している可能性が高い．事実彼らの報告したヒトの組織重量当たりの網膜血流量はマイクロスフェアーなどを用いて測定されたサルやイヌなどの網膜での組織重量当たりの血流量[3)12)]の1/2以下であった．彼らの方法に比べ，今回我々が得た正常値はサルやイヌでの報告[3)12)]と比較して妥当なものと考えられた．また，測定された血流量と血管径との関係より，正常者の血管直径が100μm以上の網膜動脈ではPoiseuilleの法則が成立していることが初めて確認された．

症例1の中心動脈閉塞の患者で，患眼での網膜循環量が著しく低下しているであろうことは，その臨床像や蛍光眼底撮影の所見より疑問の余地はない．患眼での網膜血管径は著しい狭細化を示しており，同血管でのbidirectional laser Doppler流速計による血流速度測定では極めて低値のため信頼すべき値を得られなかった．患眼で唯一測定可能であった下耳側に広汎に延びている毛様一網膜動脈の血流量は，健眼の下耳側動脈及び理論値と比較して著しく低下していた．このことから，患眼での血流量が健眼のそれに比べ著しく減少していることが明かとなった．

症例2では，汎網膜光凝固療法により網膜循環量が約60%減少することが明らかとなった．光凝固により網膜循環量が減少する機序する機序はWeiterら[13]の理論に基づいて考えると次の様に説明される．光凝固によってphotorecepterと網膜色素上皮が破壊されることにより脈絡膜から網膜内層への酸素供給が著しく増加し，そのために網膜血管での血流量が減少すると考えられる．さらに，理論値との比較では，増殖型糖尿病性網膜症では血流量が増加しており，正常眼にみられるようなautoregulation systemが機能していないことが示唆された．

以上に示したように，bidirectional laser Doppler法は非侵襲的に網膜循環の絶対値を測定できる画期的な方法である．同法により得られた正常値及びPoiseuilleの法則に基づく理論値を用いて，網膜疾患に伴う網膜循環障害の程度を定量的に評価することができ，今後同法が網膜疾患における診断及び治療の一指標となることが強く示唆された．

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲賜りました保坂明郎教授，村上喜三雄助教授に深謝いたします．

本論文の要旨は，第91回日本眼科学会(京都，1987)で発表した．

文　献

1) **松尾信彦**：脈絡膜循環の特異性．日眼　84：2147—2206, 1980.
2) **堀内二彦**：^{133}Xenonクリアランス法の研究—内頚動脈閉塞症の眼血流量．日眼　82：292—301, 1978.
3) **Alm A, Bill A**: Ocular and optic nerve blood flow at normal and increased intraocular pressures in monkeys (Macaca irus): A study with radioactively labelled microspheres including flow determinations in brain and some other tissues. Exp Eye Res 15: 15—29, 1973.
4) **Armaly MF, Araki M**: Optic nerve circulation and ocular pressure. Invest Ophthalmol Vis Sci 14: 724—731, 1975.
5) **Hickam JB, Frayser R**: A photographic method for measuring the mean retinal circulation time using fluorescein. Invest Ophthalmol Vis Sci 4: 876—884, 1965.
6) **Feke GT, Goger DG, Tagawa H,** et al: Laser Doppler technique for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. IEEE Transcations Biomedical Engieering 34: 673—680, 1987.
7) **Riva C, Ross B, Benedek G**: Laser Dopper measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. Invest Ophthalmol 11: 936—944, 1972.
8) **Green GJ, Feke GT, Goger DG,** et al: Clinical application of the laser Dopper technique for retinal blood flow studies. Arch Ophthalmol 101: 971—974, 1983.
9) **Yoshida A, Feke GT, Green GJ,** et al: Retinal circulatory changes after scleral buckling procedures. Am J Ophthalmol 95: 182—188, 1983.
10) **Feke GT, Tagawa H, Yoshida A,** et al: Retinal circulatory changes related to retinopathy progression in insulin-dependent diabetes mellitus. Ophthalmology 92: 1517—1522, 1985.
11) **Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH,** et al: Blood velocity and volumetric flow rate in human retinal vessels. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 1124—1132, 1985.
12) **Small KW, Stefánsson E, Hatchell DL**: Retinal blood flow in normal and diabetic dogs. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 672—675, 1987.
13) **Weiter JJ, Zuckerman R**: The influence of the photoreceptor-RPE complex on the inner retina: An explanation for beneficial effects of photocoagulation. Ophthalmology 87: 1133—1139, 1980.

(第91回日眼総会原著)