

レーザースペckル血流画像化法を用いた 家兎虹彩血流速度の測定

古川 英樹¹⁾, 田川 博¹⁾, 藤居 仁²⁾

¹⁾旭川医科大学眼科学教室, ²⁾九州工業大学情報工学部電子情報工学科応用電子システム講座

要 約

レーザースペckル血流画像化法は、血流の速度分布を二次元マップとしてカラー画像化して表示する方法であり、今回、生体での虹彩血流速度測定の再現性について検討した。正常白色家兎10眼を対象として、虹彩での血流速度の測定を行った。10眼での各10回の連続測定の変動係数は平均5.6であり、連続した3日間での測定ではその間に有意差はなく、十分な再現性が得られた。次に、虹彩血流速度が明らかに変化するような種々の負荷を加え、家兎虹彩血流速度測定値の変化について検討したところ、予想通りの測定値の変化を示した。以上より、本法を用いた生体での測定が可能と考え、チモロール点眼の家兎虹彩血流速度に対する影響を検討した。チモロール点眼後、対照眼と比較して、2時間後に虹彩血流速度は有意に低下しており($p < 0.05$)、以上の結果はチモロールの房水産生抑制に血流の低下が関与していることを示唆している。(日眼会誌 96: 872—877, 1992)

キーワード: レーザースペckル血流画像化法, 虹彩血流速度, チモロール, 半導体レーザー

Measurement of Blood Velocity of Rabbit Iris by Laser Speckle Flowgraphy

Hideki Furukawa¹⁾, Hiroshi Tagawa¹⁾ and Hitoshi Fujii²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College

²⁾Department of Computer Science and Electronics, Kyushu Institute of Technology

Abstract

We developed laser speckle flowgraphy which displays the relative velocity of blood microcirculation as a color map in two dimensions. We applied this method to the iris in 10 eyes of 5 normal white rabbits under general anesthesia. The coefficient of variation was small and averaged 5.6. There was no significant difference in the values measured on 3 consecutive days. The blood velocity in the iris increased significantly during experimental ocular hypotony and decreased during ocular hypertension and 2 hours after instillation of timolol ($p < 0.05$). These findings indicate that the present method is of value in assessing the relative velocity of iris microcirculation in vivo and that topical instillation of timolol induces decrease of blood flow in the iris and, possibly, in the ciliary body. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 872—877, 1992)

Key words: Laser speckle flowgraphy, Blood velocity of iris, Timolol, Diode laser

別刷請求先: 078 旭川市西神楽4-5-3-11 旭川医科大学眼科学教室 田川 博

(平成3年12月27日受付, 平成4年2月17日改訂受理)

Reprint requests to: Hiroshi Tagawa, M.D. Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College, 4-5-3-11 Nishikagura, Asahikawa-shi 078, Japan

(Received December 27, 1991 and accepted in revised form February 17, 1992)

I 緒 言

臨床応用が可能な眼内の血流測定法としては bidirectional laser Doppler 法^{1)~3)}が血流速度の絶対値を測定できる点で現在最も優れた方法である。しかしながら、同法での測定対象はその測定精度の観点より直径約 100 μm 以上の血管であるために毛細血管や細動脈などの末梢循環での測定は不可能である。そこで同法では、測定された主血管の血流量より、その支配領域の末梢循環状態を推測している。

一方、レーザースペックル血流画像化法⁴⁾⁵⁾は血流速度の相対値を測定するものであるが、今の所、非侵襲的に末梢循環を直接測定ができる唯一の方法と考えられる。我々は、この光学系に眼底カメラを組み込み前眼部と眼底の血流速度測定が可能な装置を開発した⁶⁾。一定速度で回転する円盤を用いて検討すると、約 3 mm/秒程度までの低速度では速度と測定値（スペックル値）の間に直線回帰が認められ、また極めて高い再現性を示した。しかしながら、散乱粒子の密度が増加するとスペックル値は低下する傾向があり、生体での測定ではこの点を十分考慮する必要がある。

今回は、同装置を用いて生体である家兎虹彩血流速度の測定の再現性について検討した。また、眼内血流が明らかに変化するような負荷を加えたときに、その変化に相当するような測定値の変化が得られるかを検討した。さらに、眼内循環に影響すると報告されている β -ブロッカーの点眼薬により、虹彩血流速度が同装置で測定可能な変化を生じているかを検討した。

II 方 法

1. 虹彩血流速度測定の再現性

白色成熟家兎 5 匹 10 眼を対象とした。塩酸ケタミン（ケタラル®）麻酔にて、自発呼吸下で、麻酔深度を一定に保ちながら測定を行った。測定部位は虹彩全幅の中央部の下鼻側とし、同一部位での 10 回の連続測定、および連続した 3 日間の測定での再現性について検討した。なお、測定前に前眼部と眼底の検査を施行し、異常のないことを確認した。

2. 前房穿刺による虹彩血流速度の変化

眼圧を著しく低下させ、眼内の血流を増加させることを目的として、以下の実験を行った。正常白色成熟家兎 10 匹 20 眼を対象とし、上記と同様の麻酔下で測定を行った。各 1 眼の前房穿刺を、12 時の角強膜輪部より虹彩に接触しないように注意しながら、指圧法で

著しく眼圧が低下するまで行った。穿刺直前、10 分後、30 分後に眼圧と虹彩全幅中央部の下鼻側での血流速度との測定を行った。今回の眼圧測定はおおよそその変化を確認することを目的としたため、圧平眼圧計（Oculab 社、Tono-Pen 2®）を用いて行った。なお、同一個体の他眼を対照として同様の測定を行った。

3. 硝子体内注入による虹彩血流速度の変化

眼圧を著しく増加させ、眼内の血流を低下させることを目的として、以下の実験を行った。麻酔下の正常白色成熟家兎 10 匹 20 眼を対象とした。各 1 眼の硝子体腔中に指圧法で著しく眼圧が上昇するまで約 0.1 ml の生理食塩水を注入し、処置直前、10 分後、30 分後に眼圧と虹彩血流速度との測定を行った。なお、同一個体の他眼を対照として同様の測定を行った。

4. チモロール点眼による虹彩血流速度の変化

眼内血流を変化させることが報告されているチモロール点眼による虹彩血流の変化を、本装置を用いて測定可能かを検討するために以下の実験を行った。麻酔下の正常白色成熟家兎 10 匹 20 眼を対象とした。各 1 眼に 0.5% チモロールを 2 滴点眼し、点眼前、点眼 30 分後、2 時間後に眼圧と虹彩血流速度を測定した。なお、同一個体の他眼を対照として同様の測定を行った。

5. 虹彩血流速度の測定法

虹彩血流速度の測定は先に報告したレーザースペックル血流画像化法⁶⁾を用いて行った。同法の原理は、レーザースペックルを散乱粒子に照射したとき、反射散乱光が観察面で干渉しあいスペックルパターンを形成することに基いている。このパターンは、散乱粒子すなわち組織内の血球が移動すると刻々形を変えていき、血球の速度が早くなると変化も早くなり、血球の動きが止まると静止する。このパターンの変動をイメージセンサーを用いて検出し、その信号をコンピューター処理して血流の二次元マップとして表示することができる。本装置は半導体レーザーとエリアセンサーを組み込んだ眼底カメラとレーザースペックル血流計（エムアンドエム、LMAP-10®）を母体としており、その仕様の詳細は先に報告した⁶⁾。測定面積は虹彩で 1.1 mm \times 1.1 mm であり、そこからのスペックル信号を 100 \times 100 画素で 540 フレーム/秒の高速走査が可能な特別仕様のエリアセンサーで測定する。解析結果は 25 段階表示のカラーマップとスペックル値とで示される。すなわち、虹彩での測定値は 1.1 mm \times 1.1 mm の部位の平均血流速度を示しており、得られた画像から血管走行が明らかに判別できるような部位を除外する

ことにより毛細血管と細動静脈レベルでの値を得ることができる。

また、眼球振動を含んだ測定値を除外するために、解析プログラムで眼球振動の有無を確認できるようにし⁷⁾、測定時間も0.2秒に短縮している⁹⁾。さらに、眼球振動が生じていると、カラーマップがにじんだ様な結果を生じるために、このような測定値は除外した。なお、統計処理は全て paired t test を用いて行った。

III 結 果

1. 虹彩血流速度測定の再現性

10眼での10回の連続測定の結果を表1に示した。10眼でのスペックル値の変動係数は平均5.6(3.1から7.9)と十分な再現性を示した。さらに連続した3日間の測定での再現性をみるために、10回の連続測定の平均値を測定値として検討すると、各眼では3日間でもかなりの変動(-5から+14%)が認められた(図1)。しかしながら、10眼で検討すると3日間では有意差が認められなかった(図2)。

2. 前房穿刺後の虹彩血流速度の変化

前房穿刺後に処置眼の眼圧は著しく低下し、対照眼

表1 10回の連続測定のスペックル値

家兎番号	眼	レーザースペックル値 (平均値±標準偏差)
1	右	27.5±1.6
	左	26.6±2.1
2	右	25.4±1.4
	左	25.3±1.5
3	右	25.3±1.7
	左	28.0±1.6
4	右	29.0±1.7
	左	29.0±0.9
5	右	24.2±1.1
	左	22.7±1.2

n=10

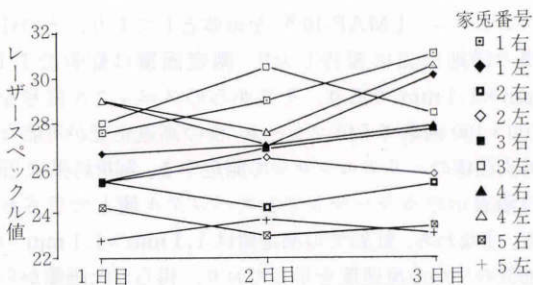


図1 連続した3日間の家兎虹彩スペックル値の変化(1).

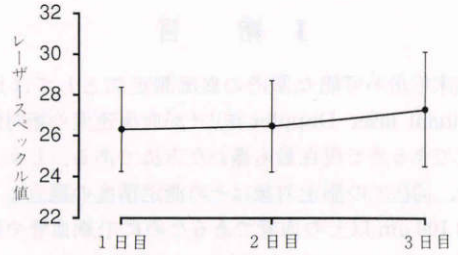


図2 連続した3日間の家兎虹彩スペックル値の変化(2), 10眼の平均値と標準偏差を示した。

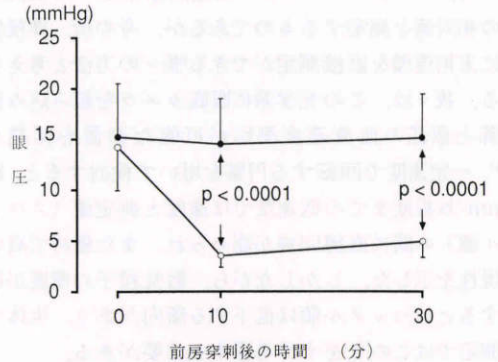


図3 前房穿刺による家兎眼圧の変化。

各10眼の平均値と標準偏差を示した。○：前房穿刺眼、●：対照眼。統計は paired t test を用いて行った。

と比較して、穿刺10分後と30分後とで有意差が認められた(共に $p < 0.0001$, 図3)。穿刺眼と対照眼の個々のスペックル値の変化を図4に示した。各10眼で検討すると、対照眼と比較して穿刺眼のスペックル値は高くなり、穿刺10分後 ($p < 0.005$) と穿刺30分後 ($p < 0.001$) で有意差が認められた(図5)。また、穿刺眼では穿刺前と比較して、穿刺10分後 ($15 \pm 8\%$, $p < 0.0005$) と穿刺30分後 ($14 \pm 7\%$, $p < 0.0005$) にスペックル値が有意に増加した。

3. 硝子体内注入による虹彩血流速度の変化

硝子体内注入後に処置眼の眼圧は著しく増加し、対照眼と比較して、注入10分後には有意に増加した ($p < 0.0005$) が、注入30分後には大きな濾過胞を形成してほぼ処置前の値に戻っていた(図6)。注入眼のスペックル値は対照眼と比較して低くなり、注入10分後で有意差 ($p < 0.005$) があったが、注入30分後には再び高くなり差は認められなかった(図7)。さらに、注入眼では、注入前と比較して、注入10分後に測定値が有意に低下 ($-15 \pm 8\%$, $p < 0.0001$) したが、注入30

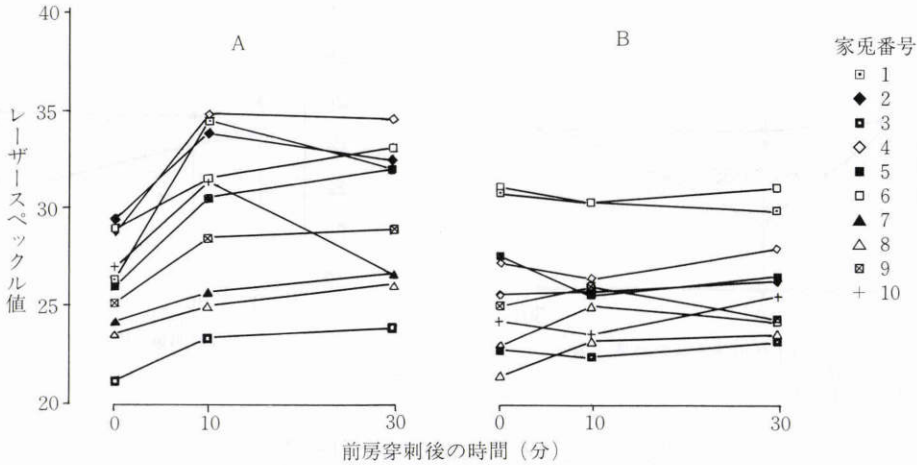


図4 前房穿刺による家兎虹彩スペックル値の変化(1).
A: 前房穿刺眼, B: 対照眼.

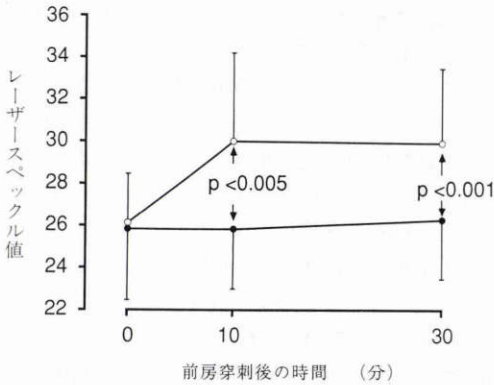


図5 前房穿刺による家兎虹彩スペックル値の変化(2).
各10眼の平均値と標準偏差を示した。○: 前房穿刺眼, ●: 対照眼. 統計は paired t test を用いて行った.

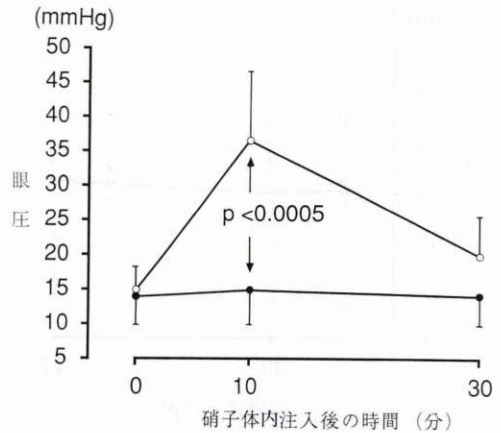


図6 生理食塩水硝子体内注入による家兎眼圧の変化.
各10眼の平均値と標準偏差を示した。○: 硝子体内注入眼, ●: 対照眼. 統計は paired t test を用いて行った.

分後には再び増加して有意差は認められなかった。

4. チモロール点眼による虹彩血流速度の変化

点眼前後で、点眼眼と対照眼とに眼圧には有意な変化は認められなかった(図8)。スペックル値は、対照眼と比較して点眼眼では、点眼30分後には差が認められなかったが、点眼2時間後には低下して有意差が認められた ($p < 0.05$, 図9)。点眼眼では、点眼前と比較して、点眼30分後には変化はなかったが、点眼2時間後にはスペックル値は有意に低下していた ($-11 \pm 6\%$, $p < 0.005$)。

IV 考 按

眼内の末梢循環での血流速度を非侵襲的に測定する方法はこれまでなく、レーザースペックル血流画像化法は眼内の微小循環動態を解明するうえで画期的な方法となる可能性がある。しかしながら、本法を臨床研究に応用するためには先に報告したような幾つかの解決しなければならない問題点がある⁶⁾。前報では散乱粒子の配列やその動きが極めて単純な一定速度で回転する円盤を用いて、本法の精度と再現性について報告

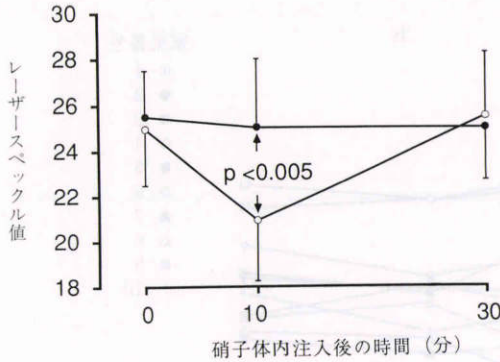


図7 生理食塩水硝子体内注入による家兎虹彩スペックル値の変化。
各10眼の平均値と標準偏差を示した。○：硝子体内注入眼，●：対照眼。統計は paired t test を用いて行った。

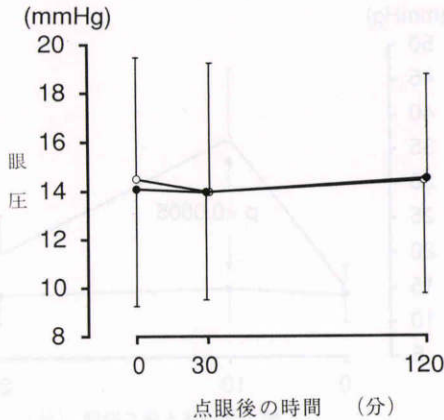


図8 チモロール点眼による家兎眼圧の変化。
各10眼の平均値と標準偏差を示した。○：チモロール点眼眼，●：対照眼。

した。測定精度と限界は使用している CCD の画素数とその高速走査能力に依存している。現在の仕様では、3 mm/秒までの低速では円盤の速度と測定値であるスペックル値との間に直線回帰が認められ、また高い再現性が得られた。しかしながら、円盤の散乱粒子密度が高くなると多重散乱が複雑となるためか、測定値は低下する傾向が認められたことより、生体での測定では異なった部位また異なった組織間の単純な比較は極めて難しいと考えられた。そこで本実験では測定部位を家兎虹彩の全幅中央部の下鼻側とし、繰り返しの測定は同一部位で行い、視認できる血管を指標として部位がずれないように注意した。また、虹彩の同一部位

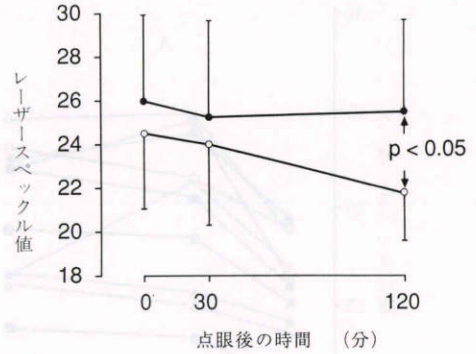


図9 チモロール点眼による家兎虹彩スペックル値の変化。
各10眼の平均値と標準偏差を示した。○：チモロール点眼眼，●：対照眼。統計は paired t test を用いて行った。

での測定には瞳孔径を一定に保つことが重要である。すなわち、散瞳時と縮瞳時では虹彩の厚さが著しく変化し、それにともない血管の走行などにも変化が生じると考えられる。そこで今回の測定では、室内照射とカメラの観察照明の光量を調節することにより、瞳孔径をなるべく一定に保つようにし、それでも処置前後で瞳孔径が明らかな変化を生じていた例は除外した。

今回の結果より、本法は生体眼においても十分な再現性があると考えられるが、個々の対象での3日間の測定での変動は15%程度までであった。特に10回の連続測定では30%程度までの変動があり、末梢循環でも拍動などの影響を考慮する必要があると考えられる。

次に、スペックル値の変動が生体での血流速度の変動を反映しているかどうかという問題である。残念ながら、侵襲的または非侵襲的な方法を問わず、本法のように一定領域での末梢循環の平均血流速度を測定する方法がなく、本法の精度を証明することは極めて困難である。そこで今回は、眼内の血流速度が明らかに変動すると考えられるような眼圧への著しい負荷を加え、スペックル値が予想通りの変化を生じるかを検討した。前房穿刺により眼内血流が増加することは良く知られており、網膜中心動脈閉塞症に対する循環の改善を目的とした治療としても一般的に施行されている手技である。一方、硝子体内注入による高眼圧下では、眼内の血流が低下することは容易に推測され、今回の実験でも硝子体内注入後に虹彩血管の狭細化を生じ、虹彩がより白っぽく変化するのが観察された。前房穿刺眼での測定値は予想通りの変化を示し、眼圧が著し

く低下した穿刺10分後と30分後で、虹彩スペックル値は有意な増加を示した。一方、硝子体内注入眼では、注入10分後には眼圧が著しく増加していたが、30分後には予想外に巨大な濾過胞を形成して眼圧が処置前の値に低下していた。スペックル値は、注入10分後には有意に低下していたが、30分後には処置前の値に復帰しており、眼圧が血流に及ぼす影響を正確に測定していたと考えられる。以上の結果は、本法の測定値が生体での血流速度の変化を正確に反映していることを示しており、患者での非侵襲的な血流速度測定法として応用できると考えられる。

また、今回の実験では塩酸ケタミン麻酔下で測定を行っているが、塩酸ケタミンの心血管系への影響は良く知られており、虹彩血流速度にも影響することが十分考えられる。そこで、今回の実験では僚眼を対照眼として同時に測定し、全身の循環状態の変化を消去する目的で、処置眼と僚眼とのpaired t testを用いて統計的な検討を行った。

次に、チモロールが眼内循環に影響するとの報告はこれまでも多数あるが、測定方法にもよるが異なった報告がされている^{9)~11)}。しかしながら、生体での測定でチモロール点眼により脈絡膜循環の低下することが指摘されており¹²⁾、さらに今回の結果はチモロール点眼により虹彩血流速度も低下していたことを示していた。これらの結果より、チモロール点眼が毛様体の循環も低下させると考えるのが自然であり、このことがチモロールによる房水産生抑制の一機序と考えられる。

以上のように、本法は比較的微細な虹彩血流速度の変化を捕らえることが可能であり、今後種々の臨床研究に用いることができると考えられる。しかしながら、現在の測定装置を用いた虹彩血流速度の臨床研究では、先に述べたように測定部位を同一部位と限定し、さらに連続測定の平均値を測定値とすべきである。特に、経過観察を行う症例では測定部位が同一となるよう十分な注意が必要である。

稿を終えるにあたり、御校閲賜りました保坂明郎教授に

深謝致します。また、動物実験に協力いただいた菅野晴美先生に感謝いたします。

本論文要旨は、第45回日本臨床眼科学会(広島, 1991)で発表した。

文 献

- 1) **Feke GT, Goger DG, Tagawa H, et al:** Laser Doppler technique for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *IEEE Biomed Engin BME* 34: 673-680, 1987.
- 2) **田川 博, Feke GT, McMeel JW:** Bidirectional laser Doppler 法を用いた網膜循環量の測定. *日眼会誌* 92: 318-325, 1988.
- 3) **田川 博, Feke GT, McMeel JW:** 糖尿病性網膜症における網膜循環動態の研究. *日眼会誌* 92: 699-704, 1988.
- 4) **Fujii H, Nohira K, Yamamoto Y, et al:** Evaluation of blood flow by laser speckle image sensing: Part 1. *Appl Opt* 26: 5321-5325, 1987.
- 5) **藤居 仁, 山本有平, 野平久仁彦, 他:** レーザースペックル法による末梢循環系の画像化(III). *日本レーザー医学会誌* 9(3): 135-138, 1988.
- 6) **田川 博, 古川英樹, 藤居 仁, 他:** レーザースペックル血流画像化法—眼底血流画像化装置の開発—. *Ther Res* 12: 3817-3824, 1991.
- 7) **藤居 仁, 新家 真, 江口秀一郎, 他:** レーザースペックル血流画像化法の眼科への応用(I). *日本レーザー医学会誌* 10(3): 43-46, 1989.
- 8) **藤居 仁:** レーザースペックル法による末梢循環画像化装置. *病態生理* 9: 137-144, 1990.
- 9) **Jay WM, Aziz MZ, Green K:** Effect of topical epinephrine and timolol on ocular and optic nerve blood flow in phakic and aphakic rabbit eyes. *Curr Eye Res* 3: 1199-1202, 1984.
- 10) **Green K, Hatchett TL:** Regional ocular blood flow after chronic topical glaucoma drug treatment. *Acta Ophthalmol* 65: 503-506, 1987.
- 11) **Grunwald JE:** Effect of topical timolol on the human retinal circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 1713-1719, 1986.
- 12) **Yoshida A, Feke GT, Ogasawara H, et al:** Effect of timolol on human retinal, choroidal and optic nerve head circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 (Suppl): 381, 1990.