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

玉置 泰裕[1)]，冨田 憲[2)]，新家 真[3)]，永原 幸[3)]
富所 敦男[4)]，小西 直樹[5)]，藤居 仁[5)]
[1)]東京都老人医療センター眼科，[2)]東京厚生年金病院眼科，
[3)]東京大学医学部附属病院分院眼科，[4)]大宮赤十字病院眼科，
[5)]九州工業大学情報工学部

要 約

既に報告したレーザースペックル現象を利用した眼底末梢循環の二次元解析機を改良し，人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流の実時間測定を行える機器を試作した．本装置は，眼底の半導体レーザー照射野内に生じたスペックルパターンをエリアセンサーに結像，その出力を演算ボードに入力して高速処理を行い，0.125秒間隔で7秒間，血流速度指標であるNB値の連続測定を行う．本装置を用いて，正常人眼の視神経乳頭耳側の表在血管のみえない部位から得られたNB値の測定域内での平均値（NB_{ONH}）および乳頭と黄斑部の中間部の脈絡膜から得られたNB値の測定域内での平均値（NB_{ch}）をそれぞれ測定した．NB_{ONH}の5心拍分の平均値(mean NB_{ONH}）の1分および24時間間隔の測定の再現性指数は，それぞれ11.7%および13.0%であり，NB_{ch}の5心拍分の平均値（mean NB_{ch}）ではそれぞれ8.7%および9.7%であった．NB_{ONH}およびNB_{ch}の拍動成分の平均値は，mean NB_{ONH}およびmean NB_{ch}の38.4%および26.6%であった．本装置により人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流動態を，十分な再現性を以て測定可能である．（日眼会誌 99：601—606，1995）

キーワード：レーザースペックル現象，末梢循環，人眼，視神経乳頭，脈絡膜

An Apparatus Using Laser Speckle Phenomenon for Noncontact Two-dimensional Analysis of Microcirculation in Optic Nerve Head or Choroid in Human Eyes

Yasuhiro Tamaki[1)], Ken Tomita[2)], Makoto Araie[3)], Miyuki Nagahara[3)], Astuo Tomidokoro[4)], Naoki Konishi[5)] and Hitoshi Fujii[5)]
[1)]*Eye Clinic, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital*
[2)]*Eye Clinic, Tokyo Kosei Nenkin Hospital*
[3)]*Department of Ophthalmology, University of Tokyo Branch Hospital*
[4)]*Eye Clinic, Ohmiya Red Cross Hospital*
[5)]*Department of Computer Science and Electronics, Kyusyu Institute of Technology*

Absrtact

The previously reported apparatus using the laser speckle phenomenon for noncontact two-dimensional analysis of the fundus peripheral circulation was improved so that peripheral circulation in the optic nerve head (ONH) or choroid in human eyes can be measured on a real-time basis. The fundus was illuminated by a diode laser spot and its image speckle was detected with an area sensor. The NB value, a quantitative index of blood velocity, was calculated by the logic board every 0.125 sec successively for 7 sec. Using this apparatus, the NB averaged over the measurement field located in the

別刷請求先：173 東京都板橋区栄町35—2 東京都老人医療センター眼科 玉置 泰裕
（平成6年10月24日受付，平成6年12月27日改訂受理）
Reprint requests to: Yasuhiro Tamaki, M.D. Eye Clinic, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital. 35-2 Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan.
(Received October 24, 1994 and accepted in revised form December 27, 1994)

temporal site of ONH, free of visible surface vessels (NB_{ONH}), and that located in the posterior choroid (NB_{ch}) were measured in normal human eyes. The coefficients of reproducibility of 5-minute interval measurements were 11.7% for the NB_{ONH} averaged over 5 pulses (mean NB_{ONH}) and 8.7% for the NB_{ONH} averaged over 5 pulses (mean NB_{ch}), and those of 24-hour interval measurements were 13.0% for the former and 9.7% for the latter, respectively. The average of pulsatile component of NB_{ONH} was 38.4% of mean NB_{ONH} and that of NB_{ch} was 26.6% of mean NB_{ch}. (J Jpn Ophthalmol Soc 99 : 601—606, 1995)

Key words: Laser speckle phenomenon, Peripheral circulation, Human eye, Optic nerve head, Choroid

I 緒 言

眼の生理学的機能や眼底疾患の病態を考える上で，眼底組織の循環動態は重要な指標となり得ると考えられる．視神経乳頭および脈絡膜循環動態の非侵襲的解析法として，螢光眼底撮影法[1)2)]，indocyanine green (ICG) 螢光眼底撮影法[3)]などの色素希釈法および laser Doppler 法が用いられている．色素希釈法では，循環動態の定量的解析は困難であり，また短時間に測定を繰り返すことはできない．Laser Doppler 法による視神経乳頭[4)~10)]および脈絡膜の末梢循環解析[7)11)]は，その測定面積が狭いため，測定値が組織血流量の場所によるばらつきに影響されやすいという欠点があり[12)]，主として動物実験に用いられている．

我々は，半導体レーザーを眼底のある範囲に照射し，そこに生じるスペックルパターンを解析することにより，生体眼における視神経乳頭[13)~15)]および脈絡膜[15)16)]末梢循環を，非侵襲的かつ二次元的に解析する装置を開発し，既に報告した．さらに，本装置による測定において血流速度の指標として用いた NB 値[15)~17)]が，家兎視神経乳頭および脈絡膜組織血流量の指標ともなり得ることを報告[15)18)]した．しかし，本装置は1回の測定および解析に約10秒を要し，これより速い血流経時変化の測定は不可能であったため，人眼の眼底末梢循環の解析は困難であった．今回，スペックルパターン解析を高速かつ連続的に行う改良機を試作し，人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流時間変化の実時間測定を行ったので報告する．

II 方 法

1. 測定原理

本装置の測定原理は，前報[15)~17)]で詳述したので概要のみを述べる．本装置の光学系は，半導体レーザー（波長 808 nm）およびエリアセンサー（縦 100×横 100 画素，BASIS 型，キャノン）を装置した眼底カメラ（TRC-WT 3®，トプコン）から成る．ハロゲンランプからの眼底照明光路にダイクロイックミラーを挿入し，半導体レーザーを眼底に照射する．1.5×1.5 mm のレーザー照射野のうち，測定部位である 1.06×1.06 mm（画角 45°）あるいは 0.72×0.72 mm（画角 30°）の眼底領域で散乱したレーザー光は，100×100 画素のエリアセンサー上に結像する．センサー面上には眼底において散乱したレーザー光が干渉し合い，スペックルパターンが形成され，血流の速い所ほどパターンのぶれが大きくなる[19)20)]．エリアセンサーは毎秒 540 フレームの高速走査が可能であり，エリアセンサーの 64 フレーム分の出力を今回開発したハードウェア演算ボードに入力して高速処理計算し，血流速度の指標である NB 値[15)~17)]を，0.125 秒間隔で7秒間の連続測定を行うことが可能である．この NB 値の分布を，末梢血流速度分布としてカラーモニターテレビ上に二次元カラーマップで表示する．また，カラーマップ上に任意の矩形領域を設定し，その領域内の NB 値の平均値を計算し，その7秒間の経時変化を表示することが可能である．得られたデータおよびカラーマップは 3.5 インチ光磁気ディスクに保存される．

2. 視神経乳頭および脈絡膜 NB 値の測定

視神経乳頭 NB 値測定には画角 30°（測定領域 0.72×0.72 mm）を，脈絡膜 NB 値測定には画角 45°（測定領域 1.06×1.06 mm）をそれぞれ用いた．0.4%トロピカミド（ミドリン M®，参天製薬）点眼による散瞳 20 分後に，本装置で視神経乳頭耳側の表在血管のみえない部位の NB 値および視神経乳頭と黄斑部の中間部の脈絡膜の NB 値をそれぞれ測定した（図1）．視神経乳頭については，カラーマップ上で，表在血管に相当する部位を含まない最大の矩形領域を設定し，その領域内の NB 値の平

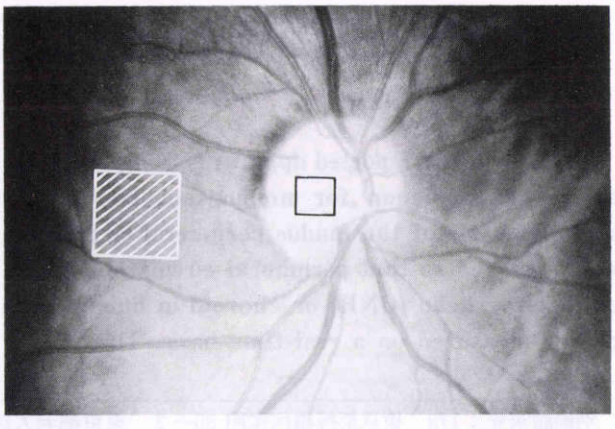
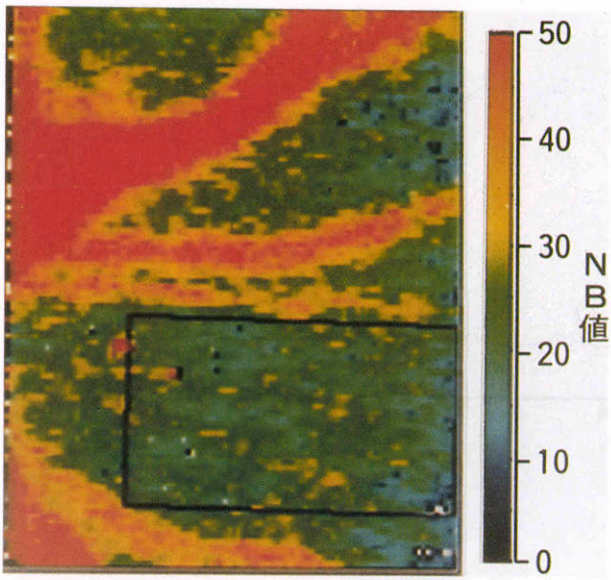
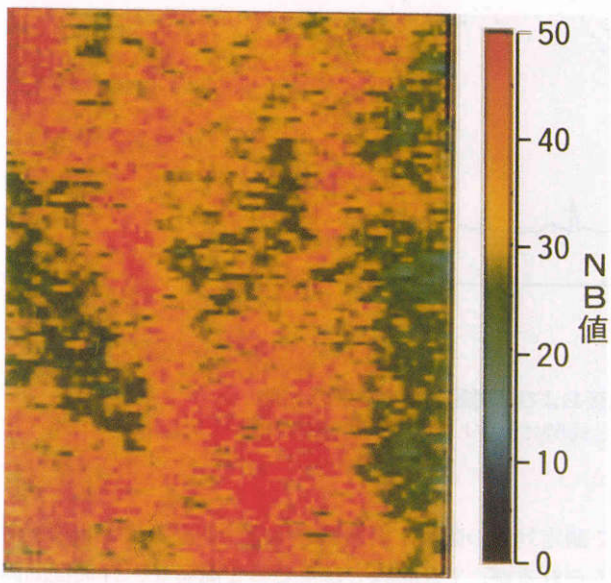


図1 視神経乳頭および脈絡膜の末梢血流速度解析部位．
視神経乳頭耳側の表在血管のみえない部位（四角部分）の NB 値および視神経乳頭と黄斑部の中間部の脈絡膜（斜線部分）の NB 値をそれぞれ測定した．



(a)



(b)

図2　視神経乳頭および脈絡膜のカラーマップの1例
視神経乳頭（a）および脈絡膜（b）のカラーマップの1例をそれぞれ示す．血流速度指標であるNB値に応じて，灰色から赤色の50段階カラー表示になっており，赤色に近いほどNB値が高い，すなわち，末梢血流速度が高いことを示す．図（a）の赤色の領域は表在血管に相当し，四角で囲んだ部分は今回の測定領域を示す．

均値を測定値（NB_{ONH}）として用いた（図2a）．脈絡膜では測定領域全体のNB値の平均値を測定値（NB_{ch}）とした（図2b）．測定中は心電図モニターを同時に行った．

実験1：視神経乳頭および脈絡膜NB値の拍動成分と平均値

全身的疾患および軽度近視以外の眼科的疾患を有さない正常若年者6名（20～34歳）12眼を対象とし，本装置でNB_{ONH}およびNB_{ch}をそれぞれ測定した．測定に際し，すべての測定対象者から同意を得てから測定を実施した．なお，本研究は東京大学医学部倫理委員会の承認を得ている．心電図の収縮期に相当する最高の$NB_{ONH(ch)}$および拡張期に相当する最低の$NB_{ONH(ch)}$をそれぞれ$sysNB_{ONH(ch)}$，$diaNB_{ONH(ch)}$とし，$NB_{ONH(ch)}$の拍動成分{$pNB_{ONH(ch)}$}を次式のように定義した．

$$pNB_{ONH(ch)}=sysNB_{ONH(ch)}-diaNB_{ONH(ch)} \quad (1)$$

また，7秒間の測定時間中の5心拍分に相当する$NB_{ONH(ch)}$の平均値を$meanNB_{ONH(ch)}$とし，5心拍分の$pNB_{ONH(Ch)}$の平均値とmean $NB_{ONH(ch)}$の比をそれぞれ算出した．

実験2：測定の再現性

実験1と同じ正常若年者6名（20～34歳）12眼を対象とし，本装置で$meanNB_{ONH}$および$meanNB_{ch}$をそれぞれ1分間隔で2回ずつ測定した．眼底写真を撮影し，測定部位を記録した後，24時間後に同一部位のmean-NB_{ONH}および$meanNB_{ch}$をそれぞれ測定した．なお，ここでは1回目の測定値（V_1）と2回目および3回目の測定値（V_2，V_3）の変動

$$\frac{|V_1-V_{2(3)}|}{(V_1+V_{2(3)})/2} \quad (2)$$

を再現性指数として用いた．なお，1分間隔の再現性指数は主として測定誤差を含めた測定の再現性の指標となり，24時間間隔の再現性指数は測定誤差に加えて測定対象の眼底末梢循環の生理的変動を含めた生体眼における測定値の安定性の指標となると考えられる．

III　結　　果

実験1：視神経乳頭および脈絡膜NB値の拍動成分の平均値

図3にNB_{ONH}およびNB_{ch}の7秒間の連続測定の結果の1例を示す．測定結果は，いずれも心拍とほぼ同期した周期性をもった波形を示していた．NB_{ONH}およびNB_{ch}の，拍動成分と平均値の比はそれぞれ38.4±2.5%および26.6±2.6%であった（平均値±標準誤差，n=12）．

実験2：測定の再現性

$MeanNB_{ONH}$の1分および24時間間隔の測定の再現性指数は，それぞれ11.7±3.3%および13.0±3.0%であり，$meanNB_{ch}$ではそれぞれ8.7±1.5%および9.7±2.5%であった（平均値±標準誤差，n=12）．

IV　考　　按

前報[13)~18)]で報告した眼底末梢循環の二次元解析機では，1回のNB値測定時間は0.18秒であったが，ソフトウェアによる解析に約10秒を要した．これは，laser Doppler flowmeter[7)~11)]による時間分解能よりはるかに劣っていた．前報[13)~18)]での家兎を用いた実験では，家兎の心拍数は約300/分[21)]，すなわち1/0.2秒であり，心拍

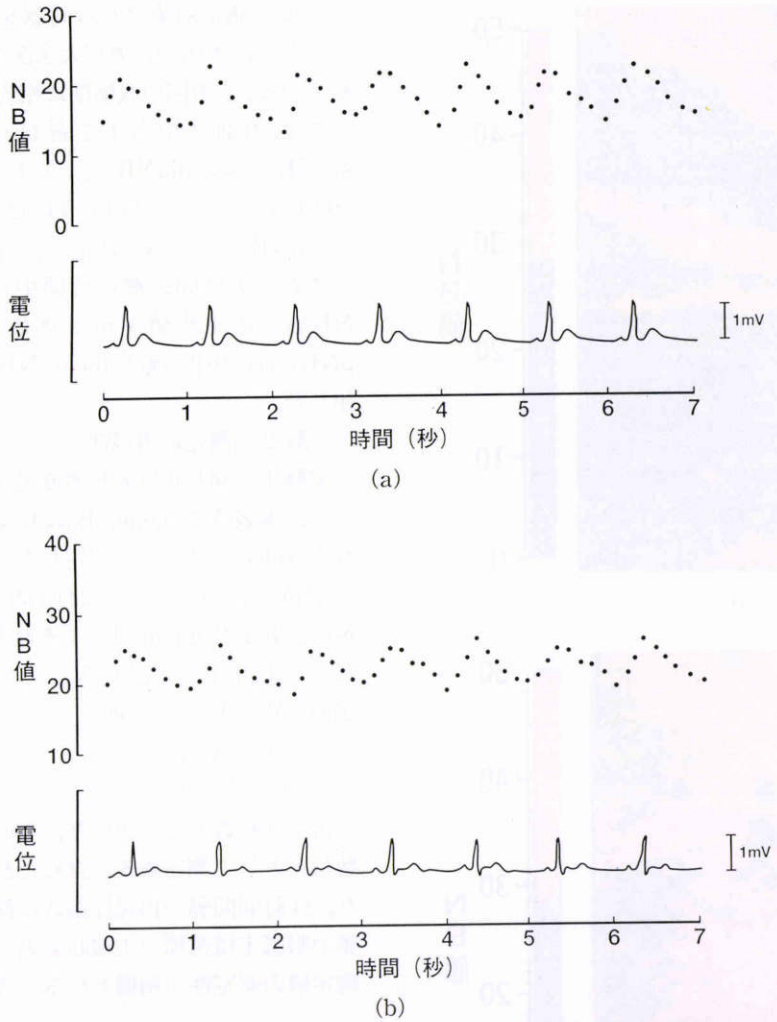


図3 視神経乳頭および脈絡膜の末梢血流速度および心電図の測定結果の1例.

視神経乳頭(a)および脈絡膜(b)の $NB_{ONH(ch)}$ およびこれらと同時に測定した心電図の経時変化の1例を示す.

周期の0.2秒と従来の装置によるNB値測定に要する時間の0.18秒がほぼ同等であったため,心拍による家兎組織血流の変化は平均化され,十分な再現性をもって測定可能であったと考えられる.しかし,人の心拍数は65～85/分であり,従来の装置では心拍による血流経時変化の測定は不可能であったため,人眼の眼底末梢循環の解析は困難であった.今回開発した装置では,ハードウェア演算ボードにより0.125秒間隔で7秒間のNB値連続測定が可能であり,人眼眼底の心拍による組織血流変化が測定可能となった.さらに,本装置による眼底末梢循環の測定面積は,画角45°を用いた場合は1.06×1.06 mmであり,これはlaser Doppler法による眼底末梢循環の測定面積(直径約180 μm)[4)~10)]の約44倍に相当し,測定部位による測定値のばらつきを軽減させ,人眼での測定により適していると考えられる.今回の実験2においても,$meanNB_{ONH}$の1分および24時間間隔の測定の再現性指数は,それぞれ11.7%および13.0%であり,$meanNB_{ch}$ではそれぞれ8.7%および9.7%と十分なものであった.これら測定の再現性指数は測定誤差に加えて測定対象の眼底末梢循環の生理的変動を表す指標と考えられるが,1分間隔では主として前者を,24時間間隔では後者も大きく反映すると考えられる.今回得られた結果は,長期における測定値の安定性を示すものであり,本装置により長期間にわたり眼底末梢循環をfollow upし得ることが示唆された.

人眼では前報[15)16)18)]で用いた白色家兎と異なり,脈絡膜はレーザーの伝達に影響を与えるメラニン色素を含有する網膜色素上皮下に存在しており,かつ,眼底後極部で測定したNB値は網膜血流と脈絡膜血流の両者を反映する可能性がある.しかし,サル眼において網膜血流量は脈絡膜血流量の5%程度にすぎず[22)],また,有色家兎を用いた実験[15)]でも,網膜血管の存在する髄翼上および網膜血管の存在しない髄翼外から得られたNB値に有意差がなく,網膜血流は半導体レーザーによる脈絡膜のNB値測定にほとんど影響しないと考えられる.

人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流は,心拍に同期した拍動を有していた.これは,ネコ眼[11)]およびブタ眼[7)]における脈絡膜血流にも拍動が存在することと類似して

いる．Koelle ら[23]は半導体レーザー（波長 811 nm）のネコ眼視神経組織における深達度は 1 mm 以上であると報告している．よって，今回の装置の視神経乳頭測定時における測定深度も 1 mm 以上であり，前篩板部のみならず後篩板部の血流も関与していると考えられる．NB_{ONH} および NB_{ch} の拍動成分と平均値の比はそれぞれ約 38% および 27% であり，これらの値は超音波 color Doppler 法により測定した人眼眼動脈での値（約 120%[24]～150%[25]）よりかなり小さな値となっているが，これは今回測定した NB 値がより微小循環に近い末梢血流動態を反映していることによる可能性があろう．また，視神経乳頭血流の拍動成分が脈絡膜血流の拍動成分より大きくなっているが，これは NB_{ONH} が後篩板部に存在する後毛様動脈系の比較的径の大きな血管の血流を反映している可能性を示唆している．

臨床応用に際しては，レーザーの安全性が問題となる．American National Standard Institute (ANSI)[26]によると，半導体レーザーの網膜最大照射許容量は 10 秒間の連続照射で 460 mW/cm² である．今回の測定における網膜照射量は約 90 mW/cm² であり，照射時間は約 10 秒であった．したがって，本装置の測定は，ANSI の安全基準を十分満たしており，今後の臨床応用も可能であるといえる．

以上，本装置は人眼視神経乳頭および脈絡膜末梢血流動態を，十分な再現性をもって測定できることが示され，今後の人間の眼底末梢循環の研究に極めて有用であることが示唆された．

文　献

1) **Goldmann H, Cabernard E:** Fluorescein in the human optic disc. II. The fluorescein appearance rate. Albrecht Von Grafes Arch klin Exp Ophthalmol 200 : 123—131, 1976.
2) **Hyvarinen L, Maumenee AE, George T, Weinstein GW:** Fluorescein angiography of the choriocapillaris. Am J Ophthalmol 67 : 653—666, 1969.
3) **Craandijk A, Van Beck CA:** Indocyanine green fluorescein angiography of the choroid. Br J Ophthalmol 60 : 377—385, 1976.
4) **Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH:** Laser Doppler measurement of relative blood velocity in the human optic nerve head. Invest Ophthalmol Vis Sci 22 : 241—248, 1982.
5) **Sebag J, Feke GT, Delori FC, Weiter JJ:** Anterior optic nerve blood flow in experimental optic atrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci 26 : 1415—1422, 1985.
6) **Sebag J, Delori FC, Feke GT, Goger D, Fitch K, Tagawa H,** et al: Anterior optic nerve blood flow decreases in clinical neurogenic optic atrophy. Ophthalmology 93 : 858—865, 1986.
7) **Riva CE, Pournaras CJ, Poitry-Yamate CL, Petrig BL:** Rhythmic changes in velocity, volume, and flow of blood in the optic nerve head tissue. Microvascular Research 40 : 36—45, 1990.
8) **Rizzo JF III, Feke GT, Goger DG, Ogasawara H, Weiter JJ:** Optic nerve head blood speed as a function of age in normal human subjects. Invest Ophthalmol Vis Sci 32 : 3263—3272, 1991.
9) **Riva CE, Harino S, Shonat RD, Petrig BL:** Flicker evoked increase in optic nerve head blood flow in anesthetized cats. Neurosci Lett 128 : 291—296, 1991.
10) **Riva CE, Harino S, Petrig BL, Shonat RD:** Laser Doppler flowmetry in the optic nerve. Exp Eye Res 55 : 499—506, 1992.
11) **Riva CE, Cranstoun SD, Mann RM, Barnes GE:** Local choroidal blood flow in the cat by laser Doppler flowmetry. Invest Ophthalmol Vis Sci 35 : 608—618, 1994.
12) **Tyml K, Roman JR, Lombard JH:** Limitations of laser Doppler flowmetry for measurement of skeletal muscle blood flow. In : Shepherd AP, et al (Eds) : Laser Doppler flowmetry, Kluwer Academic Publishers, Boston, 219—222, 1990.
13) **玉置泰裕，川本英三，江口　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.
14) **Tamaki Y, Kawamoto E, Araie M, Eguchi S, Fujii H:** An application of laser speckle phenomenon for noninvasive 2-dimensional evaluation of microcirculation in ocular fundus. A preliminary report. Jpn J Ophthalmol 37 : 178—186, 1993.
15) **Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H:** Noncontact, two-dimensional measurement of microcirculation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. Exp Eye Res 59 : 1955 (in press).
16) **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.
17) **Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H:** Noncontact, two-dimensional measurement of retinal microcirculation using laser speckle phenomenon. Invest Ophthalmol Vis Sci 35 : 3825—3834, 1994.
18) **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 値の定量性について—．日眼会誌　98 : 162—168, 1994.
19) **Fercher AF, Briers JD:** Flow visualization by means of single-exposure speckle photography. Opt Commun 37 : 326—330, 1981.
20) **Briers JD, Fercher AF:** Retinal blood-flow visualization by means of laser epeckle photography. Invest Ophthalmol Vis Sci 22 : 255—259, 1982.
21) **Kozuma C, Macklin W, Cummins LM, Mauer R:** Anatomy, physiology, and biochemistry of the

rabbit. In: Weisbroth SH, et al (Eds): The Biology of the Laboratory Rabbit, Academic Press, New York, 50—72, 1974.

22) **Alm A, Bill A:** Ocular and optic nerve blood flow at normal and increased intraocular pressure 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.

23) **Koelle JS, Riva CE, Petrig BL, Cranstoun SD:** Depth of tissue sampling in the optic nerve head using laser Doppler flowmetry. Lasers Med Sci 8: 49—54, 1993.

24) **Tamaki Y, Nagahara M, Yamashita H, Kikuchi M:** Blood velocity in the ophthalmic artery determined by color Doppler imaging in normal subjects and diabetics. Jpn J Ophthalmol 37 385—392, 1993.

25) **Guthoff RF, Berger RW, Winkler P, Helmke K, Chumbley LC:** Doppler ultrasonography of the ophthalmic and central retinal vessels. Arch Ophthalmol 109: 532—536, 1991.

26) **American National Standard Institute, Inc:** Criteria for exposure of the eye and skin. In: American Natinal Standard for the Safe Use of Lasers, ANSI, New York, 31—34, 1993.