

レーザースペックル現象を応用した生体眼における
網膜静脈血流速度測定二次元解析装置の開発

永 原 幸

レーザースペckル現象を応用した生体眼における
網膜静脈血流速度測定二次元解析装置の開発

永原 幸

目 次

I. 研究目的、研究背景	
1. 人眼における眼循環測定の意義と本研究の目的	3
2. これまでの人眼における眼循環測定法	5
3. レーザースペックルの測定原理	9
II. 実験	
1. レーザースペックル現象を応用したリアルタイム二次元解析装置の開発	12
2. 臨床応用可能な装置への改良	17
3. 模擬人眼における測定	21
III. 臨床応用 I	
1. 正常人における網膜静脈血流速度の測定	41
2. 網膜剥離手術による網膜静脈血流速度の変化	46
3. 網膜中心静脈と網膜静脈血流速度の相関 (超音波カラードップラー法との相関)	54
IV. 臨床応用 II (より細い網膜静脈血流速度の測定)	
1. 細い血管に対応した血流速度の定量的指標	62
2. 模擬人眼における測定 (実験 4)	65
3. 人眼における第 2 分枝以降の網膜静脈血流速度の測定	68
V. まとめ	71
VI. 参考文献	73

1. 研究目的、研究背景

1. 人眼における眼循環測定の意味と本研究の目的

循環系は組織から炭酸ガスを取り除き、酸素を供給し、栄養物、老廃物、電解質およびホルモンなどを運搬、さらに体温も調節するなど、有機体が生存するためには不可欠な器官である。組織の酸素貯留能力には著しい制限があるため短時間の循環不全が生じてでも不可逆的な障害が残る場合がある。眼の循環障害は一時的なものでも著しい視機能障害を生じる場合があり、眼循環動態の変化を捕らえることは治療効果の評価を含め、臨床上重要な情報になる。

網膜血管は視神経乳頭からでる網膜中心動脈および静脈とそれらの分枝であり、主に網膜の脳層（内顆粒層まで）の栄養血管である。網膜中心動静脈は眼球の後方1 cmところで視神経に入る（図1）。視神経乳頭近傍の網膜動脈は直径170 μm 程で内弾力板と十分な筋線維層を備えているが、眼底に入ってから第一または第二分枝を越えたところで内弾力板は消失することから、視神経乳頭近傍の網膜血管と第二分枝以降の網膜血管では異なる循環調節の役割を果たしていると考えられる。網膜毛細管は直径3.5 μm から6 μm で一層の内皮細胞と基底膜からなる、微小循環の最も重要な機能的単位である。網膜静脈は静脈性毛細管から静脈性前毛細管を経て網膜中心静脈へ入るが、視神経乳頭近傍では直径200 μm 程で筋線維層を備えており、静脈圧の変化を形態的に捕えられることもある。

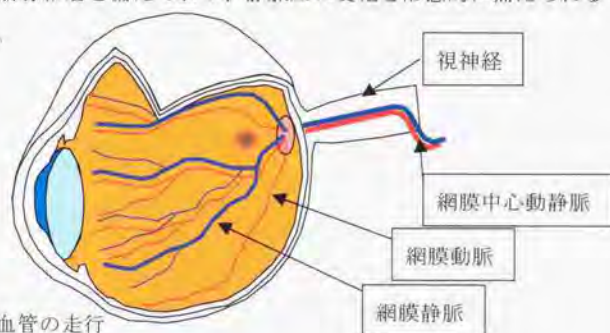


図1：網膜血管の走行

眼は直接血管が観察できることから、眼底検査は高血圧や糖尿病などの血管病変が生じる全身疾患の評価に用いられてきた。眼底検査は検眼鏡的に行われることから、形態的な変化を捕らえることはできるが、それによる循環動態の変化は定性的であり、微少な変化を捕らえることはできない。網膜循環動態の変化を定量的に捕らえることができれば眼生理、眼薬理学的にその意義は大きい。特に網膜静脈は循環動態の悪化で形態的に変化することから、血流速度の変化と形態的变化を同時に測定、観察する上で適している。

これまで人眼における網膜循環動態の変化を捕らえる幾つかの方法が報告されているが、定量的に測定することは、けっして容易ではなく、臨床に応用できる方法が確立されたとはいえない。本研究の目的は人眼に適応可能なレーザースペckル現象を応用した二次元解析装置を開発し、網膜静脈血流速度の変化を定量的に測定し、薬物治療や手術治療による眼循環動態を解析しようというものである。

2. これまでの人眼における網膜血流動態測定法

過去に報告されている網膜循環測定法(表1-1, 1-2)として人眼に適応可能なものを表1-2に示す。現在、臨床に応用されているものは、蛍光眼底造影法、indocyanine green angiography、scanning laser ophthalmoscopy、blue field stimulation technique、laser Doppler velocimetry、laser speckle flowmetry、scanning laser Doppler flowmetry、超音波カラードップラー法である。本研究において開発したレーザースペckル二次元解析装置を除いた8法について、最初にそれぞれの方法と概略および問題点につき、以下に略述する。

表 1-1: 動物実験に用いられる眼循環測定法

水素クリアランス法
マイクロスフェア法
アイソトープクリアランス法
iodoantipyrine法
 ^{14}C -antipyrine法
熱伝対法 他

表 1-2: 人眼に用いられる眼循環測定法

蛍光眼底造影法
indocyanine green angiography
scanning laser ophthalmoscopy
blue field stimulation technique
レーザードップラー法(velocimetry)
レーザースペckル法(flowmetry)
scanning laser Doppler flowmetry
超音波カラードップラー法

蛍光眼底造影法、indocyanine green angiography、scanning laser ophthalmoscopy

これらの方法は蛍光色素であるフルオレセイン¹⁻⁵⁾またはインドシアニングリーン⁶⁻⁸⁾を静脈内へ注入し、励起光または励起レーザー光を照射して血管内を流れる色素をフィルターを介して眼底カメラまたはCCDカメラで撮影、記録するものである。

これらの中で scanning laser ophthalmoscopy を除き、日常的に臨床で使用されている機器を用いるため、多くの施設で行うことができるが、蛍光色素を体内へ注入しなければならないこと、血流速度を測定する場合、蛍光色素の先端部を決定することが困難であること、scanning laser ophthalmoscopy⁹⁻¹³⁾では微小単位時間で得られた映像を解析しなければならないため、その解析に時間を要するなど、現状においては侵襲的であり簡便に測定、解析することはできない。

Blue field simulation technique

本方法は、被検者による自覚検査で、波長430nmの単色光で、網膜を照射すると黄斑部の毛細血管内白血球の動きを内視することができる現象 (blue field entoptic phenomenon)¹⁴⁻¹⁷⁾を利用し、その動きをコンピューター画像にシミュレーションさせ、その血流速度を知ろうとするものである。比較的簡単にでき、黄斑部の網膜血流を評価することができるが、測定部位が黄斑に限られること、自覚検査であることから評価が難しい。

レーザードップラー血管内血流速度測定法 (velocimetry)

He-Neなどのレーザーを網膜血管に照射し、その血管を流れる赤血球により反射された光と血管壁により反射された光の波長の差を赤血球の移動速度によるドップラーシフトと考え、その速度を求めようとするものである¹⁸⁻²³⁾。この方法は原理的に網膜血流速度の絶対値が

測定できる可能性があるが、以下のような欠点がある。本方法では、照射レーザーが赤血球のみに反射されて、その反射光が検出されるという1回散乱モデルを用いているが、実際には血管内には多数の赤血球が存在しレーザーは多重散乱を受けているはずであり、1回散乱モデルが成立する保証はない。

網膜血管中心赤血球移動速度を測定する場合、レーザーは確実に網膜中心部に照射されていなければならない。このことは被検者にとってその頭部および眼球運動の厳密な固定を要求するだけでなく苦痛を伴う。Cut off 周波数の決定は人為的におこなっていること、電気的および光学的にノイズを受けやすく、また、人為的誤差を生じ易い。

レーザー-speckle組織血流量測定法 (flowmetry)

レーザー光を視神経乳頭、脈絡膜²⁴⁾や虹彩²⁵⁾に照射し組織血流量を評価しようとするものである。本方法では得られた信号をレーザードップラー血流測定法のようにドップラー信号の集積としてではなく、レーザー-speckleの動きとして解釈し、その反射強度の変動率を積算して血流量の指標としている。したがって概念的には Brier と Forcher²⁶⁾による写真法による血流分析法に近いものと考えられる。複数回記録された画像解析に基づいているだけに、眼球運動が少なからぬ影響を与えるのではないかという懸念がある。血流量に換算する手段を持たないため、定性的検討ないし同一部位の経時的相対比較にしか用いることができない。また、網膜の波長に対する反射率の違いを利用してアルゴンブルーレーザー光線による網膜血流の測定²⁷⁾を行っているが、光線が非常に眩しいことから人眼への応用はできない。

Scanning laser doppler flowmetry (SLDF)

SLDFはレーザー光および測定点を同期させながら網膜上を走査させる²⁸⁾。眼底の 1.0° の領域を検査することが可能で $2.7 \times 0.7 \text{ mm}^2$

の測定範囲を水平走査線が64ラインで、1ラインの測定ポイントが256ポイント(256ポイント×64ライン)から構成される2次元血流マップを1ラインにつき4000Hzの走査速度で128回(0.032秒)繰り返し、64ライン測定に2.048秒を要する(網膜上での空間解像度は10 μ m)。血流の解析は各ポイントにおける、特定の周波数間で生じるレーザー強度の変動や平均強度の値を用いてフーリエ変換して算出している。スキヤニングの利点は広い範囲を測定できることから、種々の疾病眼を対象にした報告²⁹⁻³¹⁾が行われているが、生体眼の血流を測定する場合、心拍周期が関係することから、拡張期や収縮期という心拍周期のうちのどの位相で測定されたかが特定され得ないことや測定中に眼球が少しでも動くと解析ができない。また測定結果として表示される2次元的なマッピングのうちでも異なる位相の測定結果が混在するので、定量的な解析に用いるには問題点が多い。

超音波カラードップラー法、color Doppler imaging (CDI)

超音波カラードップラー法による眼循環の測定は7.5MHzのプロープを用い先端から50mm程度(測定範囲30度)の範囲をスキヤンし、捕らえた超音波Bモードの画像にカラーマップを重ね、目的とする位置のバルスウェーブを測定解析するものであり、主に眼動脈、網膜中心動静脈、短後毛様動脈や長後毛様動脈が測定対象となり類動脈海綿静脈洞瘻、糖尿病網膜症、閉塞性疾患や緑内障の循環動態の解析に用いられている³²⁻³⁷⁾。特に網膜中心動静脈は血管の走行する方向が確認できることから、絶対速度の測定が可能であるが、眼内の局所循環の変化を捕らえることはできない。また、現在のところ超音波カラードップラー装置は4000万円以上する高価なもので、眼科専用として設置している施設は少ない。

3. レーザースペckル装置の測定原理

ここでは、以上に述べた諸法の問題点を解釈し、且つ再現性に優れたより患者に負担の少ないレーザースペckル現象を利用した網膜血管内血流測定法を開発するための研究を行った。以下に測定原理を述べる。

レーザー光は波長や位相の揃ったコヒレント光であり、散乱体に照射すると反射散乱光に干渉が生じ、スペckルパターンというランダムな小斑点模様を形成する。スペckルパターンは、反射散乱光の強さ（スペckル強度）をもとにその変化をぶれ（blurring）として、半導体素子から構成されたエリアセンサーで捕らえることができ、統計学的記述が可能であるという特性を有している³⁸⁾。

例えば、レーザー光を均一な散乱体に照射した場合、散乱体の移動速度とスペckル強度の相関時間は、

$$\tau = \frac{\omega}{v} \quad (1)$$

τ : 相関時間

v : 散乱体の移動速度

ω : 測定面上のレーザー照射半径

となり、ある範囲内では速度は相関時間の逆数に比例することが理論的に証明されている³⁹⁾。眼球運動がない（固視良好）な場合、眼内で移動する散乱体は血球以外存在しないため、この原理により生体内血球速度、即ち血球成分の大部分をしめる赤血球速度を測定できることになる。

測定時間内に生じるぶれの平均数 (N) は、散乱体が移動する速度を求めるための最も有用な指標となる。測定時間内に生じるぶれの平均数 (N) は、

$$N = \frac{\langle I^2 \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (2)$$

N : ぶれの平均数

$\langle I \rangle^2$: スペクトル強度の平均値の二乗

$\langle I^2 \rangle$: スペクトル強度の二乗の平均値

となる。また、ぶれの平均数 (N) は散乱体の速度が速くなると増加し、遅くなると減少することから、

$$N = \frac{v T}{2 \omega} \quad (3)$$

T : 測定時のレーザー照射時間

となり、レーザー照射時間内のぶれの数と散乱体の速度は比例することがわかる。

(3) 式より散乱体の移動速度 (v) は

$$v = \frac{2 \omega}{T} N \quad (4)$$

となる。

実際の測定ではレーザー照射半径 (ω) とレーザー照射時間 (T) は一定になることから $C = \frac{2\omega}{T}$ とすると

$$\mu = C \frac{\langle I \rangle^2}{\langle I^2 \rangle - \langle I \rangle^2} \quad (5)$$

となる。

我々は $\left\{ \frac{\langle I \rangle^2}{\langle I^2 \rangle - \langle I \rangle^2} \right\}$ で算出される値を S B R (square blur rate) と呼び、血流速度の定量的指標とした。

II. 実験

1. レーザースペckル現象を応用したリアルタイム二次元解析装置の開発

レーザースペckル現象を応用した二次元解析装置としては、既に玉置ら^{2,7)}により報告された装置があるが、本研究で用いた装置は、同装置を九州工業大学情報工学部 藤居 仁氏の協力のもと臨床応用ができるように改良^{40, 41)}、リアルタイム測定を可能にしたものである⁴²⁾。なお、本装置は当初より藤居 仁教授、眼科学教室 新家眞教授、玉置泰裕氏の共同研究により開発されたものである。

本装置の光学系(図2)は、半導体レーザー(波長808nm、最大出力4mW、06DLDO03、Melles Griot, Colorado, USA)およびエリアセンサー(縦100×横100画素、BASIS型、キャノン)を装備した眼底カメラ(TRC-WT3、トプコン)よりなる。ハロゲンランプからの眼底照射光路に、ダイクロイックミラー(DM1)を挿入し、波長808nmの半導体レーザービームをダイクロイックミラー(DM1)とリングミラー(Ma)を介して眼底に照射する。人眼(標準眼)における照射範囲は直径1.5mmの円形で、測定範囲は画角45°の場合1.06×1.06mm、画角30°の場合0.72×0.72mmで、反射したレーザー光はリングミラー(Ma)の中心部を通り、ダイクロイックミラー(DM2)で反射して100×100画素のエリアセンサー上に結像する。この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、各画素の光強度の変化を電位変化に変換するものである。

当初開発された装置は98フレーム分(約0.18秒)の各画素におけるスペckル強度の時間平均と時間変動を積算して血流量の指標としていた。動物実験では麻酔下で測定することから、同一部位を複数回測定し、その平均値を採用することで心拍の影響を除外できるが、臨床における測定では被検者の負担が大きく簡便な測定は行えない。

そこで連続測定可能な装置を開発するため、毎秒540フレームのエリアセンサーから送られてくる情報を64フレーム毎に解析できる高速演

算回路（図3）を設け解析用コンピュータの画面上でリアルタイムに表示できる装置を開発した。

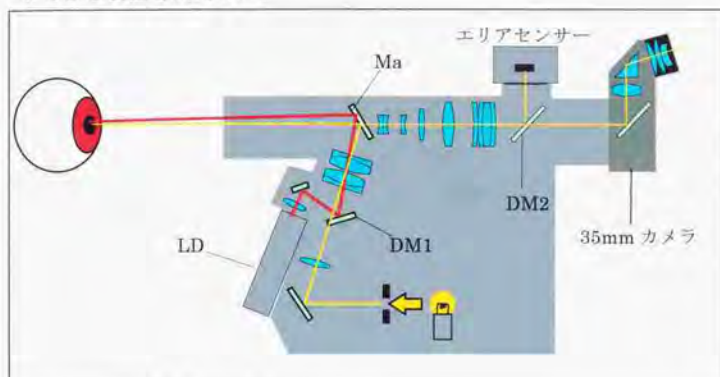


図2：光学系の模式図

LD：半導体レーザーヘッド

DM1、DM2：ダイクロイックミラー

Ma：リングミラー

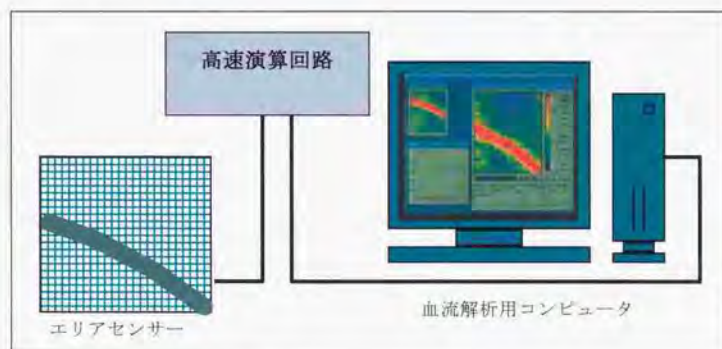


図3：血流解析部の模式図

青いラインはエアアセンサー上に投影された網膜からの反射光。
エアアセンサーで捕らえたスペckル強度の変化は高速演算回路で
計算され血流解析用コンピュータへ送られる。

毎秒540フレームのエリアセンサーからの情報は図4のように解析され、64フレーム毎に各画素に対応する平均強度と偏差が血流解析用コンピュータへ転送される。

ここでエリアセンサー上の左端より x 番目、上端より y 番目 ($x=1 \sim 100$, $y=1 \sim 100$) の画素の、測定開始より k 番目 ($k=1 \sim 64$) のフレームのスペックル強度 $I(x, y, k)$ は、エリアセンサーの1フレームの走査に要する時間を ΔT 、時間 t におけるスペックル強度を $I(t)$ とすると、

$$I(x, y, k) = \int_0^{\Delta T} I(t) dt \quad (6)$$

となる。左端より x 番目、上端より y 番目の画素の64フレーム分のスペックル強度の平均値を $I_{\text{mean}}(x, y)$ とすると、 $I_{\text{mean}}^2(x, y)$ は、

$$I_{\text{mean}}^2(x, y) = \left(\frac{\sum_{k=1}^{64} I(x, y, k)}{64} \right)^2 \quad (7)$$

となる。ここで $I_{\text{mean}}^2(x, y)$ は(2)(5)式における $\langle I \rangle^2$ に相当し、 $I_{\text{mean}}^2(x, y)$ からの偏差 D_{mean}^2 は、

$$D_{\text{mean}}^2 = \frac{\sum_{k=1}^{64} I(x, y, k)^2}{64} - I_{\text{mean}}^2(x, y) \quad (8)$$

となる。(8)式右辺の第一項は(2)、(5)式における $\langle I^2 \rangle$ に相当する。

1秒間に転送されるデータ量は画素数(10000)×2バイト(平

均強度と偏差) × フレーム数 (8 フレーム) で 160KB/秒となり、(5) 式の除算を行うだけでも時間がかかりリアルタイム表示が行えない。そこで、血流解析用コンピュータでは予め平均強度と偏差に対応した SBR の配列をメモリーに記憶させておき、転送されてくるデータに対応した SBR 値が瞬時に得られるようになっている。この SBR 値はカラーコードにも対応しており、速度の速い部位は赤色、遅い部位は青色の縦 100 画素、横 100 画素の血流マップが 0.12 秒間隔で連続的に表示される (図 5)。

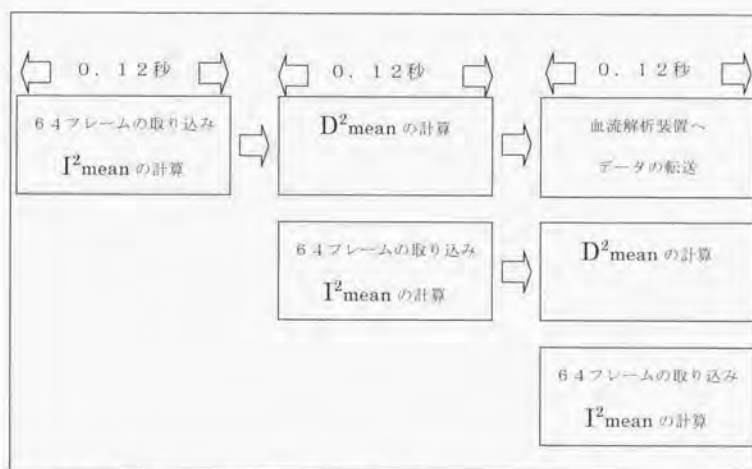


図 4 : 高速演算回路でのデータ処理の流れ

高速演算回路内では 64 フレーム毎にスペックル強度の平均と偏差が計算され血流解析用コンピュータへ転送されている。

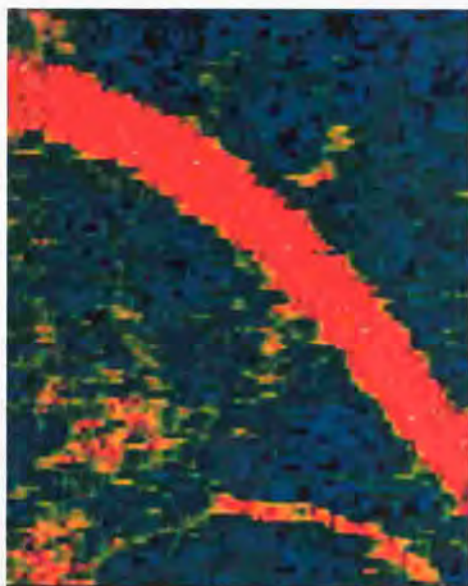


図 5 : 血流解析用コンピュータに表示された血流マップ

各画素の平均強度と偏差に対応した SBR 値とカラーコードへ変換され血流マップが表示される。この血流マップは毎秒 8 フレーム表示され、リアルタイムに血流の変化を観察することが可能になった。測定データは光磁気ディスクに保存可能で、一度保存したデータを再度読み込み解析画面上で SBR 値を算出することができる。解析する位置は血流マップ上で座標と領域をマウスで指定する（領域は最小 1×1 ピクセル、最大 100×100 ピクセルで可変）。

2. 臨床応用可能な装置への改良

近年、医療機器の進歩で画像による正確な診断が可能になり、その精度はコンピュータ解析技術も加わり年々高くなっている。先にも述べたが、レーザー光学の技術を応用した眼局所の血流測定で臨床応用されているものは laser Doppler velocimetry、scanning laser Doppler flowmetry であるが、測定方法に問題点が残されている。

臨床応用可能な眼循環解析装置としての条件を表2に示す。

表2：臨床応用可能な眼循環解析装置としての条件

- | |
|------------------|
| 1. 麻酔の必要がない |
| 2. 接触しない |
| 3. 眩しくない |
| 4. 患者の負担を最小限に止める |
| 5. 再現性がよい |
| 6. 解析が簡便 |
| 7. 正確な定量性 |

これまでの眼底カメラは検者が眼底を観察できるよう可視光を眼底に照射していたが、眩しいために被検者に負担がかかり固視が悪くなるなどの問題があった。また、測定のために眼内へ照射するレーザーは波長が808nmであることから照射部位を直接観察することができなかった。この問題を解決するために、観察光を630nmのバンドパスフィルターへ通し、赤い光を観察光とした。被検者は眩しくなくなるが、検者は眼底の観察ができなくなる。このため3.5mm眼底撮影用カメラを取り外し、高感度赤外線増幅器(NiteMate1306, Intevac, California, USA)とCCDカメラ(IK-C41MF, Toshiba, Tokyo, Japan)を設置し、眼底の観察とレーザーが照射されている測定部位を同時に観察できるように改良した。(図6)

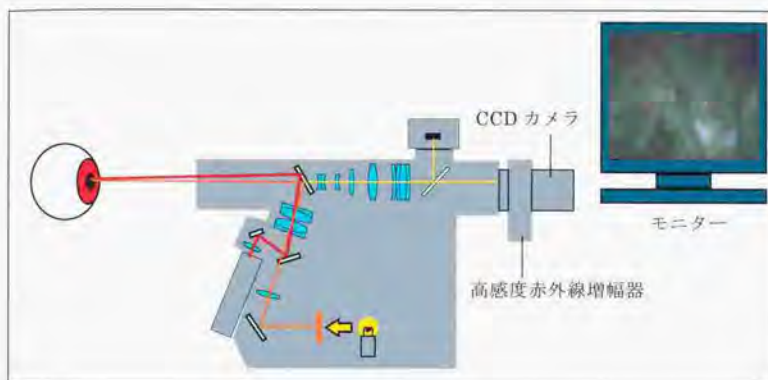


図6：臨床応用可能な装置へ改良されたレーザースペックル二次元解析装置
この改良で被検者は眩しさを感ずることなく検査を受けられるようになり、検者も測定部位の確認がモニター上で可能になった。

実験1

[目的]

改良を加えた装置について作動状態を確認するため、実験1を行った。

[方法]

実験1-1

作動距離45mmの位置でのレーザー出力をレーザー出力計測器（OPM-370, Sanwa, Tokyo, Japan）を用いて測定し、出力特性を検討した。

実験1-2

移動する両面砂打すりガラス回転板（直径90mm、厚さ2mm）を作動距離45mmの位置に設置し、回転速度を変化させ0.12秒間隔で5.5秒間、3回測定し、その平均値を測定値とした。また一定速度（220mm/sec）で回転させレーザー出力の変化に対するSBR値の測定を行った。

[結果]

実験 1-1

作動距離におけるレーザー出力は、出力表示に対し良好な直線関係が得られた (図 7)。

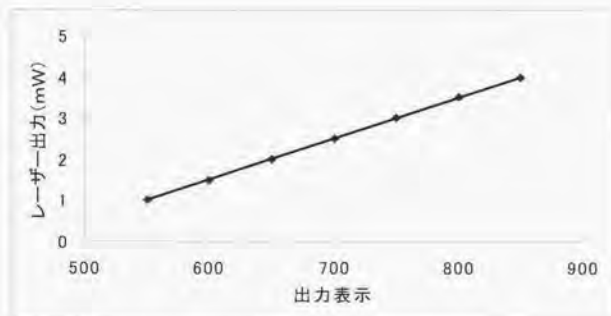


図 7 : レーザーユニットのレーザー出力特性

出力表示と実測値は直線関係にあり、安定した結果が得られていた。

実験 1-2

すりガラス回転板を用いた場合、回転速度に対し S B R 値は直線的に変化した (図 8)、レーザー出力に対しては変化しなかった (図 9)。

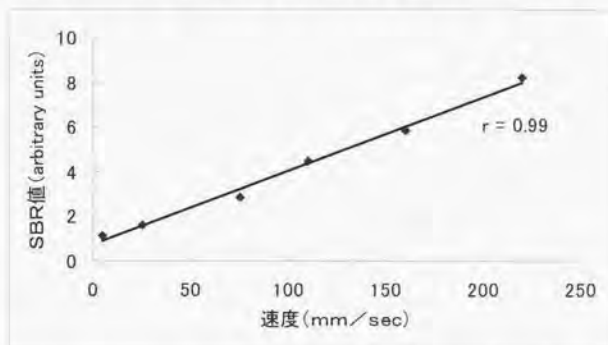


図 8 : すりガラス回転板の回転速度に対する S B R 値の変化

すりガラスに対しては低速から高速まで直線的に相関する。

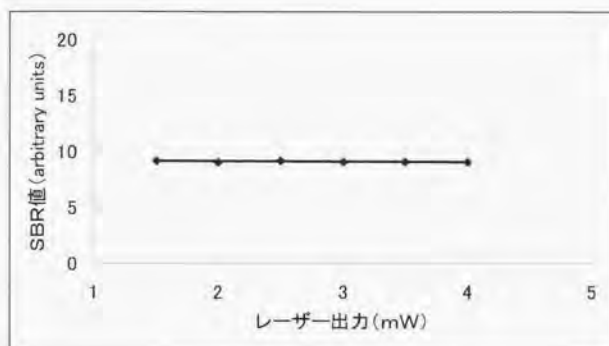


図9：レーザー出力に対するSBR値の変化

すりガラスに対してレーザー出力を変えてもSBR値は変化しない。

[考按]

散乱体の移動速度をレーザースペckル現象を応用して測定する場合、レーザーユニットは安定したレーザー出力が要求される。これはspeckle強度のぶれがレーザー光の波長によって変化するためである。本装置の半導体レーザーは実験から安定した出力が得られていることがわかり、その変動は±1%程度であった。

すりガラスは散乱体が固定されていることから均一な散乱が得られ、speckle強度のぶれは速度に対して直線相関し、また、レーザー出力に対しても変化することはなかった。

このことより臨床応用可能な装置へ改良されたレーザースpeckle二次元解析装置は均一な散乱体に対しては理論式(5式)に一致した、直線相関かつ安定した測定が行えることが明らかになった。

3. 模擬人眼における測定特性 [実験 2]

[目的]

レーザー光を均一な散乱体に照射した場合、散乱体の移動速度とスペックル強度のぶれの平均数は直線相関する (実験 1)。しかし、生体眼においては主に赤血球が散乱体として捕らえられることから、均一な散乱体とは異なり血管内で多重散乱していると考えられ、ガラス毛細管を用いた実験モデルによる測定特性 (種々の誤差要因) を踏まえた上で生体眼で得られた測定値を解析する必要がある。

[方法]

ガラス毛細管 (内径 $160\ \mu\text{m}$) を閉鎖循環回路とし、噴出精度 1% 以内のペリスタルティックポンプ (PST-100N, IWAKI GLASS CO., LTD, CHIBA, JAPAN) を用いて人血液 (赤血球数 $4.44\ \text{万}/\mu\text{l}$ 、ヘマトクリット 44%) を一定速度 ($20\ \text{mm}/\text{sec}$) で温度を恒温槽を用いて一定 (37°C) に保ちながら循環させ、更に Gullstrand の模型眼に従って水晶体後面から網膜までの距離を $16\ \text{mm}$ 、また角膜と水晶体の屈折を 60D と仮定し、前記装置におけるガラス毛細管の前方 $16\ \text{mm}$ のところに 60D の非球面レンズ (60DCC, Nikon CO., LTD, TOKYO, JAPAN) を設置した装置を試作した (図 10)。

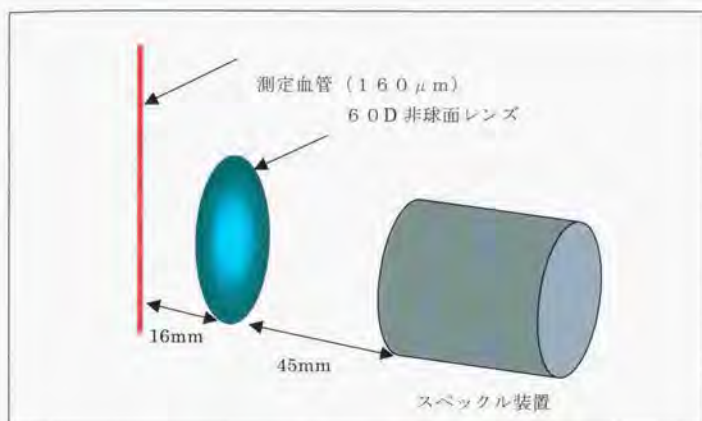


図10：実験2の模式図

ガラス毛細管は (Micro Capillaries, NIPPON ELECTRIC GLASS CO., LTD, TOKYO, JAPAN) のものと一部工作したものを使用し、ガラス毛細管内径はマイクロゲージ付き顕微鏡 (VIA-100, BECKELER CO., LTD, California, USA) で測定した。人血液に対する抗凝固剤としてヘパリンナトリウム (5 単位/ ml) を使用し、ガラス毛細管内の血流速度は閉鎖回路へ血液を充満させる際に、血液が測定部位を通過する時間を実測し算出した。

実験2-1 測定位置とSBR値の変化

[測定方法]

血管内の血液の流れは血管壁に近いほど流れに対する抵抗が大きくなることから、中央が速く流れ、血管壁に近いほどゆっくり流れている。血管内の測定部位で測定値が異なる場合は、解析にあたって測定位置を統一する必要があることから、0.12秒間隔で5.5秒間、同一部位で3回、1ピクセル (標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域) 毎に測定血管内のSBR値を算出した。

〔結果〕

図 1 1 に示す如く測定する位置によって測定値が異なることがわかった。血管の中では均一な散乱ではなく多重散乱が生じている。さらに血管を正面から捕らえた場合、赤血球の数は血管中央が一番多く周辺ほど少なくなる。また、中央が一番速く流れていることから周辺と比較して大きな差になったと考えられる。

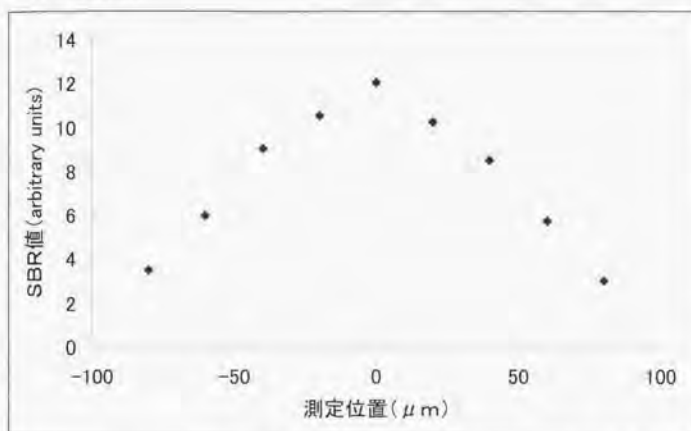


図 1 1 : 測定位置と S B R 値の変化 (測定位置 $0 \mu\text{m}$ はガラス毛細管の中心線上を示す)

S B R 値は測定血管の中央で一番高く、壁に近いほど低くなった。測定位置によって測定値が明らかに異なることから、血流速度を算出する場合は血管の同一部位を測る必要がある。今後の測定では血管中央部の 1 ピクセル (標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域) での S B R 値を算出した。

実験 2-2 血流速度に対する S B R 値の変化

〔測定方法〕

血流速度 ($0 \sim 40 \text{ mm/sec}$) を変化させ、 0.12 秒間隔で 5.5 秒間、同一部位で 3 回、血流速度による S B R 値の変化を測定した。

[結果]

血流速度に対してSBR値は測定範囲内では直線相関した。ポンプ停止(血流停止)状態でもSBR値は約2を示した(図12)。顕微鏡で観察すると血流停止状態でも測定血管内で赤血球がランダムな小運動示しており、レーザー光の散乱が生じる原因になっていると考えられた。

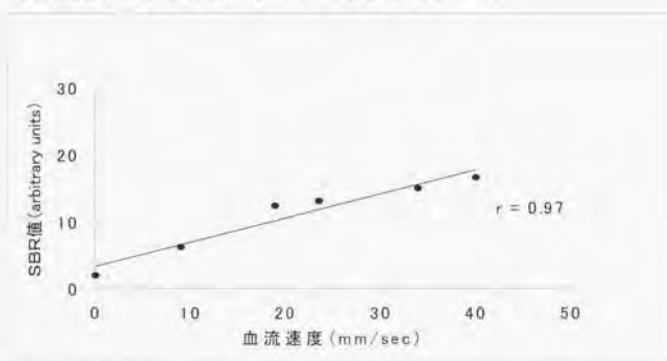


図12：血流速度に対するSBR値の変化

実験2-3 レーザー出力に対するSBR値の変化

[測定方法]

レーザー出力(1.5~4.0mW)を変化させ、0.12秒間隔で5.5秒間、同一部位で3回、レーザー出力によるSBR値の変化を測定した。

[結果]

すりガラス板とは異なり、レーザー出力によってSBR値が変化した(図13)。表面に固定された散乱体とは異なり、血管内の散乱体(赤血球)は容積があることからレーザー出力が上昇すると、より多くの散乱体を捕らえスペckル強度のぶれ(N)が増えSBR値が上昇するものと考えられた。

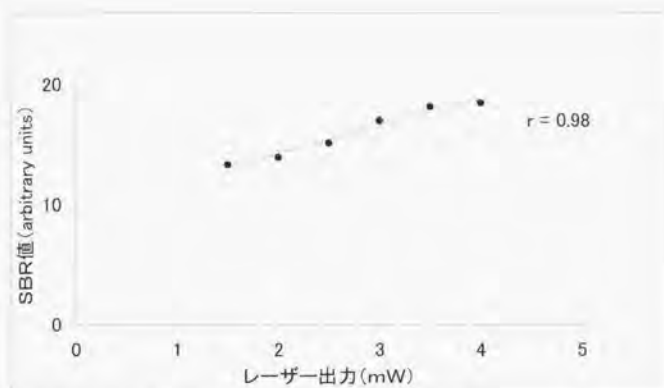


図1 3 : レーザー出力に対するSBR値の変化

実験2-4 背景反射率に対するSBR値の変化

[測定方法]

背景反射率の影響は、ガラス毛细管の背後に5種類(2.0、4.0、6.6、7.4、12.8%)の反射率を持つチャート紙(顔料反射率紙、村上色彩技術研究所)を設置し、2 mWのレーザー出力において0.12秒間隔で5.5秒間、同一部位で3回、背景反射率によるSBR値の変化を測定した。

[結果]

背景反射率の変化によってSBR値は変化した(図1 4)。これは背景反射が増えた場合、エリアセンサーで捕らえるスペckル強度が高くなる結果、SBR値が上昇するものと考えられる。また、背景反射率の変化に対しSBR値が直線的に相関したことは、反射率に対して値の補正が可能になる。正常人の網膜反射率は約8%と報告されているが^{4,5)}、眼底組織に変性を有する対象では反射率が異なると考えられ、実際の血流速度を今回の in vitro

実験から推定することは困難と考えられた。

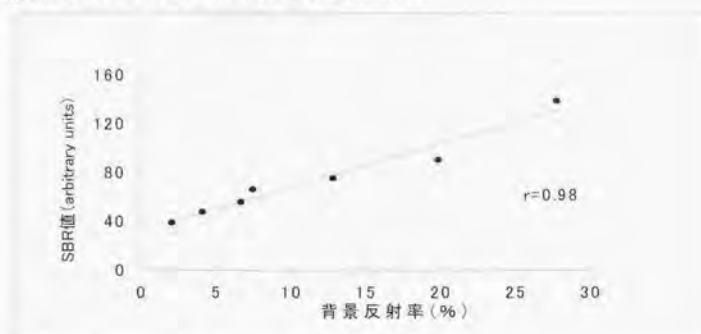


図14：背景反射率に対するSBR値の変化

実験2-5 ヘマトクリットに対するSBR値の変化

[測定方法]

ガラス毛細管に人血液（赤血球数344、409、534万/ μ l、ヘマトクリット31、0、37、0、47、9%）を循環（20mm/sec）させた状態で、2mWのレーザー出力において0、12秒間隔で5、5秒間、同一部位で3回、ヘマトクリットによるSBR値の変化をガラス毛細管の中央で測定した。

[結果]

ヘマトクリットが生理的範囲内であればSBR値には影響がないことが明らかになった。レーザースペckル現象を応用した血流測定で鈴木らはヘマトクリットが13%になると測定値に影響がでると報告している⁴⁴⁾。今回の結果からも臨床における測定では影響がないと考える。（図15）

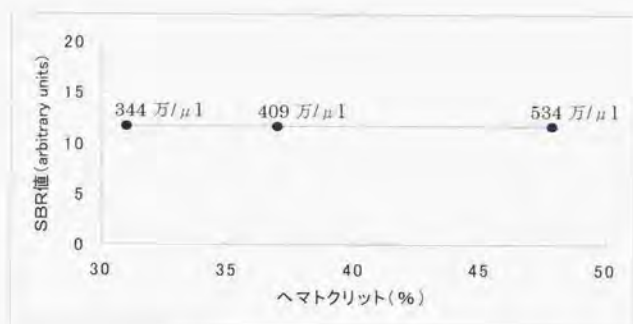


図 15 : ヘマトクリットに対する SBR 値の変化

実験 2-6 血流方向に対する SBR 値の変化

[測定方法]

図 16 に示すように眼底カメラに対し水平方向を 0° とし、測定血管の方向を段階的 (0° 、 30° 、 60° 、 90° 、 120° 、 160° 、 180° 、 210° 、 240° 、 270° 、 300° 、 330°) に変化させ、0.12 秒間隔で 5.5 秒間、同一部位で 3 回、血流方向による SBR 値の変化を測定した。

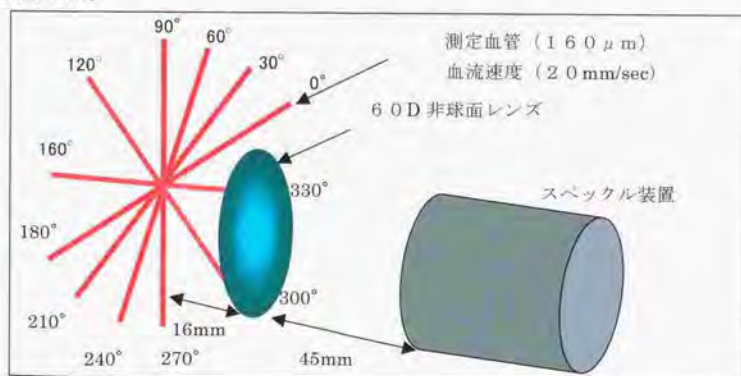


図 16 : 実験 2-6 で用いた実験模式図

[結果]

スペックル現象によるスペックル強度のぶれは、散乱体の速度や数が変わらない限り一定の値が得られ、散乱体の移動方向には影響されない特徴を有している。測定血管の方向を変えることは、エリアセンサーに対する血流方向を変えることになるが、方向が変わっても同じ値が得られることが確認できた (図17)。

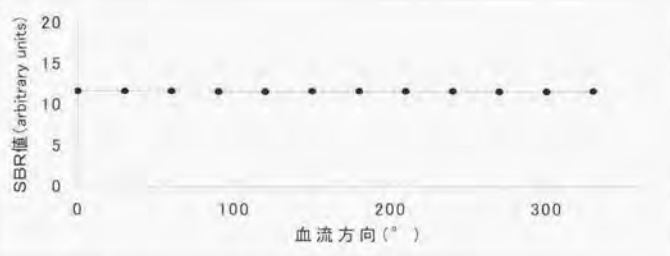


図17：血流方向に対するSBR値の変化

実験2-7 血管の動きに対するSBR値の変化

[測定方法]

図18、19に示すように測定血管を移動させ、0.12秒間隔で5.5秒間、同一部位で3回、測定血管の移動によるSBR値の変化を測定した。図18の測定血管の移動速度は1.0, 1.5 mm/sec (+と-の両方向)、図19の測定血管の移動速度は0.15, 0.4, 0.65, 1.0 mm/sec (+と-の両方向)である。測定血管の移動は測定血管の固定台と可変速モーターで回転するスクリュウブランジャーを連結することで、固定台を一定速度で移動させた。

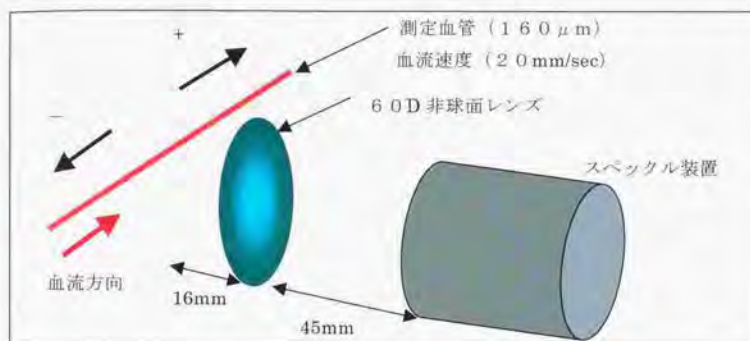


図18：実験2-7で用いた実験模式図

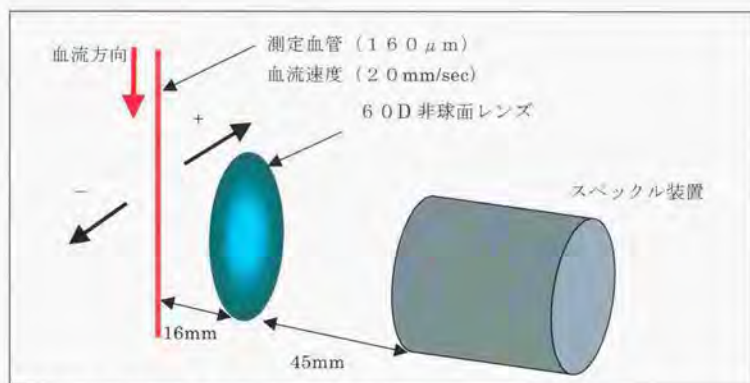


図19：実験2-7で用いた実験模式図

[結果]

本装置はエアセンサが毎秒540フレーム撮像中に64フレーム間隔で積算を行いSBR値を算出している。64フレーム積算中に動きが生じると測定位置とエアセンサの各ピクセルの対応が変わるため測定値に誤差が生じる可能性がある。この実験で血管が走行する方向に沿った動きであれ

ば速度に相関した変化が認められるが（図20）、血管が走行する方向に対して横に動く場合は測定が不能のなることがわかった（表3）。即ち、実際の測定で眼球運動のある場合には、SBR値の信頼性は著しく損なわれることが示された。

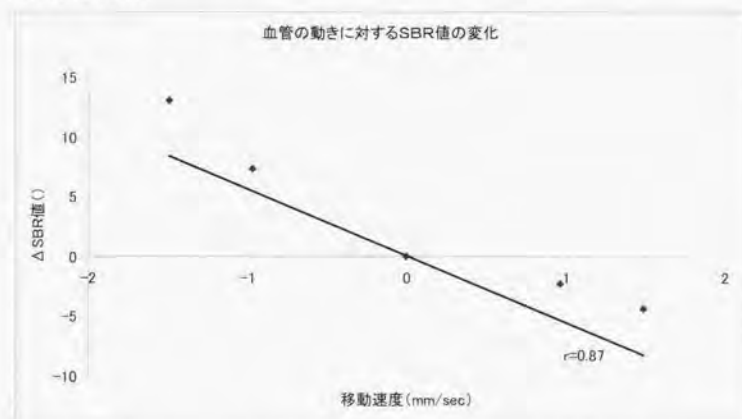


図20：血管の動きに対するSBR値の変化（図18の実験結果）

表3：血管の動きに対するSBR値の変化（図19の実験結果）

移動速度 (mm/sec)	静止時 SBR値(arbitrary units)	移動時 SBR値(arbitrary units)
0.13	1.5	0
0.4	1.5	0
0.65	1.5	0
1.0	1.5	0

実験 2-8 血管の傾きに対する SBR 値の変化

[測定方法]

図 2 1 に示すように測定血管をレーザー照射軸に対して (0° 、 10° 、 20°) 傾かせ、0.12 秒間隔で 5.5 秒間、同一部位で 3 回、血流方向による SBR 値の変化を測定した。

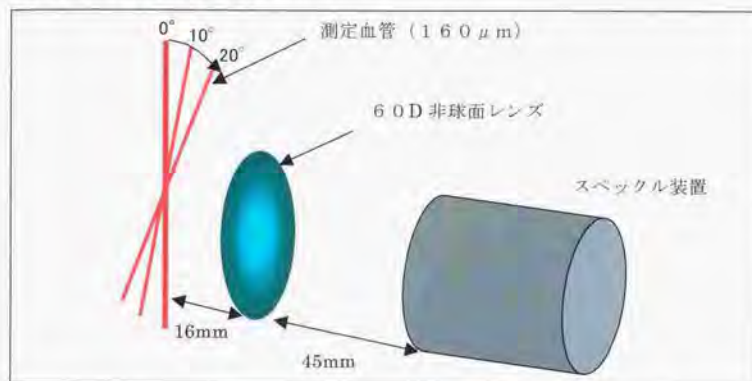


図 2 1 : 血管の傾きに対する SBR 値の変化 (実験の模式図)

[結果]

測定血管が傾いた場合、レーザーが照射される容積が増えることから、より多くの赤血球を捕らえる結果、測定血管の傾きに対して SBR 値は増加したと考えられる (図 2 2)。このことより、良好な再現性を得るには同一方向からの測定が必要であることが明らかになった。しかし両者は直線相関することから、角度が判明すれば補正が可能である。人の眼底の測定では、頭を固定した後に固視標で測定部位を観察領域の中心部 (眼底カメラの視野の中心) へ誘導し、血管 (測定部位) がレーザー照射軸に対して常に 90° になるよう、測定方向を統一していることから、ほとんど影響はないと考えられた。

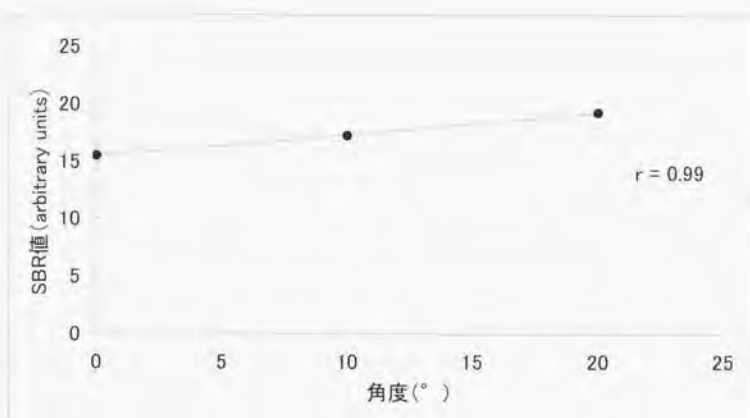


図 2-2 : 血管の傾きに対する SBR 値の変化

実験 2-9 血管内径に対する SBR 値の変化

[測定方法]

内径が 50、75、100、125、150、200、350 μm の測定血管に入血液を循環させ測定血管の血流速度を段階的に変え、0.12 秒間隔で 5.5 秒間、同一部位で 3 回、血管内径による SBR 値の変化を測定した。

[結果]

血管内を流れる血液が同じ速度で流れていても、血管の内径によって SBR 値は異なった (図 2-3)。これは測定範囲の容積の変化に伴う赤血球数の変化が、同一容積内の赤血球数の変化よりもレーザーの散乱に与える影響が大きいものと考えられる。血流速度に対しては直線相関することから、血管内径に対応した回帰式があれば血流速度が算出できることが明らかになった。

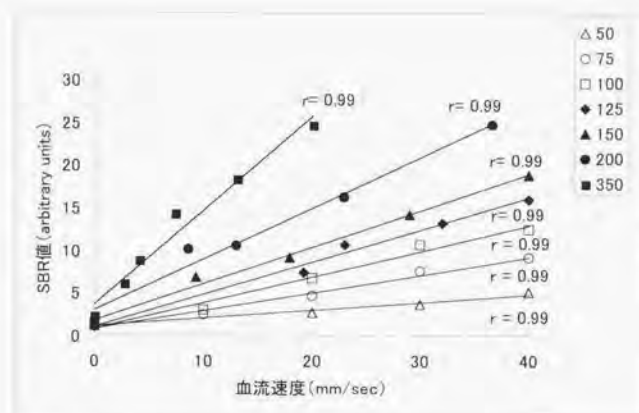


図2-3：血管内径に対するSBR値の変化

3. 模擬人眼における測定特性 [実験3]

[目的]

生体眼では網膜血管の後ろに網膜色素上皮と脈絡膜が存在する。測定血管単独では血管内径に対応した直線回帰式で血流速度が算出できるが、生体眼の測定では本装置の測定用レーザー（波長808nm）は脈絡膜まで透過してしまうことから、人眼における網膜血管血流測定には脈絡膜血流の影響が無視できない。実験3では測定血管SBR値に影響する背景要因とレーザー光線による温度変化について検討した。

[方法]

図2-4に示す実験モデルを作製した。測定毛細管（内径50～350μm）の後ろに脈絡膜血流を想定した背景血流として内径300μmの毛細管を接触させて設置し、更に水晶体後面から網膜までの距離を16mm、また角膜と水晶体の屈折を60Dと仮定し、測定血管の前方16mmのところに60Dの非球面レンズ（60DCC, Nikon CO., LTD, TOKYO, JAPAN）を設置した。ガラス毛細管は閉鎖循環回路とし、噴出精度1%以内のペリスタルティックボ

ンブ (PST-100N, IWAKI GLASS CO., LTD, CHIBA, JAPAN) を用いて、人血液 (赤血球数 $4.64 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 、ヘマトクリット 45%) を循環させた。測定毛細管と背景血流の間には網膜および網膜色素上皮を想定したフィルム (Ektachrome, Kodak, U S A) を挿入した。

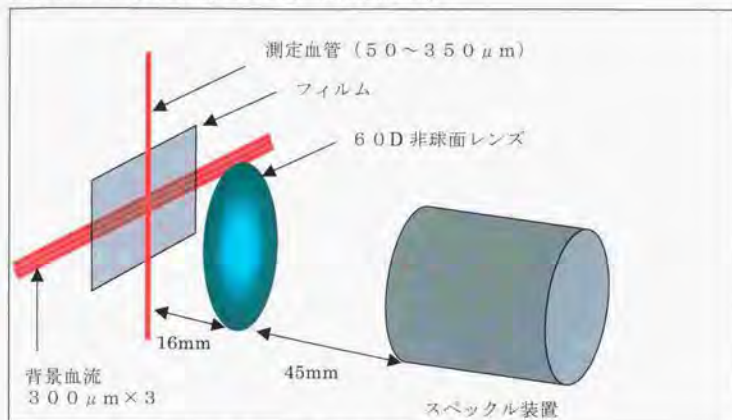


図 2-4 : 測定血管に対する背景血流の影響 (実験の模式図)

測定位置として測定毛細管 (A)、背景血流 (B : 3 本の内、中央のガラス毛細管) とその交差部位における測定毛細管 (C) の 3 箇所を設定し (図 2-5)、解析ではガラス毛細管中央の 1 ピクセル (標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域) の SBR 値を用いた。なおレーザー出力は、2 mW に設定した。

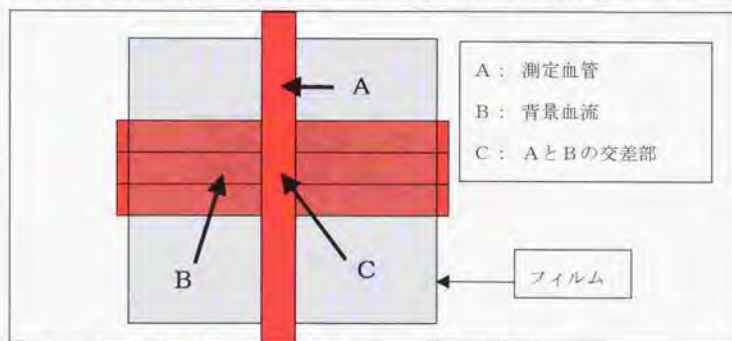


図 2-5 : 測定血管に対する背景血流の影響 (測定位置)

実験 3-1

背景血流 SBR 値に対する吸光度の影響

[測定方法]

吸光度を段階的に変化させ、背景血流（血流速度：1.0 mm/sec）の SBR 値に対する吸光度の影響を測定した。0.12 秒間隔で 5.5 秒間、測定部位（B）で 3 回、吸光度による SBR 値の変化を測定した。

[結果]

吸光度が高くなると SBR 値は低下し、この関係は直線相関することがわかった（図 2.6）。これはレーザー光がフィルムで吸収され背景血流に照射される強度が弱くなること、反射されるレーザー光もフィルムに吸収され、スペckル強度が低下した結果と考えられる。人眼の網膜色素上皮単独の吸光度は人種により差があり 800 nm の波長では白人で約 5%、黒人で約 30%⁴³⁾、また、人種による差がないと考えられる網膜の反射率は約 8%⁴³⁾と報告されている。本邦における網膜色素上皮の吸光度の報告はなく、したがって、実験 3-2 に用いるフィルムの吸光度は 20%（推定値）、反射率は 8%（推定値）とした。

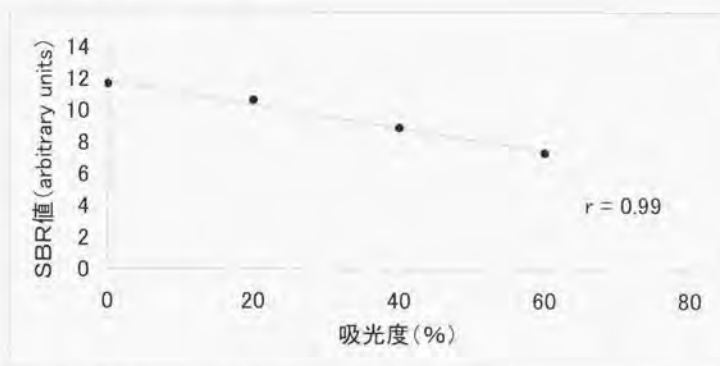


図 2.6 : 背景血流 SBR 値に対する吸光度の影響

[測定方法]

背景血流の速度を段階的に変化させ、測定血管（血流速度：1.2 mm/sec、2.0 mm/sec）の SBR 値に対する背景血流の影響を測定した。0.12 秒間隔で 5.5 秒間、測定毛細管（A）、背景血流（B）と交差部（C）でそれぞれ 3 回、背景血流による SBR 値の変化を測定した。

[結果]

測定血管の SBR 値に対し背景血流が影響することがわかった（図 2.7）。本装置の測定用レーザーは測定血管だけでなくその背景血管も照射しているため、測定血管より得られたスペクトルは背景血管中の赤血球運動の影響を受けることから、人眼における網膜血管血流の測定 SBR 値は脈絡膜血流の影響を受けていることを示す。背景血流の影響は測定血管の血流速度が変わっても直線相関し、その傾きも同様であることから、測定血管の交差部の SBR 値と背景血流の SBR 値から測定血管内血流のみによる SBR 値を算出するノモグラムを作製することができる。実験 2-9 で明らかのように、測定血管の内径によって回帰直線の傾きが異なることから、各血管内径に対応したノモグラムを作製した（図 2.8）。

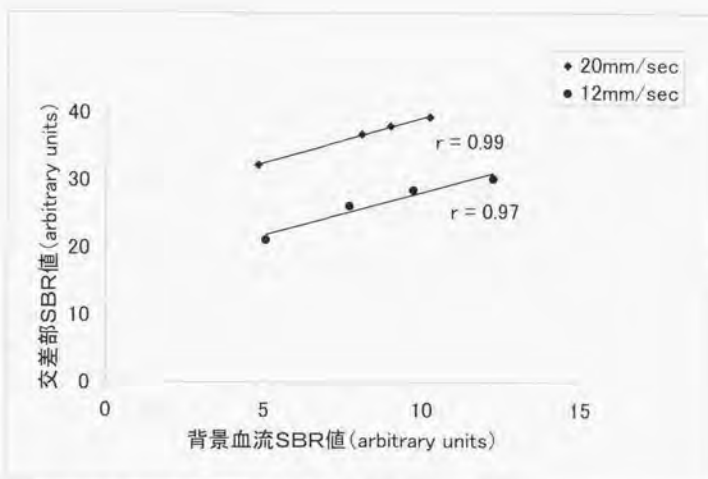


図 2 7 : 測定血管 S B R 値に対する背景血流の影響

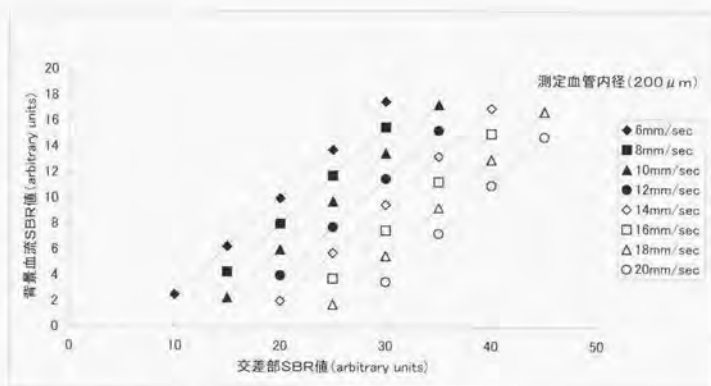


図 2 8 : 測定血管 (内径 $200 \mu\text{m}$) のノモグラム

交差部 S B R 値と背景血流 S B R 値から測定血管の血流速度が決まる。

実験 3-3 レーザー光線による温度変化

[測定方法]

レーザー出力を段階的に変化させ、循環を止めた状態と背景血流の速度 (10 mm/sec)、測定血管の血流速度 (20 mm/sec) で循環した状態で交差部 (C) に熱伝対式温度計 (HL-200, Anritsu CO, LTD, TOKYO, JAPAN) を設置し、温度変化を測定した。

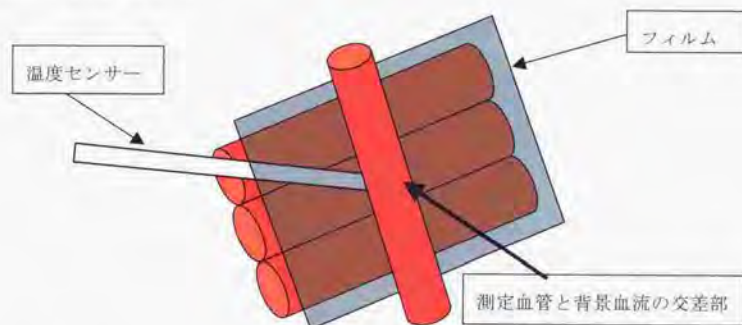


図 29 : 温度センサーの設置部位

センサーの先端を測定血管と背景血流の交差部 (フィルムと背景血流の間) に設置した。

[結果]

温度はレーザー出力に相関して上昇した (図 30)。循環がない状態では、4 mW 出力時に最高 1℃ の温度上昇を認めたが、循環した状態では 0.4℃ と低く、実際測定に使用する出力 2 mW では 0.2℃ の上昇に留まった。本装置の安全性については既に磯野ら^{45, 46)}によりサル網膜で確認されており、また、ANSI (American National Standards Institute) の許容照度 101 mW/cm^2 (照度時間 10 分) を満たしている。

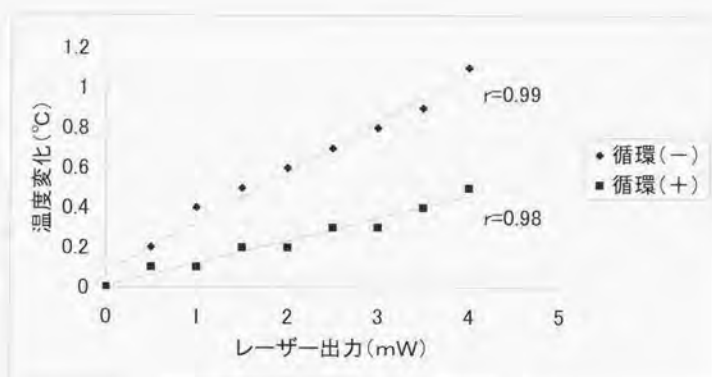


図30：レーザー光線による温度変化

[考按]

ガラス毛細管を用いた *In vitro* 実験で本装置の測定特性を明らかにした。レーザースペckル現象を応用した血流速度の測定は種々の要因で影響を受けることが明らかになったが、逆にこれらの影響を補正すれば、絶対血流速度の算出が可能なが分かった。人眼の網膜血管血流速度は実験で作製したノモグラムをもとに算出するが、影響要因(表4)を踏まえた上で測定を行うことで、再現性の高い結果が得られると考える。

表4：人眼網膜血管内血流測定時の影響要因

1. レーザー出力
2. 網膜の反射率
3. 網膜色素上皮および脈絡膜の吸光度
4. 眼球運動
5. 血管内径
6. 脈絡膜血流

人眼測定時には網膜反射率、網膜色素上皮および脈絡膜の吸光度は仮定せざるを得ない。個々の対象眼の値は現時点では補正できないが、将来的に反射率と吸光度が測定可能になれば、これらに対しSBR値は直線相関(図13、26)することから値の補正は可能になると考える。眼球運動による影響の補正は困難なことが分かった。同一方向から固視が良好な時点でのみ測定する必要がある。血管内径は眼底写真から測定し、内径に応じたノモグラムを用いることで又脈絡膜血流はそのSBR値を測定し、同様にノモグラムを用いることでその影響を取り除いた網膜血管血流速度が算出される。

レーザー出力(2mW)を一定に保ち、血管上の測定部位を血管中央部とし、且レーザー照射軸に対して眼底測定部位が常に垂直となるようにし且カメラと被検者の眼の距離を一定に保ち、固視が良好な時点のみで測定すれば人眼網膜血管内血流速度の絶対値をSBR値より算出可能であると考えられた。

III. 臨床応用 I

1. 正常人における網膜静脈血流速の測定

[目的]

実験で得られたノモグラムをもとに正常人の網膜静脈血流速を測定し、本装置の人眼における定量性と再現性について検討した。

[対象と方法]

眼、全身ともに正常な若年有志者、男性 8 名 16 眼を対象に 0.5% トロピカミド (ミドリン M 参天製薬) で散瞳後に乳頭近傍の網膜静脈血管を含む領域 (標準眼で $1.07 \times 1.07 \text{ mm}$) を 0.12 秒間隔で 5.5 秒間、同一部位で 2 回行い、1 回目と 2 回目の測定の間 (2 分)、被検者は一旦、顔をはずして待機した。測定データを光磁気ディスクへ保存した後、網膜静脈血管の中央部 (C)、およびその血管から 3 ピクセル離れた左右の脈絡膜 (B1、B2) の 1 ピクセル (標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域) の SBR 値を解析画面上で算出した (図 3-1)。血流速の算出には連続する 2 心拍の SBR 値の平均値を用い、脈絡膜部は同様にして算出した B1 と B2 の SBR 値を平均した値を用いた。なお測定時のレーザー出力は 2 mW に設定した。

1 回目と 2 回目の再現性指数は、同一部位における連続する 2 心拍の SBR 平均値を用い、

$$\frac{|X1 - X2|}{(X1 + X2) / 2} \quad (9)$$

(X1 は 1 回目、X2 は 2 回目の SBR 値)
より算出した。

レーザースペックル測定後に血管径の測定のため単色光 35 mm フィルム (Tri-X, Kodak, U S A) を用いて眼底を眼底カメラ (興和 PRO I、興和、Japan) により撮影した。35 mm フィルム上の像より Littmann⁴⁷⁾ のノモグラムに従って被検者の屈折と眼軸長により補正を行い、血管径を算出

した。

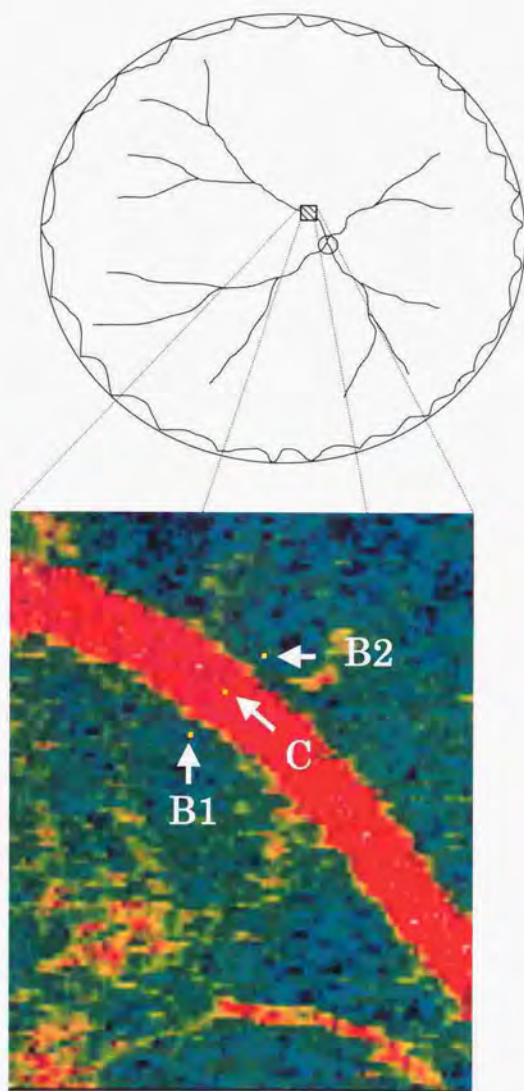


図 3 1 : 血流速度解析画面

[結果]

測定した網膜静脈の平均血管径は $146 \pm 6 \mu\text{m}$ ($112 \sim 162 \mu\text{m}$) であつた。In vitro 実験で得られた結果をもとに作製したノモグラムより、網膜静脈血流速度を算出した (図 3 2)。平均血流速度は $18.4 \pm 3.8 \text{ mm/sec}$ ($11.7 \sim 22.5 \text{ mm/sec}$)、再現性指数は $3.6 \pm 0.9\%$ であり、一被験者の一連の測定に要した平均時間は 60 ± 11 秒であつた。

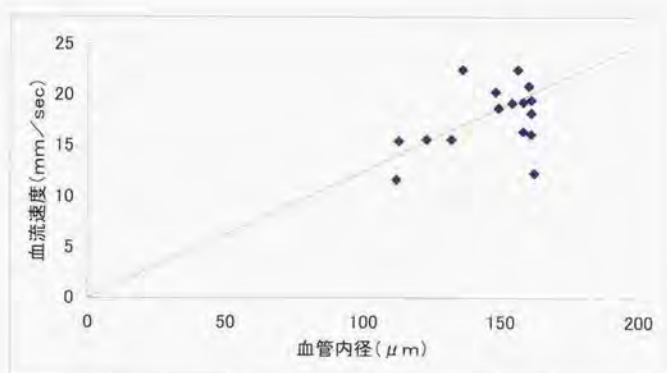


図 3 2 : 人眼における血管内径と網膜静脈血流速度

[考按]

レーザードップラー法又は類似の方法により R i v a ら^{2 1)}は 64 から $177 \mu\text{m}$ 径の人網膜静脈を対象に血流速度の測定を行い毎秒 8 から 26 mm/sec 、また鈴木ら^{4 4)}は 52 から $206 \mu\text{m}$ 径の人網膜静脈を対象に血流速度の測定を行い毎秒 8 から 21 mm/sec を得た。今回の値、平均血管

内径 $146\ \mu\text{m}$ で平均血流速度 $18.4\ \text{mm/sec}$ は、ほぼ従来の方法での同一径静脈で得られた値に一致していた。測定に要した時間は、平均約1分と比較的短時間に行え、原理的には固視が5.5秒間の内、約2秒(2心拍)のみ一定していればよい。従来、レーザードップラーまたは類似の方法によるより、遥かに簡便にかつ被験者の負担も軽く行えたと考えられる。

今回、同一眼、同一部位での測定の再現性は5.5秒測定した中の連続した2心拍のSBR値の平均を用いた結果、再現性指数は3.6%の値が得られた。同一個体の同一部位における血流速度の比較は、血管内径、網膜のレーザ反射率や網膜色素上皮の吸光度などの条件が全て一定となるため、高い再現性が得られる。しかし個体間の比較は、これらの条件の他に個々の被験眼の屈折、レーザ反射率や吸光度の微妙な違い等のため、必ずしも単純ではない。

Norren^{4,5)}らは人網膜の平均反射率は波長664nmで5.82%、波長711nmで7.73%と報告している。今回用いた半導体レーザーは808nmであり、人網膜の反射率はそれ以上あると考えられる。網膜の反射率に関しては網膜色素上皮のような人種による差はないと考えられる。SBR値は反射率の変化に対して直線的に相関することから、反射率の影響を補正することは可能であるが、今のところ生体眼の反射率測定はできないことから、今回は8% (推定値) に設定し実験を行った。

一方、網膜色素上皮の吸光度に関しては人種によって差があると考えられる。Geerates^{4,6)}らは、網膜色素上皮の吸光度について波長800nmでは白人で5%程度、黒人で30%程度と報告している。また、同じ人種でも個人によって網膜色素上皮の吸光度に差があると考えられ、吸光度による影響についても検討を行った結果、吸光度60%の状態ではSBR値は37%の低下することが分かった。吸光度が高くなれば背景血流のSBR値が低くなり、交差部のSBR値も低下する。SBR値は吸光度や背景血流の変化に対しても直線的に相関することから、吸光度に対する影響を補正することは可能であるが、今のところ生体眼の吸光度測定はできないことから、今回は20%

(推定値)に設定し実験を行った。仮に吸光度が10%変化した場合、ノモグラムから算出される血流速度は内径によって若干差はあるが約1mm/secであった。

網膜静脈の拍動はほとんどないと言われている^{49, 59)}。本装置による測定では、脈絡膜血流の影響を受けることから血管上の測定点では心電図に同期した拍動が認められる(図33)。しかし、脈絡膜血流の値を引くことでその波形はほぼ平坦になることから、両者を平均したそれぞれの値をノモグラムに適用することで、絶対速度に近い値が算出できると考える。

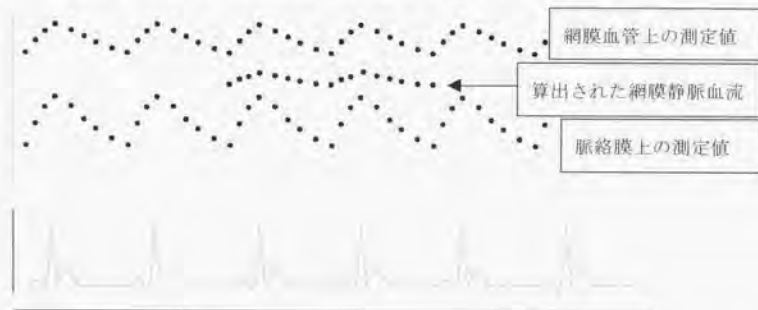


図33：測定値の拍動と心電図の同期

今回の模擬眼の実験では人網膜でのレーザー反射率(8%)に、人網膜色素上皮の吸光度を20%と仮定し、ノモグラムを作製した。このノモグラムから算出された血流の絶対速度は、血管内径、網膜の反射率、網膜色素上皮の吸光度によって変化することに留意しておかなければならないが、今回の正常人を対象とした網膜静脈血流速度の測定結果は過去の報告と良く一致しており、再現性も高く、測定も簡便に行えることから、種々の疾患における循環動態の変化を経時的に捕らえることができる装置として、臨床的にも有用であると考えられた。

2. 網膜剥離手術による網膜静脈血流速度の変化

[目的]

かつて不治の病とされた裂孔原性網膜剥離は多くの先人によってさまざまな工夫がなされ、現在ではほとんどの網膜剥離が治癒している。中でも強膜内陥術、強膜輪状縮結術は裂孔原性網膜剥離に対する標準的観血的手術として、日常臨床上最も広く行われている手術である。

強膜を内陥させる材料として強膜バックル（シリコーンタイヤまたはシリコーンスポンジ）が用いられているが、この設置の目的は裂孔を広げようとする牽引に対し強膜を内陥させることによって復位させる方向へ変換させることにある。強膜バックルの設置によって眼球が変形してしまうことから、種々の合併症が報告されている。

術後の眼局所の循環障害は視機能に大きな悪影響を与える可能性があり、眼循環障害を経時的に簡便に捕らえられる装置は臨床上非常に有用である。今回、本装置を用いて網膜剥離術前と術後の網膜静脈血流速度を測定し、術後早期からの局所の循環障害について経時的に捕らえることを目的とし、さらに本装置の臨床における有用性について検討した。

[対象]

網膜裂孔（裂孔原性網膜剥離）を認める患者で剥離の範囲が裂孔周囲に限局されたもの（男性8例8眼、女性2例2眼、平均年齢58歳）を対象とした（表5）。比較する測定部位（網膜血管）を統一するため、裂孔の位置が上耳側の症例とした。

表5: 対象症例

患者	年/性別	術眼	術前 視力	1 週 視力	4 週 視力	12 週 視力	Band, Buckle (内陥効果)
1 AY	62/男	右	0.8	0.5	1.0	0.8	240,287 (M)
2 SH	21/男	右	1.2	0.4	0.6	1.5	240,287 (H)
3 CY	75/男	右	0.7	0.5	0.8	0.8	240,287 (M)
4 TS	68/男	右	1.2	1.0	1.2	1.2	240,287 (H)
5 ST	53/男	右	0.4	0.5	0.9	1.2	240,220 (H)
6 ME	23/女	右	0.8	0.8	0.8	1.0	240,287 (H)
7 WY	63/女	左	1.5	0.7	1.0	1.0	240,219 (M)
8 SK	41/男	右	1.5	0.9	2.0	2.0	240,220 (H)
9 OT	49/男	左	1.2	1.2	1.5	1.5	240,287 (H)
10 MO	46/男	右	1.5	1.0	1.0	1.5	240,287 (H)

[方法]

検査および測定部位

視力、眼圧、血圧を測定後0.5%トロピカミド(ミドリンM参天製薬)で散瞳し、30分後に乳頭近傍の網膜静脈の血流速度を術眼については強膜バットルを設置する側(OPE_{SB})とその対照の強膜バンド側(OPE_{EB})の、瞭眼については術眼と同一部位(CONT_{SB}、CONT_{EB})の測定を術前、術後1、4、12週行った(図34)。光磁気ディスクへ保存した測定データを、測定後にマスクされた解析者が術前、術後の術眼及び瞭眼について網膜静脈血管の中央部、およびその血管から3ピクセル離れた左右の脈絡膜の1ピクセル(標準眼で10×10μmの領域)のSBR値を解析画面上で算出した。網膜静脈血流速度の算出には連続する2心拍のSBR値の平均値を用い、測定値間の有意差検定は両側t検定、項目間は一元配置分散分析法で行った。なお測定時のレーザー出力は2mWに設定

した。

手術手技

手術は結膜切開の後に結膜剥離を行い、強膜を露出した後に網膜裂孔の位置決めを行い、網膜裂孔に対して冷凍凝固を行った。裂孔のある位置に対し4分1象限の強膜バックルを5-0サージロンを用いて設置し、240番のバンド（固定は270番スリーブ）で輪状縮結を行い、結膜を縫合して終了した（図35）。術翌日の眼底検査で内陥効果を中程度（M）と高度（H）とに分けた（表5）。

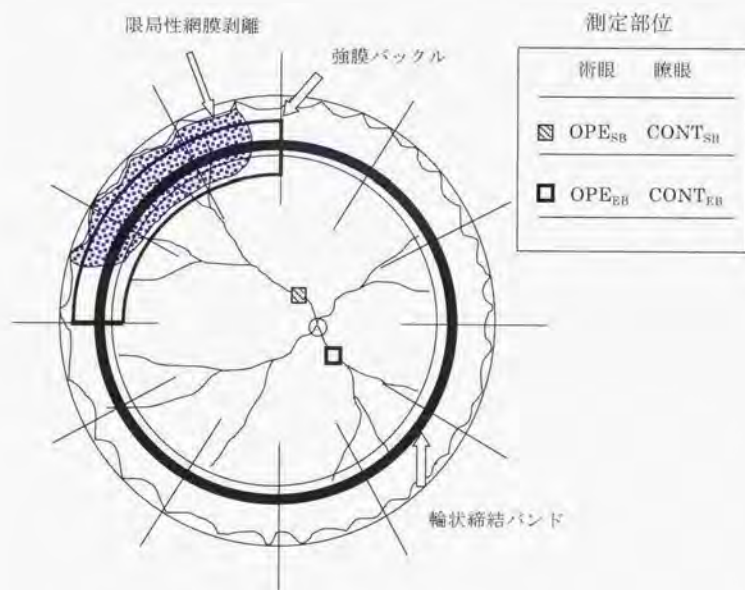


図34：測定部位

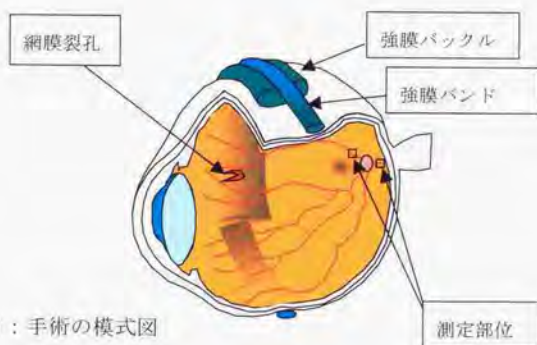


図 3 5 : 手術の模式図

血管内径の測定

レーザースペckル測定終了後、血管径の測定のため単色光 35 mm フィルム (Tri-X、Kodak、U S A) を用いて眼底を眼底カメラ (興和 P R O I、興和、J a p a n) により撮影し、35 mm フィルム上の像より Littermann^{4,7)} のノモグラムに従って被検者の屈折と眼軸長により補正を行い、血管径を算出した。

データ解析

平均血圧 (BP_m) は

$$BP_m = BP_d + \frac{1}{3} (BP_s - BP_d) \quad (10)$$

BP_s : 収縮期血圧

BP_d : 拡張期血圧

眼灌流圧 Ocular perfusion pressure (OPP) は

$$OPP = \frac{2}{3} BP_m - IOP \quad (11)$$

IOP: 眼圧 (mmHg)

にて求めた。

それぞれの測定値の有意差検定には両側 t 検定、測定部位間の検定には分散分析法を用いた。

[結果]

血圧、眼圧と灌流圧に関しては術前の測定値に対し、術後経過観察期間中のそれぞれの術後測定値に有意な変化は認められなかった（両側 t 検定、 $p>0.1$ 、表 6）。術前の各測定部位の網膜静脈血流速度は、術眼と瞭眼の同一部位において有意な差は認められなかったが、同一眼の OPE_{SB}と CONT_{EB} 有意な差を認めた（表 7）。

網膜静脈は視神経乳頭を中心として耳側（上・下）と鼻側（上・下）に分かれており、鼻側に比べ耳側の方が血管が太く、支配する領域が広く、代謝の活動が高いことから、網膜血流量が多いと報告されている^{21), 22)}。今回、対象となった症例のすべてが上耳側網膜静脈の対応する部位に網膜裂孔があり、同側に強膜バックルを設置していることから、術前の OPE_{SB}と CONT_{EB} に差が生じたと考える。

表 6：各検査の経時的変化

		術前	1週	4週	12週
平均血圧	(mmHg)	95.1±16.7	91.5±13.9	88.±12.9	94.1±15.1
心拍数	(拍/分)	69.6±11.3	68.1±10.0	72.1±12.3	76.6±11.2
眼圧・術眼	(mmHg)	13.2±3.8	13.4±3.5	13.6±3.1	13.4±2.2
眼圧・瞭眼	(mmHg)	12.7±3.1	12.4±3.5	13.5±3.1	13.2±1.9
眼灌流圧・術眼	(mmHg)	50.2±11.4	47.6±9.2	45.2±9.1	49.3±9.4
眼灌流圧・瞭眼	(mmHg)	49.6±11.6	49.9±8.9	46.4±7.2	49.5±8.9

表7: 測定部位の術前値

	術眼 (OPE)	瞭眼 (CONT)
強膜バックル側 (SB)	20.7±5.7	22.2±9.6
強膜バンド側 (EB)	13.9±6.9	13.3±4.6

血流速度(mm/sec)

同一眼における測定部位別の有意差検定: 両側 t 検定 (*: $p < 0.05$)

術後の網膜血管血流速度は OPE_{SB} で低下し、術後3ヶ月で術前値と比較して15%低下しており、術前値に対し術後すべての期間(1週、4週、12週)で有意差を認めた($p < 0.01$) (表8)。一方、瞭眼の同一部位には変化は認められなかった。また、内陥効果の評価による血流速度の差を検討したが、中程度と高度の分類が定性的であり、極端な差がないことから、血流速度に対しては差が認められなかった。

表8: 各測定部位の経時的変化

	術前	1週	4週	12週
ΔOPE_{SB}	0	-5.3±5.1**	-5.3±4.0**	-5.9±3.7**
ΔOPE_{EB}	0	1.0±3.4	1.5±2.9	0.1±1.6
$\Delta CONT_{SB}$	0	0.5±3.6	-0.3±1.5	-0.5±0.04
$\Delta CONT_{EB}$	0	0.1±1.3	-0.4±1.8	0.2±2.6

術前値に対する有意差検定: 両側 t 検定 (**: $p < 0.01$) 血流速度(mm/sec)測定部位間の有意差検定: 分散分析法 (+: $p < 0.01$)

[考按]

網膜剥離による眼循環障害は、既に定性的には蛍光眼底造影法、インドシアニングリーン法、また、定量的には超音波カラードップラー法、レーザードップラー法などによる報告がある。

蛍光眼底造影法^{5,1)}では剥離した網膜の毛細血管網の閉塞が確認され、ビデオ蛍光血管造影により剥離領域の網膜平均循環時間が平均で約60%延長していると報告されている。インドシアニングリーン法^{5,2)}でも網膜剥離術後の強膜バックルによる脈絡膜循環時間の延長が報告されている。超音波カラードップラー法^{5,3), 5,4)}では網膜中心動脈の平均血流速度が術後1週間で約50%低下し、レーザードップラー法^{5,5)}では網膜動脈の血流速度が術後にやはり約50%低下すると報告されている。しかし、これまでの報告は被手術眼内の部位別測定は行われていない。

網膜剥離による網膜の循環障害は、剥離による網膜血管組織の変性に伴う循環障害と網膜裂孔閉鎖術（強膜バックル）による循環障害の両者が関係していると考えられている。網膜剥離が長時間持続すると視細胞などの変性により、術後に網膜が復位したとしても視機能障害が残る。長時間、剥離した網膜の毛細血管床は閉塞していることが知られており、毛細血管床閉塞が末梢血管抵抗を上昇させ血流が低下していることが示唆されている。また、強膜バックルによる循環障害としては、強膜内陥による機械的圧迫もしくはシリコン素材の侵襲などにより、末梢での血管抵抗が上昇し、その結果として網膜循環障害を生じると考えられている^{5,1)~5,5)}。

脈絡膜は網膜色素上皮を介して網膜の視細胞に栄養を供給する重要な役割を有している。脈絡膜循環障害については、網膜循環障害と同様に強膜バックルの内陥による機械的圧迫もしくはシリコン素材の侵襲などによるものの他に、本術式が経強膜的に網膜冷凍凝固を行うことから脈絡膜毛細血管板などの脈絡膜血管に対する障害が避けられず、術後循環障害の原因になっていると考えられる。実際、臨床経過でも冷凍凝固斑はほぼ1ヶ月で瘢痕化し、脈絡膜血管閉塞などの局所障害が検眼鏡的に確認できる。

今回、対象となった症例の術後網膜血流速度の低下は強膜バックル側のみで約15%であり、従来の報告と比較してその循環障害は少ない。これは今回の報告で対象となった症例の網膜剥離が何れも軽症のものであり、一方従来のものは術前から広範囲に循環障害があり、また剥離範囲も広くより強い手術侵襲（より広範囲の強膜バックル等）を要したためと考えられる。

今回の検討で対象となった症例は術前、術後の灌流圧に差がなく、網膜剥離が裂孔周囲の限局した範囲であったこと、また、定性的ではあるが強膜の内陥の程度（中程度（M）と高度（H））で差が認められない程度のものであったことなど、早期の視血的治療であることから、網膜剥離に伴う網膜毛細血管網の閉塞による末梢血管抵抗の上昇は少なかったと考えられる。術直後より強膜バックル側のみで循環障害が認められることから、術後の循環障害のほとんどが強膜バックルによるものを捕らえていると考えられる。

脈絡膜循環障害についての検討は行っていないが組織が癒着化するほどの手術侵襲であることから、局所的な循環障害は大きいと考えられる。しかし、障害部位が周辺部であることや実際視力の回復も順調であることから視機能に重要な眼底後極部の脈絡膜循環への影響は少ないと考えられたが、今後の症例における検討で新たな知見が得られる可能性がある。

レーザードップラー法を用いた測定^{5,6)}では、測定範囲が狭いことから患者に対する測定が困難であることが報告されており、同一患者の術前後の測定には成功していない。今回の検討で本装置は術後早期より眼局所網膜の循環障害を捕らえることが可能であった。本装置は測定時間も短く、固視が良好であれば再現性の高い測定が行えることから、臨床的に有用であると考えられる。

3. 網膜中心静脈と網膜静脈血流速度の相関

切迫型網膜中心動脈・静脈閉塞症における網膜静脈血流速度の変化

〔目的〕

近年、成人病は増加の一途を辿っており、眼科領域でも糖尿病や高血圧で受診する患者が増加している。糖尿病網膜症、高血圧性眼底や網膜血管の閉塞など網膜の循環障害は一時的であっても重篤な視機能障害を残すことがある。特に網膜中心動脈・静脈の閉塞は早期発見が重要で、一旦発症すると、その末梢にあたる網膜血管の循環不全により、網膜脳層へ不可逆性の障害が生じ、失明する場合がある。

前駆症状として一過性の黒内障（視野異常）などの症状があったとしても、発症するほとんどの患者が高齢者であること、造影剤を用いた眼底撮影はショックなどの危険を伴うことなどから、形態的に変化が現れていないと診断できないことがある。このような症例に対し、非侵襲的かつ定量的に血流速度を測定する装置として超音波カラードップラー法がある。

網膜中心動脈・静脈は眼球の後方1 cmのところから視神経内に入り、視神経に沿って走行し眼球内に入る。超音波カラードップラー法は測定プローブから発振されるハルスウェーブに対し血管の走行が平行であれば絶対速度が測定できることから、視神経内を走行する網膜中心動脈・静脈の絶対速度を測定することが可能である。

網膜中心動脈・静脈は視神経乳頭部で上・下耳側と上・下鼻側に分かれる。耳側の血管は支配領域が広く、血管も太く、循環量も多い^{2) 1)}ことから網膜中心動脈や静脈の閉塞による循環障害の影響を受けやすいと考えられる。

今回、正常有志者と切迫型網膜中心動脈・静脈閉塞症患者を対象に超音波カラードップラー装置を用い網膜中心静脈 central retinal vein (CRV) の血流速度を測定、同時に本装置を用いて上・下耳側の網膜静脈 retinal vein (RV) の血流速度の測定を行い、両装置の相関性と本装置の臨床における有用性について検討した。

[対象]

正常有志者5名10眼（男性5名、平均年齢24歳）切迫型網膜中心動脈閉塞症（男性1例1眼、女性1例1眼）、切迫型網膜中心静脈閉塞症（男性2例2眼）を対象（表9）に網膜中心静脈血流速度と網膜静脈血流速度を測定した。網膜中心静脈閉塞症の患者に関しては、網膜毛細血管床の閉塞部位がないことを蛍光眼底造影法で確認し、切迫型と診断した。

表9：対象症例

症例	年/性別	疾病眼	切迫閉塞	合併症	発症 受診日から	視力
1 AY	62/男	左	動脈	高血圧 糖尿病	当日	0.5
2 NN	67/女	左	動脈	高血圧 糖尿病	4日前	0.9
3 TU	48/男	左	静脈	高血圧	3日前	0.3
4 TS	58/男	右	静脈	高血圧	2日前	0.4

[方法]

坐位で視力、眼圧、血圧を測定後0.5%トロピカミド（ミドリンM、参天製薬）で散瞳し、血流測定を行った。

超音波カラー Doppler 装置（CDI）による測定

CDI（東芝超音波診断装置 PowerVision SSA-380A, Toshiba, Tokyo, Japan）による血流測定は7.5MHzのセクタ式電子スキャンプローブを用い、坐位に

て眼瞼上からプローブ先端をあてた。プローブに対し視神経が平行になるように瞳眼を外部固視標で誘導し、パルスドップラー波が2心拍以上安定した状態で測定できた、1心拍分の網膜中心静脈平均血流速度を算出した(図36)。

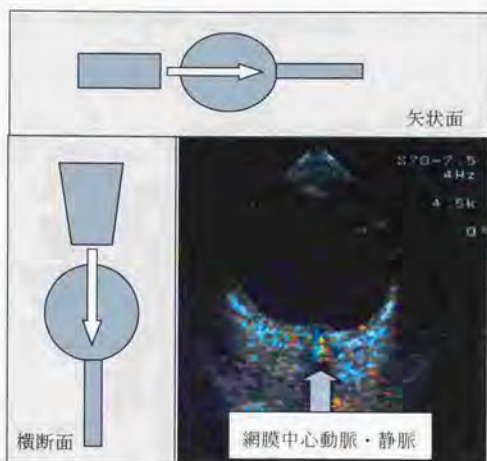


図36：超音波カラードップラー装置による測定部位
(白矢印はパルスウェーブの方向)

本装置による測定

本装置による血流測定は乳頭近傍の網膜静脈血管(上・下耳側)を含む領域(標準眼で $1.07 \times 1.07 \text{ mm}$)を0.12秒間隔で5.5秒間、行った(図37)。測定データを光磁気ディスクへ保存した後、網膜静脈血管の中央部、およびその血管から3ピクセル離れた左右の脈絡膜の1ピクセル(標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域)のSBR値を解析画面上で算出した。血流速度の算出には連続する2心拍のSBR値の平均値を用い、脈絡膜部は同様に算出したSBR値を平均した値を用い、さらに上耳側と下耳側部血流速度の平均値を採用した。なお測定時のレーザー出力は2mWに設定した。

血管内径の測定

レーザースペックル測定終了後、血管径の測定のため単色光35mmフィルム (Tri-X, Kodak, U S A) を用いて眼底を眼底カメラ (興和PRO I、興和, J a p a n) により撮影し、35mmフィルム上の像より Littermann³⁴⁾ のノモグラムに従って被検者の屈折と眼軸長により補正を行い、血管径を算出した。

平均血圧 (BP_m) は

$$BP_m = BP_d + \frac{1}{3} (BP_s - BP_d) \quad (10)$$

BP_s : 収縮期血圧

BP_d : 拡張期血圧

眼灌流圧 Ocular perfusion pressure (OPP) は

$$OPP = \frac{2}{3} BP_m - IOP \quad (11)$$

IOP: 眼圧 (mmHg)

にて求めた。

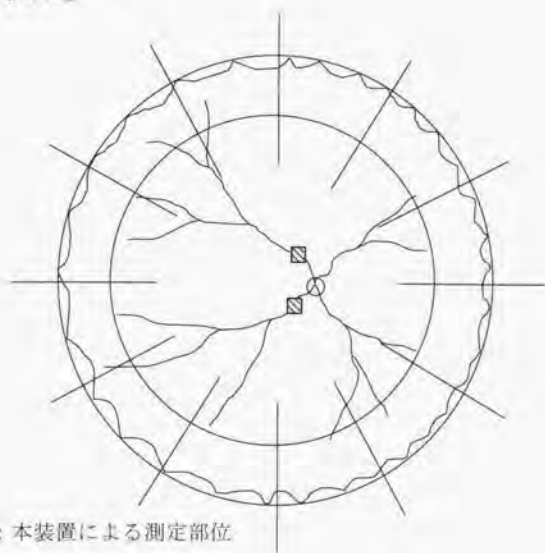


図37: 本装置による測定部位

切迫中心動脈閉塞患者の治療

症例1：発症当日より入院し、プロスタグランディン PGE1（アルプロスタジル）の点滴を開始し、一日量40 μ gを1週間投与した。降圧剤はCa²⁺ ブロッカー（アダラート®）の投与を受けていた。

症例2：発症が4日前で、自覚的には一時的な（20分程度）視野障害で受診時には症状は軽快していた。降圧剤は未投与であったため、Ca²⁺ ブロッカー（ニバジール®）の投与を開始した。

切迫網膜中心静脈閉塞症の治療

症例3：3日前より視力低下を自覚した。ワーファリン 4mgの投与を開始し、プロトロンビン時間を40%前後にコントロールした。降圧剤は未投与であったため、Ca²⁺ ブロッカー（ニバジール®）の投与を開始した。

症例4：2日前より視力低下を自覚した。ワーファリン 4mgの投与を開始し、プロトロンビン時間を40%前後にコントロールした。降圧剤は未投与であったため、Ca²⁺ ブロッカー（ニバジール®）の投与を開始した。

[結果]

正常有志者の網膜静脈の平均血管径は $153 \pm 8 \mu\text{m}$ （145～161 μm ）であった。CDIで測定した網膜中心静脈の平均血流速度は $3.53 \pm 0.32 \text{ cm/sec}$ （3.2～4.2 cm/sec ）、*in vitro*実験で得られた結果をもとに作製したノモグラムより算出した平均網膜血流速度は $19.6 \pm 1.8 \text{ mm/sec}$ （17.3～22.5 mm/sec ）であった（図38）。

疾病眼の経過を表10に示す。動脈閉塞、静脈閉塞症ともに治療によって血流の改善が認められた。各症例で網膜中心静脈と網膜静脈の血流速度は同時に改善している（図39）。

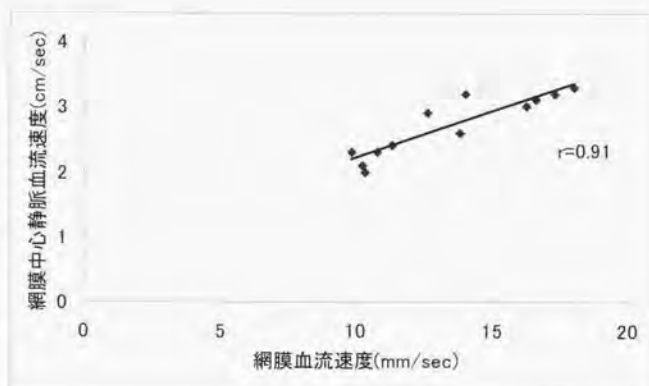


図 38 : 正常人における網膜静脈血流速度と網膜中心静脈血流速度の相関

表 10 : 症例の治療経過

症例	測定値	治療前の値	治療前値からの変化分	
			開始 1 週	開始 4 週
1	OPP (mmHg)	73.0	-10.1	-10.3
	CRV (cm/sec)	2.0	0.4	1.2
	RV (mm/sec)	10.3	1.0	3.7
	血管内径 (μ m)	120	20	22
2	OPP (mmHg)	68.2	-9.6	-10.2
	CRV (cm/sec)	2.1	0.5	1.1
	RV (mm/sec)	10.2	3.6	7.1
	血管内径 (μ m)	115	20	25
3	OPP (mmHg)	59.6	-9.5	-10.5
	CRV (cm/sec)	2.3	0.6	1.0
	RV (mm/sec)	9.8	2.8	8.2
	血管内径 (μ m)	175	-15	-25
4	OPP (mmHg)	62.4	-10.1	-11.2
	CRV (cm/sec)	2.3	0.7	0.8
	RV (mm/sec)	10.7	5.6	5.9
	血管内径 (μ m)	170	-20	-20

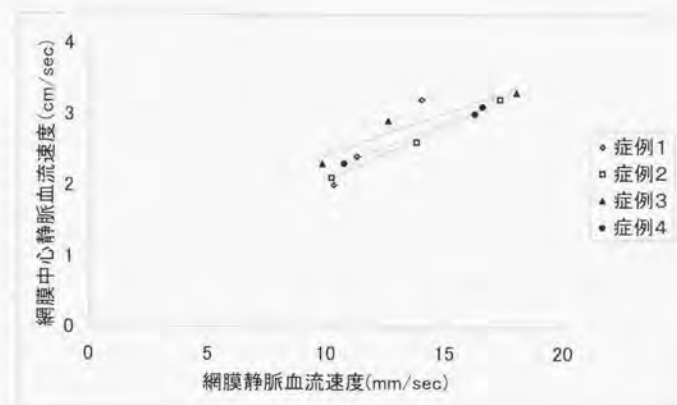


図 3-9：疾病眼における網膜静脈血流速度と網膜中心静脈血流速度の相関

網膜中心動脈閉塞症および網膜中心静脈閉塞症は治療に伴い改善した。

[考按]

CDIによる正常者の網膜中心静脈血流速度としては Michelson ら⁵⁶⁾が 3.3 ± 1.2 (cm/sec) と報告しており、我々の結果と一致する。CDIは非侵襲的に網膜中心動脈^{57, 58)}・静脈^{56, 59)}血流異常を診断できただけでなく、正常眼圧緑内障など循環障害が示唆されている疾病の解明に有用な装置として報告されている⁶⁰⁻⁶⁵⁾。網膜中心静脈閉塞症を対象としたレーザードップラー法⁶²⁾を用いた検討では、血流速度の改善と静脈血管内径の正常化が報告されており、今回の症例の結果とも一致している。

今回のCDIによる測定は超音波プローブをプローブアダプターに固定することで坐位の状態での測定を可能にした。従来の測定方法はベット上で被検者が仰臥位で測定していたため坐位で測定する他の循環検査（例えば本法）との直接比較は解釈に注意を要したが、さらに外部固視標を用い被検者の眼位を定めることで、安定した測定と良好な再現性が得られるようになった⁶⁸⁾。この測定方法を用いることで、視神経を超音波プローブの測定範囲の中心に位置させ、さらに視神経の走行とパルスウェーブの発振方向が平

行になるよう、網膜中心静脈血流の絶対速度を測定する設定が確実に行えるようになった。測定時間の短縮で患者への負担が軽減すると共に坐位で行う他の方法との結果の比較が容易になった。

本装置による正常人の網膜静脈血流速度の測定は従来の報告と一致した値が得られ、C D I で測定した網膜中心静脈血流速度と高い相関を示した。また、疾病眼においても循環動態の改善に伴う血流速度の変化を捕らえることができ、C D I による測定値に対して高い相関を示した。本装置による網膜静脈血流速度の算出は、いくつかの仮定をもとに *in vitro* 実験で得られた結果から作製したノモグラムより算出した値であるが、正常人眼および疾病眼において C D I の測定値と高い相関が得られたことは、本装置によって捕らえられる血流速度の値の信頼性を支援するものと考えられる。

臨床では、絶対速度の算出も重要であるが、その変化を高い再現性で捕らえることが要求される。可及的かつ速やかに治療が必要となる、網膜中心動脈・静脈閉塞症の初期においても本装置によってその変化を捕らえることができ、さらに薬物治療による血流改善効果を定量的に捕らえることができた。

これまでの本疾患に対する経過観察の方法としては、眼底写真や検査で形態的变化から効果を判定したり、数ヶ月に1回、蛍光造影検査で循環動態を確認するなど、定性的なものであった。本装置は眼底カメラを改造したもので、眼底写真撮影と同時に血流測定が行え、循環障害の診断や治療による改善効果を経時的かつ定量的に測定できることから、臨床上有用な装置であると考えられる。

臨床応用Ⅱ

より細い網膜静脈血流速度の測定

[目的]

これまでの検討で本装置（SBR値）を用いた人の乳頭近傍の網膜静脈血流速度測定は、その支配領域の循環障害を捕らえる簡便な方法として、臨床上有用であることが明らかになった。臨床ではSBR値を用いて血管が160 μ m前後の内径で、速度が20 mm/sec程度の血流速度を測定していたことになるが、循環障害が生じている部位をさらに細分化するためには、より末梢の血流速度を測定する必要がある。第二分枝以降の血管内径50 μ m前後の血流速度は従来の報告で約10 mm/secと報告されている。しかしSBR値を用いて測定した場合、低速領域の変化を捕らえにくく細い血管の測定には向いていないことがわかっていた（図23）。

本実験では網膜および脈絡膜血流速度の定量的指標としてNB値（normalized blur）を用いた。NB値は、既に玉置ら^{24, 27, 69-73}がマイクロスフェア法を用いた家兎眼による検討で、視神経乳頭、網膜および脈絡膜の組織血流量と、杉山ら⁷⁴が、水素クリアランス法を用いた家兎眼による検討で視神経乳頭部の組織血流量とよく相関することが報告されている。また、薬物による血流動態の変化をNB値を用いて捕らえた報告もある⁷⁵⁻⁷⁷。

今回、NB値を用いた第二分枝以降の網膜静脈血流速度の測定を目的とし、模擬人眼における測定特性と正常人における網膜静脈血流測定を行った。なお、模擬人眼における測定は実験（Ⅱ）で用いたものと同じ実験系を使用し、その測定特性の結果もほぼ同じであることから、ここではNB値の算出方法と実験で得られたノモグラムのみを提示する。

1. 細い血管に対応した血流速度の定量的指標

NB値の算出方法

SBR値はスペckル強度の平均値の二乗と平均値からの偏差の二乗を用いた(5式)。一部重複するがNB値の算出方法について解説する。ここでエリアセンサー上の左端よりx番目、上端よりy番目($x = 1 \sim 100$, $y = 1 \sim 100$)の画素の、測定開始よりk番目($k = 1 \sim 64$)のフレームのスペckル強度 $I(x, y, k)$ は、エリアセンサーの1フレームの走査に要する時間を ΔT 、時間 t におけるスペckル強度を $I(t)$ とすると、

$$I(x, y, k) = \int_0^{\Delta T} I(t) dt \quad (6)$$

となる。左端よりx番目、上端よりy番目の画素の64フレーム分のスペckル強度の平均値を $I_{\text{mean}}(x, y)$ とすると、

$$I_{\text{mean}}(x, y) = \left(\frac{\sum_{k=1}^{64} I(x, y, k)}{64} \right) \quad (13)$$

となる。 $I_{\text{mean}}(x, y)$ からの偏位の平均 $D_{\text{mean}}(x, y)$ は、

$$D_{\text{mean}}(x, y) = \frac{\sum_{k=1}^{64} |I_{\text{mean}}(x, y) - I(x, y, k)|}{64} \quad (14)$$

となる。

ここで、左端よりx番目、上端よりy番目の画素におけるスペckルバタ-

ンのぶれの定量的指標をNB (x, y) とすると、
すると、(14) 式より

$$NB(x, y) = \frac{I_{mean}}{D_{mean}} \quad (15)$$

となる。

リアルタイム表示を行うためSBR値と同様、血流解析用コンピュータで予め平均強度と分散に対応したNB値の配列をメモリーに記憶させておき、転送されてくるデータに対応したNB値が瞬時に得られるようにした。このNB値はカラーコードにも対応しており、速度の速い部位は赤色、遅い部位は青色の縦100画素、横100画素の血流マップが0.12秒間隔で連続的に表示される。

2. 模擬人眼における測定 (実験 4)

[方法]

ガラス毛細管と人血液を用いた模擬人眼における実験はすべて SBR 値の測定 (実験 II) と同様に行った。

[結果]

NB 値は SBR 値と同様に血流速度に対して直線的に相関したが、血管内径が太く、血流速度が速くなるほど血流速度の変化に対して NB 値の変化が小さくなり、直線的な相関性が失われてくる (図 4 0)。背景血流の影響も受けることから (図 4 1)、血管内径に対応したノモグラムを作製した (図 4 2)。

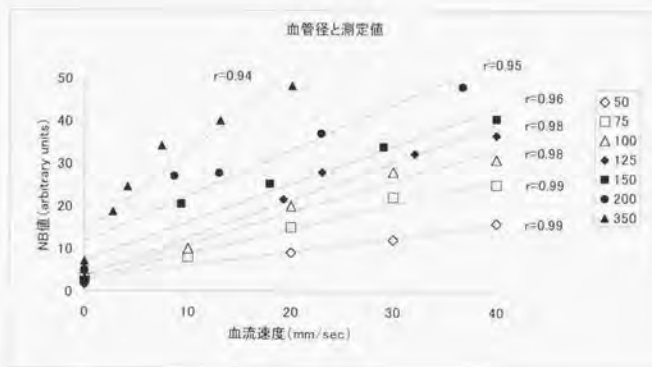


図 4 0 : 血管内径に対する NB 値の変化

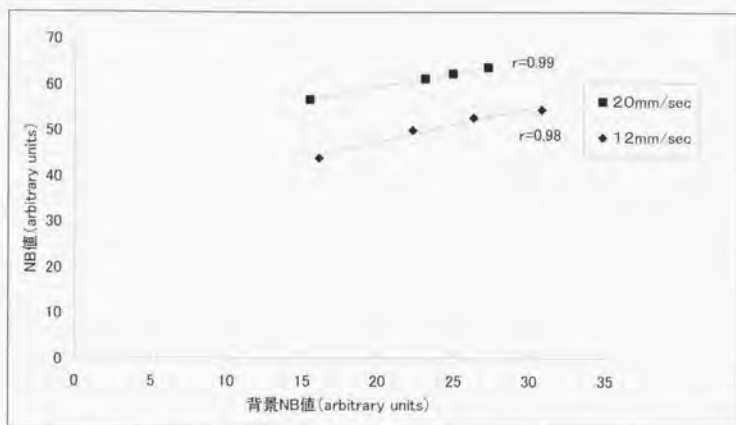


図 4-1 : 測定血管 NB 値に対する背景血流の影響

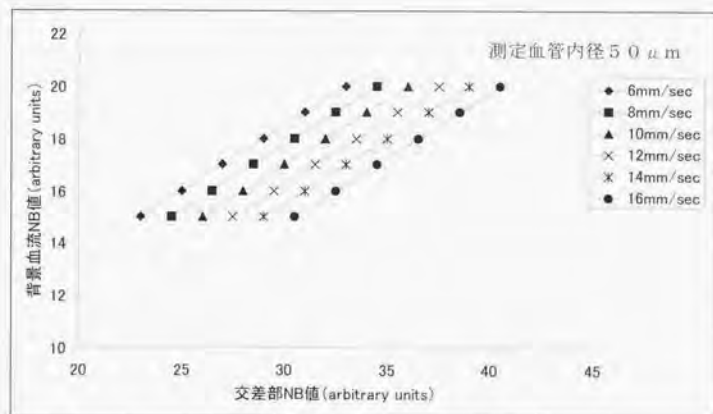


図 4-2 : 測定血管 (内径 50 μ m) のノモグラム

交差部 NB 値と背景血流 NB 値から測定血管の血流速度が決まる

[考按]

これまで組織血流の定量的指標として用いられたNB値を網膜血管血流速度の測定に応用し、その定量性についてガラス毛細管と人血液を用いた模擬人眼による実験で検討した。SBR値と同様に血管内血流速度に相関するが、血管内径が太く、血流速度が速くなるほどNB値の変化が小さくなる。この原因として、スペckル強度のぶれは散乱体が速く移動するほど小さく、高速領域ではその変化を捕らえられなくなり、NB値を算出する際のぶれを数値化した D_{mean} の変化が小さくなることから、直線的相関が得られなくなったと考える。したがってNB値を用いて網膜血管血流速度を測定する場合は、測定の対象となる血管内径の範囲を限定する必要がある、今回の結果から $50\mu\text{m}$ から $125\mu\text{m}$ までが適当であると考えられた。

3. 人眼における第2分枝以降の網膜静脈血流速の変化

[目的]

実験4で得られたノモグラムをもとに正常人の網膜静脈血流速を測定し、本装置の人眼における定量性と再現性について検討した。

[対象と方法]

眼、全身ともに正常な若年有志者、男性10名16眼を対象に0.5%トロピカミド(ミドリンM参天製薬)で散瞳後に第二分枝以降の網膜静脈血管を含む領域(標準眼で $1.07 \times 1.07 \text{ mm}$)を0.12秒間隔で5.5秒間、同一部位で2回行い、1回目と2回目の測定の間(2分)、被検者は一旦、顔ははずして待機した。測定データを光磁気ディスクへ保存した後、網膜静脈血管の中央部(C)、およびその血管から3ピクセル離れた左右の脈絡膜(B1、B2)の1ピクセル(標準眼で $10 \times 10 \mu\text{m}$ の領域)のNB値を解析画面上で算出した。血流速の算出には連続する2心拍のNB値の平均値を用い、脈絡膜部は同様にして算出したB1とB2のNB値を平均した値を用いた。なお測定時のレーザー出力は2mWに設定した。

1回目と2回目の再現性指数は、同一部位における連続する2心拍のNB平均値を用い、

$$\frac{|X1 - X2|}{(X1 + X2) \div 2} \quad (9)$$

(X1は1回目、X2は2回目のNB値)

より算出した。

レーザースペクトル測定後、血管径の測定のため単色光35mmフィルム(Tri-X, Kodak, U.S.A.)を用いて眼底を眼底カメラ(興和PRO I、興和、Japan)により撮影した。35mmフィルム上の像よりLittmann⁴⁷⁾のノモグラムに従って被検者の屈折と眼軸長により補正を行い、血管径を算出した。

[結果]

測定した網膜静脈の平均血管径は $54 \pm 6 \mu\text{m}$ ($44 \sim 63 \mu\text{m}$) であった。In vitro 実験で得られた結果をもとに作製したノモグラムより、網膜静脈血流速度を算出した (図43)。平均血流速度は $11.1 \pm 0.8 \text{ mm/sec}$ ($9.6 \sim 12.8 \text{ mm/sec}$)、再現性指数は $2.5 \pm 0.9\%$ であり、一被験者の一連の測定に要した平均時間は 6.3 ± 1.5 秒であった。なお、末梢では網膜静脈と脈絡膜動脈の交差部位では測定値が安定しないことから、両者の交差部位での測定は避けた。

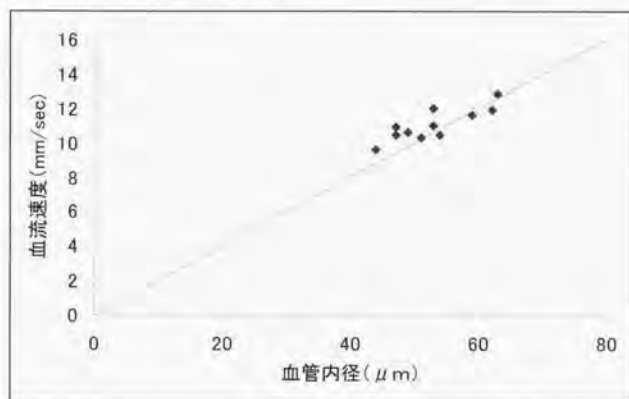


図43：人眼における血管内径と網膜静脈血流速度（第2分枝以降）

[考按]

レーザードップラー法又は類似の方法により Riva らは 64 から $177 \mu\text{m}$ 径の人網膜静脈を対象に血流速度の測定を行い毎秒 8 から 26 mm/sec 、また鈴木らは 52 から $206 \mu\text{m}$ 径の人網膜静脈を対象に血流速度の測定を行い毎秒 8 から 21 mm/sec を得た。両者とも約 $70 \mu\text{m}$ 以下の部位では $8 \sim 16 \text{ mm/sec}$ という値を出しており、今回の値、血管径約 $50 \mu\text{m}$ で平均血流速度 11.1 mm/sec は、ほぼ従来の方法での値に一致していた。測定に要した時間は、平均約 1 分と比較的短時間に行

え、原理的には固視が5.5秒間の内、約2秒(2心拍)のみ一定していればよい。従来、レーザードップラーまたは類似の方法によるより、遥かに簡便にかつ被験者の負担も軽く行えたと考えられる。

NB値に対する影響要因はレーザ出力、網膜の反射率、網膜色素上皮および吸光度、眼球運動、血管内径や脈絡膜血流などSBR値と同様であるが、測定条件を揃えれば、約50 μ mの細い血管でも高い再現性が得られると考えられる。今回、同一眼、同一部位での測定の再現性は5.5秒測定した中の連続した2心拍のNB値の平均を用いた結果、再現性指数は2.5%の値が得られた。同一個体の同一部位における血流速度の比較は、血管内径、網膜のレーザ反射率や網膜色素上皮の吸光度などの条件が全て一定となるため、高い再現性が得られた。しかし個体間の比較は、これらの条件の他に個々の被験眼の屈折、レーザ反射率や吸光度の微妙な違い等のため、必ずしも単純ではないことはNB値を用いた測定でも同様であった。

脈絡膜の血管は、眼底の後極は短後毛様動脈、周辺部は長後毛様動脈の分枝で、その各々はほぼ限定された毛細管灌流領域をもっている。脈絡膜動脈は解析画面上でははっきりと確認できる場合があり、網膜血管と重なる部位では網膜血流速度の測定値に大きな影響を与える可能性があることから、この部位での測定は避けることが望ましい。このように測定値に与える影響要因は末梢の細い血管ほど多くなるがこれらの要因を踏まえた上で測定を行えば、より絶対値に近い値が得られると考えられた。

V. まとめ

レーザースペックル現象を応用した網膜血管血流速度測定二次元解析装置を改良し臨床応用可能な装置を開発した。血流マップがリアルタイムで表示され、眼底の観察や測定部位がモニター上で確認できることから、測定が簡便で高い再現性が得られるようになった。また、測定時間が短く、被検者に対しても負担が少なく、解析も簡便で光磁気ディスクへ保存した測定データを後から解析することもできる。

実験では網膜静脈の絶対血流速度の算出を目的とし、いくつかの仮定をもとにした *in vitro* 実験からノモグラムを作製した。また、本装置の測定に影響する要因と安全性について検討し、実験の結果を踏まえた上で測定を行うことで、さらに高い再現性が得られた。血流速度の指標となる SBR 値は主に太い血管の測定に適しており、低速から高速まで速度変化に対して直線的に相関する。一方、NB 値は血管径の細い低速の速度変化を捕らえることができ、その変化に対して直線的に相関する。SBR 値は乳頭近傍の網膜血管血流速度の変化を捕らえることができるが、より末梢の局所網膜血流速度の変化は NB 値が適していた。測定している基本情報は同じであるが、測定部位によって解析方法を変えることで、測定部位に適した解析が行え、正常人を対象とした従来の報告とも一致していた。

臨床応用として、手術による循環障害、閉塞性疾患に対する治療効果、超音波カラードップラー法により測定した網膜中心静脈血流速度との相関など、循環障害や改善の変化を簡便に捕らえることができた。本装置は眼底カメラと一体化しており、疾病眼の撮影と血流測定が同時に可能となることから临床上、非常に有用な装置と考えられる。

残された問題点としては、レーザの反射率と吸光度の補正、眼球運動に対して追従できない（値が影響を受ける）、血管内径の測定を写真で行っているなどがあるが、これらの問題点について現在も検討を重ねている。本装置は網膜血管の血流速度だけでなく、視神経乳頭や脈絡膜の組織血流の測定もできるが、網膜血管とは異なり現在のところ絶対値の算出は難しく、NB

値を指標とした相対的な変化として循環動態の変化を捕らえるに止まっている。

以上、本研究はレーザースペックル現象を応用した網膜血管血流速度測定装置の開発を目的として行い、臨床応用可能な条件である安全性、簡便性、再現性と定量性を十分に備えた、臨床上有用な装置の開発が行えたと考える。今後、眼生理学および眼疾病の循環動態などの研究に寄与することが期待される。

謝辞

稿を終えるにあたり、常日頃よりご指導いただいている、新家 眞教授、玉置 泰裕博士、九州工業大学情報工学部 藤居 仁教授に深甚なる謝意を表します。

参考文献

1. van Heuven WA, Malik AB, Schaffer CA, Cohen D, Mehu M: Retinal blood flow derived from dye dilution curves: Televised fluorescein angiography. *Arch Ophthalmol* 95: 297-301, 1977.
2. Preussner PR, Richard G, Darrelmann O, Weber J, Kreissig I: Quantitative measurement of retinal blood flow in human beings by application of digital image processing methods to television fluorescein angiograms. *Graefes-Arch-Clin-Exp-Ophthalmol* 221: 110-112, 1983.
3. Richard G: Effect of arterial blood pressure on retinal hemodynamics a videoangiography study on the problem of autoregulation of blood supply to the retina. *Klin-Monatsbl-Augenheilkd* 187: 191-194, 1985.
4. Favilla I, Barry WR, Turner IJ: Video and digital fluorescein angiography. *Aust-N-Z-J-Ophthalmol* 14: 229-234, 1986.
5. Sakurai T: An analyzing system for fluorescein angiography of retinal blood flow using a high speed, high sensitivity camera. *Nippon-Ganka-Gakkai-Zasshi* 99: 778-783, 1995.
6. Bischoff PM, Flower RW: Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye: a new routine examination or an epilogue? *Doc-Ophthalmol* 60: 235-291, 1985.
7. Flower RW, Klein GJ: Pulsatile flow in the choroidal circulation: a preliminary investigation. *Eye* 4: 310-318, 1990.
8. Klein GJ, Baumgartner RH, Flower RW: An image processing approach to characterizing choroidal blood flow. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci* 31: 629-637, 1990.
9. Arend O, Harris A, Martin BJ, Holin M, Wolf S: Retinal blood velocities during carbogen breathing using scanning laser ophthalmoscopy. *Acta-Ophthalmol-Copenh* 72: 332-336, 1994.

10. Wolf S, Arend O, Reim M: Measurement of retinal hemodynamics with scanning laser ophthalmoscopy: reference values and variation. *Surv-Ophthalmol* 38: 95-100, 1994.
11. Harris A, Arend O, Kopecky K, Caldemeyer K, Wolf S, Sponsel W, Martin B: Physiological perturbation of ocular and cerebral blood flow as measured by scanning laser ophthalmoscopy and color Doppler imaging. *Surv-Ophthalmol* 38: 81-86, 1994.
12. Ohnishi Y, Fujisawa K, Ishibashi T, Kojima H: Capillary blood flow velocity measurements in cystoid macular edema with the scanning laser ophthalmoscope. *Am-J-Ophthalmol* 117: 24-29, 1994.
13. Toonen H, Wolf S, Jung F, Meyer Ebrecht D, Reim M: Movement correction of digital sequence angiographies of the retina. *Biomed-Tech-Berlin* 37: 131-136, 1992.
14. Sinclair SH: Macular retinal capillary hemodynamics in diabetic patients. *Ophthalmology*, 98(10): 1580-6, 1991.
15. Lotfi K, Grunwald JE: The effect of caffeine on the human macular circulation. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci*, 32(12): 3028-32, 1991.
16. Robinson F, Petrig BL, Sinclair SH, Riva CE, Grunwald JE: Does topical phenylephrine, tropicamide, or proparacaine affect macular blood flow? *Ophthalmology*, 92(8): 1130-2, 1985.
17. Robinson F, Petrig BL, Riva CE: The acute effect of cigarette smoking on macular capillary blood flow in humans. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci*, 26(5): 609-13, 1985.
18. Feke GT, Riva CE: Laser Doppler measurements of blood velocity in human retinal vessels. *J Opt Soc Am* 68: 526-531, 1978.
19. Riva CE, Feke GT, Eberli B, Benary V: Bidirectional LDV system for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *Applied Optics*

- 18: 2301-2306, 1979.
20. Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH, O'Keefe K: Fundus camera based retinal LDV. *Applied Optics* 20: 117-120, 1981.
21. Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH and Petrig BL: Blood Velocity and Volumetric Flow Rate in Human Retinal Vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26:1124-1132, 1985.
22. Feke GT, Goger DG, Tagawa H, Delori FC: Laser Doppler technique for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *IEEE Trans Biomed Eng* 34: 673-680, 1987.
23. Feke GT, Tagawa H, Deupree DM, Goger DG, Sebag J, Weiter JJ: Blood flow in the normal human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 58-65, 1989.
24. Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H: Non-contact, two-dimensional measurement of tissue circulation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp-Eye-Res* 60(4): 373-83, 1995.
25. Tomidokoro A, Araie M, Tamaki Y, Tomita K: In vivo measurement of iridial circulation using laser speckle phenomenon. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci* 39(2): 364-71, 1998.
26. Briers JD, Fercher AF: Retinal blood-flow visualization by means of laser speckle photography. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci*, 22(2): 255-9, 1982.
27. 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(11): 3825-34, 1994.
28. Michelson G, Schmauss B: Two dimensional mapping of the perfusion of the retina and optic nerve head. *Br-J-Ophthalmol* 79(12): 1126-32,

1995.

29. Michelson G, Langhans MJ, Groh MJ: Clinical investigation of the combination of a scanning laser ophthalmoscope and laser Doppler flowmeter. *Ger-J-Ophthalmol* 4(6): 342-9, 1995.
30. Nicolela MT, Hnik P, Schulzer M, Drance SM: Reproducibility of retinal and optic nerve head blood flow measurements with scanning laser Doppler flowmetry. *J-Glaucoma* 6(3): 157-64, 1997.
31. Michelson G, Langhans MJ, Harazny J, Dichtl A: Visual field defect and perfusion of the juxtapapillary retina and the neuroretinal rim area in primary open-angle glaucoma. *Graefes-Arch-Clin-Exp-Ophthalmol* 236(2): 80-5, 1998.
32. Kotval PS, Weitzner I Jr, Tenner MS: Diagnosis of carotid-cavernous fistula by periorbital color Doppler imaging and pulsed Doppler volume flow analysis. *J-Ultrasound-Med* 9(2): 101-6, 1990.
33. Lieb WE, Cohen SM, Merton DA, Shields JA, Mitchell DG, Goldberg-BB: Color Doppler imaging of the eye and orbit. Technique and normal vascular anatomy. *Arch-Ophthalmol* 109(4): 527-31, 1991.
34. 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(4): 385-92, 1993.
35. Trible JR, Sergott RC, Spaeth GL, Wilson RP, Katz LJ, Moster MR, Schmidt CM: Trabeculectomy is associated with retrobulbar hemodynamic changes. A color Doppler analysis. *Ophthalmology* 101(2): 340-51, 1994.
36. Keyser BJ, Flaharty PM, Sergott RC, Brown GC, Lieb WE, Annesley WH Jr: Color Doppler imaging of arterial blood flow in central retinal vein occlusion. *Ophthalmology*, 101(8): 1357-61, 1994.
37. Butt Z, O'Brien C, McKillop G, Aspinall P, Allan P: Color Doppler

- imaging in untreated high- and normal-pressure open-angle glaucoma. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci* 38(3): 690-6, 1997.
38. Goodman JW: Statical properties of laser speckle patterns, in Dainty JC(ed): *Laser speckle and Related Phenomea*, New York, Springer-Verlag, 9-75, 1975.
 39. Otsubota J, Asakura T: Velocity measurement of a diffuse object by using time-varying speckles. *Opt. Quant. Elect.* 8(19): 523-529, 1976.
 40. Fujii H, Nohira K, Yamamoto Y: Evaluation of blood flow by laser speckle imaging sensing. *Appl Opt* 26: 5321-5325, 1987.
 41. 藤居 仁, 小西直樹: レーザースペックルの血流画像化への応用. *応用物理* 62: 589-592, 1993
 42. 藤居 仁, 小西直樹, 岡本兼児, 土橋良彦: レーザースペックル法による眼循環測定. *あたらしい眼科* 13(6): 957-961, 1996.
 43. Norren D van, Tiemeijer LF: Spectral reflectance of the human eye. *Vision Res* 26: 313-320, 1986.
 44. 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.
 45. Isono H, Kimura Y, Aoyagi K. Analysis of choroidal blood flow by laser speckle flowgraphy. *J Jpn Ophthalmol Soc* 1997;101:684-691.
 46. Isono H. Measurement of the choroidal circulation by laser speckle flowgraphy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38 (suppl 4):S1050.
 47. Littmann, H.: Zur Bestimmung der wahren Grobe eines Objektes auf dem Hintergrund des lebenden Auges. *Klin. Mbl. Augenheilk* 180:286-289, 1982.
 48. Geerates WJ, Williams RC, Chan G, Ham WT, Guerry D: The relative absorption of thermal energy in retina and choroid. *Invest Ophthalmol* 1: 340-347, 1962.

49. Michelson G, Grundler A, Steinmeier R, Sigwanz U: Simultaneous measurement of ocular micro- and macrocirculation, intraocular pressure, and systemic functions. *Ger-J-Ophthalmol* 3(1): 48-53, 1994.
50. Michelson G, Harazny J: Relationship between ocular pulse pressures and retinal vessel velocities. *Ophthalmology* 104(4): 664-71, 1997.
51. Satoh-Y: Retinal circulation in rhegmatogenous retinal detachment demonstrated by videofluorescence angiography and image analysis. I. The condition of retinal circulation before retinal detachment surgery. *Nippon-Ganka-Gakkai-Zasshi* 93(10): 1002-8, 1989.
52. Santos L, Capeans C, Gonzalez F, Lorenzo J, Codesido J, Salorio MS: Ocular blood flow velocity reduction after buckling surgery. *Graefes-Arch-Clin-Exp-Ophthalmol* 232(11): 666-9, 1994.
53. Scheider A, Korabjelnikoff E: Determination of arteriovenous transit time of the choroid with indocyanine green. *Klin-Monatsbl-Augenheilkd* 199(4): 251-5, 1991.
54. Regillo CD, Sergott RC, Brown GC: Successful scleral buckling procedures decrease central retinal artery blood flow velocity. *Ophthalmology* 100(7): 1044-9, 1993.
55. Tagawa H, Feke GT, Goger DG, McMeel JW, Furukawa H: Retinal blood flow changes in eyes with rhegmatogenous retinal detachment and scleral buckling procedures. *Nippon-Ganka-Gakkai-Zasshi* 96(2): 259-64, 1992.
56. Michelson G, Harazny J: Increased vascular resistance for venous outflow in central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 104(4): 659-63, 1997.
57. Knapp ME, Flaharty PM, Sergott RC, Savino PJ, Mazzoli RA, Flanagan JC: Gaze-induced amaurosis from central retinal artery

compression. *Ophthalmology* 99(2): 238-40, 1992.

58. Sergott RC, Flaharty PM, Lieb WE Jr, Ho AC, Kay MD, Mittra RA, Savino PJ, Bosley TM: Color Doppler imaging identifies four syndromes of the retrobulbar circulation in patients with amaurosis fugax and central retinal artery occlusions. *Trans-Am-Ophthalmol-Soc* 90: 383-98, 1992.
59. Williamson TH, Baxter GM: Central retinal vein occlusion, an investigation by color Doppler imaging. Blood velocity characteristics and prediction of iris neovascularization. *Ophthalmology* 101(8): 1362-72, 1994.
60. Ho AC, Lieb WE, Flaharty PM, Sergott RC, Brown GC, Bosley TM, Savino PJ: Color Doppler imaging of the ocular ischemic syndrome. *Ophthalmology* 99(9): 1453-62, 1992.
61. Keyser BJ, Flaharty PM, Sergott RC, Brown GC, Lieb WE, Annesley WH Jr: Color Doppler imaging of arterial blood flow in central retinal vein occlusion. *Ophthalmology*, 101(8): 1357-61, 1994.
62. Nicoleta MT, Drance SM, Rankin SJ, Buckley AR, Walman BE: Color Doppler imaging in patients with asymmetric glaucoma and unilateral visual field loss. *Am-J-Ophthalmol* 121(5): 502-10, 1996.
63. Rankin SJ, Drance SM, Buckley AR, Walman BE: Visual field correlations with color Doppler studies in open angle glaucoma. *J-Glaucoma* 5(1): 15-21, 1996.
64. Kaiser HJ, Schoetza A, Stumpf D, Flammer J: Blood-flow velocities of the extraocular vessels in patients with high-tension and normal-tension primary open-angle glaucoma. *Am-J-Ophthalmol* 123(3): 320-7, 1997.
65. Butt Z, O'Brien C, McKillop G, Aspinall P, Allan P: Color Doppler imaging in untreated high- and normal-pressure open-angle glaucoma.

- Invest-Ophthalmol-Vis-Sci 38(3): 690-6, 1997.
66. Harris A, Evans DW, Cantor LB, Martin B: Hemodynamic and visual function effects of oral nifedipine in patients with normal-tension glaucoma. *Am-J-Ophthalmol* 124(3): 296-302, 1997.
67. Chen HC, Gupta A, Wiek J, Kohner EM: Retinal blood flow in nonischemic central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 105(5): 772-5, 1998.
68. 長谷川左和子、永原 幸、新家 眞：超音波カラードップラー法による坐位網膜中心動脈速度測定の再現性。第52回日本臨床眼科学会（B6-24）、1998
69. 玉置泰裕、川本英三、江口秀一郎、新家 眞、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。
70. 玉置泰裕、川本英三、江口秀一郎、新家 眞、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。
71. 玉置泰裕、川本英三、江口秀一郎、新家 眞、藤居 仁：レーザースペッ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。
72. 玉置泰裕、川本英三、江口秀一郎、新家 眞、藤居 仁：レーザースペックル現象を利用した網膜末梢循環の生体用二次元解析-2。Microsphere法による測定値との比較。日眼会誌 98：169-174、1994。
73. 玉置泰裕、川本英三、江口秀一郎、新家 眞、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。日眼会誌 98：162-168、1994。
74. Sugiyama T, Utsumi T, Azuma I, Fujii H: Measurement of optic nerve head circulation: comparison of laser speckle and hydrogen clearance methods. *Jpn-J-Ophthalmol* 40(3): 339-43, 1996.

75. Tamaki Y, Araie M, Tomita K, Tomidokoro A: Time change of nicardipine effect on choroidal circulation in rabbit eyes. *Curr-Eye-Res* 15(5): 543-8, 1996.
76. Tamaki Y, Araie M, Tomita K, Nagahara M, Tomidokoro A: Effect of topical beta-blockers on tissue blood flow in the human optic nerve head. *Curr-Eye-Res* 16(11): 1102-10, 1997.
77. Tamaki Y, Araie M, Tomita K, Nagahara M, Tomidokoro A, Fujii H: Real-time measurement of human optic nerve head and choroid circulation, using the laser speckle phenomenon. *Jpn-J-Ophthalmol* 41(1): 49-54, 1997.

