レーザースペックル現象を利用した眼底血流測定 (III)

相津佳永,^{1,3} 萩野浩二,¹ 高井信勝,² 朝倉利光³

興和(株)調布研究所,¹ 北海学園大学工学部,² 北海道大学応用電気研究所³

Evaluation of blood flow at ocular fundus using laser speckle phenomena (III)

Yoshihisa Aizu,^{1,3} Kouji Ogino,¹ Nobukatsu Takai,² and Toshimitsu Asakura³

Kowa Chofu Laboratory,¹ Hokkai-Gakuen University,² Research Institute of Applied Electricity, Hokkaido University³

Abstract

The laser speckle method is further studied for evaluating the blood flow at the ocular fundus of normal human volunteers on the basis of the photon correlation technique. The time-correlation length τ_c of the photon correlation function varies obviously due to the change of the probe position at the human ocular fundus. This paper also studies the ways of eliminating the effect of eye movements and of estimating the shape of the photon correlation function. The experimental results show that the present method can provide favorably the blood-flow information.

1. はじめに

生体にレーザー光を照射すると、その散乱反射光はランダムな斑点模様のスペックルパターンとして観測される。このスペックルパターンは、レーザー光の照射された領域内の血球などの動きに応じて、個々の斑点のようなスペックルが時々刻々、形や位置を変えながら変動する性質がある。我々は、この性質を利用して眼底の血液循環動態の定量計測を行なう方法について、これまで研究を進めてきた。^{1,2)} スペックル血流計測法は最初に皮膚血流測定³⁾ に応用され実用化の段階に入っているが、特に最近、生体からのレーザースペックル現象が、従来から光物理学などの分野で知られていたスペックル現象とは異なった性質を示すことから、“Bio-speckle”⁴⁾ として新たな注目を集めている。

眼底からのスペックル信号は強度が小さいため、通常の信号検出法で S/N のよい結果を得るには、ある程度測定時間を長くする必要がある。しかし、眼球運動の影響や眼に対する安全性を考慮すれば、逆に極力短い測定時間が要求される。そこで我々は、微弱な光強度の信号検出に有効な光子相関法を本血流測定法に応用し、すでにガラス毛細管内血流や白色家兎眼底血流が良好に評価できることを示した。本論文では、実際にヒト正常眼からの信号検出を試み、本測定法の有用性を検討する。また、ヒト眼底を対象とする場合に問題となる眼球運動の影響や、光子相関関数の異なる形状に対する評価方法についても併せて考察を行なう。

2. 測定装置

図1に本測定装置の構成を示す。全体は標準的な眼底カメラ（コワ、RC-X）にレーザー光照射光学系およびスペックル検出光学系を組み合わせた装置となっている。出力1.5 mW のHe-Ne レーザー光はレンズL₁およびL₂によって眼底カメラに導かれ、リングスリットRS内に取り付けた微小ミラーM₁を介して眼底カメラの照明光路に沿うように反射される。さらにレンズ

図1 眼底血流測定装置の基本構成

L_3 、 L_4 、穴開きミラー M_2 を介して被検眼の角膜C近傍で一度集光されたのち、眼底を拡がったスポットで照射する。レンズ L_1 および L_2 の間に設置したニュートラルデンシティーフィルターNFと円形開口CAにより、眼底上でのレーザービームの照射光量とスポットサイズを調節することができる。また、測定位置の設定は固視標を使い被検眼を動かすことで簡単に行なわれる。一方、通常の眼底カメラとしての照明光学系では、ハロゲンランプHLからの白色光がレンズ L_5 、 L_6 、およびダイクロイックフィルターDF、ミラー M_3 を介してリングスリットRSを照明する。その透過光は被検眼の角膜C付近でリングスリットRSの像を形成し、眼球内に入って眼底を照明する。また、レンズ L_5 と L_6 の間に置いたキセノンランプXLからの光も同様の光路を介して眼底に導かれ、写真撮影用光源として使われる。なお、ダイクロイックフィルターDFはハロゲンランプ光およびキセノンランプ光のうち、590 nmよりも短い波長の光を透過させ、それより長い波長の光はほとんどカットするので、検出側で信号光となるHe-Ne レーザーの633 nmの光に対する背景雑音光を抑える役割を果たしている。

検出光学系では、眼底で散乱反射されたレーザー光および観察撮影光がレンズ L_4 にて集光され、穴開きミラー M_2 の開口部分を通過しレンズ L_7 を介して検出および観察撮影側に導かれる。観察撮影光は、ダイクロイックミラーDMを通過しレンズ L_8 、 L_9 、跳ね上げミラーHM、ミラー M_4 を介して観察され、またミラーHMを跳ね上げるにより写真撮影が行なわれる。ダイクロイックミラーDMは590 nmよりも長い波長の光をおもに反射するので、信号となるレーザー光はここで反射されレンズ L_{10} を介して検出面に時間変動するスペックルパターンを形成する。今回は検出開口にコア径80 μm の光ファイバーを使用した。ファイバーの入射端面で検出されたスペックル変動は、ファイバーを通して外部設置した光電子増倍管PMに入力され電気信号に変換される。

出力光電子パルス信号は光電子計数ユニットPCU内のパルス波高弁別器で暗電流パルスが除去されたのち、256 chデジタル相関器CORRにて光子相関関数が測定され、結果はCRTディスプレイに表示されると共に必要に応じてフロッピーディスクに記録される。また、得られた光子相関関数はマイクロコンピュータMC内で平滑化処理を行ない、相関関数の時間相関長 τ およびその逆数が計算され出力される。試作した装置は通常の眼底カメラとしての機能も残しており、眼底観察の他にレーザー光を照射した状態での写真撮影も可能なため、測定部位の確認、記録などにも便利である。さらに、眼底カメラのレンズ L_7 のディオプトリ変更機能を利用することにより、被検眼前眼部の血流測定も可能なため、強膜や虹彩の血液循環動態の評価にも応用することができる。

3. ヒト正常眼テスト

被検眼はあらかじめミドリンにより十分散瞳させたのち実験を行なった。図2は被検眼の眼底写真および測定結果を示したものである。中央部より上に視神経乳頭が見られるが、そのすぐ下の小さな白い部分がレーザービームスポットである。実験では約1mm径のスポットで175 μW を照射した。写真が全体に暗いのはダイクロイックフィルターおよびミラーにより赤色光がカットされているためである。写真中の部位(a)と(b)において2秒の測定から得られた光子相関関数の例を図2の下側に示す。部位(a)は視神経乳頭からの主要な動静脈血管を含むところであり、測定された相関関数はかなり減衰の速い結果を示している。一方、部位(b)は主要血管を外したところであり、そこでの結果は比較的減衰の遅い相関関数となっている。(a)の結果に見られる減衰の速い成分、すなわちスペックル変動の速い成分は、主要血管内を流れる動きの活発な血球移動によるものと考えられ、逆に(b)に見られる減衰の遅い成分は背景網膜組織内の毛細血管網の比較的ゆっくりした血球移動によるものと考えられる。したがって、これらの結果は両部位での血球移動の度合いがスペックル強度の時間変動に確実に反映することを示しているといえる。こうした差異は、初期に行なっていたアナログ信号のスペクトル解析では全く検出できなかった結果であり、光子相関法の採用によって本血流測定法のヒト眼底への適用が可能になったといえる。

図2 ヒト眼底での測定例

図3 眼球運動に伴うドリフト成分の影響とその除去方法

ヒト眼底に対して測定を行なう場合に問題となるのは、眼球運動の影響である。今回は光子相関法の採用により測定時間が初期の30秒から1~2秒へと大幅に短縮されたが、眼球運動を考慮するとまだ不十分である。最終的には0.1~0.3秒以下におさえる必要があるが、現在はまだそこまでの性能を得ていないので眼球運動に対する何らかの対処が必要である。信号測定時には被検者に固視標を注視してもらいなおかつ頭部を固定する。しかし、その場合でも被検者の意志とは無関係に発生する眼球運動があり、その中で最も影響の大きいものとして固視微動が考えられる。測定時間中に急に高速で眼が動く場合は、測定部位が全く外れてしまうので、測定結果は無効とし再測定することになる。測定部位が完全に外れるまではいかないが、1~2秒の間に少しずつ横ずれを起こす場合(かなり一般的に観察される)は、補正をすることによって測定データを生かすことが可能である。

図3にドリフト的な動きの影響とその補正方法を示す。左側の測定結果は同一部位から得られたものだが、ドリフトの大きい場合(I)と小さい場合(II)の光子相関関数の例を示したものである。ドリフトの大きい(I)は(II)に比べて、遅れ時間 τ の長い裾野の方における成分(低周波成分)のゼロレベル(Base line)からの上昇が大きいことがわかる。これは眼底組織のゆっくりとした横ずれ(血球の動きに比べてかなり遅い)によって、変動の遅いスペckル成分が増加したためである。右側の図に示すように、使用したデジタル相関器は256 ch分の遅れ時間 τ を測定できるが、それより5倍ほど遅い遅れ時間でのデータを8 ch分(1273 ch - 1280 ch)測定し、それを256 ch内の最後の8 ch(249 ch - 256 ch)に取り込んで一つの結果とする。この8 chのデータには、血流に伴う変動の速いスペckル信号成分はほとんど残っていないが、ドリフトに伴う変動の遅いスペckル信号成分はかなり反映しているので、8 chのデータの平均値を新たなゼロレベル(0'で表示)としてBase lineに

採用したのち時間相関長 τ_c を評価すれば、ドリフトによる低周波成分の上昇を除去することができる。左側の測定結果において、時間相関長 τ_c が補正前には(I) $\tau_c = 165 \mu\text{sec}$ と(II) $\tau_c = 53 \mu\text{sec}$ で大幅に異なっていたものが、補正によって $49 \mu\text{sec}$ と $41 \mu\text{sec}$ というようになりかなり近い値になっているのがわかる。この方法で残る問題点は、ドリフト成分を検出するためのかなり遅い遅れ時間をどの辺りに設定するかである。これは血流成分が遅くなってドリフト成分との判別がつかなくなってきたときに重要である。この点についてはさらに検討を必要とする。

ヒト眼底に対して測定を行なう場合のもう一つの問題は、測定される光子相関関数が多成分からなり測定ごとに形が異なることから、単純に時間相関長 τ_c だけでは評価しきれないという点である。その例を図4に示す。(a)と(b)は異なる部位から得られた光子相関関数であるが減衰の様子を見る限り明かな差異が検出されているにもかかわらず、時間相関長 τ_c はその違いを反映していない。これは時間相関長 τ_c が相関値で1/2に減衰する点の遅れ時間から一意的に決ってしまうため、他のデータの部分(図4では裾野側の低周波成分)が評価結果に表れないためである。そこで256 chのデータ全体が評価されるようなものとして、相関データの2次のモーメントを次のような式から求め、これを平均相関時間 τ_m と定義する。

$$\tau_m = \frac{\sum \tau_i \cdot [g(\tau_i)]^2}{\sum [g(\tau_i)]^2}$$

ここで $i=1-256(\text{ch})$ であり、 $g(\tau_i)$ は遅れ時間 τ_i での相関値を示す。図4の結果について τ_m を計算すると(a) $\tau_m = 115 \mu\text{sec}$ 、(b) $\tau_m = 181 \mu\text{sec}$ となり、(b)における低周波成分の存在が τ_m の上昇として反映されることがわかる。平均相関時間 τ_m は低周波成分を比較的反映するが、逆に時間相関長 τ_c は高周波成分を反映するので、両者は必要に応じた使い分けが望ましい。

図4 光子相関関数とその評価例

図5 時間相関長 τ_c のヒストグラム

今回の実験は主に主要な血管の有無に応じた差異に注目しているので、速い血流成分の評価のため時間相関長 τ_c を採用して図2の被検眼についての評価を行なった。図2の写真上に示したいくつかの円は測定部位を示し、aは主要な血管を含む領域、bは主要血管を外した領域として区分けした。各点ごとに数回ずつ取った時間相関長 τ_c のデータを(a)、(b)別にヒストグラムで示したものが図5である。主要血管を含む(a)の方は100 μsec 以下の低い範囲に分布しているのに対し、(b)では100-150 μsec 付近を中心に高い方に分布していることがわかる。個々の値は部位によって当然異なるが、主要血管の有無から類推される血球移動の度合いが明らかにスペックル変動に反映していることがわかる。図6は異なる3被検眼(a)、(b)、(c)について各々数箇所の部位の時間相関長 τ_c を測定した結果である。いずれも図5の結果と同様、主要血管を含む部位では時間相関長 τ_c が短く、主要血管を外した部位では長くなっている。また、3被検眼では個々の値は異なるが、上記の傾向は共通して観察されており、これは臨床応用への可能性を大いに示す結果と言えよう。

4. おわりに

本論文では、眼底で散乱反射したレーザー光が示す時間変動スペックル現象を光子相関法で測定することにより、ヒト正常眼の眼底血流状態を良好に評価できることを示した。レーザースペックル法では、スペックル変動が血球移動の活発さだけでなく、血液性状、動静脈の差、血管の数、血管分岐の有無、毛細血管網、脈絡膜血流、組織層構造などさまざまな要因で変化する可能性があり、そのメカニズムは非常に複雑なため、血流速度あるいは絶対血流量を算定することは難しい。しかし、各種疾患とスペックル信号との間に信頼性のある相関関係が確認されれば、臨床分野において大いに役立つものと考えられる。

図6 正常3被検眼の眼底における時間相関長 τ_c の評価例

文 献

- 1) 相津佳永、荻野浩二、小山富康、高井信勝、朝倉利光: 日本レーザー医学会誌 8, No3, 89 (1987).
- 2) Y. Aizu, K. Ogino, T. Koyama, N. Takai, and T. Asakura: in "Laser Anemometry in Fluid Mechanics III," R.J. Adrian, Ed. (Ladoan, Lisbon, 1988) p.55.
- 3) H. Fujii, T. Asakura, K. Nohira, Y. Shintomi, and T. Ohura: Opt. Lett. 10, 104 (1985).
- 4) T. Asakura: Anritsu News 8, No38, 4 (1988).