

暗・明順応下の脈絡膜組織血流量に関する研究

第1報 暗順応下の脈絡膜組織血流量 (図4, 表1)

守 本 典 子 (岡山大学医学部眼科学教室)

要 約

暗順応が脈絡膜循環にいかなる影響を及ぼすかを知る目的で、杆体優位網膜を持つ白色ウサギの暗順応下の脈絡膜組織血流量を水素クリアランス法を用いて測定した。その結果、網膜の酸素需要の増大により血流量が増加すると予想された短期暗順応実験においても、視細胞および網膜色素上皮細胞の機能低下により血流量が減少すると予想された長期暗順応実験においても、脈絡膜組織血流量に変化は認められなかった。脈絡膜は網膜外層を栄養しているが、その血流量は暗順応による網膜外層の変化に影響をうけないことが明らかになった。(日眼会誌 93:790-795, 1989)

キーワード：脈絡膜循環, 暗順応, 水素クリアランス法, 白色ウサギ, 視細胞

Study on Choroidal Blood Flow at Dark and Light Adaptation

1. Choroidal Blood Flow at Dark Adaptation

Noriko Morimoto

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

Abstract

The effect of dark adaptation on choroidal blood flow (CBF) was studied in albino rabbits. CBF was measured by the hydrogen clearance method. There was no significant change of CBF at dark adaptation in both short term dark adaptation, in which CBF had been expected to increase due to increased oxygen demand of the outer retina, and long term dark adaptation, in which CBF had been expected to decrease due to depressed function of visual cells and retinal pigment epithelium. The results show that dark adaptation does not influence CBF, in spite of the close relationship between the outer retina and the choroidal circulation. The large blood flow of the choroidal circulation may not need the reaction mechanism for the functional changes of the outer retina. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 93:790-795, 1989)

Key words: Choroidal circulation, Dark adaptation, Hydrogen clearance method, Albino rabbit, Visual cell

I 緒 言

網膜外層は脈絡膜循環から栄養されており、脈絡膜

の循環障害により網膜も障害される¹⁾²⁾。しかし、逆に網膜外層の機能的な変化が脈絡膜循環にいかなる影響を及ぼすかについては不明である。

別刷請求先：700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部眼科学教室 守本 典子
(平成元年5月18日受付, 平成元年6月26日改訂受理)

Reprint requests to: Noriko Morimoto, M.D. Dept. of Ophthalmol., Okayama Univ. Medical School
2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received May 18, 1989 and accepted in revised form June 26, 1989)

過去に、錐体優位のジュウシマツ網膜を暗順応させると脈絡膜毛細血管内皮細胞の fenestration の密度が低下するという報告がある³⁾。また、ヒト、サル、ネコ、杆体優位のカエル、および他3種の脊椎動物で暗順応下において明順応下よりも網膜外層の酸素消費量が多く、網膜内層あるいは網膜前の酸素分圧が低いことや^{4)~11)}、網膜血管をほとんどたないウサギの網膜前酸素分圧が暗順応下で明順応下よりも低いことが報告されており¹²⁾、杆体優位の白色ウサギでも暗順応下の方が明順応下よりも網膜の酸素消費量が多いことが推測される。さらに、種々の動物、およびヒトで長期暗順応により網膜とくに視細胞の機能が低下することが証明されている^{13)~16)}。

そこで、今回著者は白色ウサギを暗順応させることによって脈絡膜血流量がどのように変化するかを知る目的で、水素クリアランス法^{2)17)~19)}を用いて暗順応前後の脈絡膜組織血流量を測定した。その結果、網膜の酸素消費量が増加することにより血流量が増加すると予想された短期暗順応においても、視細胞機能が低下することにより血流量が減少すると予想された長期暗順応においても、脈絡膜組織血流量に変化は認められなかった。杆体優位網膜において暗順応は脈絡膜血流量に影響を与えないことが明らかになったので報告する。

II 実験方法

1. 実験材料

実験動物には、体重2.1~3.4kgの成熟白色ウサギ45羽を用いた。

2. 脈絡膜組織血流量の測定

1) 脈絡膜組織血流量の測定方法

脈絡膜組織血流量は局所麻酔下で水素クリアランス法を用いて測定した。まず血型不関電極(UHE-001)を背部皮下に埋没させ、押田式ウサギ固定器(KN-317, 夏目制作所)にウサギを固定した。そして、2%リドカイン(2%キシロカイン[®])で上、下眼瞼および内、外眼角部に浸潤麻酔、塩酸オキシプロカイン(ペノキシール[®])で点眼麻酔を行った。内、外眼角切開の後、上、下眼瞼を切除し、上方結膜を輪部切開して上直筋、上斜筋を切離した。上直筋付着部に制御糸を通して角膜下縁が隠れないところまで眼球を下転し、上部強膜を露出させた。手術用顕微鏡下で12時の角膜輪部より11~12mmの部に強膜の最後の一層を残しほぼ全層に剃刀にて小切開を加えた。そして、この部より眼球の

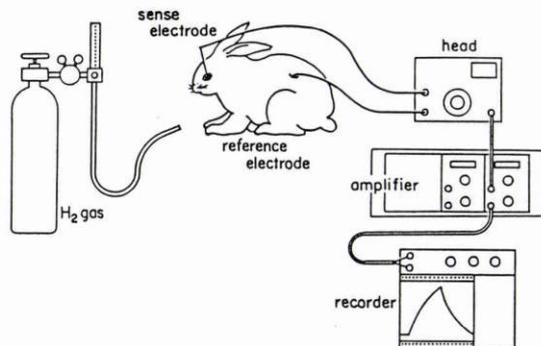


Fig. 1 A schematic diagram of the measurement of choroidal blood flow by the hydrogen clearance method.

接線方向へ向けて直径300 μ mの針状関電極(UHE-100, ユニークメディカル)を刺入し、上脈絡膜内に留置した。角結膜と露出した強膜の乾燥防止のため、電極刺入部と角膜以外の露出部を湿らせた薄い綿で覆い、1分間に約10滴の速さで生理食塩水を角膜上縁に滴下した。

測定装置には水素クリアランス組織血流計(UHメーター-PHG201型, ユニークメディカル)を使用し、卓上自動平衡記録計(U-228型, 日本電子科学)にクリアランス曲線と片対数処理したLOG-AMP出力を同時に記録し、その最も直線的に減少する部分で水素濃度の半減時間を求めて組織血流量を算出した。水素ガスは開放的に0.5~0.8l/minを10~20秒間経鼻的に投与した。実験装置の略図をFig. 1に示す。

なお、実験終了後、一部のウサギの眼球を摘出し、関電極が上脈絡膜内に挿入されていたことを光顕にて確認した。

2) 暗順応の負荷法と脈絡膜組織血流量の測定

実験1：短期暗順応実験1

10羽10眼を用い、暗順応負荷前の角膜面上の照度を約150lxとして測定した。暗順応負荷前の脈絡膜組織血流量の代表値として、室内灯のみの下(角膜面上の照度は約150lx)で5~7回測定し、その平均値を求めた。その後消灯し(角膜面上の照度は 10^{-1} lx以下)、10分間隔で70分間脈絡膜組織血流量の測定を続けた。そして、それぞれ求められた血流量の絶対値(ml/min/100g)を暗順応負荷前の代表値で除し、相対血流量(%)を算出した。照度はTOPCON デジタル照度計(IM-3, 東京光学)にて測定した。

実験2：短期暗順応実験2

10羽10眼を用い、暗順応負荷前の角膜面上の照度を約1500lxとして測定した。蛍光灯白色光にて角膜面上の照度が約1500lxの光照射を10分間行い、その後実験1と同じ条件で暗順応を開始した。光照射時には角膜直前に吸熱ガラスを設置した。脈絡膜組織血流量の測定は光照射直後と暗順応開始後10分間隔で70分間行った。そして、それぞれ求められた血流量の絶対値を暗順応負荷前（光照射直後）の絶対値で除し、相対血流量を算出した。

実験3：長期暗順応実験

ウサギを暗幕で覆った飼育室（湿度、室温、餌、水の摂取など他の飼育環境は実験1、2と同じ。室内照度は 10^{-1} lx以下。）で24時間（5羽5眼）、3日間（5羽5眼）、1週間（5羽5眼）、4週間（6羽6眼）飼育した後、消灯した実験室内で血流量の測定を行った。手術中は乾燥防止用の綿に墨汁をしみ込ませ、角膜には遮光コンタクトレンズを装着して光の射入を防いだ。脈絡膜組織血流量はそれぞれ5～7回測定し、その平均値を求めた。対照には実験1で得られた暗順応負荷前の代表値を用いた。

3. 眼圧、血圧、脈拍数、呼吸数の測定

これらの測定は脈絡膜組織血流量の測定とは別のウサギで行った。室内灯下、10分間の光照射直後、暗順応開始後10分間隔で70分まで（眼圧は10、30、60分後のみ）、いずれも血流量測定時と同じ押田式ウサギ固定器に固定して測定した。その後これらの測定に用いたウサギを4週間暗順応状態で飼育し、再度、眼圧、血圧、脈拍数、呼吸数を測定した。

1) 眼圧の測定（3羽6眼）

塩酸オキシプロカインで点眼麻酔した後、ハンドアプラーネーショントノメーター（HA-1型、興和）で測定し、ウサギの眼圧値に換算²⁰⁾した。測定時に暗順応が中断されるため、毎回室内灯下から始めた。

2) 血圧、脈拍数、呼吸数の測定（4羽）

24G エラスター針を耳動脈に挿入し、留置した。そして圧力トランスデューサー（MPU-5.5A、日本光電）とひずみ圧力アンプ（AP-620G型）に接続し、ペンレコーダー（VP6523A、ナショナル）で記録した。脈拍数はこの記録から読み取った。同時に呼吸数も測定した。

III 結果

1. 脈絡膜組織血流量の変化

実験1：暗順応負荷前の脈絡膜組織血流量は

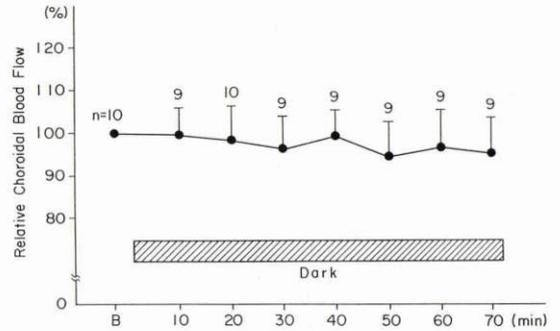


Fig. 2 The effect of dark adaptation on choroidal blood flow. B: Before dark adaptation (luminous intensity on the surface of the cornea; about 1500lux). The bars show standard deviation. There was no significant change.

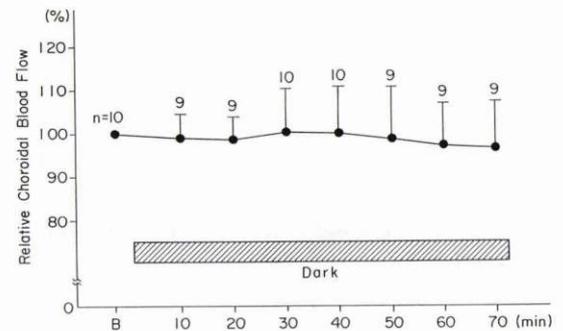


Fig. 3 The effect of dark adaptation after light adaptation on choroidal blood flow. B: Before dark adaptation (luminous intensity on the cornea; about 1500lux). The bars show standard deviation. There was no significant change.

241.4 ± 37.6 ml/min/100g（平均±標準偏差， $n=10$ ）であった。暗順応経過中、血流量には有意な変化は認められなかった（Fig. 2）。

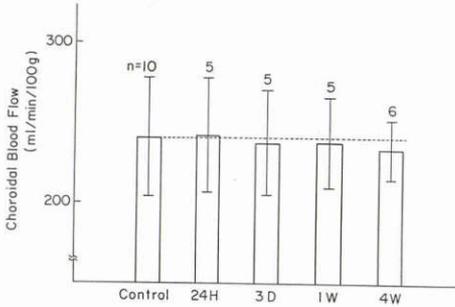
実験2：暗順応負荷前の脈絡膜組織血流量は 245.1 ± 38.8 ml/min/100g（ $n=10$ ）であった。暗順応経過中、血流量には有意な変化は認められなかった（Fig. 3）。

実験3：24時間後、3日後、1週間後、4週間後の脈絡膜組織血流量は、それぞれ 242.4 ± 31.3 ml/min/100g（ $n=5$ ）、 237.7 ± 33.2 ml/min/100g（ $n=5$ ）、 238.4 ± 29.0 ml/min/100g（ $n=5$ ）、 234.3 ± 18.5 ml/min/100g（ $n=6$ ）であった。いずれも対照の血流量 241.4 ± 37.6 ml/min/100g との間には有意差は認められなかった（Fig. 4）。

Table 1 The effect of dark adaptation on intraocular pressure (IOP) and mean arterial pressure (MAP). There was no significant change in IOP and MAP.

	Before dark adaptation	After dark adaptation for 30 minutes	After dark adaptation for 4 weeks	
IOP (mmHg)	21.0±1.0	20.7±1.0	21.3±0.8	(n=6)
MAP (mmHg)	99.3±8.1	98.0±8.4	99.5±10.0	(n=4)

mean±SD

**Fig. 4** The changes of choroidal blood flow after long term dark adaptation. 24H: 24hours, 3D: 3days, 1W: 1week, 4W: weeks. The bars show standard deviation. No significant difference between the control and any time was observed.

2. 眼圧, 血圧, 脈拍数, 呼吸数の変化

眼圧, 平均血圧ともに暗順応により変化は認められなかった(Table 1). 脈拍数は204~236/min, 呼吸数は176~224/minの範囲であり, 暗順応により変化は認められなかった.

IV 考 按

過去の研究より, 網膜の代謝活性は明順応下よりも暗順応下の方が高いことが示唆されている²¹⁾. 堀⁷⁾, Sickel⁸⁾, Zuckermanら⁹⁾, Kimbleら¹⁰⁾は杆体優位のカエル網膜の酸素消費量を *in vitro* で測定し, いずれも暗順応下の方が明順応下よりも網膜とくに視細胞の酸素消費量が多いと述べている. また Jaffeら¹¹⁾はカエルを含む4種の脊椎動物において同様のこと報告している. Zuckermanらはさらに, 杆体細胞の機能を完全に抑制する(Na⁺ dark currentを停止させる)強さの光は網膜の酸素消費を約57%まで低下させ, 光を切って暗順応状態に戻すと酸素消費は再び高いレベルに戻ることを示し, 暗順応下での高い酸素消費は視細胞内節でのNa⁺能動輸送とそれに付随するdark cur-

rentの維持に必要であり, 光照射が視細胞の高い酸素消費を停止させると述べている. 彼らはまた同時に, 視細胞での酸素消費が高い暗順応下では網膜内層の酸素分圧が低く, 明順応下ではその逆になることを示している. また, Stefánssonらはサル⁵⁾およびネコ⁶⁾を用いて酸素供給源として網膜循環を除外できるように操作しながら *in vivo* で網膜前酸素分圧を測定し, 網膜前酸素分圧が明順応下より暗順応下で低いことから, 暗順応下の方が明順応下より網膜の酸素消費量が多いと述べている. そして, Tillisら¹²⁾は網膜血管をほとんどたないウサギの網膜前酸素分圧を *in vivo* で測定し, 同様に暗順応下で低く明順応下で高いことを報告している. したがって, 杆体優位の網膜をもつ白色ウサギにおいても暗順応下の方が明順応下よりも網膜の酸素消費量が多いことが推測された. さらに Fekeら⁴⁾は, ヒトの網膜血流量が暗順応下で増加することを認め, これは暗順応下で網膜外層の酸素消費が増大するために網膜内層の酸素含量が低下することに対する反応であるとしている.

そこで著者は, 白色ウサギを用いて短期暗順応負荷前後の脈絡膜組織血流量を測定した. 暗順応負荷による酸素要求の増大により血流量が増加することが予想されたが, 実験1, 2とも暗順応により組織血流量に変化は認められなかった. 網膜の酸素需要の増大にもかかわらず脈絡膜血流量が変化しなかった理由として, 脈絡膜の静脈血酸素含量が動脈血の約95%と非常に高く, 血液が脈絡膜を通過する間に少量の酸素しか除去されない²²⁾ことが考えられる. すなわち, 脈絡膜循環は非常に豊富な血流量を有し, ある程度の需要の増大には影響されないほど十分な予備能をもつためと考えた. また, 脈絡膜では血流量が減少すると酸素の組織中への移行率が増大し, 血流量が相当低下するまで酸素の組織中への総移行量はほとんど変動しないという報告がある²²⁾²³⁾. したがって, 血流量が増加しなくても酸素需要の増大に応じて酸素の移行率が増加するこ

とは容易に想像できる。例えば石橋³⁾は、錐体優位のため暗順応時には網膜の機能がほとんどなく網膜の代謝も低下していると考えられる²⁴⁾ジュウシマツで、暗順応下において脈絡膜毛細血管内皮細胞の fenestration の密度が低下することを認めている。このように錐体優位網膜では明順応時に、杆体優位網膜では暗順応時に fenestration 等の変化を介する脈絡膜毛細血管の透過性の亢進がおり、それぞれの需要を補っているのかもしれない。

長期暗順応が網膜の機能に悪影響を及ぼすことは、網膜電図の変化を観察することによって証明されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。また、高橋¹⁶⁾は成熟ラット(杆体優位)に1週間から6カ月にわたる暗順応を行い、網膜電図のa波およびb波の減弱、形態学的変化として視細胞外節の伸長、網膜色素上皮細胞内への外節の取り込みの減少、および細胞内のライソゾームの減少などを認めたことから、長期暗順応により網膜色素上皮細胞の食細胞機能が低下した結果視細胞外節の伸長を招来したのであろうと述べている。

そこで著者は、視細胞および網膜色素上皮細胞の機能低下に対応してこれらを栄養する脈絡膜血流量も減少すると予想し、成熟ウサギに24時間から4週間の長期暗順応を行って脈絡膜組織血流量を測定したが、変化は認められなかった。この理由として、最高4週間と暗順応期間が比較的短かったために、血流量に変化をきたすほどの機能的あるいは形態学的変化が網膜に生じなかった可能性を考えた。あるいは、常に豊富な血流量を維持する脈絡膜循環の特異性²⁾により、脈絡膜血流量はこのようなわずかな需要の低下には呼応しないのかもしれない。

また、暗順応により脈絡膜血流量が変化しなかったその他の理由として、暗順応による網膜外層の変化に対応して脈絡膜循環が変化する機構が存在しないということも考えられる。このことに関して、Henkindらは網膜色素上皮細胞が脈絡膜毛細管板の構造と機能を調節する因子を生産し放出している可能性を強調している²⁵⁾⁻²⁷⁾がまだ明確な事実ではなく、また、神経系を介する調節の報告も見られない。いずれにしても、暗順応により脈絡膜血流量に変化は認められなかった。

なお、脈絡膜循環は網膜面上に集光することによって生じる熱を放散する機能、ないしは網膜温度を冷却する機能をもつ²¹⁾⁽²⁸⁾⁻³¹⁾ことから、著者は実験2の光照射に際し光源として蛍光灯の散乱光を用い、吸熱ガラスを利用した。さらに、照射時間も10分と短いため、

本実験においては脈絡膜血流量に与える温度の影響はほとんど無視してよいと考えた。また、暗順応により眼圧および血圧に変化は認められず、脈拍数と呼吸数にも変化が認められなかったため、これらパラメーターの影響も無視してよいと考えた。

以上、水素クリアランス法を用いて杆体優位網膜をもつ白色ウサギの脈絡膜組織血流量の測定を行ったが、短期および長期暗順応により変化は認められなかった。脈絡膜は網膜外層を栄養しているが、その血流量は暗順応による網膜外層の変化に影響をうけないことが明らかになった。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲いただいた恩師松尾信彦教授に深謝いたします。

なお、本研究には文部省科学研究費補助金(課題番号63570831, 研究代表者白神史雄)の補助を受けた。付記して感謝の意を表す。

文 献

- 1) 塚原 勇: 脈絡膜血管の循環障害. 眼紀 28: 1396-1408, 1950.
- 2) 松尾信彦: 脈絡膜循環の特異性. 日眼 84: 2147-2206, 1980.
- 3) 石橋理生: 脈絡膜毛細血管内皮細胞の fenestration に対する暗順応の影響. 久留米医学会雑誌 47: 422-429, 1984.
- 4) Feke GT, Zuckerman R, Green GJ, et al: Response of human retinal blood flow to light and dark. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 136-141, 1983.
- 5) Stefánsson E, Wolbarsht ML, Landers MB: In vivo O₂ consumption in rhesus monkeys in light and dark. Exp Eye Res 37: 251-256, 1983.
- 6) Stefánsson E, Wolbarsht ML, Landers MB, et al: Light reduces retinal oxygen consumption in vivo. The Physiologist 23: 21, 1980. (Suppl.)
- 7) 塙 巧: 視細胞における Photo-metabolism. 生化学 28: 557-601, 1957.
- 8) Sickel W: Supply and demand of energy in retina. Pflugers Arch 319: R161-162, 1970. (Abstr.)
- 9) Zuckerman R, Weiter JJ: Oxygen transport in the bullfrog retina. Exp Eye Res 30: 117-127, 1980.
- 10) Kimble EA, Svoboda RA, Ostroy SE: Oxygen consumption and ATP changes of the vertebrate photoreceptor. Exp Eye Res 31: 271-288, 1980.
- 11) Jaffe MJ, Pautler EL, Russ PN: The effect of light on the respiration of several vertebrate and invertebrate species with special emphasis

- on the effects of acetylcholine and gamma-aminobutyric acid on the frog retina. *Exp Eye Res* 20: 531—540, 1975.
- 12) **Tillis TN, Murray DL, Schmidt GJ, et al:** Preretinal oxygen changes in the rabbit under conditions of light and dark. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 988—991, 1988.
 - 13) **Cornwell AC, Sharpless SK:** Electrophysiological retinal changes and visual deprivation. *Vision Res* 8: 389—401, 1968.
 - 14) **Hamasaki DI, Pollack JG:** Depression of the late receptor potential and the ERG by light deprivation in cats. *Vision Res* 12: 835—842, 1972.
 - 15) **Hamasaki DI, Flynn JT:** Depression of ERG after patching. *Arch Ophthalmol* 89: 472—475, 1973.
 - 16) 高橋寿太郎: 長期暗順応のラット網膜機能と形態への影響. *日眼会誌* 79: 1557—1567, 1975.
 - 17) 高橋節夫: 脈絡膜組織血流量に関する研究. 第1報. 正常眼について. *眼紀* 32: 510—519, 1981.
 - 18) **Aukland K, Bower BF, Berliner RW:** Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circulation Research* 14: 164—187, 1964.
 - 19) **Neely WA, Hardy JD, Godfrey WD:** The use of the hydrogen electrode to measure tissue blood flow. *J Surg Res* 5: 363—369, 1965.
 - 20) 間野ともえ: 赤道部強膜全周締結術の脈絡膜循環への影響. 第1報. 術後早期について. *眼紀* 33: 460—467, 1982.
 - 21) **Sickel W:** Retinal metabolism in dark and light, in Fuortes MGF (ed): *Handbook of Sensory Physiology. VII/2 Physiology of Photoreceptor Organs*. Berlin, Springer-Verlag Inc, 667—727, 1972.
 - 22) **Bill A:** Blood circulation and fluid dynamics in the eye. *Physiol Rev* 55: 383—417, 1975.
 - 23) **Alm A, Bill A:** Blood flow and oxygen extraction in the cat uvea at normal and high intraocular pressures. *Acta physiol scand* 80: 19—28, 1970.
 - 24) 雨宮次生, 樋端みどり: 暗順応と網膜の組織細胞化学. *細胞* 15: 495—500, 1983.
 - 25) **Henkind P, Gartner S:** The relationship between retinal pigment epithelium and the choriocapillaris. *Trans ophthal Soc UK* 103: 444—447, 1983.
 - 26) **Korte GE, Reppucci V, Henkind P:** RPE destruction causes choriocapillary atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 1135—1145, 1984.
 - 27) **Korte GE, Gerszberg T, Pua F, et al:** Choriocapillaris atrophy after experimental destruction of the retinal pigment epithelium in the rat. *Acta anat* 127: 171—175, 1986.
 - 28) 畑 文忠: 赤外線の家兎網膜におよぼす影響について. (II) 赤外線照射による網膜部の温度変化. *日眼会誌* 84: 96—100, 1980.
 - 29) 畑 文忠: 赤外線の家兎網膜におよぼす影響について. (III) 脈絡膜毛細血管板における変化の電顕的研究. *眼紀* 30: 1332—1339, 1979.
 - 30) 畑 文忠: 赤外線の家兎網膜におよぼす影響について. (IV) 網膜部の温度変化と脈絡膜循環との関係. *日眼会誌* 84: 953—962, 1980.
 - 31) **Parver LM, Aufer C, Carpenter DO:** Chorioidal blood flow as a heat dissipating mechanism in the macula. *Am J Ophthalmol* 89: 641—646, 1980.

(第93回日眼総会原著)