

## 暗・明順応下の脈絡膜組織血流量に関する研究

## 第2報 明順応下の脈絡膜組織血流量

守本典子

岡山大学医学部眼科学教室

## 要約

網膜外層の酸素消費量は暗順応下と明順応下で異なると報告されているが、このような網膜外層の機能的変化が脈絡膜循環に及ぼす影響を及ぼすかを検討する目的で、著者は暗順応下で酸素需要が高く明順応下で低い杆体優位網膜をもつ白色ウサギに暗順応および明順応を与えて脈絡膜血流量の変化を調べた。第1報では暗順応負荷により脈絡膜血流量が変化しないことを報告したが、今回は明順応下の脈絡膜血流量について検討した。前報と同様に水素クリアランス法を用いて脈絡膜組織血流量を測定し、その結果、明順応負荷による網膜の酸素需要の低下にもかかわらず脈絡膜組織血流量に変化は認められなかった。脈絡膜循環は網膜外層の栄養も司っているが、その血流量は暗・明順応による網膜外層の変化に影響を受けない可能性が示唆された。これは脈絡膜循環の豊富な予備能によると考えた。(日眼会誌 95:235-240, 1991)

キーワード：脈絡膜循環，明順応，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  
II. Choroidal Blood Flow at Light Adaptation

Noriko Morimoto

*Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School*

## Abstract

The effect of light 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 light adaptation, in which CBF had been expected to decrease due to decreased oxygen demand of the outer retina. The results showed that light adaptation did not influence CBF, in spite of the close relationship between the outer retina and choroidal circulation. Because of the rich blood flow, the choroidal circulation may not need a reaction mechanism for functional changes of the outer retina. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 235-240, 1991)

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

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2年6月8日受付，平成2年8月6日改訂受理)

Reprint requests to: Noriko Morimoto, M.D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School.

2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received June 8, 1990 and accepted in revised form August 6, 1990)

## 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<sup>1)2)</sup>。しかし逆に網膜外層の機能的な変化が脈絡膜循環にかなりの影響を及ぼすかについては不明である。網膜の酸素消費の主たる場合は視細胞層と網膜色素上皮層であるが、杆体優位の網膜においてその酸素需要は光照射により抑制されるため、杆体優位網膜の酸素消費量は明順応下の方が暗順応下より少ないことが報告されている<sup>3)~10)</sup>。杆体優位網膜をもつウサギにおいても同様のことを示唆する報告がある<sup>11)</sup>。そこで著者は暗、明順応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、白色ウサギに暗順応および明順応を与えて負荷前後の脈絡膜組織血流量を水素クラアランス法<sup>2)12)~14)</sup>を用いて測定した。そして第1報<sup>15)</sup>において暗順応負荷により脈絡膜血流量が変化しないことを報告した。さらに今回明順応下の脈絡膜組織血流量を調べたが、明順応負荷による網膜の酸素需要の低下にもかかわらず変化は認められず、杆体優位網膜において明順応は脈絡膜血流量に影響を与えない可能性が示唆されたので報告する。

## II 実験方法

### 1. 実験材料

実験動物には、体重2.3~3.2kgの成熟白色ウサギ18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ラ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, 夏目製作所)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<sup>®</sup>)で上、下眼瞼および内、外眼角部に浸潤麻酔、塩酸オキシブプロカイン(ベノキシール<sup>®</sup>)で点眼麻酔を行った。内、外眼角切開の後、上、下眼瞼および瞬膜を切除し、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、この部より眼球の接線方向へ向けて直径300 $\mu$ mの針状関電極(UHE-100, ユニークメディカル)を刺入し、脈

絡膜に接するように留置した。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ラ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)にクラ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。

#### 2) 明順応の負荷法と脈絡膜組織血流量の測定(10羽10眼)

広範囲の網膜が均等に光照射されるように0.4%トロピカミド(ミドリンM<sup>®</sup>)にて散瞳した。他眼の光射入条件も一定にするため、被験眼と同様、上下眼瞼および瞬膜の切除、乾燥防止の処置、散瞳を行った。水素クラアランス曲線の基線が安定したことを確認した後、実験室全体を暗室にし(角膜面上の照度は $10^{-1}$ lx以下)明順応前の暗順応を開始した。暗順応開始10分後、20分後、30分後の血流量を測定し、40分間の暗順応を行った後に明順応を開始した。明順応負荷は、視野計ドームの検査面の照度が約3,000lxとなるように丸形蛍光灯をドームの半球切面上に設置し、被験眼が蛍光灯の中央部、ややドーム寄りに位置し、視線が検査面の中央に垂直に向くようにウサギを固定して行った(Fig. 1)。この時、被験眼の角膜面上照度は約2,500lx、他眼の角膜面上照度は500~1,000lxであった。血流量の測定は明順応開始2分後、15分後、30分後に行った。明順応時にドーム内に熱が貯留しないように、血流量測定開始時より、扇風機による空気の流れを行った。暗順応下での組織血流量の絶対値(ml/min/100g)の平均値を求め、明順応負荷前の代表値とした。そして、明順応下で得られた組織血流量の絶対値をそれぞれ明順応負荷前の代表値で除し、相対血流量(%)を算出した。照度はデジタル照度計(IM-3, 東京光学)にて測定した。

なお別のウサギで、暗順応30分後と40分間の暗順応後の明順応2分後、また30分間の明順応後30分間の暗順応を行った後に、20J、0.2秒の閃光刺激による網膜電図を測定し、明順応および暗順応が確実に行われ、網膜の変化が機能的かつ可逆的であることを確認した(Fig. 2)。測定にはポータブルERG(PE-200, 東洋メ

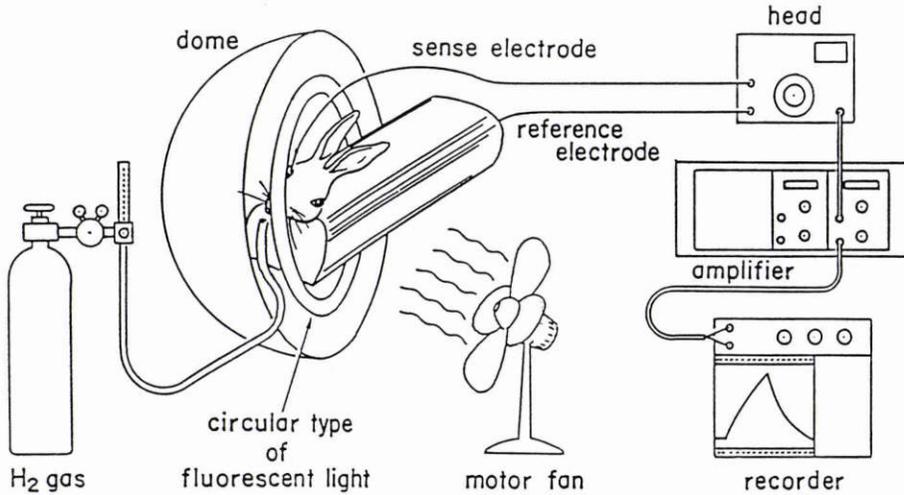


Fig. 1 A schematic diagram of the measurement of choroidal blood flow by the hydrogen clearance method at light adaptation.

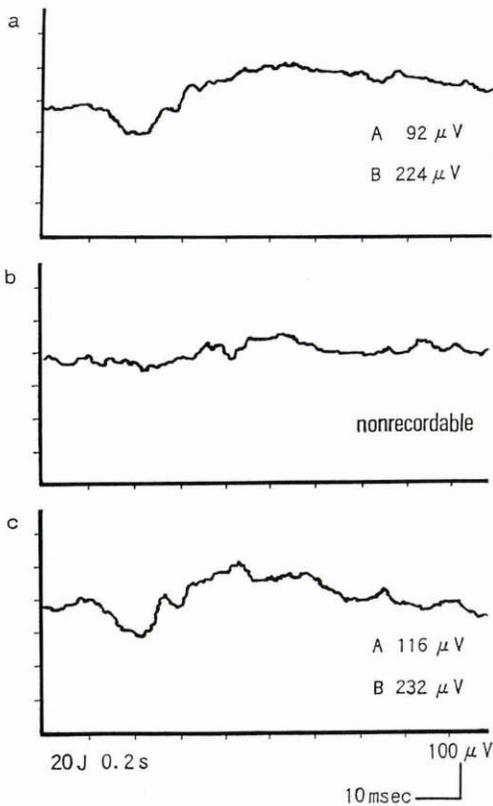


Fig. 2 Flash ERG at light and dark adaptation. a: at dark adaptation for 30 minutes. b: at light adaptation for 2 minutes after 40 minutes dark adaptation. c: at dark adaptation for 30 minutes after 30 minutes light adaptation.

ディカル社)を用い、閃電極はウサギ用コンタクト電極(ERGAC, 興和)を使用した。

3. 血圧, 脈拍数, 眼圧, 呼吸数, 結膜下温度, 眼前気温の測定

1) 血圧, 脈拍数の測定 (6羽)

脈絡膜組織血流量の測定と同時に行った。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。

2) 眼圧の測定 (4羽4眼)

脈絡膜組織血流量の測定とは別のウサギで行った。血流量測定と同様に、両眼の上下眼瞼および瞬膜の切除、乾燥防止処置、散瞳を行い、暗順応、明順応は血流量測定と同一の条件で行った。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<sup>16)</sup>した。測定は暗順応開始30分後と明順応開始2分後、15分後、30分後に行った。

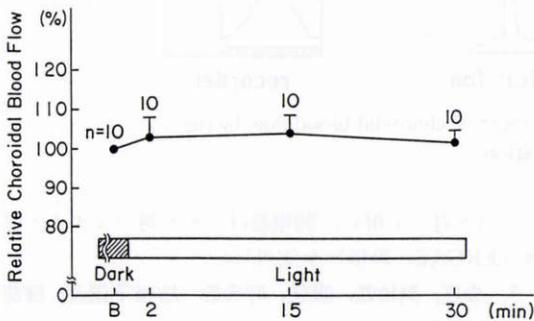
3) 結膜下温度, 眼前気温, 呼吸数の測定 (4羽)

脈絡膜組織血流量の測定とは別のウサギで行った。血流量測定と同様に、両眼の上下眼瞼および瞬膜の切除、乾燥防止処置、散瞳を行い、暗順応、明順応は血流量測定と同一の条件で行った。結膜下温度の測定は上方結膜に小切開を加え、アルメルとクロメルよりなる熱電対を結膜下強膜上に挿入してその先端が角膜輪

**Table 1** Choroidal blood flow after light adaptation for each time. No significant difference between any two points was observed.

Light Adaptation (number)	Choroidal Blood Flow (ml/min/100 g)
before (n=10)	231.6±20.6
2 min (n=10)	237.1±25.9
15 min (n=10)	239.9±24.9
30 min (n=10)	234.4±23.8

(Mean±SD)



**Fig. 3** The effect of light adaptation on choroidal blood flow. B: Before light adaptation (luminous intensity on the surface of the cornea; below  $10^{-1}$  lx). The bars show standard deviation. There was no significant change.

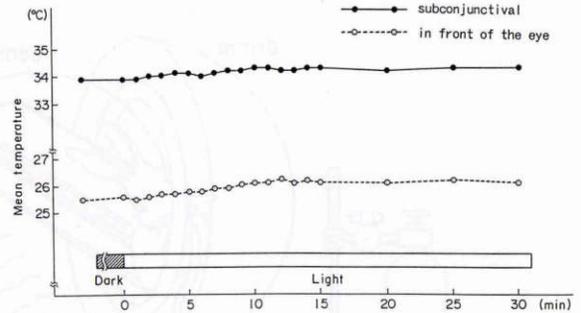
部より11~12mm上方となるように固定し、この熱電対をデジタル表面温度計 (HPD-2000, アンリツ) に接続して行った。眼前気温は角膜直前に設置したアルコール温度計にて測定した。温度測定はいずれも暗順応前、暗順応開始40分後、明順応開始15分後までは1分毎、15分後から30分後までは5分毎に行った。また、同じウサギで暗順応開始30分後と明順応開始2分後、30分後に呼吸数の測定も行った。

### III 結 果

#### 1. 脈絡膜組織血流量の変化

明順応負荷前後の脈絡膜組織血流量を Table 1 に示す。明順応開始2分後、15分後、30分後の相対血流量はそれぞれ  $102.4 \pm 5.1\%$  (平均±標準偏差,  $n=10$ ),  $103.7 \pm 4.6\%$  ( $n=10$ ),  $101.4 \pm 3.4\%$  ( $n=10$ ) であり、血流量に有意な変化は認められなかった (Fig. 3)。

2. 血圧, 脈拍数, 眼圧, 呼吸数, 結膜下温度, 眼前気温の変化



**Fig. 4** The changes of mean subconjunctival temperature and mean temperature in front of the eye at dark and light adaptation. Both of the changes are minimal.

血圧測定中、6羽中3羽において明順応開始直後に耳動脈の交感神経緊張性収縮により測定不能となったが、1分後には回復し2分後以後は安定した値が得られた。平均血圧は89~116mmHg, 脈拍数は208~244/min, 眼圧は17.1~19.1mmHg, 呼吸数は168~236/minの範囲であり、明順応により変化は認められなかった。結膜下温度は明順応開始10分後までに  $0.2 \sim 0.6^\circ\text{C}$ , 眼前気温は12分後までに  $0.7 \sim 1.3^\circ\text{C}$  の上昇がみられたが、いずれもそれ以後の上昇は認められなかった (Fig. 4)。

### IV 考 按

過去の研究から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<sup>17)</sup>。また杆体優位の摘出網膜の *in vitro* 実験で網膜とくに視細胞の酸素消費量は明順応下の方が暗順応下より少ないことが多数報告されている<sup>6)~10)</sup>。Zuckerman ら<sup>8)</sup>はさらに、杆体細胞の機能を完全に抑制する ( $\text{Na}^+$  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  $\text{Na}^+$  能動輸送とそれに付随する dark current 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 らは酸素供給源として網膜循環を除外できるように操作したサル<sup>4)</sup>とネコ<sup>5)</sup>で、Tillis ら<sup>11)</sup>は網膜血管をほとんどたないウサギを用いて網膜前酸素分圧を *in vivo* で測定

し、いずれも網膜前酸素分圧が明順応下で高く暗順応下で低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ウサギにおいても明順応下の方が暗順応下よりも網膜の酸素消費量が少ないと考えられる。

そこで著者は白色ウサギを用いて暗順応および明順応負荷前後の脈絡膜組織血流量を水素クリアランス法にて測定し、第1報において暗順応負荷による網膜の酸素需要の増大にもかかわらず暗順応下の脈絡膜組織血流量が変化しないことを報告した<sup>15)</sup>。そして今回明順応負荷実験を行ったが、明順応による網膜の酸素需要の減少にもかかわらず組織血流量に変化は認められなかった。一方 Feke らはレーザードップラー法を用いてヒトの網膜血流量が暗順応下で増加することを示し、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述べている<sup>3)</sup>。このように網膜では酸素需要に応じて血流量が変化するのに対し脈絡膜では血流量が網膜外層の酸素需要の増減に反応しないことは、脈絡膜血管抵抗が網膜血管と異なり血中酸素含量の影響をほとんど受けない<sup>18)~20)</sup>こととも関係していると思われるが、これらは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<sup>19)</sup>ことから理解しやすい。すなわち脈絡膜循環は非常に豊富な血流量を有し<sup>2)</sup>ある程度の需要の増減には影響されないほど十分な予備能をもつため、脈絡膜血流量は血管内外の酸素含量に鋭敏に反応する必要はないのであろうと考えた。あるいは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り<sup>19)21)</sup>、したがって仮に血流量が変化しなくても酸素需要の増減に応じて酸素の移行率が増減することも容易に想像できる。これには脈絡膜毛細血管内皮細胞の fenestration の密度の増減が関与しているかもしれない<sup>22)</sup>。

ところで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<sup>2)23)~27)</sup>ため、明順応負荷に際しては蛍光灯の白色散乱光を用い、実験中に扇風機による空気の対流を行った。その結果、光照射30分後においても結膜下温度は0.6℃以下、眼前気温は1.3℃以下の上昇にとどまった。よって脈絡膜循環に与える熱の影響はほとんどなかったと考えてよいと思われる。また血圧、眼圧など他のパラメーターには変化がみられな

かったため、これらの影響も無視してよいと考えた。

以上、杆体優位網膜をもつ白色ウサギに明順応を与え水素クリアランス法を用いて脈絡膜組織血流量の測定を行ったが、明順応負荷により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、その血流量は明順応による網膜外層の変化に影響を受けない可能性が示唆された。

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る。

#### 文 献

- 1) 塚原 勇: 脈絡膜血管の循環障害. 眼紀 28: 1396—1408, 1977.
- 2) 松尾信彦: 脈絡膜循環の特異性. 日眼会誌 84: 2147—2206, 1980.
- 3) 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.
- 4) Stefánsson E, Wolbarsht ML, Landers MB: In vivo O<sub>2</sub> consumption in rhesus monkeys in light and dark. Exp Eye Res 37: 251—256, 1983.
- 5) Stefánsson E, Wolbarsht ML, Landers MB, et al: Light reduces retinal oxygen consumption in vivo. Physiologist 23: 21, 1980 (Suppl).
- 6) 埴 巧: 視細胞における Photo-metabolism. 生化学 28: 557—601, 1957.
- 7) Sickel W: Supply and demand of energy in retina. Pflugers Arch 319: R161—162, 1970 (Abstr).
- 8) Zuckerman R, Weiter JJ: Oxygen transport in the bullfrog retina. Exp Eye Res 30: 117—127, 1980.
- 9) Kimble EA, Svoboda RA, Ostroy SE: Oxygen consumption and ATP changes of the vertebrate photoreceptor. Exp Eye Res 31: 271—288, 1980.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) **Aukland K, Bower BF, Berliner RW**: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circul Res* 14: 164—187, 1964.
  - 14) **Neely WA, Hardy JD, Godfrey WD**: The use of the hydrogen electrode to measure tissue blood flow. *J Surg Res* 5: 363—369, 1965.
  - 15) **守本典子**: 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. 日眼会誌 93: 790—795, 1989.
  - 16) **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.
  - 17) **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.
  - 18) **Bill A**: Aspects of physiological and pharmacological regulation of uveal blood flow. *Acta Soc Med Upsaliensis* 67: 122—134, 1962.
  - 19) **Bill A**: Blood circulation and fluid dynamics in the eye. *Physiol Rev* 55: 383—417, 1975.
  - 20) **Friedman E, Chandra SR**: Choroidal blood flow. III. Effects of oxygen and carbon dioxide. *Arch Ophthalmol* 87: 70—71, 1972.
  - 21) **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.
  - 22) **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. 久留米医会誌 47: 422—429, 1984.
  - 23) **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.
  - 24) **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.
  - 25) **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.
  - 26) **Parver LM, Auken CR, Carpenter DO**: Choroidal blood flow as a heat dissipating mechanism in the macula. *Am J Ophthalmol* 89: 641—646, 1980.
  - 27) **Parver LM, Auken CR, Carpenter DO**: The stabilizing effect of the choroidal circulation on the temperature environment of the macula. *Retina* 2: 117—120, 1982.