

脈絡膜循環に関する実験的研究

第2報 ネコ眼球後部の副交感神経刺激による脈絡膜血流の増加反応

中目 義則¹⁾, 刈田啓史郎²⁾, 和泉 博之²⁾, 玉井 信¹⁾, 岡部 仁¹⁾, 阿部 信一¹⁾¹⁾東北大学医学部眼科学教室, ²⁾東北大学歯学部生理学教室

要 約

眼球後部の副交感神経刺激による脈絡膜血流の増加反応を調べる目的で、ネコ20匹を用い、レーザードップラー血流計により経強膜的に脈絡膜血流の測定を行った。①短毛様体神経の部位と、②感覚神経のないとされる毛様体神経節と副毛様体神経節間を電気刺激することによって、いずれも脈絡膜血流の増加反応を記録し、その刺激強度反応曲線を得た。 α -アドレナリン受容体遮断薬であるフェントラミンの投与後および、ポリモーダル

C線維に対する脱感作薬カプサイシンを神経に滴下塗布後起こった脈絡膜血流増加反応はアトロピン抵抗性の副交感神経によるものであると考えられた。(日眼会誌 98:962-967, 1994)

キーワード：副交感神経, 脈絡膜血流, レーザードップラー血流計, 血流増加反応

Experimental Research on Choroidal Circulation

2. Choroidal Blood Flow Increase Elicited by Electrical Stimulation of Parasympathetic Nerve behind the Eyeball in the Cat

Yoshinori Nakanome¹⁾, Keishiro Karita²⁾, Hiroshi Izumi²⁾, Makoto Tamai¹⁾, Hitoshi Okabe¹⁾ and Shin-ichi Abe¹⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine²⁾Department of Physiology, Tohoku University School of Dentistry

Abstract

The present studies were performed to examine whether the nerves behind the eye ball contain parasympathetic fibers which dilate the choroidal blood vessels. Choroidal blood flow in the cat (20 animals) was measured trans-sclerally with a laser Doppler flowmeter. Cats were anesthetized with pentobarbital sodium (30 mg/kg, iv) and artificially respired after injection of pancuronium bromide (0.2 mg/kg/hr, iv). Electrical stimulation of the short ciliary nerve as well as of the nerve between the ciliary ganglion and accessory ciliary ganglion, where the sensory nerve is absent, elicited an increase choroidal blood flow in an intensity-dependent manner. Application of capsaicin, which is known to desensitize the polymodal nociceptive

C-fibers, to these nerves did not abolish the increase in blood flow in response to electrical stimulation of the short ciliary nerve. Atropine, a muscarinic receptor antagonist, and phentolamine, an α -adrenoceptor blocking agent, had no effect on these responses. The results suggest that the blood flow increase elicited by stimulation of these nerves is mediated via activation of the atropine-resistant parasympathetic vasodilator fibers supplying the choroid in the cat. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:962-967, 1994)

Key words: Parasympathetic vasodilator nerve, Choroidal blood flow, Laser Doppler flow meter, Blood flow increase

別刷請求先：980 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学医学部眼科学教室 中目 義則
(平成6年3月25日受付, 平成6年5月31日改訂受理)

Reprint requests to: Yoshinori Nakanome, M.D. Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi-ken 980, Japan

(Received March 25, 1994 and accepted in revised form May 31, 1994)

I 緒 言

副交感神経と脈絡膜血管について、Ruskell¹⁾はサルにおいて顔面神経からの副交感神経が翼口蓋神経節をでた後、途中から動眼神経と走行をともにして脈絡膜の血管を支配しているとする形態学的報告をしている。また、Kuchiiwa²⁾もネコにおいて翼口蓋神経節から眼への副交感神経の支配を、horseradish peroxidase (HRP)法を用いて証明している。一方、生理学的には Nilsson ら³⁾がサル、ウサギ、ネコで動眼神経核の刺激によっては脈絡膜血流に変化は生じないが、顔面神経根の電気刺激によって副交感神経性の血管拡張が生ずると報告をしている。しかし、動眼神経に伴走する顔面神経からの副交感神経線維、つまり、眼球後部の副交感神経線維が実際に脈絡膜血管の拡張をもたらしているとの知見は、未だに得られていない。そこで今回我々は、眼球後部の副交感神経を直接刺激することで、脈絡膜血管の拡張が得られるのかどうかを調べることを目的とした。なお、この部位には副交感神経と一緒に交感神経や感覚神経が走行していることから、副交感神経性の反応のみを取り出すことを主眼として研究を進めた。

II 対象と方法

1. 実験材料

実験は、東北大学医学部動物実験委員会の承認(1992-02-05 CFMD)の下に、動物の保護および管理に関する法律、実験動物の飼養および保管に関する基準に従って行い、体重2.0~4.7 kg (平均3.3 kg)のネコ20匹を使用した。

2. 前処置

実験は、導入麻酔を塩酸ケタミン(ケタラール®)(30 mg/kg im)で、維持麻酔をペントバルビタールナトリウム(ネンプタール®)(30 mg/kg iv)で、臭化パンクロニウム(0.4 mg/kg iv)で自発呼吸停止後人工呼吸下で行った。血圧と心拍数を監視し、体温を37°C前後に保った。

3. 頸部交感神経の露出

交感神経刺激の目的で頸部交感神経の露出を行った。

4. 眼球の固定

腹臥位にしたネコの頭部を脳定位固定装置(成茂科学器械, SN-3)に固定し、眼球結膜を角膜輪部全周にわたり切開して上眼瞼、前額部の皮膚とともに切除し、側頭筋を外した。さらに、眼窩上壁から側壁の骨を切除し、眼球上半分が露出するようにした。眼球下部にある瞬膜は、交感神経刺激により収縮し眼球を上昇させる働きがある。したがって、眼球の動きを抑える目的で瞬膜を除去した。次に、角膜輪部に6-0絹糸を通し金属性のリング(直径14 mm)と縫合し固定した。リングは脳定位固定装置に接続し固定した。さらに、眼球上外側部の結合

組織を除去した(図1)。

5. 刺激部位

視神経周辺の脂肪や筋を除去し、毛様体神経節と副毛様体神経節が視野にできるようにした後、短毛様体神経の眼球から3 mm 中枢寄りの部位(A)と神経節の間(B)の2か所を双極電極による神経刺激部位と定めた(図1)。電気刺激装置(日本光電, SEN-7103)の刺激は、通常0~40 V, 2 ms, 10~40 Hz, 10 secで行った。

6. 脈絡膜血流の測定

Laser Doppler (レーザードップラー)血流計(Moor社, MBF-3 D)のプロープを塑性のある軟らかな金属棒に取り付け、角膜輪部から5~16 mm 後極寄り、上直筋の付着部から2~7 mm 耳側の部位で、強膜から0.2~0.5 mm 離して垂直にあたるように固定し、経強膜的に脈絡膜血流を測定した(図1)。なお、脈絡膜血流の測定に際しては、あらかじめ頸部交感神経刺激をして、血流減少反応を観察できた部位でのみ行った。記録装置(グラフテック, WR 5000)で血流計および血圧計からの出力を記録した。この血流計の原理については Stern ら⁴⁾によるもので、絶対的な血流量ではなく、血流量の変化の相対値がわかる。

7. 副交感神経応答

副交感神経の他に交感神経と感覚神経の線維が混在するとされる短毛様体神経の部位で、眼球から3 mm 中枢寄りを刺激した場合に生ずる脈絡膜血流の応答は、副交感神経の興奮による成分の他に交感神経および感覚神経の興奮による成分も含まれている可能性がある。そのため、応答の中から副交感神経の興奮による応答である成分のみを残す方法を講じた。すなわち、交感神経による応答の成分は α 遮断薬であるフェントラミンの静脈投与により取り除いた。次に、感覚神経の逆伝導性興奮による成分は1%カプサイシンの神経塗布により取り除いた。また、感覚神経線維が存在しないとされる毛様体神経節と副毛様体神経節の間²⁾の刺激も用いた。

神経節との関係を見るために、自律神経節遮断薬であるヘキサメソニウム(3 mg/kg, iv)を用いた。さらに、一般的な副交感神経遮断薬であるアトロピン(0.1 mg/kg, iv)の影響も調べた。

III 結 果

1. 短毛様体神経部位の神経刺激による反応

短毛様体神経の部位(図1 A)を刺激した12例中4例で血流増加を得た。個体によって反応の大きさなどに違いはあるものの、刺激強度依存性(10~40 V)に血流増加反応がみられた(図2)。12例中8例においては、血流増加反応を観察出来なかった。血流増加反応を認めなかった8例中5例では、フェントラミン(3 mg/kg, iv)を投与した後に血流増加反応の記録が得られた(図3)。すなわち、12例中9例において血流増加反応をみた。残

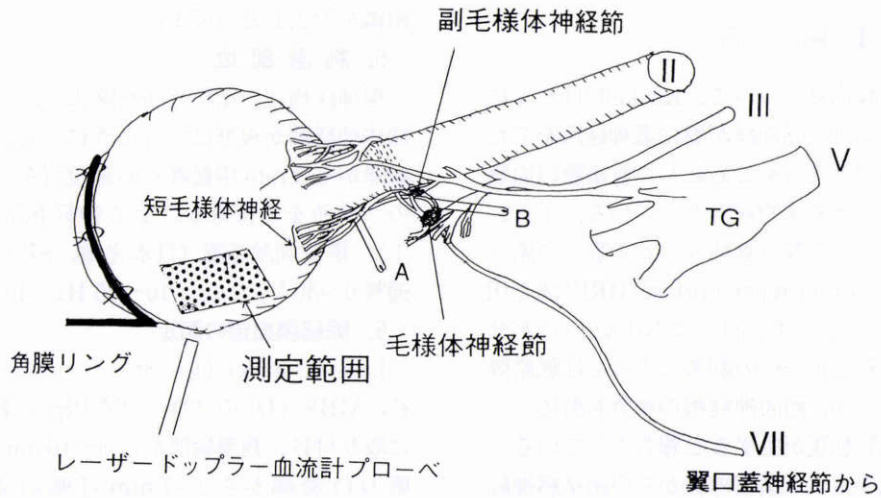


図1 血流測定部位と刺激点。
A, B: 刺激点, TG: 三叉神経節, II: 視神経, III: 動眼神経, VI: 三叉神経, VII: 顔面神経

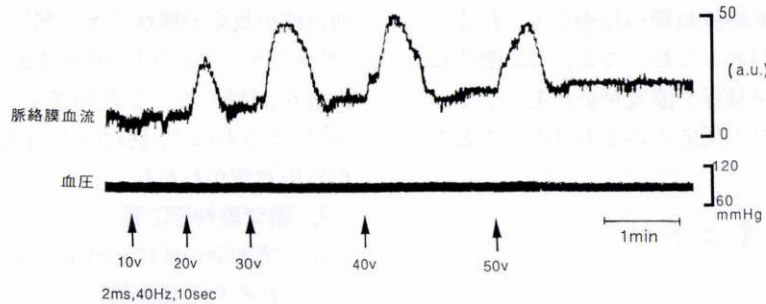


図2 短毛様体神経の刺激による脈絡膜血流反応の強度依存性変化。

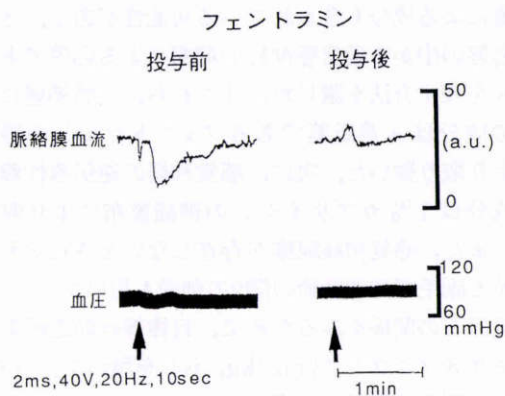


図3 短毛様体神経の刺激による脈絡膜血流に対するフェントラミンの作用。

りの3例では、フェントラミン投与後も血流増加反応はみられなかった。

増加反応は1% カプサイシンを刺激点に滴下した場合、8例すべてにおいて抑制を受けた(図4右)(増加量%コントロール, 以下同じ: $33.65 \pm 18.16\%$, $p < 0.001$, $n = 8$ paired t-test). ただし、カプサイシン滴下直後一時的に、感作によると思われる血流増加反応が全例にみられた(図4中央)。

自律神経遮断薬であるヘキサメソニウム (3 mg/kg, iv)の前投与は、血流増加反応に有意な変化を生じなかった ($98.52 \pm 1.55\%$, $p = 0.10$, $n = 4$ paired t-test).

アトロピン (0.1 mg/kg)の静脈投与後、増加反応に変

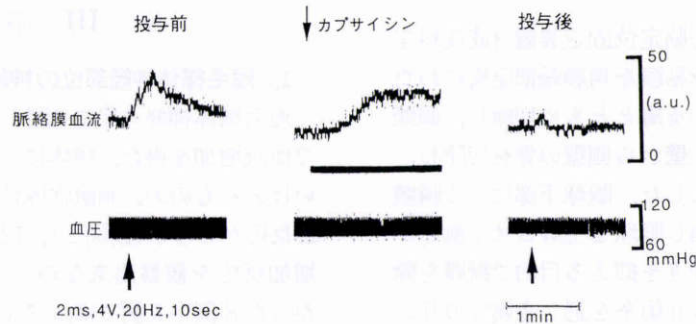


図4 短毛様体神経の刺激による脈絡膜血流反応に対するカプサイシンの作用。
矢印: 短毛様体神経の電気刺激 (左と右), 横線: 1% カプサイシン塗布 (中央)

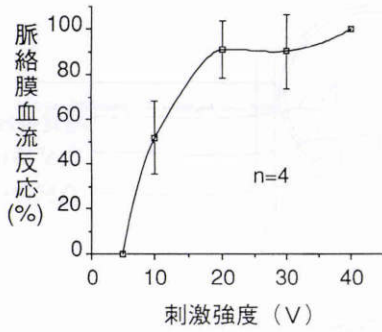


図5 短毛様体神経刺激による脈絡膜血流増加反応における刺激強度反応曲線。

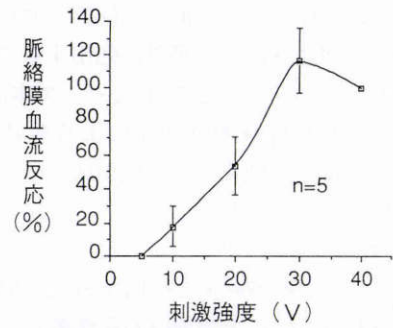


図8 毛様体神経節と副毛様体神経節の間約3mmの部位刺激による脈絡膜血流増加反応の刺激強度反応曲線。

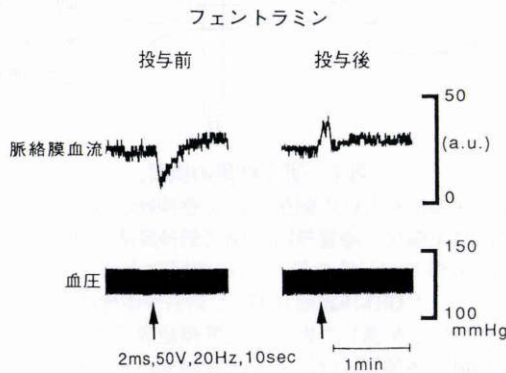


図6 毛様体神経節と副毛様体神経節の間約3mmの部位刺激による脈絡膜血流増加反応に対するフェントラミンの作用。
矢印：毛様体神経節と副毛様体神経節の間約3mmの部位刺激

増加反応がみられた。

血流増加反応を得られなかった4例のうち、3例では図6のごとく、はじめは血流減少反応がみられ、フェントラミン(3mg/kg iv)の投与により血流増加反応が得られた。すなわち、8例中7例で血流増加反応をみた。残りの1例では、血流減少反応のみで増加反応を観察出来なかった。

ヘキサメソニウム(3mg/kg iv)投与を行った5例すべてにおいて、血流増加反応に変化がなかった(図7)(99.88 ± 0.25 , $p=0.10$, $n=5$ paired t test)。また、この部位の刺激では、神経節間に1%カプサイシンの塗布をしても一時的に血流増加を記録することなく、血流増加反応も変わらなかった(図7)。

短毛様体神経部位刺激の反応と同様に、閾値は5V、30Vまで刺激強度依存性に血流増加が得られた(図8)。

IV 考 按

眼科疾患において循環障害に起因する疾患の頻度は高く、眼循環動態、そして、その調節機構の解明は重要な課題である。その中でも脈絡膜循環は眼循環の9割以上を占め、古くからその血管構築の特殊性や循環動態の特異性が注目され、多くの研究がなされてきた^{5)~7)}。脈絡膜血流の副交感神経支配に関しては、1961年Gloster⁸⁾がウサギやネコにおいて、大錐体神経刺激の最中に血流増加の指標とした眼圧の上昇が生じたことを最初に報告した。その後、Stjernschantzら⁹⁾はウサギの顔面神経を頭蓋内で刺激して脈絡膜血流の増加をみた。Billら¹⁰⁾は、サル顔面神経が脈絡膜への血管拡張神経線維を含んでいると述べている。さらに、緒言に述べた通りRuskell¹¹⁾およびKuchiiwa²⁾の形態的な報告と、顔面神経根を刺激したときに脈絡膜血流増加がみられたというNilssonら³⁾の報告がある。しかし、眼球後部の副交感神経線維が、実際に脈絡膜血管の拡張をもたらしているとの知見は、これまでに得られていなかった。その理由として考えられることは、眼球後部には交感、副交感、感覚などの各種神経が混在し、ここでの電気刺激はそれらすべての神経を興奮させるため、反応が混在してしまう。その混在

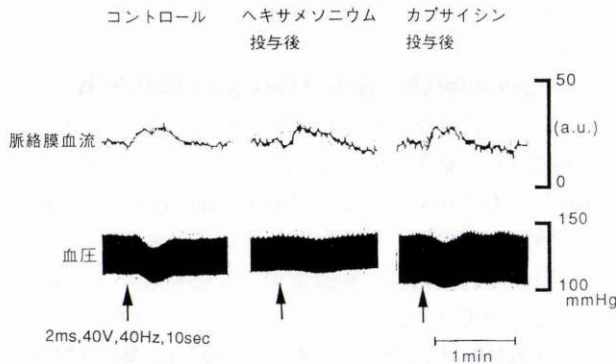


図7 毛様体神経節と副毛様体神経節の間約3mmの部位刺激による脈絡膜血流増加反応に対するヘキサメソニウム(C6)およびカプサイシンの作用。
矢印：毛様体神経節と副毛様体神経節の間約3mmの部位刺激

化がなかった(97.9%, $n=2$)。

閾値は5Vで、40Vまで刺激強度依存性の血流増加が得られた(図5)。

2. 毛様体神経節と副毛様体神経節間の神経刺激による反応

感覚神経成分のない、毛様体神経節と副毛様体神経節の間の部位(図1B)を刺激した結果、8例中4例で血流

した反応から、純粋に副交感神経の反応を取り出す方法を脈絡膜血流の神経調節での研究に応用することを試みたものがなかったということである。そこで本研究では、 α ブロッカーや感覚神経脱感作薬による前処置および刺激部位の選択により副交感神経性の成分のみが得られるように実験系を検討した。

交感神経は、 α レセプターと β レセプターを持っている¹¹⁾。脈絡膜には上頸神経節を経由する交感神経が分布しているとされるが¹²⁾、上頸神経節を刺激した場合には α レセプターのみが関与するとされる¹³⁾。それゆえ、 α 遮断薬であるフェントラミンを使用することで交感神経性成分の応答を取り除いた。従来、交感神経刺激で脈絡膜血流は減少反応のみを示すとされていたが⁷⁾、ネコ脈絡膜には交感神経刺激により血流増加反応が観察される部位が存在する¹⁴⁾ので、本実験では前もって頸部交感神経の刺激において血流減少反応がみられる脈絡膜血流測定部位であることを確認した。これより、その後血流増加反応がみられた場合は、感覚神経あるいは副交感神経によるものと考えることができた。

感覚神経の成分が逆伝導性 (antidromic) または軸索反射性 (axon reflex) の興奮を起こし、皮膚の血管拡張 (以下、逆伝導性血管拡張) を起こすこと¹⁵⁾が知られている。逆伝導血管拡張という現象は、脈絡膜においても起こり得ると考えられる。逆伝導性血管拡張は C-fiber の中で熱、化学的、機械的刺激に反応する polymodal nociceptive fiber を介して起こるとされ、カプサイシンによって選択的に感作された後に脱感作される¹⁶⁾。そこで今回は、1% カプサイシンを使って感覚神経を脱感作し、その成分を取り除いた。

1. 短毛様体神経部位の刺激

短毛様体神経の部位 (図 1 A) を電気刺激することにより血流増加反応がみられた。減少反応を示すものもフェントラミン (3 mg/kg iv) の前処置後、血流増加反応を示した (図 3)。このことから、刺激部位に交感神経が入り込んでいることが考えられた¹⁴⁾¹⁶⁾。さらに、この部位に 1% カプサイシンを塗布すると、図 4 (中央) に示したとおり、一過性に脈絡膜血流の増加をみた。これはカプサイシンにより一定時間感作が起こったため、逆伝導性興奮が起こったものと思われる。平均 30 分でこの一時的な感作状態は消失した。その後の刺激により脈絡膜血流は増加した。この段階では、感作神経は脱感作されているので、反応は感覚神経のものではなく、さらに、フェントラミン (3 mg/kg iv) がすでに前投与されていることから、交感神経の応答でもなく、副交感神経の応答と考えられた。ただし、血流増加量ではカプサイシン投与後は投与前に比べて血流増加反応が少なく、感覚神経が脈絡膜血流調節において一定の役割を担っていることが考えられた。

ヘキサメソニウム (3 mg/kg, iv) の投与後には、短毛

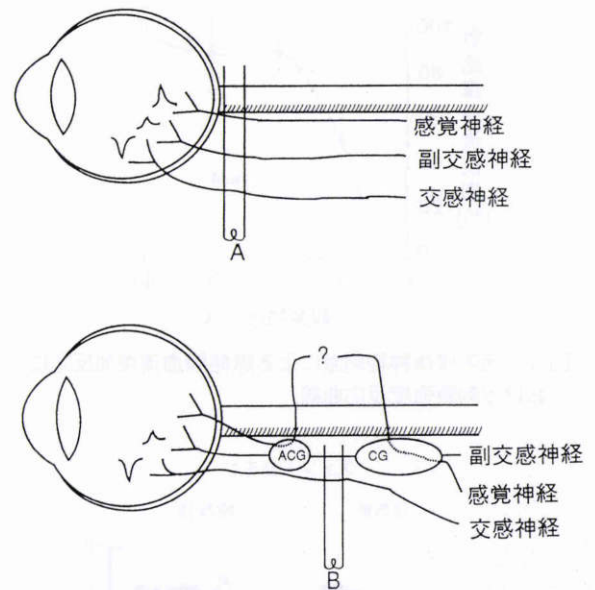


図9 研究結果の概要。

短毛様体神経 (A) の刺激では交感神経の成分からの脈絡膜血流減少、感覚神経と副交感神経成分からの血流増加が得られ、その量は感覚神経によるものが大きかった。毛様体神経節 (CG) と副毛様体神経節 (ACG) の間 (B) を刺激した場合、交感神経成分による血流減少と副交感神経成分による血流増加がみられた。また、この部位に感覚神経成分はみられなかった。

様体刺激による血流増加反応に変化が生じなかった。自律神経遮断薬であるヘキサメソニウム投与によって変化しない場合、刺激点と刺激点の間に神経節が存在しないと考えられる。それゆえに、短毛様体神経部位にある脈絡膜血管支配の副交感神経線維は節後線維であると考えられた。

2. 毛様体神経節と副毛様体神経節の間の刺激

次に、毛様体神経節と副毛様体神経節間 (図 1 B) の神経を刺激した結果、血流増加反応がみられ、減少反応を示すものもフェントラミン (3 mg/kg, iv) の前処置後、血流増加反応を示した (図 6)。このことから、短毛様体神経節の場合と同様に刺激部位に交感神経が入り込んでいることが考えられた¹⁴⁾¹⁶⁾。ヘキサメソニウム投与により血流増加反応は変化しなかった (図 7)。短毛様体神経節部位刺激と同様にこれは節後線維であり、ここでの応答が副毛様体神経節でシナプスを形成するものではないことを示している。この部位の刺激ではカプサイシンの塗布によっても感作による血流増加は起こらず、また、その後の刺激による血流増加反応に変わりがなかった (図 7)。このことは、毛様体神経節と副毛様体神経節の部位では感覚神経がないとする Kuchiiwa²⁾の形態学的所見を裏付けた。

副交感神経末端からアセチルコリンが放出され、そのムスカリン作用はアトロピンで遮断されることが知られている。しかし、血管拡張にかかわる副交感神経の末端はアトロピンで抑制を受けない¹⁷⁾。その伝達物質として、

VIP (vasoactive intestinal polypeptide) や NO (nitric oxide) が考えられている¹⁸⁾¹⁹⁾。本研究でも短毛様体刺激において、アトロピン投与下で抑制を受けないことを確認した。

以上、本研究により、眼球後部を副交感神経線維が感覚神経や交感神経とともに伴走し、そして眼球に達していることが生理学的に初めて証明され、しかも脈絡膜血流増加作用を有することが示された(図9)。脈絡膜循環は網膜のみならず、視神経乳頭、毛様体、虹彩など眼組織の殆どを支配している。それ故、眼科的に頻用される自律神経作動薬および遮断薬(主に点眼薬としてのピロカルピン、アトロピン、 β 遮断薬、 α 遮断薬など)が、どのように脈絡膜循環に影響を与えているかは薬効および副作用の点から無視できない事項である。本研究を基礎に今後、さらに実験や検討を重ね、脈絡膜循環の神経調節および薬物調節機構を解明し、各種疾患の病態の解明、治療法の開発に応用したい。

本研究の要旨は、第97回日本眼科学会総会で講演した。

文 献

- 1) **Ruskell GL**: Facial parasympathetic innervation of the choroidal bloodvessels in monkeys. *Exp Eye Res* 12: 166—172, 1971.
- 2) **Kuchiiwa S**: Intraocular projections from the pteryopalatine ganglion in the cat. *J Comp Neurol* 300: 301—308, 1990.
- 3) **Nilsson S, Linder J, Bill A**: Characteristics of uveal vasodilation produced by facial nerve stimulation in monkeys, cats and rabbits. *Exp Eye Res* 40: 841—852, 1985.
- 4) **Stern MD, Lappe DL, Brown PD, Chimosky JE, Holloway GA, Keiser HR, et al**: Continuous measurement of tissue flow by laser Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 232: H441—H448, 1977.
- 5) **Duke-Elder S, Gloster J**: The vascular circulation of the eye. *System of Ophthalmology, Vol 4*, Henry Kimpton, London, 1—103, 1968.
- 6) **松坂利彦**: 脈絡膜の神経支配. *あたらしい眼科* 4: 565—567, 1987.
- 7) **Gherezghiher T, Okubo H, Koss MC**: Choroidal and ciliary body blood flow analysis: Application of laser Doppler flowmetry in experimental animals. *Exp Eye Res* 53: 151—156, 1991.
- 8) **Gloster J**: Influence of the facial nerve on intraocular pressure. *Brit J Ophthalmol* 45: 259—278, 1961.
- 9) **Stjernschantz J, Bill A**: Vasomotor effects of facial nerve stimulation: Noncholinergic vasodilation in the eye. *Acta Physiol Scand* 109: 45—50, 1980.
- 10) **Bill A, Sperber GO**: Control of retinal and choroidal blood flow. *Eye* 4: 319—325, 1990.
- 11) **Chandra R, Friedman E**: Choroidal blood flow II. The effects of autonomic agents. *Arch Ophthalmol* 87: 67—69, 1972.
- 12) **大島浩一**: 脈絡膜における神経分布に関する研究. 第1報. モノアミン作動性神経の顕微鏡による観察. *眼紀* 33: 951—957, 1982.
- 13) **Bill A**: Autonomic nervous control of uveal blood flow. *Acta Physiol Scand* 56: 70—81, 1962.
- 14) **阿部信一, 刈田啓史郎, 和泉博之, 中目義則, 岡部 仁, 玉井 信**: 脈絡膜循環に関する実験的研究. 第1報 頸部交感神経の切断および刺激による脈絡膜循環の変化について. *日眼会誌* 97: 494—500, 1993.
- 15) **Bruce AN**: Vaso-dilator axon-reflexes. *Quart J Exp Med* 6: 339—354, 1913.
- 16) **Izumi H, Karita K**: The effects of capsaicin applied topically to inferior alveolar nerve on antidromic vasodilatation in cat. *Neurosci Lett* 112: 65—69, 1990.
- 17) **Izumi H, Karita K**: Somatosensory stimulation causes autonomic vasodilatation in cat lip. *J Physiol (Lond)* 450: 191—202, 1992.
- 18) **Nilsson SFE, Maepea O**: Comparison of the vasodilatory effects of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and peptide-HI (PHI) in the rabbit and cat. *Acta Physiol Scand* 129: 17—26, 1987.
- 19) **戸田 昇**: 神経伝達と NO. *日本薬理学会雑誌* 100: 173—182, 1992.