

レーザースペックル現象を用いた  
生体眼ぶどう膜微小循環の非侵襲的解析

宮所 敬 男

①

レーザースペックル現象を用いた  
生体眼ぶどう膜微小循環の非侵襲的解析

富 所 敦 男

I 緒言	2
II レーザースペckル現象を用いたぶどう膜微小循環解析	5
①レーザースペckル法の測定原理および装置	5
②NB値の測定位置による変動	8
③NB値の生体眼における再現性	13
④マイクロスフェア法により測定された組織血流量とNB値との比較	15
眼圧変化による虹彩、脈絡膜微小循環への影響	15
Unoprostone 点眼による虹彩微小循環への影響	22
⑤外眼筋切断による虹彩循環への影響	25
III 眼灌流圧の変化によるぶどう膜微小循環への影響	28
①眼灌流圧の段階的な変化が虹彩および脈絡膜微小循環に及ぼす影響	29
②脈絡膜および視神経乳頭微小循環の眼灌流圧変化後の経時的変化	30
IV $\beta$ 遮断薬点眼によるぶどう膜微小循環への影響	41
①Carteolol 点眼による組織血流量とNB値の変化	42
② $\beta$ 遮断薬の1回点眼および長期点眼がぶどう膜微小循環に及ぼす影響	43
V 結語	57
文献	58

## 1. 緒言

虹彩、毛様体、脈絡膜を含むぶどう膜は一般に大小の血管に富んだ組織であり、眼循環血液量の8割以上が供給されている<sup>1</sup>。虹彩および毛様体の微小循環は前眼部の生理的環境の維持に重要な役割を担っている。前部ぶどう膜の血流は、房水の産生、前眼部の炎症機序などに関与する他、原発性虹彩萎縮<sup>2</sup>や、斜視手術<sup>3-5</sup>、網膜剥離手術<sup>6, 7</sup>などの手術後に見られる虹彩萎縮などに関係する<sup>8</sup>。また、脈絡膜は網膜、特に視細胞層への基本的な栄養血管系を有し、光受容器としての網膜の作用を支えている。脈絡膜の循環障害は三角症候群などの固有の疾患の原因となるだけでなく、加齢性黄斑変性や糖尿病網膜症などの疾患の重要な背景因子となっている可能性も推測される。したがってぶどう膜の微小循環動態の検討は、眼生理学、眼薬理学において重要な意義を持つ。

これまでにぶどう膜の微小循環に関しては多くの研究がなされてきた。主に1960年代までに用いられた渦静脈または毛様静脈の解放による直接測定法<sup>9, 10</sup>やアイソトープクリアランス法<sup>11</sup>などの方法は血流量の微細な変化を検討するのに定量性、信頼性が十分とはいえなかった。これらに対し、マイクロスフェア法<sup>12-22</sup>や水素ガスクリアランス方法<sup>23-25</sup>などは比較的定量性も高く、現在でも組織血流量の測定法として用いられている。しかしこれらの方法は侵襲的方法であるため、全身麻酔を必要とする他、短時間間隔での複数回測定や、数日以上の間隔をおいた測定は困難であった。また対象は実験動物に限定され、ヒトでの実験は不可能であった。虹彩循環の測定に関してはフルオレセイン蛍光虹彩血管造影<sup>2, 4, 5, 7, 26-29</sup>、サーモグラフィによる角膜表面温度計測<sup>30, 31</sup>などの比較的に非侵襲的な方法も用いられている。フルオレセイン蛍光虹彩血管造影<sup>2, 4, 5, 7, 26-29</sup>は蛍光色素であるフルオレセイン静注後に虹彩面および虹彩血管を蛍光惹起光を光源として連続撮影することにより、虹彩の血流動態を解析するものであるが、対象が色素を持たない白色家兎あるいは白人の虹彩に限定され、またその定量性は高くない。サーモグラフィにより角膜および結膜の表面温度を測定することにより前眼部の循環動態を推定する方法も試みられているが<sup>30, 31</sup>、十分な信頼性を持った定量的解析は困難であると考えられる。これに対し近年、laser Doppler 現象を利用した組織血流または血管内血流の定量的解析装置が開発され、laser Doppler velocimetry (LDV)<sup>32-37</sup>、laser Doppler flowmetry (LDF)<sup>38-45</sup>として眼科領域でも利用されている。しかしその対象は主に網膜<sup>32-36, 41-43, 45</sup>、視神経乳頭<sup>38-40</sup>であり、虹彩<sup>46</sup>、脈絡膜<sup>42, 44</sup>

への応用の報告は少ない。LDV、LDFは測定面積が直径約180 $\mu$ mと非常に小さく測定位置の僅かな違いが結果に大きな影響を及ぼし得るため、測定位置の正確な同定が必要不可欠である。網膜血管に関しては、血管自体を指標とした精密なトラッキングシステムを組み込むことによりヒトでの測定も行われているが<sup>41</sup>、明らかな指標のない脈絡膜などではそのようなトラッキングシステムは実現されておらず、全麻下の動物以外では信頼性、実用性は低いと考えられる。LDVは虹彩微小循環の測定にも用いられているが<sup>46</sup>、虹彩上での測定位置の同定が難しく、虹彩は位置により循環動態が大きく異なるので、再現性の高い測定は困難であると考えられる。これらの他に非侵襲的な眼血流の測定法として color Doppler flow imaging (CDI)や scanning laser Doppler flowmetry (SLDF)などが開発されているが、CDI<sup>47-49</sup>は眼外の比較的大きな血管である眼動脈、網膜中心動脈、毛様体動脈等に測定が限定され、眼生理学および眼薬理学的上、より重要と考えられる眼内での微小循環についてはそれらの大血管での測定値からの類推にとどまっている。また、ぶどう膜の循環に特異的な測定法ではない。SLDF<sup>45</sup>、50-52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、網膜上で2.7 $\times$ 0.7 mm<sup>2</sup>を測定範囲とする血流動態の疑似的な2次元表示を実現している。しかし実際の走査中の各測定点は小さくかつ測定時間も非常に短時間のため、特にヒトでの測定においては、拡張期、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。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まだ問題が多い。また現在実用化されているSLDFは網膜および視神経の循環を測定するもので、現在のところ脈絡膜、虹彩の微小循環についての報告はない。以上のように、虹彩、脈絡膜の微小循環に関して、再現性の高い測定につながるような広い測定面積を持ち、非侵襲的かつ定量的な解析方法は現在のところ存在しない。

レーザー光などのコヒーレンシーの高い光を散乱体に照射するとスペックルパターンと呼ばれるランダムな模様を生じ、その経時的変動は統計的解析が可能であるという特徴を有する<sup>53</sup>。生体組織にレーザーを照射すると、多数の血球を散乱粒子としたスペックルパターンが観察面において形成され、観察領域内で血球の移動速度が速いところではスペックルパターンの経時的変動が大きく、血球の移動速度の遅いところではパターンの経時的変動も小さい<sup>54-56</sup>。レーザースペックル現象の生体内の循環動態解析への応用が、これまでに皮膚<sup>56, 57</sup>などの組織で検討されてきた。眼科領域では、玉置らにより網膜<sup>58</sup>、視神経、脈絡膜<sup>59</sup>の眼底組織の微小循環の定量的評価法として検討されてきた。玉置らの方法は、低出力レーザーを用いる非侵襲的方法であり、また眼底組織で0.62 $\times$ 0.62 mm<sup>2</sup>というLDV、LDF、SLDFなど

の他法に比較して広い測定範囲を持ち、かつ 5 秒以上の連続測定も可能であるという利点を有している。本法は眼底組織だけでなく広くぶどう膜全般の微小循環解析への応用も期待される。しかし、ぶどう膜循環解析への応用に関しては、これまでに玉置ら<sup>59</sup>により脈絡膜に関して一部検討されているのみであり、虹彩循環測定への応用は全く検討されていなかった。

今回、レーザースペckル現象を用いた生体眼での非侵襲的なぶどう膜微小循環の解析法を確立することを目的に以下の研究を行った。また本法を用いて、眼圧変動が家兎ぶどう膜微小循環に及ぼす影響や、眼科臨床で抗緑内障薬として用いられている $\beta$ 遮断点眼薬がぶどう膜微小循環に及ぼす影響について検討した。



## II レーザースペckル現象を用いたぶどう膜微循環解析

本項では、レーザースペckル現象を用いた生体眼微循環測定の原理の概略を説明し、眼底組織の微循環測定用に開発された装置をぶどう膜微循環解析に用いるにあたり必要とした改造について述べる。改造された装置を用いて家兎虹彩および脈絡膜上の測定位置による測定値の変動、生体眼での再現性を検討したあと、実験的に虹彩、脈絡膜の循環動態を変化させた際にマイクロスフェア法で測定される組織血流量との相関を検討した。

### ①レーザースペckル法の測定原理および装置

散乱体にレーザーなどの波長や位相の揃った光(コヒーレント光)を照射すると、それぞれの反射光の干渉によりスペckルパターンと呼ばれるランダムな模様形成され、そのスペckルパターンは統計的記述が可能であるという特徴を有している<sup>53</sup>。生体組織にレーザーを照射して得られるスペckル現象の場合、移動する散乱体の主たるものは赤血球であるため血流速度に応じスペckルパターンの時間的なぶれ(blurring)が生じ<sup>60</sup>、血流が早いほど以下の式<sup>54</sup>で与えられるスペckルパターンのコントラストが低下する。

$$\sigma/\epsilon = \{[(\tau/2T)\{1-\exp(-2T/\tau)\}]\}^{1/2} \quad (1)$$

$\sigma$  時間平均したスペckル強度の時間変動の標準偏差

$\epsilon$  スペckル強度の時間変動の相関時間

T レーザーの照射時間

ここで、スペckルパターンのコントラスト $\sigma/\epsilon$ の逆数は blurring と相関し、スペckル強度の時間変動すなわち血流速度の定量的な指標として用いることができる<sup>55</sup>。

この原理に基づき、今回用いた装置ではスペckルパターンを高速エアセンサー上に結像させ、各画素の測定時間 0.125 秒間での信号強度の平均値をその平均偏差で除した値を normalized blur<sup>58, 59</sup>(以下、NB値)と定義し、血流速度の定量的指標として用いた。

装置は眼底カメラ(TRC-WT3, TOPCON)に半導体レーザー発信装置(波長 808 nm)と高速エアセンサー(100×100 画素, BASIS 型, CANON)を付加し、エアセンサーより得られる信号を処理するための演算ボードを追加したコンピュータに接続したものである(図 1)。これまで眼底組織の測定に用いられた装置<sup>58, 59</sup>に対し、虹彩での測定を可能にするためにレーザー発信装置の最高出力を約 2 mW から約 3 mW に変更し、また前眼部に焦点を合わせられるように眼底カメラの観察系を改造した。NB値は各画素、各測定時間において算出され

るが、各測定時間において  $100 \times 100$  画素分を平均した値を  $NB_{av}$  とした。1回の測定時間は 0.125 秒であるが、その結果はコンピュータのメモリー上に最大約 5 分間分をストックすることができる。連続測定時間はソフトウェア上で可変であるが、直筋切断実験を除き今回の家兎の実験では 0.5 秒間に設定し、ストックされた 0.5 秒間の  $NB_{av}$  の平均値を、虹彩の測定では  $NB_{sw}$ 、脈絡膜の測定では  $NB_{cho}$  とした。また、 $100 \times 100$  画素それぞれの NB 値はカラーディスプレイ上にカラーコードとして二次元的に表示され、測定範囲への表在血管の混入や測定中の眼球運動などを知ることができる(図 2)。レーザー光は、眼底カメラ内のダイクロミックミラー、リングミラーなどを経て虹彩あるいは網膜上に照射されるが、測定面上でのレーザー強度は前者で約 3 mW、後者で約 2 mW であり、American National Standards Institute の定めた基準以下<sup>61</sup> であり、今後のヒトへの応用も十分安全であると考えられる。



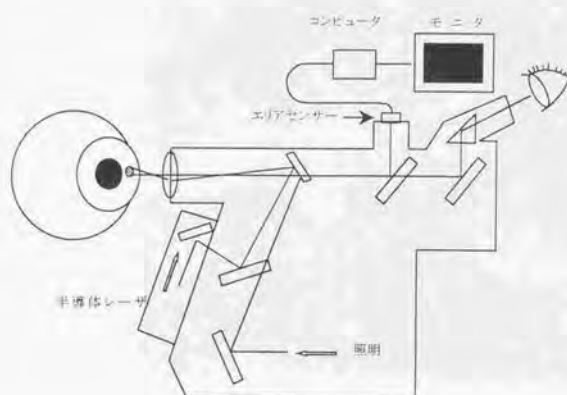


図1: レーザースペckル現象を用いた眼微小循環解析装置の装置概略図

レーザー発振装置より発振した波長 808 nm のダイオードレーザー(はいくつかのダイクロミックレンズ、リングレンズなどを経由し虹彩面上または眼底上に達し、そこに存在する散乱粒子(主に赤血球)での多重散乱によりスペックルパターンを生ずる。そのパターンはエリアセンサー上に投影され、それに接続されたマイクロコンピュータにより、赤血球の移動(血流)に基づく時間的な変動より血流速度の定量的指標であるNB値が算出される。

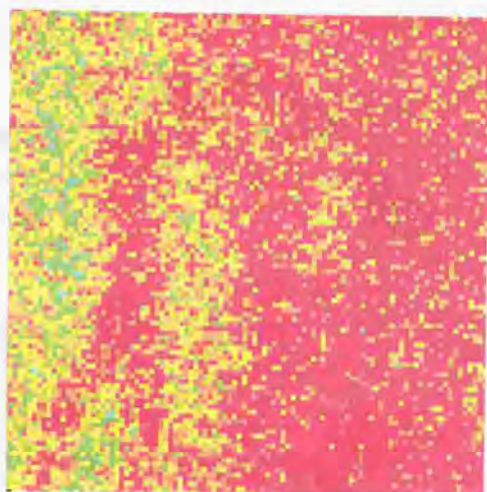


図 2:  $NB_{cho}$  のカラーマップの例

家兎眼底で測定された  $NB_{cho}$  の例。エリアセンサー上  $100 \times 100$  画素 (眼底では  $0.62 \times 0.62 \text{ mm}^2$  に相当) のそれぞれにおいて計算された  $NB_{av}$  が、血流速度が早い点ほど暖色系の色でコンピュータモニター上に二次元的に表される。

## ② $NB$ 値の測定位置による変動

虹彩および脈絡膜は、大小の血管が散在的に分布しその間に毛細血管網が存在するため、微小循環の分布は二次元的に非均一であると考えられる。レーザースペックル法では、前述のように比較的広範囲にわたる二次元的な測定が可能だが、測定位置によりその血管分布の差異に基づく何らかの影響を受けることも予想された。そこで、虹彩上、脈絡膜上の  $NB$  値 ( $NB_{su}$ 、 $NB_{cho}$ ) 測定における測定位置に基づく変動を求め、より安定した測定が可能な部位を検討した。

## 方法

以下、家兎を用いた実験はすべて the ARVO Resolution on the Use of Animal in Vision and Ophthalmic Research を遵守して行った。また原則的に実験に使用する少なくとも 3 週間前より、明暗 12 時間交代の環境下で飼育した。

まず Dutch 系有色家兎 9 匹 9 眼 (体重 1.5~2.3kg) を用い、 $NB_{0.0}$  の測定位置による変動につき検討した。押田式固定機 (夏目製作所製) に家兎を固定後、urethane (カルバミル酸エチル) 1 g/kg を耳介静脈から緩徐に注入し全身麻酔した。固定機に家兎を固定し、バラック式開瞼器にて開瞼後、装置の観察光量を最大にし完全明順応下にて  $NB_{0.0}$  を測定した。 $NB_{0.0}$  測定ごとに眼科手術用キャリパーを用いて瞳孔径を計測し、同一個体での複数回の測定で瞳孔径が有意に変化していないことを確認した。図 3 のように虹彩上の A から H の 8 方向それぞれで、虹彩の瞳孔縁の部位 (以下、瞳孔縁部)、角膜輪部に接する部位 (以下、周辺部)、および両者の中間の部位 (以下、中央部) の 3 ヶ所 (計 24 測定点) においてそれぞれ  $NB_{0.0}$  を連続して 4 回測定し、その平均値と 4 回の測定の変動係数を求めた。

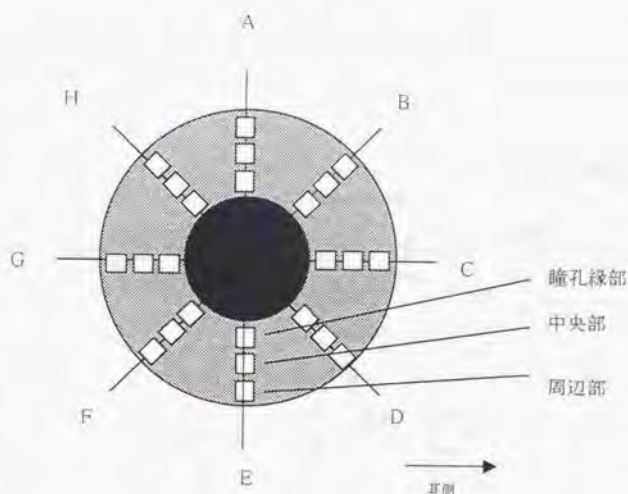


図 3: 虹彩上の測定位置

$1.07 \times 1.07 \text{ mm}^2$  の測定面積をもつ測定点として、家兎虹彩上の 8 方向 (A~H) のそれぞれに瞳孔縁部、中央部、周辺部の 3 ヶ所 (計 24 ヶ所) を設定した。以下の実験のほとんどは耳側中央部を測定点として行った。

次に白色家兎 8 匹 8 眼 (体重 1.5~2.5 kg) を用い、 $NB_{90}$  の測定位置による変動につき検討した。上記と同様な全身麻酔の後、0.5% tropicamide (ミドリン M 点眼液 8、参天製薬) 点眼による散瞳 20 分後に、固定機に家兎を固定したままバラック式開瞼器にて開瞼し  $NB_{90}$  を測定した。家兎網膜血管は視神経乳頭から水平にのびる有随神経繊維である随翼上のみに存在する。本実験では、図 4 のように随翼上を避けて 3 方向で視神経乳頭縁から 1 乳頭径下方の位置に 1 カ所 (A-1)、視神経乳頭から 1 乳頭径の距離で A-1 から 1 乳頭径離れた位置に各 1 カ所 (B-1、C-1) を、同様に視神経乳頭から 2 乳頭径離れた位置の 3 カ所 (A-2、B-2、C-2) を設定した。それぞれの測定位置で  $NB_{90}$  を連続 5 回測定し、その平均値と変動係数を求めた。

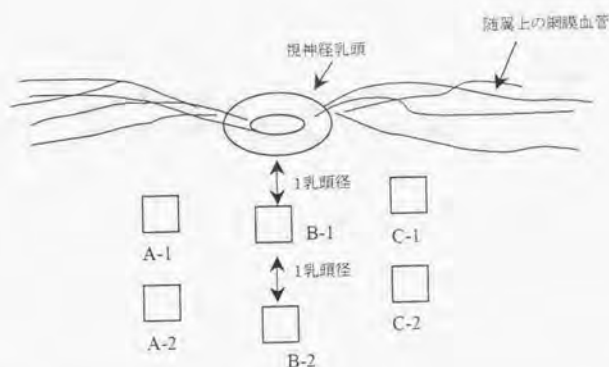


図 4: 脈絡膜上の測定位置

$0.62 \times 0.62 \text{ mm}^2$  の測定面積をもつ測定点として、家兎眼底の随翼上を避けて 3 方向で視神経乳頭縁から 1 乳頭径離れた位置に 3 カ所 (A-1、B-1、C-1)、2 乳頭径離れた位置に 3 カ所 (A-2、B-2、C-2) を設定した。以下の家兎を用いて実験では B-1 を測定点として用いた。

## 結果

虹彩上の各測定位置での  $NB_{800}$  の平均値を図 5 に示す。A から H の 8 方向で、 $NB_{800}$  の平均値に有意差はなかった ( $P=0.369$ , Multiple analysis of variance, 以下 MANOVA)。それに対し瞳孔縁部、中央部、周辺部の比較では有意に異なっていた ( $P=0.000001$ , MANOVA)。周辺部の  $NB_{800}$  は中央部より、中央部は瞳孔縁部よりそれぞれ有意に大きかった ( $P<0.000001$ , paired t-test)。4 回連続測定の変動係数は、瞳孔縁部、中央部、周辺部でそれぞれの平均が 18.0 %, 8.8 %, 11.0 % であり、中央部の変動係数が最小だった。なお実験中に瞳孔径の有意な変化はなかった。

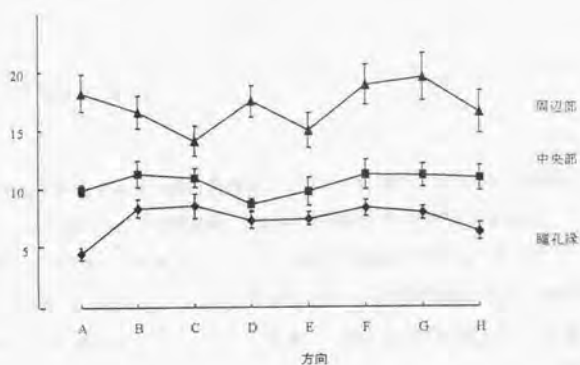


図 5: 虹彩上の測定位置による  $NB_{800}$  の変動

家兎虹彩上の 8 方向 (A~H) のそれぞれの瞳孔縁部、中央部、周辺部での  $NB_{800}$  の平均値 ± 標準誤差 ( $n=9$ )。

脈絡膜上の各測定位置での  $NB_{dm}$  の平均値と4回連続測定での変動係数を表1に示す。A、B、Cの3方向で  $NB_{dm}$  の平均値に有意差はなかった ( $P=0.3800$ , MANOVA)。それに対し視神経乳頭縁からの2乳頭径の地点の  $NB_{dm}$  は1乳頭径地点に比べ有意に大きかった ( $P=0.0381$ , MANOVA)。また  $NB_{dm}$  の変動係数はA、B、Cの3方向間、乳頭からの距離の間で有意な差はなかった(それぞれ  $P=0.5180$ ,  $0.1931$ , MANOVA)。

表1: 家兎脈絡膜上の測定位置の  $NB_{dm}$  への影響

		A	B	C
連続5回測定の平均値	1乳頭径地点	$15.3 \pm 0.9$	$19.2 \pm 1.4$	$15.1 \pm 1.7$
	2乳頭径地点	$21.9 \pm 1.9$	$22.3 \pm 1.4$	$24.4 \pm 1.7$
連続5回測定の変動係数(%)	1乳頭径地点	$2.8 \pm 0.3$	$2.5 \pm 0.5$	$3.5 \pm 1.4$
	2乳頭径地点	$4.3 \pm 1.4$	$2.5 \pm 0.5$	$2.1 \pm 0.3$

平均値±標準誤差 (n=8)。

#### 考按

有色家兎の虹彩はほぼ一様に黒色または褐色の色素が分布するため組織内を走行する血管をほとんど視認できず、角膜を通した直視下の観察ではその血管分布を知ることが難しい。解剖学的には毛様体が未発達である一方、虹彩の裏面に比較的血流に富んだ組織である虹彩突起が付着した構造となっている。虹彩周辺部には大動脈輪がそこから瞳孔縁に向かう細動脈枝を伴って存在する<sup>62</sup>。したがって外見上一様に見える虹彩上でも、血流分布は位置によりかなり異なることが考えられた。本実験では、8方向の子午線上に各3カ所の測定点を設定し、それぞれでの  $NB_{dm}$  の平均値および変動係数を比較した。平均値の比較では、各子午線方向を比べると有意な差はみられなかった。これは、大動脈輪から瞳孔縁に向かう細動脈レベルの比較的細い血管が放射状に多数存在するため、測定範囲に含まれる血管の数と性状が各方向でほぼ一様であったためと考えられる。これに対し、瞳孔縁に近い部位と周辺部を比較した結果では、周辺部ほど  $NB_{dm}$  は有意に大きかった。有色家兎虹彩の赤外光に関する浸透度に関してこれまでに報告はないが、光学的特性が虹彩および虹彩突起に比較的近いと考えられる有色家兎脈絡膜(網膜色素上皮含む)では、赤外光の吸光度は約50~60%であり<sup>63</sup>、これより類推すれば本装置のレーザー光(波長808nm)は、有色家兎の虹彩裏面の虹彩突起まで、少なくともその一部は到達していると推測され、 $NB_{dm}$  は虹彩突起の微小循環をも



反映すると考えられる。周辺部には虹彩に比較して血流に富んだ虹彩突起がより厚く分布し、また大動脈輪などの比較的太い血管が存在するため、周辺部ほど  $NB_{90}$  が大きかったと考えられる。変動係数は虹彩全幅の中央部が、周辺部と瞳孔縁部と比べ最小であった。周辺部では、測定範囲の僅かなズレにより、大動脈輪などの太い血管が測定範囲に含まれるか否かが左右される結果、変動係数が大きくなった可能性がある。また瞳孔縁部では虹彩裏面の虹彩突起がないかまたは不規則に存在するため、 $NB_{90}$  のばらつきが大きかったことが考えられる。以上より、家兎虹彩の測定には、 $NB_{90}$  のばらつきの少ない虹彩全幅中央部が最適と考えられた。また、全麻下の家兎を開眼器を用いて開眼させた場合、多数の家兎で、耳側方向の虹彩が最も容易に観察が可能であったので、以下の家兎を用いた虹彩に関する実験では、原則的に耳側方向の虹彩全幅中央部を測定範囲とすることにした。今回の虹彩の実験では、装置の最大光量を用いて瞳孔を縮瞳させた上、 $NB_{90}$  測定ごとに瞳孔径を測定し、実験中に有意な瞳孔径の変動がないことを確認した。散瞳状態により  $NB_{90}$  測定の測定範囲に含まれる血管、毛様突起の分布の状態が左右されるので、一連の実験中に瞳孔径の変動があった場合には本実験で得られた再現性を期待できなと考えられる。そこで以下のすべての虹彩の実験では  $NB_{90}$  の測定のために瞳孔径を測定し、実験条件により瞳孔径に有意な変化がないことを確認することにした。

脈絡膜の実験では、視神経乳頭から下方に2乳頭径離れた地点の  $NB_{90}$  が1乳頭径離れた地点の測定値より有意に大きかった。家兎脈絡膜は短後毛様体動脈と長後毛様体動脈の2系統で栄養されるが、視神経近傍を主に栄養する短後毛様体動脈は通常視神経付着部の約3~4 mm 離れた地点で強膜を貫通したあと多数の細かい動脈枝に分かれ脈絡膜に分布する。そのため今回の実験では眼底で約2~3 mm に相当する2乳頭径地点のほうが脈絡膜の血管分布が密であったため  $NB_{90}$  が1乳頭径地点に比べて大きかったと考えられる。また家兎脈絡膜ではほぼ全域において多数の大小の血管が不規則に分布しているため、今回の実験での変動係数の位置による差違がみられなかったと思われる。しかし、本測定機に用いた眼底カメラと家兎固定機の特性上、多くの家兎において視神経乳頭直下1乳頭径の位置で最も測定が容易だったので、その位置を原則的に脈絡膜での測定位置とした。

### ③NB値の生体眼における再現性

$NB_{90}$ 、 $NB_{90}$ ともに生体眼で測定される以上、機械的誤差の他に対象個体の生理環境の時間的な変化も経時的測定結果に影響を及ぼすと考えられる。そこで同一個体、同一測定箇所における、短時間(5分間)と長時間(24時間)の間隔を置いた場合の測定値の変動につき検

討した。

## 方法

有色家兎 8 匹 8 眼を上記と同様に麻酔後、固定機に固定したまま 5 分間隔を置いて 2 回、虹彩上の同一部位(耳側方向の虹彩全幅中央部)にて  $NB_{80}$  を測定した。測定位置の記録のために前眼部の写真撮影を行った後、一度麻酔から覚醒させ、24 時間後に虹彩上の同一位置を測定した。1 回目の測定値( $V_1$ )と 5 分後の測定値( $V_2$ )から 5 分後の再現性指数を、 $V_1$  と 24 時間後の測定値( $V_3$ )から 24 時間後の再現性指数を以下の式(3)、式(4)によりそれぞれ求めた。

$$5 \text{ 分後の再現性指数} = (|V_1 - V_2|) / \{(V_1 + V_2) / 2\} \times 100 (\%) \quad (3)$$

$$24 \text{ 時間後の再現性指数} = (|V_1 - V_3|) / \{(V_1 + V_3) / 2\} \times 100 (\%) \quad (4)$$

次に、白色家兎 8 匹 8 眼を用い、生体眼における 5 分間隔および 24 時間間隔での  $NB_{80}$  のばらつきについて検討した。上記と同様に麻酔後、tropicamide 点眼にて散瞳し、脈絡膜上の同一部位(視神経乳頭の約 1 乳頭下方の位置)にて  $V_1$ 、 $V_2$ 、 $V_3$  ( $NB_{80}$ ) を上記と同様に測定し、再現性指数を求めた。

## 結果

$NB_{80}$  の再現性指数は 8 眼の平均で 5 分間隔で  $8.8 \pm 2.0\%$ 、24 時間間隔で  $14.1 \pm 3.0\%$  であった(平均値  $\pm$  標準誤差)。 $V_1$ 、 $V_2$ 、 $V_3$  間には有意差はなかった( $P=0.5293$ , ANOVA)。

また 8 眼における  $NB_{80}$  の再現性指数は 5 分間隔で  $9.2 \pm 1.8\%$ 、24 時間間隔で  $11.3 \pm 2.6\%$  であった。 $V_1$ 、 $V_2$ 、 $V_3$  間には有意差はなかった( $P=0.6442$ , ANOVA)。

## 考按

生体眼での虹彩および脈絡膜の NB 値測定における再現性指数を規定する要因として①生体眼の微小循環の経時的変動、②測定位置の変動、③測定機の機械的誤差などが考えられる。5 分間隔、24 時間間隔の再現性指数は虹彩で 8.8%、14.1%、脈絡膜で 9.2%、11.3% と良好な値を示した。虹彩、脈絡膜とも 5 分間隔のほうが再現性指数は小さかった。5 分間隔では連続した全身麻酔下で 2 回の測定が行われるため、その間の全身状態の変動は小さく測定位置もほぼ完全に同一にすることが可能である。これに対し、24 時間間隔の測定では 1

回目の測定後に家兎は覚醒され、翌日の同時刻に同様な条件で全身麻酔を導入したうえ最初のNB値測定の際に撮影された測定部位の写真に基づき測定位置を設定したと見えて、5分間隔の場合に比べれば全身状態、測定位置の両面で、より変動が大きかったことが考えられる。しかし、上述の各再現性指数は実用上十分に小さく、虹彩および脈絡膜の微小循環に関して、本法により信頼性の高い解析が可能であると言える。本測定機の測定範囲は虹彩で $1.07 \times 1.07 \text{ mm}^2$ 、脈絡膜で $0.62 \times 0.62 \text{ mm}^2$ と他の眼循環測定装置に比べ広範囲であるため測定位置の微細な変動に影響を受けにくいことに加え、正常家兎の心拍数は約300 / 分(0.2秒 / 1心拍)であり拍動性変動が連続0.5秒間の測定時間中に平均化されることも良好な再現性に寄与したと考えられる。

有意水準0.05、検出力0.20で二群の平均値の差の両側検定を行うとき、必要な標本の大きさ $n$ は、以下の式で求めることができる。

$$n \approx \frac{2\sigma^2}{\Delta^2} (Z_{0.05/2} + Z_{0.20})^2 \quad (5)$$

ここで、 $\sigma^2$ は観測値の分散、 $\Delta$ は二群の平均値の差、 $Z_{0.05/2}$ 、 $Z_{0.20}$ は標準正規分布のパーセント点(それぞれ1.960, 0.842)である。再現性指数が10%の測定では、観測値の分散は平均値の約10%となることが予測される。たとえば平均値が10と12の二群があり、それぞれの分散が1の場合に、それぞれの平均値が異なるという結論を得るのに必要な $n$ は式(5)より4である。逆に $n$ が7の場合には、平均値が約15%異なる二群間で、統計的有意性の検定が可能である。

#### ④マイクロスフェア法により測定された組織血流量とNB値との比較

前述のようにレーザースペックル法により測定されるNB値は本来、血流速度を表す定量的指標であり、組織血流量を直接表すものではない。そこで本項では、マイクロスフェア法により測定される組織血流量とNB値を同一個体において同時に測定し、両者の結果を比較した。まず眼圧を機械的に上昇させることにより生ずる虹彩および脈絡膜微小循環の変化を両法で比較検討し、つぎにプロスタグランジン製剤であり前部ぶどう膜微小循環への影響が予想されたunoprostone点眼による虹彩微小循環の変化を両法で測定し比較した。

#### 眼圧変化による虹彩、脈絡膜微小循環への影響

## 方法

虹彩の実験では有色家兎 20 匹、脈絡膜の実験では白色家兎 8 匹を上記と同様に麻酔後、血液凝固を防ぐためにヘパリン 500 I.U./kg を耳介静脈より静注した。以後 pentobarbital (ノンブタル®) を適宜少量、耳介静脈より追加し麻酔深度をほぼ一定に保った。一侧の大腿動脈と内頸動脈よりカニューレを挿入した。大腿動脈のカニューレは、圧カトランスデューサ (DTX®, Spectromed) とひずみ圧力アンブ (AP-601G®, 日本光電) に接続し卓上型ペンレコーダ (R-OX®, 理化電機工業) で血圧および脈拍を記録するとともに、実験中の動脈血採取に用いた。内頸動脈のカニューレは左心室まで挿入し後述のマイクロスフェアの注入に用いた。カニューレの挿入側と反対側の眼 (被実験眼) に 0.1% diclofenac sodium (ジクロード点眼液®, わかもと製薬) を 5 分おき 3 回点眼した後、2 本の 25G 針を角膜輪部から虹彩に接触せぬよう前房中に挿入し、一方を圧カトランスデューサ、ひずみ圧力アンブに接続し卓上ペンレコーダにて眼圧を記録した。他方を眼内灌流液 (オベガード MA®, 千寿製薬) 入りのリザーバーに接続し、リザーバーの高さを変えることにより眼圧を調節した (図 6)。脈絡膜の実験では、眼圧調整用の 25 G 針を挿入する前に tropicamide を点眼し散瞳させたが、虹彩の実験では散瞳薬などは投与しなかった。

それぞれの家兎で、虹彩の実験では 20→30 mm Hg (n=4)、20→40 mm Hg (n=4)、20→50 mm Hg (n=2)、30→40 mm Hg (n=4)、30→50 mm Hg (n=4)、40→50 mm Hg (n=2)、脈絡膜の実験では、10→30 mm Hg (n=5)、10→80 mm Hg (n=3) とそれぞれ眼圧を 2 段階に調整し、それぞれの眼圧調整後に以下の方法で NB 値と組織血流量の測定を行った。最初の眼圧に調節した 5 分後に被実験眼の、有色家兎では耳側虹彩全幅中央部で  $NB_{90}$  を、白色家兎では視神経乳頭の 1 乳頭下方で  $NB_{90}$  を測定した。NB 値測定直後にマイクロスフェア (赤色) 溶液 (スフェア直径  $15 \pm 0.3 \mu m$ 、スフェア数  $10^7$  /ml、E-Z TRAC®) 0.1 ml を内頸動脈のカニューレから左心室内に注入し、マイクロスフェア注入時から 60 秒間、大腿動脈カニューレから基準血液を採取した。その後、次の眼圧まで上昇させ同様に NB 値測定およびマイクロスフェア (青色) 0.1 ml 注入を行った。なお、各眼圧における測定終了時に大腿動脈カニューレから動脈血を採取し、全自動 pH/血液ガス分析装置 (Model 170®, Corning) を用いて pH、 $P_{aO_2}$ 、 $P_{aCO_2}$  を測定した。直腸温をサーミスタ温度計 (MG4III-219Y®, 芝浦電機製作所) で測定した。致死量のペンタバルビタールナトリウム静注による屠殺後、被実験眼を摘出した。虹彩の実験に用いた有色家兎では、角膜輪部から約 2 mm 離れた位置で角膜輪部に平行に強膜を切開し前眼部と後眼部を分割後、毛様体を含んだまま虹彩を剥離し、手術用顕微鏡下で虹彩から毛様体を環状に切離した。虹彩突起は虹彩裏面に強固に付着し明瞭に剥離することが困難な

ため、特に剥離せず虹彩側に残した。脈絡膜の実験に用いた白色家兎では、脈絡膜を鈍的に強膜より剥離した。Haleら<sup>64</sup>と同様の方法を用いて、虹彩および脈絡膜と基準血液中のマイクロスフェアの数をカウントした。なお、各眼圧時のマイクロスフェアはその色により識別し、各眼圧における組織血流量を算出した。



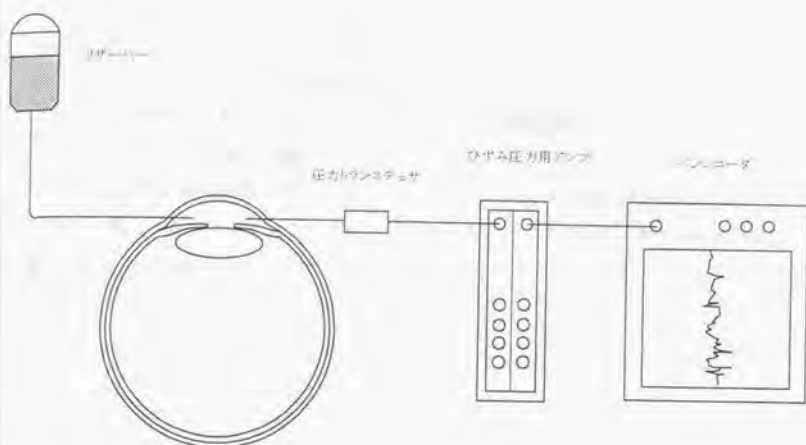


図6:家兎眼圧の調整

2本の25G針を前房中に挿入し、一方を圧力トランスデューサ、ひずみ圧力増幅器に接続し桌上ペンレコーダにて眼圧を記録した。他方を眼内灌流液入りのリザーバーに接続し、リザーバーの高さを変えることにより眼圧を調節した。

## 結果

有色家兎20匹、白色家兎11匹のマイクロスフェア注入時の大腿動脈平均血圧、脈拍および大腿動脈血pH、 $P_{O_2}$ 、 $P_{CO_2}$ 、直腸温のそれぞれの平均値を表2、表3に示す。ここで平均大腿動脈圧(FABPm)は、拡張期、収縮期の大腿動脈圧をそれぞれFABPd、FABPsとし、以下の式より求めた。

$$FABPm = FABPd + 1/3 (FABPs - FABPd) \quad (6)$$

これらの全身状態のパラメータが健康家兎の正常域65、66内にあり、実験中に有意な変化がみられなかった家兎を結果の解析に用いた。

$NB_{su}$ とマイクロスフェア法による虹彩組織血流量の関係を図7に示す。各プロットはそれぞれ眼圧が20、30、40、50 mm Hgの時の $NB_{su}$ およびマイクロスフェア法による測定値の平均値を標準誤差とともに示す。 $NB_{su}$ と組織血流量は有意に相関し、相関係数は0.61 ( $P=0.00021$ ).



$n=40$ )であった。眼圧の上昇に伴い  $NB_{eq}$ 、虹彩組織血流量ともに減少した。眼圧が 20 mm Hg の時の値を 100 % とすると、30 mm Hg では  $NB_{eq}$  は 85.3 %、虹彩組織血流量は 91.4%、40 mm Hg ではそれぞれ 65.7 %、64.0%、50 mm Hg ではそれぞれ 50.0 %、44.8 % となり、各眼圧での  $NB_{eq}$ 、組織血流量それぞれの平均値を比較すると相関係数は 0.995 ( $P=0.0531$ ,  $n=4$ ) であった。なお虹彩の実験中に瞳孔径に有意な変化はなかった。

$NB_{cho}$  と脈絡膜組織血流量の関係を図 8 に同様に示す。 $NB_{cho}$  と組織血流量は有意に相関し、相関係数は 0.5524 ( $P=0.0265$ ,  $n=16$ ) であった。各眼圧での平均値を比較すると、相関係数は 0.9608 ( $P=0.0392$ ,  $n=3$ ) であった。

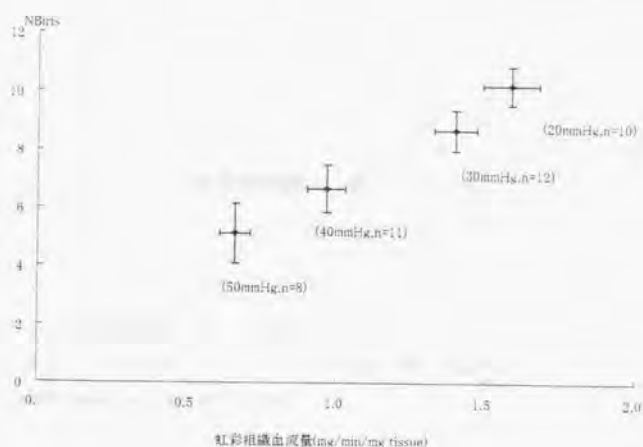


図 7:  $NB_{eq}$  と虹彩組織血流量との関係

各プロットはそれぞれ眼圧が 20、30、40、50 mm Hg の時の  $NB_{eq}$  およびマイクロスフェア法による虹彩組織血流量の平均値 ± 標準誤差。

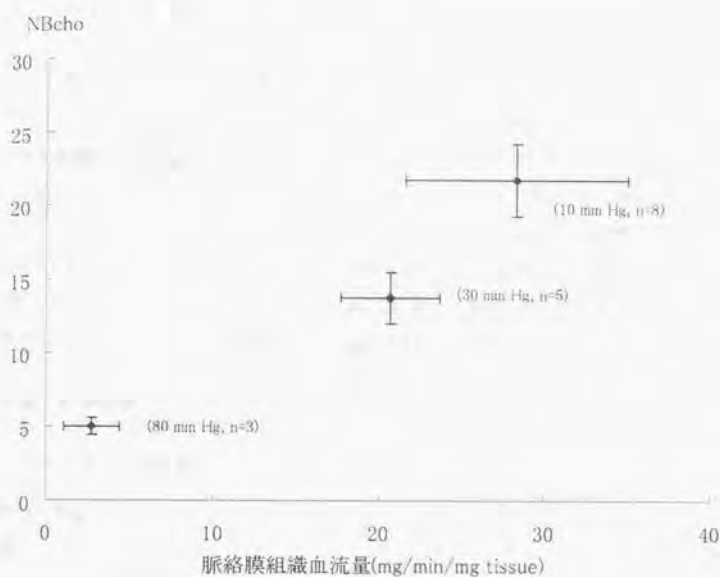


図 8: NB<sub>cho</sub> と脈絡膜組織血流量との関係

各プロットはそれぞれ眼圧が 10、30、80 mm Hg の時の NB<sub>cho</sub> およびマイクロスフェア法による脈絡膜組織血流量の平均値 ± 標準誤差。

表 2: 有色家兎の全身状態のパラメータの変化

眼圧(mm Hg)	20	30	40	50
眼数	10	12	10	8
平均大腿動脈圧(mm Hg)	85.1 $\pm$ 4.5	99.6 $\pm$ 5.2	87.7 $\pm$ 5.7	79.8 $\pm$ 3.3
脈拍 (拍/分)	290 $\pm$ 3	305 $\pm$ 3	300 $\pm$ 4	295 $\pm$ 5
pH	7.35 $\pm$ 0.01	7.30 $\pm$ 0.01	7.40 $\pm$ 0.01	7.30 $\pm$ 0.01
P <sub>CO<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	29.7 $\pm$ 0.4	33.9 $\pm$ 0.4	30.8 $\pm$ 0.4	28.7 $\pm$ 0.7
P <sub>O<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	84.4 $\pm$ 2.1	86.2 $\pm$ 1.0	87.6 $\pm$ 1.7	90.2 $\pm$ 3.0
直腸温(°C)	36.7 $\pm$ 0.1	36.9 $\pm$ 0.1	36.6 $\pm$ 0.1	36.5 $\pm$ 0.2

平均値 $\pm$ 標準誤差。

表 3: 白色家兎の全身状態のパラメータの変化

眼圧(mm Hg)	10	30	80
眼数	8	5	3
平均大腿動脈圧(mm Hg)	90.8 $\pm$ 3.0	93.9 $\pm$ 4.8	90.4 $\pm$ 6.5
脈拍 (拍/分)	294 $\pm$ 6	294 $\pm$ 10	298 $\pm$ 12
pH	7.36 $\pm$ 0.02	7.36 $\pm$ 0.02	7.40 $\pm$ 0.03
P <sub>CO<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	30.2 $\pm$ 1.0	31.7 $\pm$ 1.2	30.2 $\pm$ 2.8
P <sub>O<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	78.3 $\pm$ 3.5	81.5 $\pm$ 4.0	81.1 $\pm$ 6.2
直腸温(°C)	37.7 $\pm$ 0.6	37.7 $\pm$ 0.5	37.5 $\pm$ 0.6

平均値 $\pm$ 標準誤差。

## 方法

有色家兎 8 匹を全身麻酔の後、上記と同様にヘパリン静注、内頸動脈、大腿動脈へのカニューレ挿入を行った。眼圧調整用の前房内への 25G 針挿入は行われなかった。カニューレ挿入の反対側の眼(被実験眼)の  $NB_{in}$ 、眼圧、瞳孔径を測定した直後、赤色マイクロスフェア 溶液 0.1 ml を左心室に注入し、大腿動脈より 1 分間、基準血液を採取した。その後、0.12 % isopropyl unoprostone (レスキュラ点眼液®, 藤沢薬品) 20  $\mu$ l を被実験眼に点眼した。点眼 2 時間後に被実験眼の  $NB_{in}$ 、眼圧、瞳孔径を測定した後、青色マイクロスフェア溶液 0.1 ml を左心室に注入し基準血液を採取した。点眼前後のマイクロスフェア注入時に上記と同様な全身状態のパラメータを測定した。コントロール群として、別の 8 匹に対し被実験眼に生理食塩水 20  $\mu$ l を点眼し同一条件で実験を行った。両群の家兎を屠殺後、被実験眼を摘出し上記と同様に虹彩組織血流量を算出した。

## 結果

全身状態のパラメータが健常家兎の正常域<sup>65, 66</sup> 内の値にあり、実験中に有意な変化がみられなかった家兎を結果の解析に用いた。

Unoprostone 群、コントロール群ともに点眼前後で瞳孔径に有意な差はなかった。両群の点眼前後の全身状態パラメータを表 4 に、 $NB_{in}$  と虹彩組織血流量の結果を表 5 に示す。コントロール群では  $NB_{in}$ 、組織血流量ともに点眼前後で有意な変化はなかったのに対し、unoprostone 群では両者ともに有意に増加し、それぞれの増加率は  $146.7 \pm 11.7\%$ 、 $145.2 \pm 10.2\%$  とほぼ同様な値を示した。増加率の相関係数は 0.93 ( $P=0.0068$ ,  $n=8$ ) であった。

表 4: Unoprostone 群およびコントロール群の点眼前後の全身状態のパラメータ

	unoprostone 群		コントロール群	
	点眼前	点眼 2 時間後	点眼前	点眼 2 時間後
平均大動脈圧(mm Hg)	90.5±2.1	86.6±5.0	81.1±4.3	80.6±3.9
脈拍 (拍/分)	326±9	335±11	361±14	333±13
pH	7.40±0.03	7.42±0.02	7.39±0.01	7.40±0.02
P <sub>CO<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	29.1±2.3	26.6±2.4	27.5±4.0	26.5±1.7
P <sub>O<sub>2</sub></sub> (mm Hg)	79.9±1.9	84.5±2.9	82.5±2.0	83.0±7.4
直腸温(°C)	38.5±0.2	38.3±0.2	36.1±0.1	37.7±0.1

平均値±標準誤差 (n=8)。

表 5: Unoprostone 群およびコントロール群の点眼前後の虹彩組織血流量と NB<sub>ss</sub> の変化

	組織血流量 (mg/min)		NB <sub>ss</sub>	
	点眼前	点眼 2 時間後	点眼前	点眼 2 時間後
Unoprostone 群	149.9±15.2	212.5±19.0	9.8±0.6	14.3±1.0
コントロール群	143.8±7.9	148.7±12.4	8.5±0.1	9.4±0.8

平均値±標準誤差(n=8)。

#### 考 按

今回、組織血流量の測定に用いた colored microsphere 法は、従来の radioactive microsphere 法の代替的方法として近年用いられている方法で、放射性物質を使用しないので専門的施設を必要としない点や、マイクロスフェアの色を変えることにより 1 個体で最大 3 回から 4 回の血流量測定が可能など利点を有している。これまでに大の心筋を用いた実験で radioactive microsphere 法の結果とよく一致することが報告されている<sup>64</sup>。今回の結果でも眼圧 20 mm Hg での値や unoprostone 点眼前の値は、過去に報告された radioactive microsphere 法での結果<sup>15, 21</sup> とほぼ一致していた。Microsphere 法により得られる組織血流

量の単位として、これまでの報告<sup>15, 21</sup>では  $\text{mg/min}$  (または  $\text{ml/min}$ ) や  $\text{mg/min/mg tissue}$  (または  $\text{ml/min/mg tissue}$ ) が用いられることが多い。たとえば、unoprostone 点眼実験での虹彩の組織重量は平均 120 mg であったので、unoprostone 点眼群の点眼前の虹彩組織血流量  $150 \text{ mg/min}$  は、 $1.25 \text{ mg/min/mg tissue}$  と換算することができる。

前房内に接続した灌流液入りリザーバーにより眼圧を変化させる実験では、 $\text{NB}_{\text{in}}$ 、 $\text{NB}_{\text{out}}$  とともにマイクロスフェア法による組織血流量とよく相関した (相関係数はそれぞれ 0.61, 0.56)。各眼圧での組織血流量と NB 値の平均値を比較すると相関係数はそれぞれ 0.99, 0.96 となった。unoprostone 1 回点眼による実験では、 $\text{NB}_{\text{in}}$  と虹彩組織血流量はともに有意に増加し、増加率の比較では両者の相関係数は 0.93 であった。プロスタグランジン  $\text{F2}\alpha$  関連物質であり、抗緑内障薬として用いられている unoprostone 点眼薬<sup>67</sup> は家兎眼の血液房水嚢に損傷を与え前房内炎症を惹起することが報告されているが<sup>68</sup>、そのため今回の結果にみられるように、虹彩の微小循環の亢進をもたらすことが考えられる。

これらの結果より、本来血流速度の定量的指標である NB 値が、非生理的な眼圧上昇に基づく血流変動だけでなく点眼薬の薬理学的作用による微小循環動態の変動の解析においても、組織血流量を反映する指標として用い得ることが示唆された。



#### ⑤外眼筋切断による虹彩循環への影響

家兎において直筋とともに走行し直筋付着部より眼内に入るヒトでの前毛様体動脈に相当する muscular artery は、虹彩の血液供給の一部を担っている<sup>65</sup>。ヒトでは、斜視手術<sup>3-5</sup>や網膜剥離手術<sup>6, 7</sup>による前毛様体動脈の障害が虹彩萎縮等に関与することが知られているが、これまでにフルオレセイン虹彩血管造影を用いて非定量的な検討<sup>4, 5, 7</sup>が行われているのみで、定量的な検討はヒトおよび実験動物においてもほとんど行われていない。レーザースペックル法は、定量的かつ非侵襲的測定法であることに加え、測定データをコンピュータのメモリーにリアルタイムに記録することにより 0.125 秒間の測定を連続して最大5分間続けることが可能である。本項では、同法を用いて家兎虹彩の外眼筋切断後の虹彩血流の変化を定量的に検討した。

#### 方法

家兎を urethane 麻酔後、0.1% diclofenac sodium を 5 分間隔で 3 回点眼した。12 時の位置の結膜を角膜輪部の位置より切除し上直筋付着部を露出させた。まず NB<sub>eq</sub> 連続測定を 12 時の位置の虹彩全幅中央部にて開始し、その 5 秒後に眼科手術用剪刀を用いて上直筋を付着部より切断した。引き続き NB<sub>eq</sub> を 5 分間連続測定した。NB<sub>eq</sub> 測定開始時と終了時に瞳孔径をキャリパーで計測した。別の家兎を用い、同様な実験を下直筋、内直筋、外直筋について行った。ただし、NB<sub>eq</sub> 測定位置は各直筋の付着部の方向の虹彩全幅中央部で行った。

#### 結果

各直筋切断後の NB<sub>eq</sub> の変動を図 9 に示す。NB<sub>eq</sub> 測定は約 5 分間連続して行ったが、直筋切断の 5 秒後、30 秒後と 1, 2, 3, 4, 5 分後の各時点での NB<sub>eq</sub> をそれぞれ取り出し平均値を求めた。上直筋切断では測定時間による有意な変動がみられ ( $P=0.0344$ , ANOVA)、5 秒後、30 秒後、60 秒後の各時点で切断前の値に比べて有意な低下がみられたが (-35.3 %, -15.3 %, -10.7 %,  $P=0.0431$ , 0.0277, 0.0464,  $n=6$ , Wilcoxon rank sum test)、その後は有意差はなかった。下直筋切断でも測定時間による有意な変動がみられ ( $P=0.0114$ , ANOVA)、5 秒後、30 秒後、60 秒後、120 秒後の各時点で切断前の値に比べて有意な低下がみられた (-25.4 %, -28.9 %, -17.9 %, -20.8 %,  $P=0.0496$ , 0.0277, 0.0357, 0.0173,  $n=9$ , Wilcoxon rank sum test)。内直筋、外直筋切断では切断前の NB<sub>eq</sub> に比べ有意な変化はみられなかった (各  $P=0.899$ , 0.8953, ANOVA 各  $n=4, 5$ )。

#### 考按

家兎前部ぶどう膜への血液供給は、毛様体動脈に由来する長後毛様体動脈と上直筋および下直筋とともに走行し直筋付着部より眼内に入る muscular artery の 2 系統に基づく<sup>65)</sup>。Muscular artery は毛様体内で長後毛様体動脈の分枝と交通し、虹彩の周辺部に虹彩突起内に位置する虹彩動脈輪の血液供給の一部を担う。また、家兎の内直筋、外直筋では、上直筋、下直筋と異なり muscular artery は走行しない。今回、上直筋、下直筋の切断直後に一時的な NB<sub>iso</sub> の低下後、切断前のレベルまでの回復が認められたが、これより muscular artery の切断により虹彩循環が低下したあと、長後毛様体動脈の分枝からの代償的な血流の再分配が起こったことが示唆される。また、内直筋、外直筋には muscular artery が存在しないため、それらを切断しても NB<sub>iso</sub> に有意な影響を与えなかったと考えられる。ヒトでは家兎に比べ、すべての直筋に muscular artery に相当する前毛様体動脈が存在する点や長後毛様体動脈系が占める割合が比較的小さい点などの違いが存在するが、今後ヒトでもレーザースペックル法を用いた虹彩微小循環の検討が進めば、斜視手術、網膜剥離手術の決してまれでない合併症である術後性虹彩萎縮の予防に有用な情報が得られることも期待できる。

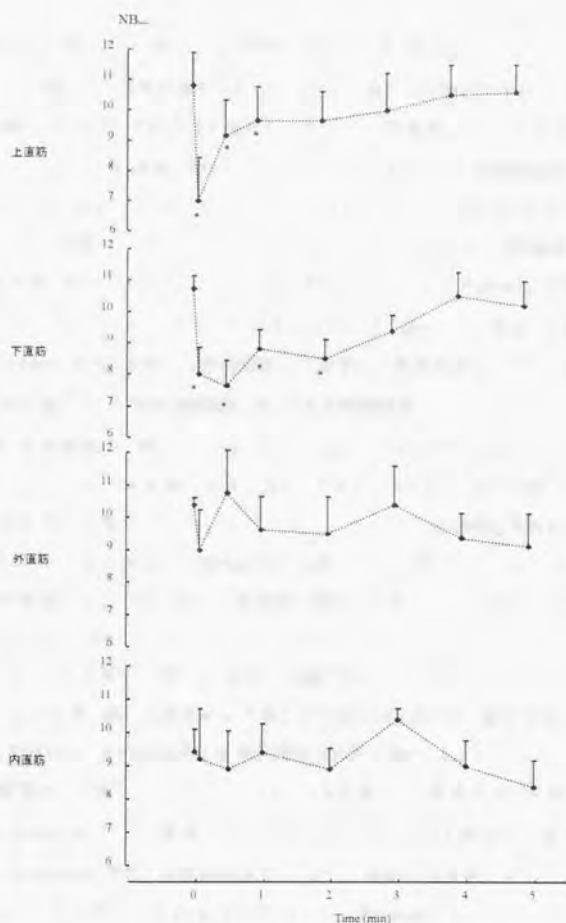


図 9: 外眼筋切断後の  $NB_{0.5}$  の経時の変化。

各プロットは  $NB_{0.5}$  の平均値±標準誤差を表す。眼数は上直筋、下直筋、外直筋、内直筋それぞれで、6、9、4、5眼。

\*: 切断前に比較し有意な変化 ( $P < 0.05$ , Wilcoxon rank sum test)。

### III 眼灌流圧の変化によるぶどう膜微小循環への影響

灌流圧の変動に対し循環動態を一定に保とうとする働きは自動調節能<sup>69, 70</sup>と呼ばれ、脳、腎臓、心臓などの血管でその存在が確かめられている。眼循環における自動調節能に関しては、これまでにいくつかの研究が行われている。猿<sup>13</sup>や猫<sup>12</sup>などの実験動物の眼圧を2段階に変更し、その前後にマイクロスフェア法で血流量を測定した結果によれば、ある一定範囲の灌流圧下で、網膜には明らかな自動調節能が認められたのに対し、脈絡膜では灌流圧の減少が血流量の減少とほぼ直接相関し、脈絡膜には明らかな自動調節能は存在しないと推測されていた<sup>12, 13</sup>。これに対し近年、家兎およびヒトで、眼圧または動脈圧を連続的に変更し laser Doppler 法などを用いて非侵襲的かつ連続的に循環動態を測定する実験により、網膜および視神経<sup>71</sup>だけでなく脈絡膜においても自動調節能の存在が示唆されている<sup>72-75</sup>。虹彩循環の自動調節能に関しては、猿<sup>13</sup>および猫<sup>12</sup>の眼圧を2段階に変化させた条件下でマイクロスフェア法による組織血流量を測定した報告があるが、それらの結果では猫の虹彩で眼圧の変動後の血流量の変化はわずかである一方、猿では脈絡膜と同傾向の血流量の変化がみられるなど、虹彩循環の自動調節能の有無は結論が得られていない。また、自動調節能の有無を議論する上で欠かせない多段階に灌流圧を変化させた検討は、虹彩に関してこれまでに行われていない。

本項ではまず非侵襲的に繰り返し測定が可能であるというレーザースペックル法の利点を生かして、同一家兎の眼圧を段階的に上昇させた場合の虹彩および脈絡膜微小循環の変動を測定し、家兎虹彩、脈絡膜循環の自動調節能の有無を検討した。

自動調節能を司る機序としては、外的な力による伸展に対し血管自体の収縮力が増加する myogenic mechanism<sup>76-78</sup>、循環血流量の変化により生ずる代謝産物の過不足に基づく metabolic mechanism<sup>79-81</sup>、中枢神経系や局所的な神経伝達物質が関与する neurogenic mechanism などが一般的に考えられている。それらの各 mechanism を区別する上で、血流回復に要する時間的要素の検討が重要であるが、網膜、脈絡膜を主とするこれまでの実験では、眼循環動態の評価は還流圧変化後、最長でも10分間程度までで、それ以上、長時間にわたる検討は全く行われていない。また、これまでの研究の多くは眼圧上昇時の血流動態を検討したものであり、眼圧低下に対する自動調節能を検討したものはない。そこで本項の後半では、眼圧の上昇および低下に基づく眼還流圧変動が家兎脈絡膜の末梢循環動態に及ぼす影響について、還流圧変化後2時間というこれまでに検討されたことのない長時間にわたる経時的な検討を行った。また同時に、これまで自動調節能の存在が確認されている視神経乳頭



間してもコントロールとして同様な実験を行った。

### ①眼灌流圧の段階的な変化が虹彩および脈絡膜微小循環に及ぼす影響

#### 方法

有色家兎 9 匹を urethane 麻酔後、大腿動脈より血圧、脈拍のモニターおよび動脈血採取用のカニューレを挿入した。1 眼に 0.1% diclofenac sodium を 5 分おき 3 回点眼した後、2 本の 25G 針を角膜輪部から虹彩に接触せぬよう前房中に挿入し、一方を圧力トランスデューサー、ひずみ圧力アンプに接続し卓上ペンレコーダにて眼圧を記録した(図 6)。他方を眼内灌流液入りのリザーバーに接続し、リザーバーの高さを変えることにより眼圧を調節した。眼圧は、同一家兎において 20 mm Hg から 30、40、50、60 mm Hg まで段階的に上昇させ、各眼圧に調整した 5 分後に  $NB_{50}$  を測定した。眼灌流圧は腹臥位の家兎の場合以下の式で計算される<sup>1)</sup>。

$$\text{眼灌流圧} = \text{FABPm} - \text{IOP} - 14 \quad (\text{mm Hg}) \quad (7)$$

ここで、FABPm は前述のように平均大腿動脈圧をあらわす。

また、同様な準備を行った有色家兎 8 匹を用いて、眼圧を 10 mm Hg から 30、50、70 mm Hg まで段階的に上昇させ、 $NB_{50}$  を測定した。

#### 結果

虹彩の実験中に瞳孔径に有意な変化はなかった。眼圧を 50 mm Hg 以上に上昇させた場合、角膜にわずかに混濁を生じた家兎もあったが、 $NB$  値の算出はレーザー強度でなくスペクトルパターンの変動に基づくことに加え、照明系および観察系は角膜でなく虹彩または眼底に焦点を調整されているので、角膜混濁による影響は少ないと考えられる。得られた眼灌流圧と  $NB_{50}$  の関係を図 10 に示す。眼圧 30、40、50、60 mm Hg での  $NB_{50}$  は、それぞれ 9.1 %、19.9 %、33.8 %、48.9 % 減少し、それぞれ眼圧 20 mm Hg での値より有意に小さく ( $P < 0.01$ ,  $n=9$ , paired t-test)、多重比較にもとづく補正を行ってもこれらの値は有意に小さかった。 $NB_{50}$  と眼灌流圧のそれぞれの平均値の相関を検討したところ、両者の間には有意な正の直線相関が見られた ( $R = 0.977$ ,  $P = 0.0042$ )。

眼灌流圧と  $NB_{50}$  の関係を図 11 に示す。眼圧 30、50、70 mm Hg での  $NB_{50}$  は眼圧 10 mm Hg での値に比べ 13.8 %、33.1 %、52.2 % と有意に減少し、( $P < 0.01$ ,  $n=8$ , paired t-test)、多重比較にもとづく補正を行ってもこれらの値は有意に小さかった。 $NB_{50}$  と眼灌流圧のそれぞれの平均値の間には有意な正の直線相関が見られた ( $R = 0.999$ ,  $P = 0.0005$ )。

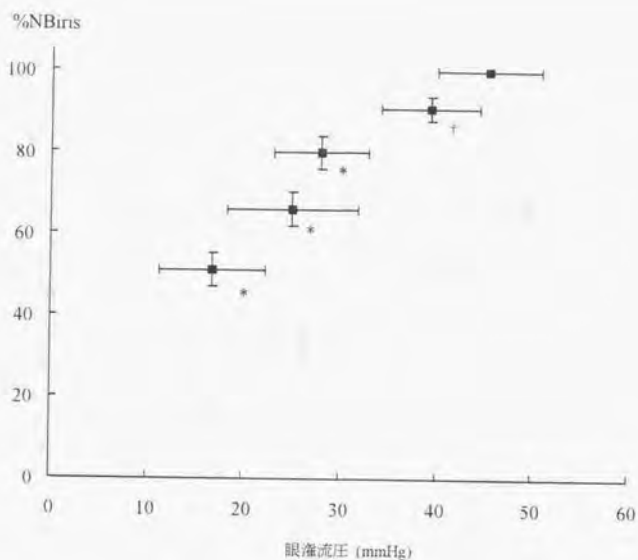


図 10  $NB_{vis}$  と眼圧流圧の関係

$NB_{vis}$  は眼圧 20 mm Hg の値を 100 % として表示 ( $\%NB_{20}$ )。各プロットはそれぞれ眼圧が 20、30、40、50、60 mm Hg の時の  $\%NB_{20}$  および眼圧流圧の平均値  $\pm$  標準誤差。



%NBcho

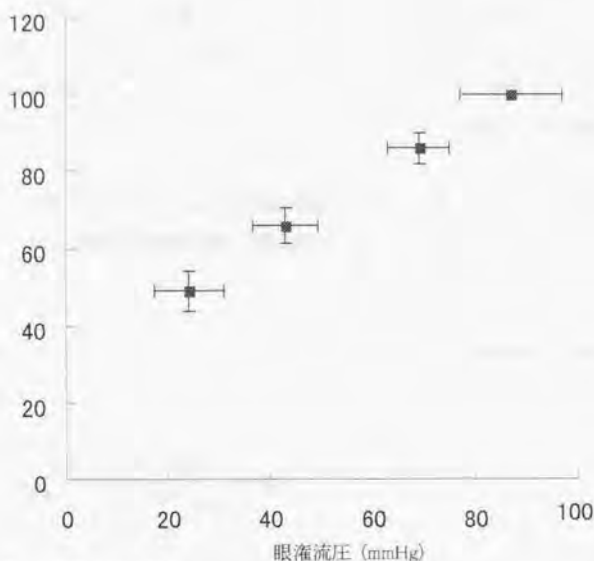


図 11 NBchoと眼灌流圧の関係

NBchoは眼圧 10 mm Hg での値を 100 % として表示 (%NBcho)。各プロットはそれぞれ眼圧が 10、30、50、70 mm Hg の時の %NBcho および眼灌流圧の平均値 ± 標準誤差。

## ② 脈絡膜および視神経乳頭微小循環の眼灌流圧変化後の経時的変化

### 方法

白色家兔を urethane 麻酔後、大腿動脈より血圧、脈拍のモニターおよび動脈血採取用のカニューレを挿入した。Tropicamide 点眼で散瞳後、1 眼に 0.1% diclofenac sodium を 5 分おき 3 回点眼した後、1 本の 25G 針を角膜輪部から虹彩に接触せぬよう前房中に挿入し、3 方活栓を経て、一方を圧力トランスデューサ、ひずみ圧力アンプに接続し卓上ペンレコーダにて眼圧を記録した。他方を眼内灌流液入りのリザーバーに接続し、リザーバーの高さを変えるこ

とにより眼圧を調節した(図 6)。まず眼圧を 25 mm Hg に調整し  $NB_{cho}$  を 1 分ごとに 10 分間測定した。その後、眼圧を 15 mm Hg ( $n=7$ )、40 mm Hg ( $n=5$ )、60 mm Hg ( $n=4$ )のいずれかに急速に変化させ、その 15 分後までは 1 分ごと、15 分後から 2 時間後までは 5 分ごとに  $NB_{cho}$  を測定した。コントロールとして眼圧を 25 mm Hg のまま 2 時間以上同様に測定を行った群 ( $n=6$ )も設定した。各家兎の大動脈圧、脈拍を実験中連続的にモニターし、直腸温および大動脈血ガス(pH,  $P_{O_2}$ ,  $P_{CO_2}$ )は  $NB_{cho}$  測定開始時と第二の眼圧に調整後 1 時間と 2 時間の時点で測定した。 $NB_{cho}$  の測定では視神経乳頭から約 1 乳頭径離れた位置を測定位置とした。

次に別の白色家兎を用い、同様な準備と実験プロトコルで測定位置を視神経乳頭上の表在血管見られない範囲で NB 値( $NB_{oth}$ )測定を行った。

## 結果

眼灌流圧の変化を示す指標として、以下の式で定義される normalized perfusion pressure ( $PP_{norm}$ )<sup>75</sup>を用いた。

$$PP_{norm} = \frac{(FABP_{sys} - 14) - IOP}{(FABP_{sys} - 14) - IOP_{baseline}} \times 100(\%) \quad (8)$$

ここで  $FABP_{sys}$  は収縮期大動脈圧(systolic femoral arterial blood pressure)、 $FABP_{sys} - 14$  は腹臥位の家兎での眼動脈圧、 $IOP_{baseline}$  は実験開始時眼圧(25 mm Hg)を表す。 $PP_{norm}$  は収縮期眼動脈圧から眼圧を引いた値の変化率を示すもので、実験開始時点では  $PP_{norm}$  は 100% であり、仮に収縮期眼動脈圧と眼圧が等しくなると 0% になる値である。

脈絡膜の実験における  $PP_{norm}$  および  $NB_{cho}$  の変化を図 12、図 13 に示す。 $PP_{norm}$  は設定された眼圧変化に応じてそれぞれ変化した後、血圧の変動に基づく若干の変動があったものの、2 時間にわたりほぼ一定に保たれた。 $NB_{cho}$  の経時変化は  $PP_{norm}$  の変化と同様に眼圧変化後に変化した後には 2 時間の間ほぼ一定の値を示した。次に  $PP_{norm}$  と  $NB_{cho}$  との相関を眼圧変化の 5 分後と 30 分後のそれぞれについて検討した(図 14)。 $PP_{norm}$ 、 $NB_{cho}$  をそれぞれ初期値からの変化率で表示した。5 分後、30 分後ともに  $PP_{norm}$  と  $NB_{cho}$  のそれぞれの変化率は有意な正の相関がみられた(5 分後: 相関係数=0.975,  $P=0.0251$ , 30 分後: 相関係数=0.986,  $P=0.0135$ )。

視神経乳頭の実験における  $PP_{norm}$  および  $NB_{oth}$  の変化を図 15、図 16 に示す。脈絡膜の実

験と同様に、眼圧変化によりそれぞれ変化した後、 $PP_{norm}$  は 2 時間にわたりほぼ一定に保たれていた。眼圧を 25 mm Hg に維持した群では  $NB_{orth}$  は 2 時間ほぼ一定に保たれたのに対し、眼圧を 10 mm Hg に低下させた群では  $NB_{orth}$  は 5 分後に一時的に  $113.0 \pm 8.6$  % (平均値  $\pm$  標準誤差) まで増加したものの、その後減少し約 15 分後にはほぼ初期値レベルに戻った。眼圧を 40 mm Hg に上昇させた群では  $NB_{orth}$  は眼圧上昇の直後に  $90.3 \pm 5.7$  % まで減少したものの、その直後の短時間である程度回復を示し、その後は緩やかに増加し約 15 分後にはほぼ初期値まで上昇した。眼圧を 60 mm Hg まで上げた群では  $NB_{orth}$  は  $77.2 \pm 2.7$  % まで低下し、短時間での回復はなかったが眼圧変化の 30 分後から緩やかな増加傾向があり、最終的に初期値にくらべ  $86.3 \pm 4.1$  % まで回復した。 $PP_{norm}$  と  $NB_{orth}$  との相関を眼圧変化の 5 分後と 30 分後のそれぞれについて検討したところ、5 分後では各プロットはグラフの原点を明らかに通らない直線上にはほぼ位置した。30 分後では眼圧 60 mm Hg のプロットを除き  $NB_{orth}$  はほぼ水平に並び、眼圧変化前とほぼ等しい値を取っていた (図 17)。

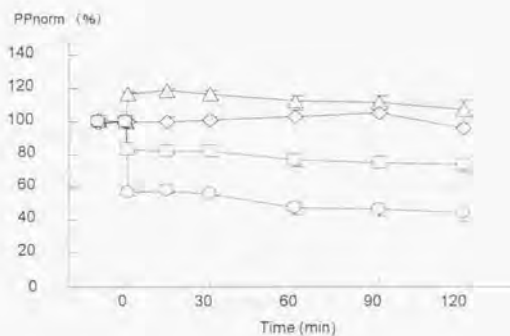


図 12 脈絡膜の実験中の眼灌流圧(PPnorm)の変化。

それぞれの曲線は初期眼圧 (25 mm Hg) から 10 mm Hg (△, n=7), 25 mm Hg (◇, n=6, コントロール), 40 mm Hg (□, n=5), 60 mm Hg (○, n=4) に眼圧を変化させた家兎での平均値 ± 標準誤差。

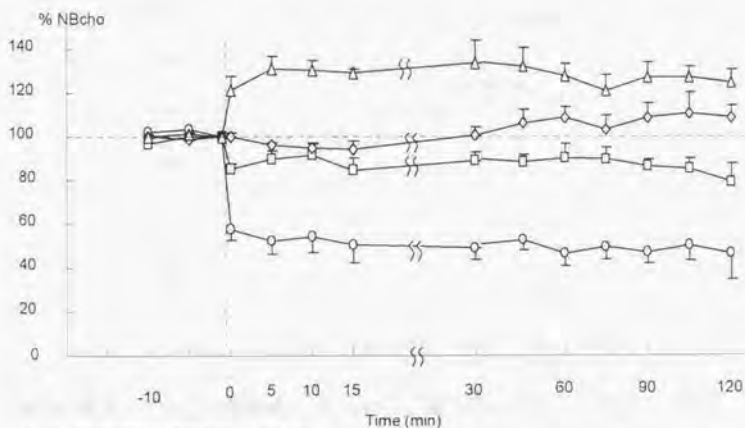


図 13 脈絡膜NB値(%NBcho)の変化。

それぞれの曲線は初期眼圧 (25 mm Hg) から 10 mm Hg (△, n=7), 25 mm Hg (◇, n=6, コントロール), 40 mm Hg (□, n=5), 60 mm Hg (○, n=4) に眼圧を変化させた家兎での平均値 ± 標準誤差。

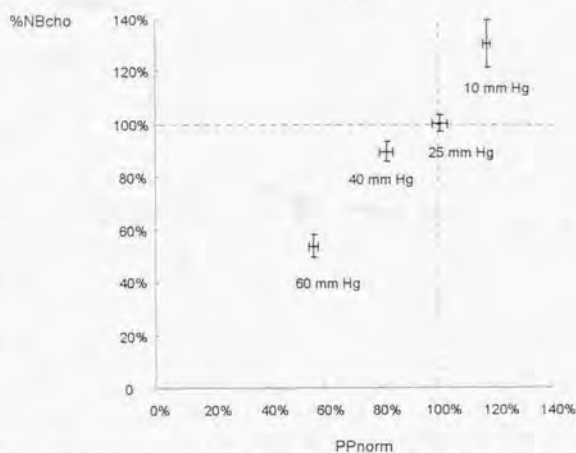
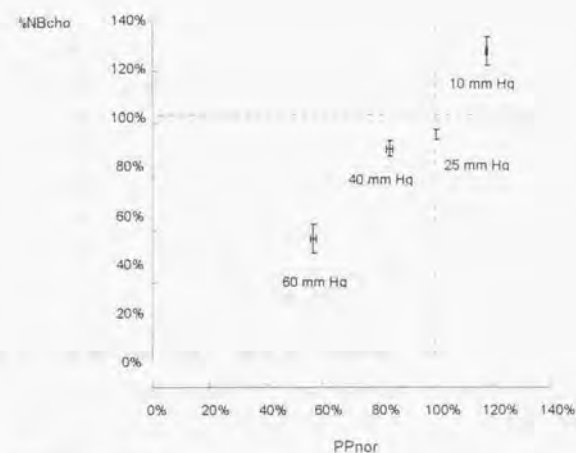


図 14 眼注流圧(PP<sub>norm</sub>)と脈絡膜NB値(%NB<sub>cho</sub>)の眼圧変化後5分後、30分後の相関。

5分後(上図)、30分後(下図)ともに%PP<sub>norm</sub>と%NB<sub>cho</sub>の間には有意な正の相関がみられ、明らかな自動調節能は認められない。

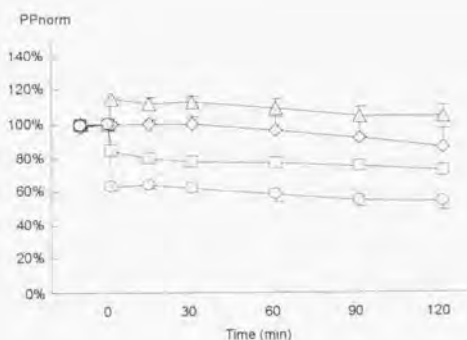


図 15 視神経乳頭の実験中の眼灌流圧(PPnorm)の変化。

それぞれの曲線は初期眼圧 (25 mm Hg) から 10 mm Hg ( $\Delta$ ,  $n=6$ ), 25 mm Hg ( $\diamond$ ,  $n=5$ , コントロール), 40 mm Hg ( $\square$ ,  $n=5$ ), 60 mm Hg ( $\circ$ ,  $n=5$ ) に眼圧を変化させた家兎での平均値  $\pm$  標準誤差。

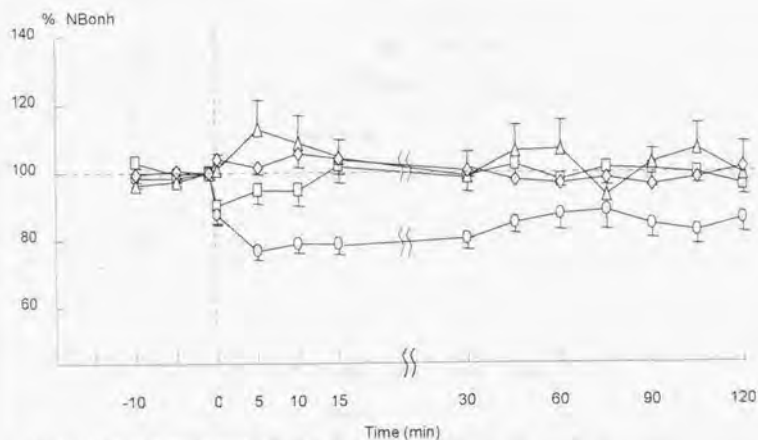


図 16 視神経乳頭NB値(%NB<sub>onh</sub>)の変化。

それぞれの曲線は初期眼圧 (25 mm Hg) から 10 mm Hg ( $\Delta$ ,  $n=6$ ), 25 mm Hg ( $\diamond$ ,  $n=5$ , コントロール), 40 mm Hg ( $\square$ ,  $n=5$ ), 60 mm Hg ( $\circ$ ,  $n=5$ ) に眼圧を変化させた家兎での平均値  $\pm$  標準誤差。



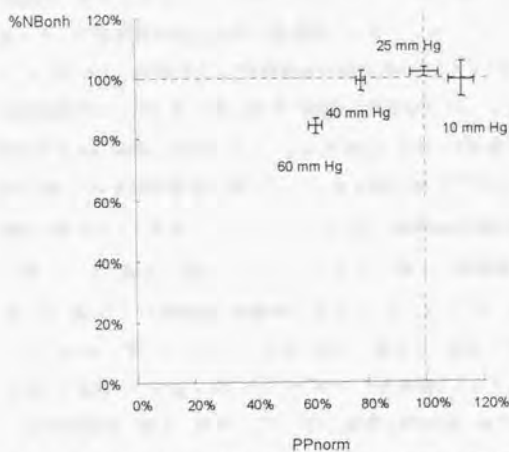
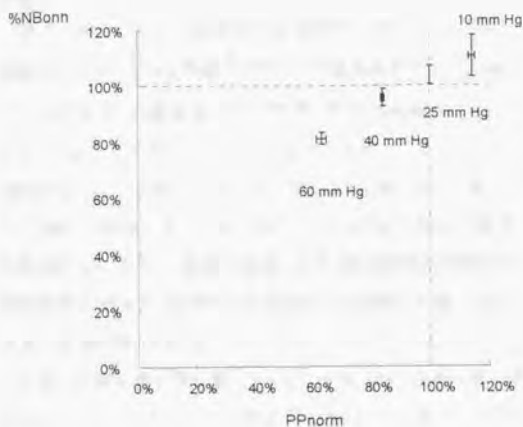


図 17 眼灌流圧( $PP_{norm}$ )と視神経乳頭NB値 ( $\%NB_{onh}$ )の眼圧変化後 5 分後、30 分後の相関。

5 分後では各プロットはグラフの原点を明らかに通らない直線上にはほぼ位置し、30 分後では眼圧 60 mm Hg のプロットを除き  $NB_{onh}$  はほぼ水平に並び、それぞれ自動調節能が発現していることがわかる。

## 考按

過去の報告において眼灌流圧を実験的に変化させる方法としては、上行大動脈および大静脈のバルーンによる閉塞<sup>72-74, 82</sup>や運動負荷<sup>83</sup>により血圧を変動させる方法や、前房または硝子体中への液体注入<sup>73, 74, 84, 85</sup>や強膜吸引カップ<sup>71, 75, 85-88</sup>により眼圧を変化させる方法などが用いられている。血圧を変化させる方法では、急激な血圧変動に対する自律神経系などの全身的な反応が結果に大きく関与すると考えられるのに対し、今回の実験のように眼圧を単独で変化させる方法では、全身的な反応の要素は比較的小さく眼組織における局所的な反応がより重要な要素となる。緑内障性視神経障害の発症に視神経乳頭近傍の循環動態が関与すると考えられており、その意味でも眼圧変動に伴う血流の局所的な調節は重要な意義を持っている。

今回、大腿動脈圧等をモニターした家兎の眼圧を数段階に変更することにより眼灌流圧を変化させたところ、虹彩および脈絡膜のNB値は眼灌流圧の低下とともに減少した。NB値と眼灌流圧の間には有意な正の相関がみられ、その回帰直線はほぼ原点を通ることより、家兎の虹彩および脈絡膜の血流速度は眼灌流圧の変化に対して明らかな自動調節能を顕わさないことが示された。前項のように虹彩および脈絡膜NB値とマイクロスフェア法により測定された組織血流量とは眼圧変化時に両法で同時に測定を行ったところ良好な相関関係にあった。すなわち今回の結果は家兎において、血流速度のみならず虹彩及び脈絡膜の組織血流そのものが明らかな自動調節能を持たないことを示唆するものである。脈絡膜に関しては、2段階に眼圧を変化させた条件下でマイクロスフェア法で組織血流量を測定した過去の結果<sup>12, 13</sup>に一致する。また虹彩に関しては、猫<sup>12</sup>の虹彩で眼圧の変動後の血流量の変化はわずかである一方、猿<sup>13</sup>では脈絡膜と同傾向の血流量の変化がみられ、autoregulationの存在に関して一定の結論は得られていなかったが、今回の結果は、過去の報告に比べ微細な眼圧変化による虹彩血流への影響を明らかにした点でより意味深いと言えよう。

自動調節能に関する研究においては、灌流圧の変動に対する反応時間が重要視されている。ラット<sup>76, 77</sup>や猿<sup>76</sup>などの脳動脈や冠動脈を用いた研究では、約2秒単位で見られるmyogenic mechanismに基づくと考えられる自動調節能が見られ、一方、30秒から10分の単位で起こるmetabolic mechanismに基づくと考えられる自動調節能の存在が推測されている<sup>79-81</sup>。これに加え、自律神経系や局所の神経作動性物質が関与するneurogenic mechanism<sup>89</sup>も考えられている。neurogenic mechanismの時間的要素に関しての言及はこれ

までにほとんどないが、myogenic, metabolic の両 mechanism と異なる時間的要素を持つ可能性はある。

今回、脈絡膜と視神経において、これまでに検討されたことがなかった 2 時間という長時間における自動調節能の発現に関して検討したところ、脈絡膜においては眼圧変化の 1 分後から 2 時間後まで、NB 値の変動は灌流圧の変化によく一致した。また、眼圧変化の 5 分後と 30 分後で灌流圧と NB 値の相関を検討したところ、両者は原点を通る直線上にほぼ分布し、今回採用した眼圧変動幅においては、脈絡膜の血流速度に明らかな自動調節能が存在しないことが示唆された。虹彩でも、同様な実験を試みたが、眼圧変化後、2 時間という長時間の測定中に瞳孔径が有意に変化する家兎が多く、NB<sub>av</sub> の測定は断念した。虹彩と同じく脈絡膜においても眼圧変化時の NB 値はマイクロスフェア法により測定された組織血流量と良好な相関が確かめられているので、今回の結果は脈絡膜の組織血流に自動調節能が存在しないことを示唆するものである。これは過去のマイクロスフェア法などで得られた結果に矛盾しない。そればかりか、その傾向は眼圧変化後 2 時間という長時間においても変わらないことが今回の検討の結果、初めて明らかになった。しかし Kiel<sup>74</sup> は血圧を一定にし眼圧を連続的に上昇させた場合、眼灌流圧が約 40 mm Hg 以上で自動調節能が見られることを報告している。眼圧を低下させた場合を除くと、今回の検討では眼灌流圧 40 mm Hg 以上に相当するのは眼圧 25 mm Hg の全ポイントと 40 mm Hg の一部のポイントに相当するのみなので、今回の結果よりほぼ正常の範囲内での眼灌流圧のわずかな変化に対する脈絡膜の自動調節能の存在をも否定することはできず、今後、より詳細な検討が必要である。

視神経乳頭の NB 値は眼圧を 25 mm Hg から 15 mm Hg に低下させた場合、眼圧変化直後に一時的に増加しその後に緩やかな低下し約 15 分後に眼圧変化前のレベルに戻ったのに対し、40 mm Hg に増加させると眼圧変化直後の一時的な低下のあとすぐにある程度の増加があり、その後にゆっくりと増加し約 15 分後に眼圧変化前のレベルまでほぼ回復した。これに対し、眼圧を 60 mm Hg まで上昇させると直後の回復はほとんど見られなかったものの 30 分後から緩やかな NB 値の回復傾向が見られた。眼圧変化の 5 分後と 30 分後の眼灌流圧と視神経 NB 値の相関を検討した結果、5 分後では各プロットは原点を通らない直線上にほぼ位置し不完全ながら自動調節能が発現していることを示した。30 分後では、眼圧 60 mm Hg のプロットを除く各プロットは眼圧変化前のほぼ等しいレベルに位置し、自動調節能によるほぼ完全な代償反応が認められた。

末梢循環動態には、動物の全身状態、特に  $P_{O_2}$  や麻酔深度などが関与することが知られ

ており、今回のNB値の長時間における変動に影響を及ぼしたことは否定できないが、 $P_{\text{O}_2}$  は実験中に家兎の正常範囲とされる値にありかつ著明な変動はなく、また眼圧を 25 mm Hg のまま 2 時間保った群ではNB値の変動がほとんど見られなかったことを考えれば、各眼圧変化群で見られたNB値の変化は眼局所における血管の反応が主だった要因であったと思われる。今回の結果だけで視神経乳頭の自動調節能に関与する機序を特定することは難しいとはいえ、これらの時間経過の異なるいくつかの反応が見られたことは、それに複数の機序が関与していることを示すものとは言えよう。



#### IV. $\beta$ 遮断薬点眼によるぶどう膜微小循環への影響

緑内障患者に対して、現在、 $\beta$ 遮断薬点眼薬が広く用いられている。 $\beta_2$ 遮断作用は一般に末梢血管の収縮作用を有し<sup>90, 91</sup>、眼循環への悪影響も懸念される。緑内障患者に対して $\beta$ 遮断薬は、多くの場合、長期にわたり連用されるが、前眼部では点眼投与された薬剤の濃度が眼底組織より高いこと<sup>92, 93</sup>や、前部ぶどう膜および脈絡膜では網膜や視神経にくらべ $\beta$ 受容体が明らかに多く存在すること<sup>94-96</sup>により、虹彩、脈絡膜においては $\beta$ 点眼薬の影響が網膜、視神経乳頭よりも顕著に現れる可能性も考えられる。

Timolol と carteolol はともに $\beta$ 遮断薬点眼薬として、臨床で広く用いられている。両者とも $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 受容体遮断作用を有する非選択的 $\beta$ 遮断薬であるが、timolol が $\beta$ 遮断作用以外の作用をほとんど持たないのに対し、carteolol は内因性交感神経刺激物質様作用 (intrinsic sympathomimetic activity; ISA)<sup>97-99</sup>や内皮依存性血管弛緩因子 (endothelium dependent relaxing factors, EDRF) 放出作用<sup>100</sup>などの末梢循環に対し亢進的に働く作用を有することが知られている。Grünwald ら<sup>101</sup>が 1% carteolol 1 回点眼が人の網膜大血管の血管中心部での血流速度に有意な影響を与えないことを報告している一方で、Yamazaki ら<sup>102</sup>は眼圧脈波による検討で carteolol 点眼が人の眼血流を亢進させることを記している。しかしながら、carteolol が虹彩または脈絡膜の組織血流に与える影響に関してはこれまでに何ら報告がなかった。また、timolol に関してはこれまでに眼循環に与える影響に関して多くの研究がなされているが、ぶどう膜循環に対する影響についてはいくつかの相反する結果が報告されている<sup>18, 20, 22, 103, 104</sup>。マイクロスフェア法を用いた検討では、家兎の有水晶体眼において 0.5 % timolol の頻回点眼、0.25 % timolol の 1 回点眼<sup>20, 103</sup>、または 1 日 3 回 20 日間連続点眼<sup>18</sup>が前部ぶどう膜、脈絡膜の組織血流に影響を与えないという報告がある一方で、0.25 % timolol 1 回点眼が前部ぶどう膜、脈絡膜の組織血流を有意に減少させるとの報告<sup>22</sup>もある。また、鋳型標本による検討で 0.5 % timolol の 1 回点眼、長期連続点眼で家兎毛様体突起の細動脈の部分的な収縮が認められている<sup>104</sup>。これらの相反する結果が見いだされた一つの要因として、それぞれの実験で点眼後の 1 時点のみの測定にとどまっていることが挙げられ、複数回の信頼性の高い測定がより意味深い結果をもたらすと考えられる。

レーザースペックル法は、眼循環の非侵襲的な解析が可能であるため、従来の侵襲的な方法では難しかった数時間に及ぶ連続的な経時的変化の検討や数週間間隔での変化の検討に適している。そこで本項では、carteolol 点眼による虹彩末梢循環の変化に関して、レーザ-

スペックル法で測定される本来、血流速度の指標である NB 値とマイクロスフェア法により測定される組織血流量との相関を検討した後に、レーザースペックル法により carteolol および timolol の 1 回点眼と長期連続点眼の家兎の虹彩、脈絡膜の微小循環に対する影響を検討した。

#### ① Carteolol 点眼による組織血流量と NB 値の変化

##### 方法

有色家兎 8 匹を全身麻酔の後、前述のマイクロスフェア法の実験(II-④)と同様にヘパリン静注、内頸動脈、大腿動脈へのカニューレ挿入を行った。眼圧調整用の前房内への 25G 針挿入は行わなかった。カニューレ挿入の反対側の眼(被実験眼)の NB<sub>pre</sub>、眼圧、瞳孔径を測定した直後、赤色マイクロスフェア 溶液 0.1 ml を左心室に注入し、大腿動脈より 1 分間、基準血液を採取した。その後、2 % carteolol (ミケラン点眼液®、大塚製薬) 20 µl を被実験眼に点眼した。点眼 2 時間後に被実験眼の NB<sub>2h</sub>、眼圧、瞳孔径を測定した後、青色マイクロスフェア溶液 0.1 ml を左心室に注入し基準血液を採取した。点眼前後のマイクロスフェア注入時に上記と同様な全身状態のパラメータを測定した。眼圧の測定には applanation pneumotonometer (Alcon, Fort Worth, Texas)を、瞳孔径の測定にはキャリパーを用いた。コントロール群として、別の 8 匹に対し被実験眼に基剤 20 µl を点眼し同一条件で実験を行った。両群の家兎を屠殺後、被実験眼を摘出し前述と同様に虹彩組織血流量を算出した。点眼液の種類は、実験施行者には知らされなかった。

##### 結果

Carteolol 群、コントロール群ともに点眼前後で瞳孔径に有意な差はなかった。両群の点眼前後の全身状態パラメータを表 6 に示す。これらのパラメータは carteolol 群の脈拍を除いて、いずれも健康家兎の正常域 64、65 内の値であり、実験中に有意な変化はみられなかった。Carteolol 群の脈拍は有意に低下した( $P=0.0022$ , paired t-test)。眼圧は carteolol 群で  $30.1 \pm 2.2$  (平均値  $\pm$  標準偏差) mm Hg から  $25.8 \pm 2.3$  mm Hg に有意に低下した( $P=0.0202$ , paired t-test)のに対し、コントロール群では有意な変化はみられなかった。点眼前後の NB<sub>2h</sub> と虹彩組織血流量およびそれらの変化率を表 7 に示す。組織血流量、NB<sub>2h</sub> ともに点眼 2 時間後には有意に増加した(各  $P=0.0332$ ,  $0.0401$ , paired t-test)。



表6: Carteolol 群およびコントロール群の点眼前後の全身状態のパラメータの変化

	Carteolol 群		コントロール群	
	点眼前	点眼 2 時間後	点眼前	点眼 2 時間後
平均大腿動脈圧(mm Hg)	116.0±7.9	102.5±4.2	122.4±3.5	113.9±8.9
脈拍 (拍/分)	315±12	250±8	322±14	331±9
pH	7.43±0.01	7.48±0.01	7.41±0.04	7.40±0.03
P <sub>aO2</sub> (mm Hg)	29.5±1.4	31.1±1.7	31.5±3.5	31.6±3.7
P <sub>aCO2</sub> (mm Hg)	98.2±3.4	101.5±2.4	102.2±2.6	106.7±3.7
直腸温(°C)	38.5±0.2	37.8±0.2	37.9±0.2	37.7±0.3

平均値±標準誤差 (n=8)。

表7: Carteolol 群およびコントロール群の点眼前後の虹彩組織血流量とNB<sub>gra</sub>の変化

	眼数	点眼前	点眼 2 時間後	変化率
組織血流量 (mg/min)				
Carteolol 群	8	0.95±0.17	1.16±0.20	1.27±0.08
コントロール群	6	0.98±0.14	1.01±0.10	1.08±0.10
NB <sub>gra</sub>				
Carteolol 群	8	10.5±0.5	12.7±0.7	1.22±0.09
コントロール群	6	10.5±0.7	11.0±1.22	1.04±0.07

平均値±標準誤差。

## ②β遮断薬の1回点眼および長期点眼がぶどう膜微小循環に及ぼす影響

### 方法

#### 1 回点眼実験

有色家兎を pentobarbital 15 mg/kg I.V.で麻酔後、大腿動脈より血圧、脈拍、動脈血ガスの

モニター用のカニューレを挿入した。任意の1眼に2% carteolol または0.5% timolol (チモブ  
トール点眼液、萬有製薬)のいずれか20  $\mu$ lを点眼し、他眼には20  $\mu$ lの生理食塩水を点眼し  
た。コントロールとして同様な処置を施した家兔の両眼に対し、生理食塩水20  $\mu$ lを点眼した。  
点眼前、点眼後0.5、1、1.5、2時間後にNB<sub>gs</sub>、眼圧、瞳孔径を測定した。

別の群の有色家兔を用いて、事前に tropicamide 点眼で散瞳させ、かつ瞳孔径の測定を行  
わなかった以外は上記と同様に準備し、2% carteolol と0.5% timolol 点眼前後のNB<sub>gs</sub>、眼圧、  
瞳孔径の変化を上記と同様に測定した。また、コントロールとして両眼に生理食塩水を点眼し  
た実験も同様に行った。

眼圧およびNB<sub>gs</sub>、NB<sub>do</sub>の測定者には、点眼液の種類は知らされなかった。

#### 20日間点眼実験

有色家兔は実験の少なくとも3週間前から午前4時点灯、午後4時消灯の環境下で飼育  
された。午後10時に両眼の眼圧測定後、pentobarbital 15 mg/kg IVで麻酔しNB<sub>gs</sub>、瞳孔径  
を測定した。その際、NB<sub>gs</sub>の測定位置の記録のため、前眼部写真撮影も行った。翌日より20  
日間、午前8時と午後8時の1日2回、任意に選んだ1眼に2% carteolol 20  $\mu$ lを点眼し、  
他眼には20  $\mu$ lの生理食塩水を点眼した。両眼の眼圧を点眼5、10、15、20日目の午後10  
時に行い、NB<sub>gs</sub>測定を点眼20日目の眼圧測定後に、上記と同様な全身麻酔下で行った。コ  
ントロールとして、別の群の家兔を用いて、両眼に生理食塩水20  $\mu$ lを1日2回20日間点眼  
し、同様な測定を行った。また眼圧およびNB<sub>gs</sub>の測定者には、点眼の種類は知らされなかつ  
た。

Timolol の20日間連続点眼のNB<sub>gs</sub>に対する効果を検討するために上記と同様の実験を  
2% carteolol の代わりに0.5% timolol を用いて行った。

尚、有色家兔では網膜色素上皮の色素により脈絡膜の血管走行を眼底写真上で確認する  
ことが困難なために、20日後に脈絡膜上で同一な測定位置を決定できなかったため、本実験  
は虹彩のみを測定対象とした。

#### 結果

##### 1回点眼実験

点眼前の各全身パラメータが健康家兔の正常域<sup>64, 65</sup>内にあった家兔を実験に用い、実  
験中には、後述する脈拍、血圧を除く各全身パラメータはコントロール群に比べ有意な変化は  
なかった(表9)。点眼前のNB<sub>gs</sub>、NB<sub>do</sub>、眼圧、瞳孔径(虹彩の実験のみで測定)は、各実験  
点眼群とコントロール群の間に有意差はなかった。瞳孔径は実験中に有意な変化はなかった。

図 18 から図 21 に  $NB_{au}$ 、 $NB_{du}$ 、眼圧、脈拍、平均大腿動脈圧(FABPm、式(6)参照)、眼灌流圧(OPP、式(7)参照)の点眼後 2 時間の経時変化を示す。

Carteolol の実験では、carteolol 点眼側の  $NB_{au}$  の経時変化はコントロール群と有意に異なり( $P = 0.0050$ , ANOVA on repeated measurements、以下 ANOVA)、点眼 2 時間後では有意に大きかった( $P = 0.0107$ , Wilcoxon rank sum test)。 $NB_{du}$  は点眼前、点眼後 30 分、60 分、90 分、120 分でコントロール群のそれぞれ 102.7 %、102.8 %、105.8 %、103.3 %、108.4 % の値であった。生理食塩水点眼側の  $NB_{au}$  と両側の  $NB_{du}$  は各コントロール群比へ有意な差はなかった。眼圧は虹彩の実験の carteolol 点眼側 ( $P = 0.0005$ , Wilcoxon signed rank test) と脈絡膜の実験の carteolol 点眼側と生理食塩水点眼側 ( $P = 0.00002$ , 0.0144, 同)において有意に低下した。虹彩および脈絡膜の両実験において、carteolol を点眼された家兎の脈拍、FABPm はコントロールにくらべて有意に低下した ( $P = 0.0022 \sim 0.0000002$ , ANOVA)。また血圧の低下に伴い、眼灌流圧もコントロールに比べ低下した ( $P = 0.0042$ , 0.0112, respectively)。

Timolol の実験では、timolol 点眼側の  $NB_{au}$  の経時変化はコントロール群と比べ有意に異なっていた ( $P = 0.0129$ , ANOVA)、生理食塩水点眼側では有意な変化はなかった ( $P = 0.1077$ , ANOVA)。 $NB_{du}$  は点眼前、点眼後 30 分、60 分、90 分、120 分でコントロール群のそれぞれ 101.5 %、93.6 %、91.8 %、91.5 %、92.2 % の値であった。Timolol 点眼側の  $NB_{du}$  の経時変化はコントロールと有意に異なり ( $P = 0.0031$ , ANOVA)、点眼前、点眼後 30 分、60 分、90 分、120 分でコントロール群のそれぞれ 95.6 %、85.9 %、83.9 %、89.9 %、82.0 % の値であった。眼圧は虹彩、脈絡膜の両実験の carteolol 点眼側および生理食塩水点眼側で有意に低下した ( $P = 0.0001 \sim 0.0096$ , Wilcoxon signed rank test)。虹彩の実験での脈拍 ( $P = 0.000002$ , ANOVA)、脈絡膜の実験での脈拍および FABPm ( $P = 0.00002$ , 0.0193, 同)はそれぞれコントロールに比べ有意に低下した。FABPm の低下にもかかわらず眼灌流圧には、有意な変化はなかった。

表 8 Carteolol と timolol 点眼前後の全身状態のパラメータ

	点眼前	60 分後	120 分後
Carteolol 点眼群 (n=16)			
直腸温 (°C)	37.1 ± 0.2	37.1 ± 0.2	36.8 ± 0.2
pH	7.43 ± 0.01	7.44 ± 0.02	7.44 ± 0.01
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	33.4 ± 0.9	31.7 ± 0.8	31.7 ± 0.6
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	86.8 ± 4.0	91.5 ± 4.7	89.5 ± 6.8
Timolol 群 (n=16)			
直腸温 (°C)	36.4 ± 0.2	36.4 ± 0.2	36.0 ± 0.2
pH	7.42 ± 0.01	7.42 ± 0.02	7.42 ± 0.01
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	34.0 ± 1.1	32.3 ± 1.3	32.1 ± 1.0
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	81.8 ± 3.9	80.5 ± 2.6	81.1 ± 3.6
コントロール群 (n=32)			
直腸温 (°C)	37.3 ± 0.2	37.2 ± 0.2	37.2 ± 0.1
pH	7.43 ± 0.02	7.45 ± 0.02	7.44 ± 0.01
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	32.9 ± 0.8	31.0 ± 0.8	30.8 ± 0.9
P <sub>aO<sub>2</sub></sub>	88.4 ± 6.0	88.0 ± 5.2	87.8 ± 6.2

平均値 ± 標準誤差。

Timolol 群および carteolol 群はそれぞれ 0.5 % timolol, 2 % carteolol を点眼された家兎群を表す。コントロール群は両眼に生理食塩水を点眼された家兎群を表す。

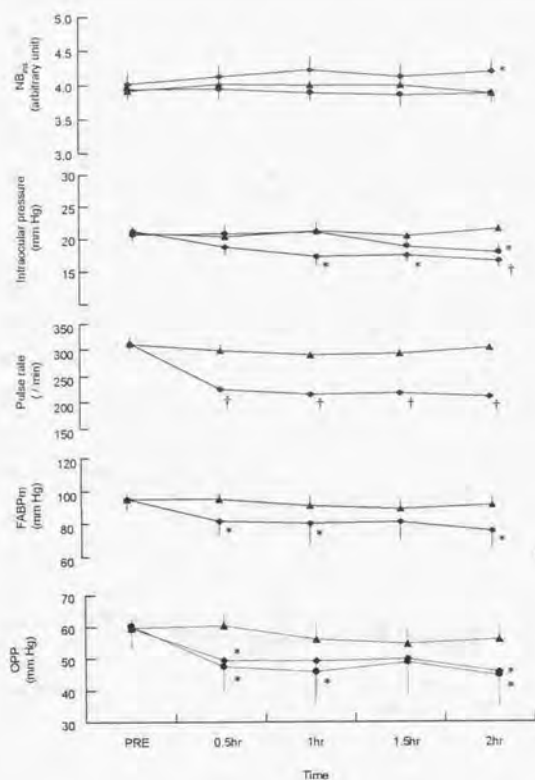


図 18 Carteolol 点眼後の  $NB_m$ 、眼圧、脈拍、平均大腿動脈圧( $FABP_m$ )、眼灌流圧( $OPP$ )の経時的変化。それぞれ carteolol 点眼側(◆)、生理食塩水点眼側(●)、コントロール群(▲)の平均値±標準誤差を示す。\*:  $P < 0.05$ , +:  $P < 0.01$  Wilcoxon rank sum test でコントロール群に比べ有意差あり。



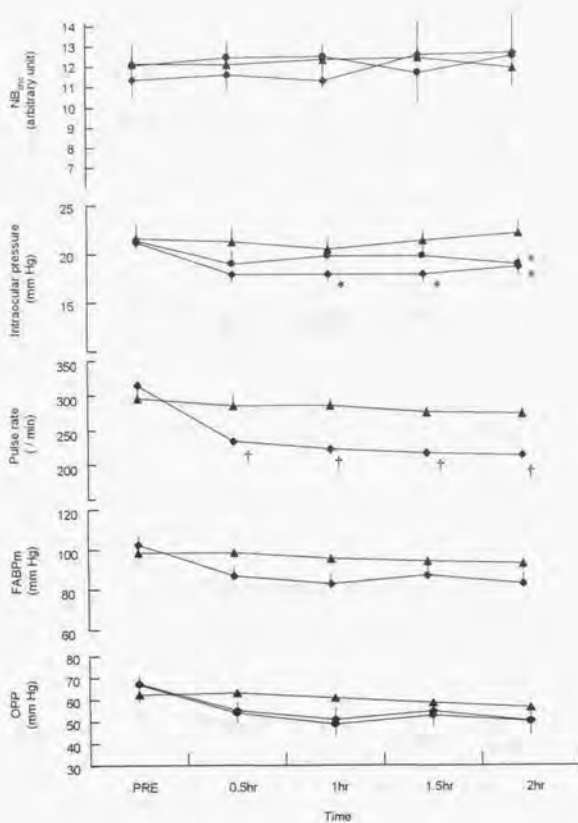


図 19 Carteolol 点眼後の  $NB_m$ 、眼圧、脈拍、平均大腿動脈圧(FABP<sub>m</sub>)、眼窩流圧(OPP)の経時的变化。それぞれ carteolol 点眼側(◆)、生理食塩水点眼側(●)、コントロール群(▲)の平均値±標準誤差を示す。\*  $P < 0.05$ , †  $P < 0.01$  Wilcoxon rank sum test でコントロール群に比べ有意差あり。



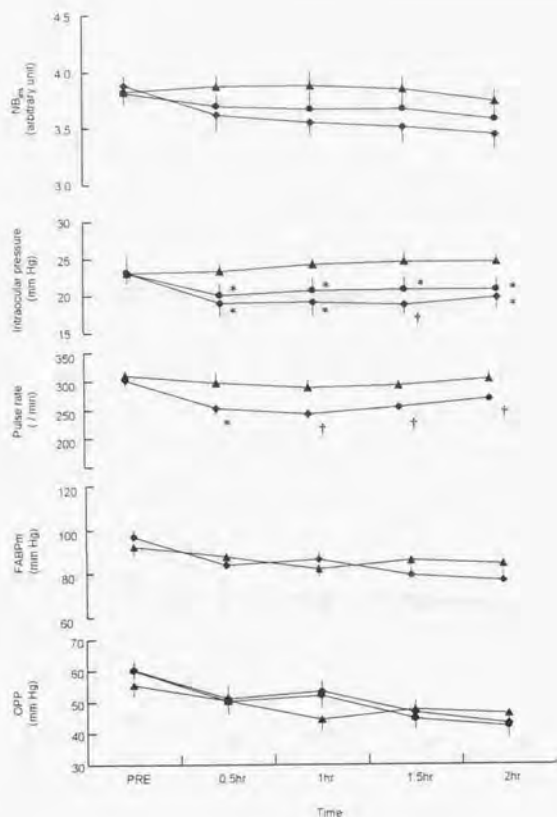


図 20 Timolol 点眼後の  $NB_{max}$ 、眼圧、脈拍、平均大腿動脈圧(FABP<sub>m</sub>)、眼溜流圧(OPP)の経時的变化。それぞれ timolol 点眼側(◆)、生理食塩水点眼側(●)、コントロール群(▲)の平均値±標準誤差を示す。\*  $P < 0.05$ , †  $P < 0.01$  Wilcoxon rank sum test でコントロール群に比べ有意差あり。

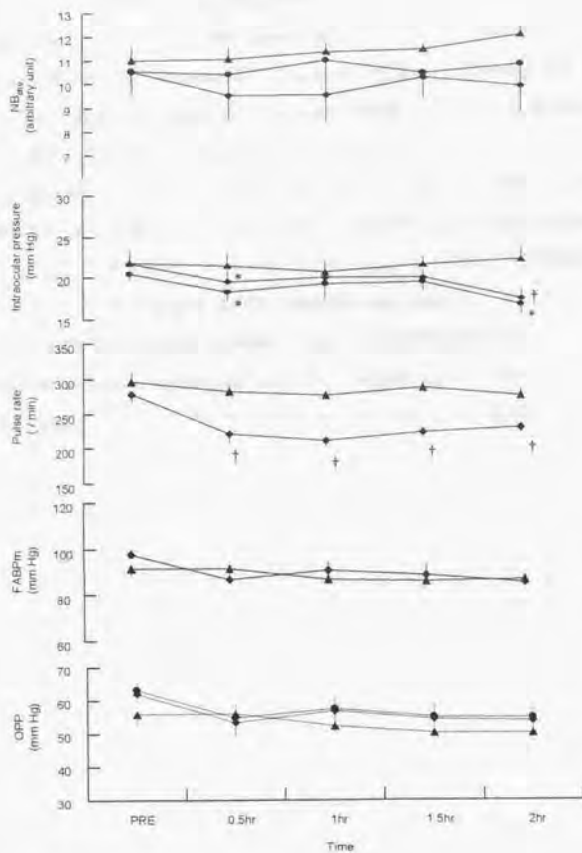


図 21 Timolol 点眼後の  $NB_{aw}$ 、眼圧、脈拍、平均大腿動脈圧 (FABP<sub>m</sub>)、眼灌流圧 (OPP) の経時的変化。それぞれ timolol 点眼側 (◆)、生理食塩水点眼側 (●)、コントロール群 (▲) の平均値 ± 標準誤差を示す。\*  $P < 0.05$ , †  $P < 0.01$  Wilcoxon rank sum test でコントロール群に比べ有意差あり。

#### 20日間点眼実験

各群において実験中の瞳孔径に有意な変化はなかった。点眼開始前の $NB_{eye}$ 、眼圧は carteolol 群とそのコントロール群、timolol 群とそのコントロール群の間に有意差はなかった。眼圧の有意な低下が、carteolol 群では carteolol 点眼側、生理食塩水点眼側ともに点眼開始後 20 日目で測定され、timolol 群では timolol 点眼側では 5 日目、生理食塩水点眼側では 20 日目に認められた( $P<0.05$ , Wilcoxon rank sum test) (表 9, 10)。

Carteolol 群では carteolol 点眼側、生理食塩水点眼側ともに点眼前に比べ有意に 20 日間点眼により $NB_{eye}$ は増加した(各  $P=0.0280$ ,  $0.0425$ , Wilcoxon signed rank test)。点眼前値に比べた $NB_{eye}$ の変化率はコントロールに比べ、carteolol 点眼側、生理食塩水点眼側ともに有意に大きかった(各  $P=0.0078$ ,  $0.0373$ , Wilcoxon rank sum test) (表 11)。

Timolol 群では、timolol 点眼側で $NB_{eye}$ は点眼開始前の値に比べ有意に減少した( $P=0.0280$ , Wilcoxon signed rank test)。また点眼前値に比べた $NB_{eye}$ の変化率はコントロールに比べ有意に小さかった( $P=0.0055$ , Wilcoxon rank sum test) (表 12)。

表9 Cartecolol 連続点眼の眼圧への影響

	点眼前	5日後	10日後	15日後	20日後
Cartecolol 点眼群	18.7 ± 1.4	17.0 ± 1.5	17.1 ± 1.8	16.0 ± 1.5*	15.7 ± 1.3*
生食点眼側	20.0 ± 0.6	19.0 ± 1.7	19.9 ± 1.7	18.4 ± 1.1	18.3 ± 1.1*
コントロール群	20.5 ± 1.4	21.4 ± 1.3	22.4 ± 1.8	21.5 ± 1.3	22.8 ± 1.3

平均値 ± 標準誤差 (n=7)。Cartecolol 点眼群は1眼に2% cartecolol、他眼に生理食塩水、コントロール群は両眼に生理食塩水を点眼された家兎。

\* コントロール群に比べ有意に異なる (Wilcoxon rank sum test,  $P < 0.05$ )。

表10 Timolol 連続点眼の眼圧への影響

	点眼前	5日後	10日後	15日後	20日後
Timolol 点眼群	18.4 ± 1.6	15.1 ± 1.6*	14.6 ± 1.2†	14.3 ± 1.5*	13.9 ± 1.5†
生食点眼側	19.4 ± 0.8	17.9 ± 1.5	16.9 ± 1.5*	16.4 ± 1.5	16.3 ± 0.9*
コントロール群	21.4 ± 2.1	21.0 ± 1.3	24.3 ± 1.7	20.8 ± 1.2	23.5 ± 1.7

平均値 ± 標準誤差 (n=7)。Timolol 点眼群は1眼に0.5% timolol、他眼に生理食塩水、コントロール群は両眼に生理食塩水を点眼された家兎。

\*、† コントロール群に比べ有意に異なる (Wilcoxon rank sum test, 各  $P < 0.05$ , 0.01)

表 11 Carteolol 長期点眼の虹彩NB値(NB<sub>av</sub>)への影響

		NB <sub>av</sub>		
		点眼前	20 日後	点眼前後の比
Carteolol 点眼群	Carteolol 点眼側	3.60 ± 0.19	4.30 ± 0.19*	1.21 ± 0.07‡
	生食点眼側	3.72 ± 0.13	4.08 ± 0.17†	1.10 ± 0.05*
コントロール群		4.08 ± 0.29	3.99 ± 0.35	0.97 ± 0.03

平均値±標準誤差 (n=7)。Carteolol 点眼群は 1 側に 2 % carteolol、他眼に生理食塩水、コントロール群は両眼に生理食塩水を点眼された家兔。

\*、†: 点眼前値に比べ有意に異なる (Wilcoxon signed rank test, 各 P=0.0280, 0.0425)。

‡, †: コントロール群に比べ有意に異なる (Wilcoxon rank sum test, 各 P=0.0078, 0.0373)。

表 12 Timolol 長期点眼の虹彩NB値(NB<sub>av</sub>)への影響

		NB <sub>av</sub>		
		点眼前	20 日後	点眼前後の比
Timolol 点眼群	Timolol 点眼側	3.80 ± 0.24	3.32 ± 0.28*	0.87 ± 0.04†
	生食点眼側	3.60 ± 0.34	3.65 ± 0.36	1.02 ± 0.08
コントロール群		3.95 ± 0.38	3.94 ± 0.37	0.99 ± 0.02

平均値±標準誤差 (n=7)。Timolol 点眼群は 1 側に 0.5 % timolol、他眼に生理食塩水、コントロール群は両眼に生理食塩水を点眼された家兔。

\*: 点眼前値に比べ有意に異なる (Wilcoxon signed rank test, P=0.0280)。

†: コントロール群に比べ有意に異なる (Wilcoxon rank sum test, P=0.0055)。



## 考按

今回の実験の結果、carteolol 点眼前後の家兎虹彩の微小循環変化に関して、血流速度の定量的指標であるNB値<sup>55,58, 59</sup>とマイクロスフェア法により同時に測定された組織血流量はよく一致した。前述の実験では、眼圧変化や unoprostone 点眼による微小循環変動に関してNB値と組織血流量がよく相関することを示したが、これに加え今回、 $\beta$ 遮断点眼薬による微小循環変化の解析においてもNB値は組織血流を反映する指標であることが確認された。

本研究の前半で述べたように、NB値測定に関して、有色家兎の虹彩および白色家兎の脈絡膜において 24 時間間隔での良好な再現性がこれまでに確認されている。しかし有色家兎の脈絡膜では、継続的な全身麻酔下で連続的にNB値を測定した場合には厳密に同一部位での測定が可能であるが、20 日間間隔をおいた測定では、網膜色素により脈絡膜の血管走向パターンの視認が難しく厳密な同一位置での測定が困難なので、有色家兎を用いた本項の実験では、20 日間点眼による脈絡膜循環への影響の検討は行わなかった。

Carteolol の 1 回点眼および 20 日間点眼の実験では、NB<sub>90</sub> は 1 回点眼後には carteolol 点眼側のみで、20 日間点眼後には carteolol 点眼側と生理食塩水点眼側の両側で有意に増加した。NB<sub>90</sub> は 1 回点眼では有意な変化は見られなかった。非選択的  $\beta$  遮断薬である carteolol は  $\beta_2$  遮断作用を有するが、 $\beta_2$  遮断は一般に末梢血管の収縮をもたらすので<sup>90, 91</sup>、その作用からは carteolol もNB値を下降させる効果を持つことも予想された。また、前述のように虹彩末梢循環では眼灌流圧の変動に対して明らかな自動調節能を有しないので、眼灌流圧の変動もNB<sub>90</sub>に影響することも考えられる。今回の 1 回点眼の実験では血圧(FABPm)の低下が眼圧の低下より大きく、結果として眼灌流圧はコントロールの家兎に対し有意に低下した。すなわち、今回の結果として carteolol がNB値を増加させたことは、 $\beta_2$  遮断、眼圧変動以外の要素のに基づくことが考えられる。Carteolol に関しては、これまでに主に *in vitro* の実験の結果として、ISA<sup>97-99</sup> や EDRF 放出作用<sup>100</sup> などが報告されており、両作用とも末梢循環においては亢進的に働くものである。Carteolol に見られるISAは犬の心筋を用いた実験で、 $\beta$  遮断作用が発現する濃度である約  $10^{-7}$  M の 3 から 10 倍程度の濃度でその発現が見られている<sup>97, 98</sup>。また EDRF 放出作用は犬のいくつかの組織の動脈を用いた実験で  $10^{-8}$  M 以上の carteolol 濃度で発現している<sup>100</sup>。Fujio<sup>93</sup> らによれば、10  $\mu$ l の 2 % carteolol 点眼 1 時間後の有色家兎の点眼側の前房水、虹彩、脈絡膜の carteolol の濃度はそれぞれ  $1.6 \times 10^{-6}$  M,  $1.6 \times 10^{-8}$  mole / g tissue,  $0.35 \times 10^{-8}$  mole / g tissue である。また反対側のデータは白色家兎のものしかないが、それによると反対側の前房水、虹彩、脈絡膜での carteolol 濃度は点眼側の 10



から 200 分の 1 程度である<sup>105</sup>。今回の結果より、点眼反対側の 1 回点眼後の free cartecolol 濃度は  $\beta 2$  遮断による眼圧下降作用を惹起するには十分であったものの、ISA または EDRF 放出作用により明らかな血流増加を起す濃度には達していなかったものと考えられる。20 日間連続点眼後の cartecolol の組織内濃度は有色家兎の前房水、虹彩、脈絡膜では、1 回点眼後の 2 から 60 倍程度である<sup>93</sup>。長期連続点眼時の非点眼側の濃度に関しては報告がないが、前房水、虹彩での濃度は 1 回点眼後にくらべ十分に高く、ISA、EDRF 放出作用による血流増加を惹起するに十分であったと思われる。

Timolol の実験では、1 回点眼後、20 日間点眼後ともに両眼で有意な眼圧の低下が認められた。これらの眼圧下降は timolol 点眼側のほうが生理食塩水点眼側にくらべより著明であった。NB 値は虹彩、脈絡膜ともに 1 回点眼後の timolol 点眼側で有意に低下した。眼圧低下に有意な変化は認められないので、眼圧の低下が NB 値に影響したとは考えにくい。前述したように timolol の持つ  $\beta 2$  遮断作用は末梢血管の収縮に働く<sup>90, 91</sup>。Grajewski ら<sup>106</sup>は timolol の内服により脈絡膜血管の収縮がみられるが点眼によつては変化がないことを報告している。Van Buskirk ら<sup>104</sup>によれば、timolol の 1 回点眼後、7 週間点眼後それぞれに家兎毛様体血管の部分的な収縮がみられ、Watanabe ら<sup>22</sup>は、timolol の 1 回点眼後に虹彩と毛様体根部の血流量が減少することを示している。一方で Sugiyama ら<sup>107</sup>は、これまでに少量の endothelin-1 の静注による視神経乳頭循環の変化に関して NB 値と水素ガスクリアランス法による組織血流量とがよく相関することを報告している。これらのことより、timolol 点眼側では  $\beta 2$  遮断により末梢血管の収縮が起こり有意な NB 値の低下をもたらしたと推測できる。反対側では、眼圧の低下は見られたものの NB<sub>虹</sub> の有意な変化はなかった。これより、ともに  $\beta 2$  遮断を介するにせよ、末梢血管収縮に必要な濃度が眼圧低下に必要な濃度よりも高いことが推測できる。有色家兎眼においては、点眼された timolol のほとんどは組織中のメラニン色素に吸着される<sup>92</sup>ので、末梢血管収縮に最も関与するものとして timolol 全体の濃度より free timolol の濃度を考えるべきである。Schmidt ら<sup>108</sup>や Araie ら<sup>92</sup>によれば、timolol の 1 回点眼後の前房内、血漿中の濃度はそれぞれ約  $2 \times 10^{-8}$  M、 $1 \times 10^{-7}$  M 程度である。今回の結果において timolol の 1 回点眼により点眼側のみの NB<sub>虹</sub> が低下していることより、後部脈絡膜に関しては、末梢血管の収縮作用の発現に必要な free timolol 濃度は点眼 1~2 時間後の前房内濃度(約  $10^{-8}$  M)より低く、反対側の結果に関与する血漿内濃度(約  $10^{-7}$  M)より高いことが推測できる。

Timolol および cartecolol 点眼により、家兎の全身循環動態、特に心拍数が低下するのに対し、正常の成人においてはそれらの点眼による有意な心拍数の変化はないことが知られてい

る<sup>109</sup>。これは点眼された $\beta$ 遮断薬の血清中への移行は家兎に比べヒトでは明らかに少ない<sup>92, 108, 110</sup> ことに基づくと考えられる。一方、 $\beta$ 遮断薬点眼後の前房内濃度は家兎とヒトの間で大差がない<sup>92, 108, 110-112</sup> ため、今回の実験で見られたような結果がヒトの虹彩でも起こる可能性は否定できない。すなわち、Carteolol 点眼は点眼側虹彩の血流を増加させ、timolol 点眼はそれを減少させる。Carteolol は虹彩の血流が減少しているような患者、たとえば老人性虹彩萎縮症、網膜剥離や斜視手術後の患者などに発症した緑内障により有意義であるかもしれない。他方、timolol は虹彩炎や眼内手術後の患者により適していると言えよう。

## V. 結語

本研究の結果、レーザースペックル法により非侵襲的なぶどう膜微小循環解析が十分な信頼性をもって可能であることが示された。本法によって得られるNB値は本来、血球の移動速度を定量的に表す指標であるが、虹彩および脈絡膜の組織血流量を示す指標ともなり得ることも確かめられた。また本法は非侵襲的方法であり連続的な繰り返し測定も可能であるという既存の方法にない利点を有することより、家兎外眼筋切断後の虹彩循環の短時間の経時的変化などが初めて本法により明らかにされた。眼灌流圧変化に対するぶどう膜循環の自動調節の有無およびその性状に関してはこれまでも議論の多い点であったが、レーザースペックル法を用いて得られた今回の結果は眼灌流圧変化と自動調節の双方の時間的要素が互いに深く関与する可能性があることを初めて示唆するものである。またβ遮断点眼薬がぶどう膜微小循環に及ぼす影響に関して、レーザースペックル法により1回点眼後の経時変化と長期点眼による影響を系統的に検討することができ、緑内障治療におけるβ遮断薬の重要性を考え合わせれば非常に重要な成果が得られたと言えよう。

今回の研究にとどまらず今後、レーザースペックル法の利点を生かしてぶどう膜微小循環に関する様々な研究成果が得られることが期待できる。また、本装置のレーザー出力はAmerican National Standards Instituteの定めた網膜に対するレーザー光の暴露基準<sup>61</sup>を下回ることから、ヒトへ適用の安全性は基本的には満たしていると考えられる。虹彩の測定においては、瞳孔径の変化によりNB<sub>iris</sub>の測定結果が影響されることがヒトでの測定においても予想されるため、現状では瞳孔径が大きく変化する系への直接の応用は難しいと考えられる。また、家兎では網膜血流が視神経乳頭から水平にのびる随翼上に限定され今回の脈絡膜の測定位置(視神経乳頭から1乳頭径下)では網膜血流の影響をほとんど受けないのに対し、ヒトの眼底ではそのような部位はなく、網膜血流の影響を考慮に入れた検討が必要である。これらを考慮した上で、ヒトのぶどう膜の微小循環解析への本装置の応用が今後の重要な研究の課題となろう。

## 謝辞

稿を終えるにあたり、常日頃ご指導いただいている恩師、新家 眞教授に深甚なる謝意を表します。

## 文献

1. Alm A. Ocular circulation. In: Hart W, ed. *Adler's Physiology of The Eye* 9th ed. C.V.Mosby, St. Louis, 1992;198-227.
2. Brooks AM, West RH, Gillies WE. Acute primary ischemic iris atrophy. *Ophthalmology*. 1988;95:1234-1243.
3. Elsas FJ, Witherspoon CD. Anterior segment ischemia after strabismus surgery in a child. *Am J Ophthalmol*. 1987;103:833-834.
4. Olver J, Lee J. The effect of strabismus surgery on anterior segment circulation. *Eye*. 1989;3:318-326.
5. Saunders RA, Bluestein EC, Wilson ME, Berland JE. Anterior segment ischemia after strabismus surgery. *Surv Ophthalmol*. 1994;38:456-466.
6. Kwartz J, Charles S, McCormack P, Jackson A, Lavin M. Anterior segment ischaemia following segmental scleral buckling. *Br J Ophthalmol*. 1994;78:409-410.
7. Robertson DM. Anterior segment ischemia after segmental episcleral buckling and cryopexy. *Am J Ophthalmol*. 1975;79:871-874.
8. Prakash P, Verma D, Menon V. Anterior segment ischemia following extraocular muscle surgery. *Jpn J Ophthalmol*. 1986;30:251-256.
9. Bill A. Quantitative determination of uveal blood flow in rabbits. *Acta Physiol Scand*. 1962;55:101-110.
10. Bill A. Intraocular pressure and blood flow through the uvea. *Arch Ophthalmol*. 1962;67:336-348.
11. Friedman E, Kopald H, Smith T. Retinal and choroidal blood flow determined with Krypton-85 in anesthetized animals. *Invest Ophthalmol*. 1964;3:539-546.
12. Alm A, Bill A. The oxygen supply to the retina. Effects of high intraocular pressure and of increased arterial carbon dioxide tension on uveal and retinal blood flow in cats. *Acta Physiol Scand*. 1972;84:306-319.
13. Alm A, Bill A. Ocular and optic nerve blood flow at normal and increased intraocular pressure in monkeys (*Macaca irus*): a study with radioactively labeled microspheres including flow determinations in brain and some other tissues. *Exp Eye Res*. 1973;15:15-29.
14. Bill A. Effects of acetazolamide and carotid occlusion on the ocular blood flow in unanesthetized rabbits. *Invest Ophthalmol*. 1974;13:954-958.
15. Bill A, Sternschantz J, Alm A. Effects of hexamethonium, biperiden and phentolamine on the vasoconstrictive effects of oculomotor nerve stimulation in rabbits. *Exp Eye Res*. 1976;23:615-622.



16. Chiou G, Chen Y. Effects of antiglaucoma drugs on ocular blood flow in ocular hypertensive rabbits. *J Ocul Pharmacol*. 1993;9:13-24.
17. Chiou G, Yan H. Effects of antiglaucoma drugs on the blood flow in rabbit eyes. *Ophthalmic Res*. 1986;18:265-269.
18. Green K, Hatchett T. Regional ocular blood flow after chronic topical glaucoma drug treatment. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1987;65:503-506.
19. Green K, Schermerhorn J. Blood flow in aphakic rabbit eyes after sub-chronic glaucoma treatment. *Curr Eye Res*. 1985;4:667-670.
20. Jay W, Aziz M, Green K. Effect of topical epinephrine and timolol on ocular and optic nerve blood flow in phakic and aphakic rabbit eyes. *Curr Eye Res*. 1984;3:1199-1202.
21. Morgan T, Green K, Bowman K. Effects of adrenergic agonists upon regional ocular blood flow in normal and ganglionectomized rabbits. *Exp Eye Res*. 1981;32:691-697.
22. Watanabe K, Chiou G. Action mechanism of timolol to lower the intraocular pressure in rabbits. *Ophthalmic Res*. 1983;15:160-167.
23. Aukland K, Bower B, Berliner R. Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res*. 1964;14:164-187.
24. Neely W, Hardy J, Godfrey W. The use of the hydrogen electrode to measure tissue blood flow. *J Surg Res*. 1965;5:363-369.
25. 守本 典子. 暗・明順応下の脈絡膜組織血流に関する研究. 第1報. 暗順応下の脈絡膜組織血流量. *日本眼科学会雑誌*. 1989;93:790-795.
26. Hayreh S, Scott W. Fluorescein iris angiography 1. Normal pattern. *Archives of Ophthalmology*. 1978;96:1383-1389.
27. Hayreh S, Scott W. Fluorescein iris angiography 2. Disturbance of iris circulation following strabismus operation on the various recti. *Archives of Ophthalmology*. 1978;96:1390-1400.
28. Marsh R, Ford S. Blood flow in the anterior segment of the eye. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1980;100:387-388.
29. Meyer P, Watson P. Low dose fluorescein angiography of the conjunctiva and episclera. *Br J Ophthalmol*. 1987;71:2-10.
30. Mapstone R. Ocular thermography. *Br J Ophthalmol*. 1970;54:751-754.
31. Kabayama T, Suzuki H, Horiuchi T, Akutagawa Y, Matsuzaki H. Studies on thermography: clinical application in ophthalmology. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*. 1979;83:326-335.
32. Brem KR, Riva CE. Laser Doppler velocimetry measurement of pulsatile blood flow in capillary tubes. *Microvasc Res*. 1982;24:114-118.
33. Grunwald JE, Riva CE, Sinclair SH, Brucker AJ, Petrig BL. Laser Doppler velocimetry

- study of retinal circulation in diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol*. 1986;104:991-996.
34. Rassam SM, Patel V, Chen HC, Kohner EM. Regional retinal blood flow and vascular autoregulation. *Eye*. 1996;10:331-337.
35. Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL. Reactivity of the human retinal circulation to darkness: a laser Doppler velocimetry study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983;24:737-740.
36. Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH. Laser Doppler Velocimetry study of the effect of pure oxygen breathing on retinal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983;24:47-51.
37. Michelson G, Groh M, Grundler A. Regulation of ocular blood flow during increases of arterial blood pressure. *Br J Ophthalmol*. 1994;78:461-465.
38. Feke GT, Schwartz B, Takamoto T, Fujio N, Konno S, Goger DG, Nangia V. Optic nerve head circulation in untreated ocular hypertension. *Br J Ophthalmol*. 1995;79:1088-1092.
39. Harris A, Anderson DR, Pillunat L, Joos K, Knighton RW, Kagemann L, Martin BJ. Laser Doppler flowmetry measurement of changes in human optic nerve head blood flow in response to blood gas perturbations. *J Glaucoma*. 1996;5:258-265.
40. Joos KM, Pillunat LE, Knighton RW, Anderson DR, Feuer WJ. Reproducibility of laser Doppler flowmetry in the human optic nerve head. *J Glaucoma*. 1997;6:212-216.
41. Mendel MJ, Toi VV, Riva CE, Petrig BL. Eye-tracking laser Doppler velocimeter stabilized in two dimensions: principle, design, and construction. *J Opt Soc Am [A]*. 1993;10:1663-1669.
42. Riva CE, Cranston SD, Mann RM, Barnes GE. Local choroidal blood flow in the cat by laser Doppler flowmetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:608-618.
43. Riva CE, Harino S, Petrig BL, Shonat RD. Laser Doppler flowmetry in the optic nerve. *Exp Eye Res*. 1992;55:499-506.
44. Riva CE, Pournaras CJ, Poitry-Yamate CL, Petrig BL. Rhythmic changes in velocity, volume, and flow of blood in the optic nerve head tissue. *Microvasc Res*. 1990;40:36-45.
45. Strenn K, Menapace R, Rainer G, Findl O, Wolzt M, Schmetterer L. Reproducibility and sensitivity of scanning laser Doppler flowmetry during graded changes in PO<sub>2</sub>. *Br J Ophthalmol*. 1997;81:360-364.
46. Michelson G, Michael M. Dipivefrin reduces blood flow in the ciliary body in Humans. *Ophthalmology*. 1994;101:659-664.
47. Aburn NS, Sergott RC. Orbital colour Doppler imaging. *Eye*. 1993;7:639-647.
48. 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*. 1991;109:527-531.
49. Williamson TH, Harris A. Color Doppler ultrasound imaging of the eye and orbit. *Surv Ophthalmol*. 1996;40:255-267.



50. Michelson G, Schmauss B. Two dimensional mapping of the perfusion of the retina and optic nerve head. *Br J Ophthalmol* 1995;79:1126-1132.
51. Michelson G, Schmauss B, Langhans MJ, Harazny J, Groh MJ. Principle, validity, and reliability of scanning laser Doppler flowmetry. *J Glaucoma* 1996;5:99-105.
52. Hollo G, van den Berg TJ, Greve EL. Scanning laser Doppler flowmetry in glaucoma. *Int Ophthalmol* 1996;20:63-70.
53. Goodman J. Statistical properties of laser speckle patterns. In: Dainty J, ed. *Laser Speckle and Related Phenomena*. Springer-Verlag, New York, 1975:9-75.
54. Fercher A, Briers J. Flow visualization by means of single-exposure speckle photography. *Optic Commun* 1981;37:326-330.
55. Fujii H, Nohira K, Yamamoto Y, Ikawa H, Ohura T. Evaluation of blood flow by laser speckle image sensing. Part I. *Appl Opt* 1987;26:5321-5325.
56. Ruth B. Non-contact blood flow determination using a laser speckle method. *Opt Laser Technol* 1988;20:309-316.
57. Ruth B. Blood flow determination by the laser speckle method. *Int J Microcirc Clin Exp* 1990;9:21-45.
58. Tamaki Y, Kawamoto E, Araie M, Eguchi S, Fujii H. Non-contact, two-dimensional measurement of retinal microcirculation using laser speckle phenomenon. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3825-3834.
59. Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H. Non-contact two-dimensional measurement of microcirculation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp Eye Res* 1995;60:373-384.
60. Briers J, Fercher A. Retinal blood-flow visualization by means of laser speckle photography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982;22:255-259.
61. The Laser Institute of America. Criteria for exposure of the eye and skin. In: , ed. *American National Standard for the Safe Use of Lasers*. America National Standards Institute, New York, 1993:31-34.
62. Ruskell G. Blood vessels of the orbit and globe. In: Prince J, ed. *The Rabbit in Eye Research*. Springfield, Illinois, 1964:514-553.
63. Brancato R, Pratesi R, Leoni G, Trbucchi G, Vanni U. Histopathology of diode laser and argon laser lesions in rabbit retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:1504-1510.
64. Hale S, Alker K, Kloner R. Evaluation of non-radioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 1988;78:428-434.
65. Kozuma C, Macklin W, Cummins L, Mauer R. Anatomy, physiology, and biochemistry of the rabbit. In: Weisbroth S, Flatt R, Kraus A, ed. *The Biology of the Laboratory Rabbit*

Academic Press, New York. 1974;50-72.

66. Neutze J, Wyler F, Rudolph A. Use of radioactive microspheres to assess distribution of cardiac output in rabbits. *Am J Physiol*. 1968;215:486-495.
67. 東郁郎 薬剤療法難治性の緑内障に対する UF-021 点眼液の治療効果 日本眼科学会雑誌. 1993;97:232-238.
68. Sakurai M, Araie M, Oshika T, Mori M, Shoji N, Masuda K. Effects of topical application of UF-021, a novel prostaglandin-related compound, on aqueous humor dynamics in rabbit. *Jpn J Ophthalmol*. 1993;37:252-258.
69. Johnson P. Review of previous studies and current theories of autoregulation. *Circ Res*. 1964;14:2-9.
70. Cupples WA, Loutzenhiser RD. Dynamic autoregulation in the in vitro perfused hydronephrotic rat kidney. *Am J Physiol*. 1998;275:F126-F130.
71. Riva CE, Hero M, Titze P, Petrig B. Autoregulation of human optic nerve head blood flow in response to acute changes in ocular perfusion pressure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;35:618-626.
72. Kiel JW. Choroidal myogenic autoregulation and intraocular pressure. *Exp Eye Res*. 1994;58:529-543.
73. Kiel JW, Shepherd AP. Autoregulation of choroidal blood flow in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33:2399-2410.
74. Kiel JW, van Heuven WA. Ocular perfusion pressure and choroidal blood flow in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:579-585.
75. Riva CE, Titze P, Hero M, Petrig BL. Effect of acute decreases of perfusion pressure on choroidal blood flow in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:1752-1760.
76. Bevan J, Hwa J. Myogenic tone and cerebral vascular autoregulation: The role of a stretch-dependent mechanism. *Ann Biomed Eng*. 1985;13:281-286.
77. Halpern W, Osol G. Influence of transmural pressure on myogenic responses of isolated cerebral arteries of the rat. *Ann Biomed Eng*. 1985;13:287-294.
78. Rajagopalan S, Dube S, Canty J. Regulation of coronary diameter by myogenic mechanisms in arterial microvessels greater than 100 microns in diameter. *Am J Physiol*. 1995;268:H788-H793.
79. Aaslid R, Lindegaard K, Sorteberg W, Nornes W. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke*. 1989;20:45-52.
80. Aaslid R, Newell D, Stooss R, Sorteberg W, Lindegaard K. Assessment of cerebral autoregulation dynamics from simultaneous arterial and venous transcranial Doppler recordings

in humans. *Stroke*. 1991;22:1148-1154.

81. Florence G, Seylaz J. Rapid autoregulation of cerebral blood flow: a laser Doppler flowmetry study. *Blood Flow Metab*. 1992;12:674-680.

82. Kiel JW. The effect of arterial pressure on the ocular pressure-volume relationship in the rabbit. *Exp Eye Res*. 1995;60:267-278.

83. Riva CE, Titze P, Hero M, Movaffagh A, Petrig BL. Choroidal blood flow during isometric exercises. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:2338-2343.

84. Best M, Gerstein D, Wlad N, Rabinovitz AZ, Hiller GH. Autoregulation of ocular blood flow. *Arch Ophthalmol*. 1973;89:143-148.

85. Friedman E. Choroidal blood flow. Pressure-flow relationships. *Arch Ophthalmol*. 1970;83:95-99.

86. Riva CE, Grunwald J, Petrig B. Autoregulation of human retinal blood flow: An investigation with laser Doppler velocimetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1986;27:1706-1712.

87. Riva C, Loebl M. Autoregulation of blood flow in the capillaries of the human macula. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1977;16:568-571.

88. Riva CE, Sinclair SH, Grunwald JE. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1981;21:34-38.

89. Flugel C, Tamm E, Mayer B, Lutjen-Drecoll E. Species differences in choroidal vasodilative innervation: Evidence for specific intrinsic nitrergic and VIP-positive neurons in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:592-599.

90. Nies A, Evans G, Shand D. Regional hemodynamic effects of beta-adrenergic blockade with propranolol in the unanesthetized primate. *Am Heart J*. 1973;85:97-102.

91. Cruickshank J. The clinical importance of cardioselectivity and lipophilicity in beta blockers. *Am Heart J*. 1980;100:160-178.

92. Araie M, Takase M, Sakai Y, Ishii Y, Yokoyama Y, Kitagawa M. Beta-adrenergic blockers: ocular penetration and binding to the uveal pigment. *Jpn J Ophthalmol*. 1982;26:248-263.

93. Fujio N, Kusumoto N, Odому M. Ocular distribution of carteolol after single and repeated ocular instillation in pigmented rabbits. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1994;72:688-693.

94. Elena PP, Kosina-Boix M, Moulin G, Lapalus P. Autoradiographic localization of beta-adrenergic receptors in rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1987;28:1436-1441.

95. Kahle G, Kaulen P, Wollensak J. Quantitative autoradiography of beta-adrenergic receptors in rabbit eyes. *Exp Eye Res*. 1990;51:503-507.

96. Hoste A, Sys S. The relaxant action of betaxolol on isolated bovine retinal microarteries. *Curr Eye Res*. 1994;13:483-487.

97. Yabuuchi Y, Kinoshita D. Cardiovascular studies of 5-3-tert-butylamino-2-hydroxy,



- propoxy-3, 4-dihydrocarbostyryl hydrochloride OPC-1085, a new potent b-adrenergic blocking agent. *Jpn J Pharmacol.* 1974;24:853-861.
98. Chiba S. The inotropic and chronotropic responses of isolated canine atrium to 5-(3-tert-butylamino-1-hydroxy) propoxy-3,4-dihydrocarbostyryl hydrochloride (carteolol). *Drug Res* 1979;29:895-897.
99. Man In' Veld A, Schalekamp M. How intrinsic sympathomimetic activity modulates the haemodynamic responses to beta-adrenoreceptor antagonists. A clue to the nature of their antihypertensive mechanism. *Br J Clin Pharmacol.* 1982;13:245S-257S.
100. Janczewski P, Boulanger C, Iqbal A, Vanhoutte P. Endothelium-dependent effects of carteolol. *J Pharmacol Exp.* 1988;247:590-595.
101. Grunwald J, Delehan J. Effect of topical carteolol on the normal human retinal circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992;33:1853-1856.
102. Yamazaki S, Baba H. Acute effect of topical carteolol on ocular pulsatile volume change. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1993;71:760-764.
103. Chiou GC, Watanabe K, McLaughlin MA, Liu HK. Are beta-adrenergic mechanisms involved in ocular hypotensive actions of adrenergic drugs? *Ophthalmic Res.* 1985;17:49-53.
104. Van Buskirk E, Bacon D, Fahrenbach W. Ciliary vasoconstriction after topical adrenergic drugs. *Am J Ophthalmol.* 1990;109:511-517.
105. Fujio N, Kitazawa T. Intraocular penetration of 14C-Carteolol hydrochloride (beta-blocker) in the albino rabbits. *Nippon Ganka Gakka Zasshi.* 1984;88:236-241.
106. Grajewski AL, Ferrari-Dileo G, Feuer WJ, Anderson DR. Beta-adrenergic responsiveness of choroidal vasculature. *Ophthalmology.* 1991;98:989-995.
107. 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.* 1996;40:339-343.
108. Schmidt C, Lotti V, LeDoutrec J. Penetration of timolol into the rabbit eye. Measurements after ocular instillation and intravenous injection. *Arch Ophthalmol.* 1980;98:547-551.
109. Pillunat L, Stodmeister R. Effect of different antiglaucomatous drugs on ocular perfusion pressure. *J Ocul Pharmacol.* 1988;4:231-242.
110. Passo MS, Palmer EA, Van Buskirk E. Plasma timolol in glaucoma patients. *Ophthalmology.* 1984;91:1361-1363.
111. Phillips CI, Bartholomew RS, Kazi G, Schmitt CJ, Vogel R. Penetration of timolol eye drops into human aqueous humour. *Br J Ophthalmol.* 1981;65:593-595.
112. Lee YH, Kompella UB, Lee VH. Systemic absorption pathways of topically applied beta adrenergic antagonists in the pigmented rabbit. *Exp Eye Res.* 1993;57:341-349.







