

レーザードップラー血流計によるイヌ小腸粘膜, 膵, 脾局所血流連続測定 of 検討

京都大学医学部第1外科

柳橋 健 今村 正之 水谷 直己
田窪 健二 戸部 隆吉

CONTINUOUS MEASUREMENT OF REGIONAL BLOOD FLOW IN THE CANINE INTESTINAL MUCOSA, PANCREAS AND SPLEEN WITH A LASER DOPPLER FLOWMETER

Ken YANAGIBASHI, Masayuki IMAMURA, Naomi MIZUTANI,
Kenji TAKUBO and Takayoshi TOBE

First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

レーザードップラー血流計 (LD5000) を用いて成犬18頭の麻酔下での小腸粘膜, 膵, 脾表層の局所血流連続測定を行い, norepinephrine, secretin 静注による血流反応を観察するとともに本法の基礎的検討を行った。本装置の測定値 (flow parameter) は測定領域 (約1mm³) 内の赤血球の RMS 流速と赤血球密度の平方根の積に比例することを示し, またプローブの固定法を工夫してアーチファクトを減少させることができた。norepinephrine 静注により各臓器とも再現性のある血流反応曲線を認め, 脾では赤血球容量の減少による DC レベルの上昇も認められた。また secretin 静注による膵血流増加に二つの反応パターンを認めた。本法は簡便で連続的な局所血流測定法として今後の応用が期待できる。

索引用語: レーザードップラー血流計, 小腸粘膜血流, 膵血流, 脾血流, secretin

はじめに

最近のオプトエレクトロニクスの進歩により, 光を使用してさまざまな生体情報が得られるようになってきているが, レーザードップラー法による血流測定もその一つである。その微小循環動態測定への応用は1975年 Stern¹⁾により開発されて以来, 主に皮膚血流について簡便で無侵襲的な, 即時応答性, 連続的な局所血流測定法へと発展してきた^{2)~4)}。消化器領域においては, 本法による血流測定の報告は, 現在まで胃⁵⁾⁶⁾, 小腸^{7)~11)}, 肝¹⁰⁾¹²⁾での実験が散見されるにすぎない。

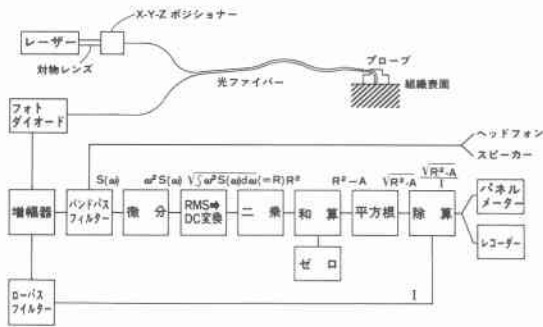
われわれは現在市販されているレーザードップラー微小循環血流測定装置の一つであるLD5000 Capillary Perfusion Monitor (Med Pacific, Seattle) を用いてイヌ小腸粘膜・膵・脾表層の局所血流測定を試み, nore-

pinephrine 静注による変化, および膵血流の secretin 静注による変化を連続的に観察記録してその結果を検討するとともに, 本法の問題点や有用性につき検討を加えた。

対象と方法

1) LD 5000 Capillary Perfusion Monitor について 図1にLD 5000のブロックダイアグラムを示した²⁾。LD 5000は He-Ne レーザー (波長632.8nm, 最大許容出力3mW), ファイバー光学系 (2本の有効直径62 μ m の石英ファイバーよりなる), フォトダイオード, 演算回路よりなる。レーザー光は送光用ファイバーを通して組織に照射され, 組織内の静止構造物や赤血球により散乱されるが, 赤血球により散乱されるとその赤血球の速度に応じたドップラー周波数偏移を受ける。散乱光は受光ファイバーを通じてフォトダイオードに伝達され, そこでドップラー周波数成分を電気信号として取り出し, 更に演算回路を通じて血流量には

図1 レーザードップラー血流計 LD5000のブロックダイアグラム



ば比例したパラメーター (flow parameter) が出力される。flow parameter は DC (光電流の直流成分で全受光散乱光強度を示す。) の表示値が 500~2,000mV に調整されている時に 0~2,000mV の範囲でその時々 の値がデジタル表示され、また時定数 0.03秒または 1秒でレコーダーに連続的に記録することができる。

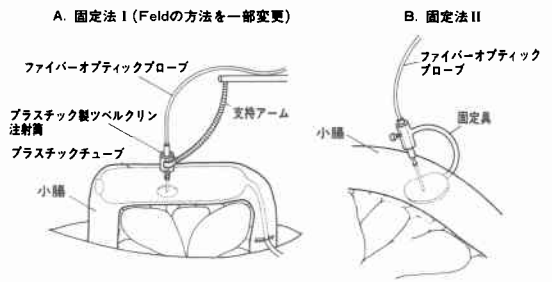
LD 5000では最初にゼロ点調整をする必要があり、まず測定部位より適当な DC 値 (1,300±100mV) が得られるように DC 調整した後、それとほぼ同じ DC レベルでゼロ点調整器の静止表面より得られる出力電圧を雑音成分として記憶させることによりなされ、この値が演算回路の中で off-set される。プローブには平型プローブ (接触面の直径 19mm) とニードル型プローブ (先端径 1.6mm) があり、組織表面に接触させると直ちに測定が開始される。プローブ先端の両ファイバー間の距離は 1mm であり、測定領域は表面より約 1mm の深さまでの約 1mm² とされている²⁾¹³⁾。

2) 対象と方法

24時間絶食 (水分のみ可) とした 7~18kg 体重の雑種成犬 18頭を用いた。sodiumopento-barbital (nembutal®) 25~30mg/kg 静注麻酔 (実験中適宜 2.5~5 mg/kg 静注追加) に気管内挿管を行い、従量式レスピレーター (アイカレスピレーター R60) にて room air で加圧呼吸を行った。右大腿動脈にテフロンチューブを挿入し圧トランスジューサー (Gould P23 ID) に接続して動脈圧のモニターを行い、左大腿静脈にもテフロンチューブを挿入して生理食塩水 5ml/kg/hr の点滴静注を行うとともに、薬剤の投与経路とした。

正中切開にて開腹し、小腸粘膜・脾・脾のうち各一頭につき 1~2 臓器の局所血流測定を LD 5000にて行った。ゼロ点調整は小腸粘膜・脾ではプローブの固定に先だち上述のごとくマニュアル¹³⁾どおりに行っ

図2 小腸粘膜血流測定におけるプローブの固定法



た。脾に関しては DC レベルが低くゼロ点調整器でセッとする DC レベルの範囲外であったため、初期の 5頭ではプローブを脾に固定した後脾門部を一塊としてクランプし 30秒後にゼロ点のセッを行ったが、後の 2頭ではゼロ点調整器の静止表面に色紙を使用することにより、脾と同じ DC レベルが得られ、マニュアルどおりにゼロ点調整を行うことができた。

小腸の測定部位は Treiz 靱帯より約 1m 肛門側とし、プローブの粘膜面への固定は図 2-B (固定法 II) のごとく行った。すなわち小腸壁に 16G 針にて小孔をあけ、そこよりニードル型プローブの先端を小腸内腔に挿入し、漿膜面に瞬間接着剤にて貼りつけた固定具により固定した。プローブ先端の位置は粘膜表面によりやくとどくあたりにくするようにするために、プローブを粘膜に向けておしあててゆき、少し抵抗を指に感じる所より 1.5~2mm 再びひきぬいた位置とした。脾の測定部位は右葉背面、脾は前面の任意の部位とし、平型プローブを両面接着テープと瞬間接着剤により表面に貼りつけて固定した。固定後はプローブや固定具による組織の圧迫や変形をきたさないように注意し、皮膚創縁を互いによせた後、約 15~30分間基礎状態における測定を行い、その後に薬剤の投与を開始した。

投与薬剤は norepinephrine 1/64, 1/16, 1/4, 1µg/kg をそれぞれ前回投与薬剤による各測定値の変化が消失してから静注してその変化を測定した (小腸粘膜: n=9, 脾・脾: n=7) また脾血流測定において 5頭について secretin (セクレパン®, エーザイ) 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 1µg/kg 静注 (投与間隔は投与量に応じ 20~30分間以上あけた), また別の 3頭について secretin 3U/kg 3回連続静注 (投与間隔は 1回目と 2回目の間を 30分, 2回目と 3回目の間を 15分とした) を行いその変化を測定した。薬剤はすべて生理食塩水にて希釈し全量を 0.2ml/kg として one shot 静注した。薬剤は主に低濃度より順に投与したが、時に順を入れかえたものも

ある。

記録は日本光電メディカルコーダーPMP 3004を用いて平均大腿動脈圧, flow parameter, DCを, また flow parameter, DCはクラレ KR-102レコーダ, またはワタナベサーボコーダーSR652にも紙送りスピード 10~30mm/minにて記録させた。LD 5000の時定数は 1秒を使用した。薬剤投与による flow parameter の変化量の, 投与前値(投与前1分間の flow parameter の平均値をとった)に対する百分率を計算し, 血流量変化率とした。

結 果

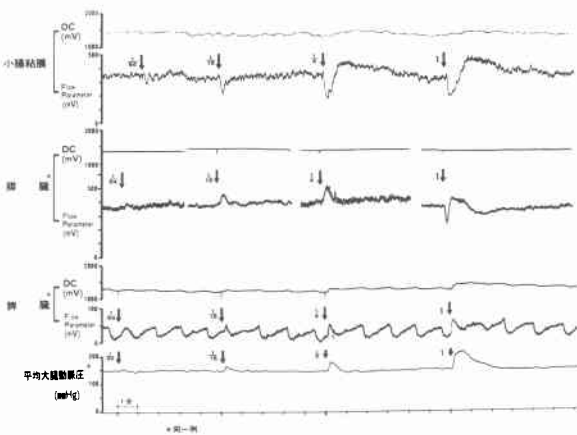
1) 基礎状態における測定: 各臓器での flow parameter の平均値およびその時の平均大腿動脈圧を表 1 に示した。flow parameter の測定曲線(以下血流曲線と略す)においては呼吸に同期した小さな変動の他に, 小腸粘膜では3~9cpm のかなり不規則な周期性変動を, 脾においては時々2~3cpm のやや不規則な小さな周期性変動を認め, 脾においては0.7~1.8cpm の非常に規則的な周期性変動がみられることがあり, 特に脾門部のクランプを行った例では大きな波がみられ

表 1 麻酔下基礎状態での小腸粘膜, 脾, 脾の flow parameter とその時の平均大腿動脈圧

	n	Flow Parameter (mV)	平均大腿動脈圧 (mmHg)
小腸粘膜	9	580 ± 187	120 ± 19
脾 臓	7	223 ± 81	134 ± 18
脾 臓	5 ^{a)}	83 ± 20	142 ± 16
	2 ^{b)}	23 ± 8	151 ± 14

a) 脾門部をクランプしてゼロ点調整を行った例
b) ゼロ点調整器でゼロ点調整を行った例

図 3 norepinephrine 静注による血流変動(レーザー Doppler 血流計による測定記録の 1 例)



た。

DC 曲線は脾では殆んど変化を示さず一定の値であった。脾ではほとんど一定かまたは血流曲線の周期性変動に一致してゆるやかな周期性変動を認めた。小腸粘膜における測定においては DC 曲線はやや不安定で小さな不規則な動揺を示す例もあったが, 平均的レベルはほぼ一定であった。いずれの部位においても, 時にプローブの固定がはずれかけたり, 呼吸運動や体動のために腹壁等でプローブが押されたりして, 血流曲線や DC 曲線の動揺が強くなったり, 時々バースト状の瞬間的な上方への突出波を認めたりして, プローブの再固定を要する場合があったが, おおむねは良好な安定した記録を実験を通して得ることができた。

2) norepinephrine 静注による小腸粘膜・脾・脾の局所血流変動: 図 3 に各臓器における実際の測定記録の一例を示した。小腸粘膜においては図 4 に模式的に示したように, 静注後数秒よりの動脈圧の急激な上昇と同時に血流量の低下がみられ 10~20 秒後に最小となる。その後上昇に転じ, 一時的に血流量の増加を示した後ゆっくり前値に復した。脾においては動脈圧の上昇とともに血流量の低下する例が多いが, 1/16, 1/4 μg/kg 静注では反対に増加する例もみられた。また血流量の低下の後, 小腸と同様に一時的に血流量の増加をきたす例もみられたが, 前値まで達せずその後ゆっ

図 4 norepinephrine 静注による小腸粘膜血流量および平均大腿動脈圧の変動曲線の模式図

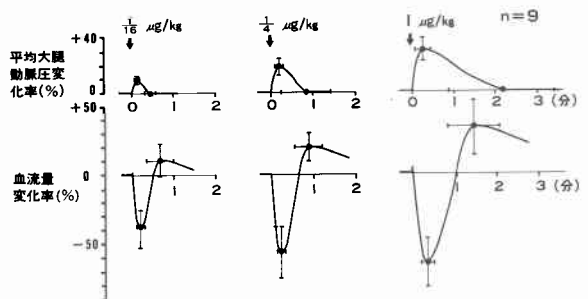


表 2 norepinephrine 静注による最大血流量変化率および平均大腿動脈圧の最大増加率

	n	1/16 μg/kg	1/4 μg/kg	1 μg/kg
小腸粘膜	9	-38.4 ± 13.7% *	-56.9 ± 18.9% *	-65.5 ± 17.7% *
脾 臓	7	- 6.5 ± 7.5% *	-26.8 ± 19.2% *	-48.4 ± 21.4% *
脾 臓	5 ^{a)}	82.0 ± 17.9%	88.9 ± 15.8%	131.7 ± 47.1%
平均動脈圧	9 ^{b)}	9.7 ± 3.6% *	18.2 ± 4.6% *	29.4 ± 7.3% *

注1) 正の値は増加率, 負の値は低下率を示す
注2) a) 脾門部をクランプしてゼロ点調整した症例
b) 小腸粘膜血流変動測定時の動脈圧増加率
c) *印の左右の測定結果間の Student-t 検定にて p < 0.01 で有意差を認める

くりと前値に復する例もみられた。脾においては動脈圧の上昇と同時に血流量の増加がみられ、10~20秒後に最大となり、その後少し低下をきたした。

1/64 μ g/kg 静注では、小腸粘膜では9例中6例に血流量の低下を(最大血流量低下率: 15.8 \pm 4.6%)、脾では7例中3例にわずかに認められる血流量の増加をみたが、他の例では血流曲線の周期性変動と区別しうるはっきりした変動は認めなかった。また脾では1/64 μ g/kg ではほとんど血流量の変化をみなかった。表3に各臓器における norepinephrine 1/16, 1/4, 1 μ g/kg 静注後の最大血流量変化率を示した。

DC レベルは小腸粘膜、脾では norepinephrine 静注後も変化をきたさない例がほとんどであったが、1 μ g/kg 静注で血流曲線の低下に伴わずかに増加または低下をきたす例もあった。脾では norepinephrine 静注後血流量の増加とともに DC 曲線も上昇し、その後ゆっくりと数分間かかって下降し前値に復した。またこの DC レベルの増加率は投与量に応じ大きくなった。

3) secretin 静注による脾局所血流変動: 図5に測定結果を示した。脾血流量は secretin 静注後約30秒より増加しはじめ1~1.5分後に最大に達し、その後漸減して5~12分後にはほぼ元の値に復した。secretin を1/16, 1/8, 1/4U/kg を順に投与した2例においては1/16, 1/8U/kg 静注では血流変動をほとんど認めなかったが、実験開始後1/8U/kg を初めに投与した1例および初回1/16U/kg 静注の後、1/4U/kg を静注した2例においては、最大血流量増加率がそれぞれ142%, 325%, 58%と著明に大きくまた増加極値に達するまでの時間が約3分と長くなるパターンを認めた。またこのうち2例では血流曲線がピークに達する頃より DC が少し低下した(図6)。

この3回を除いては図5に示すように1/4U/kg 以上の静注で血流量は増加を示し、最大増加率は1/4, 1/2, 1U/kg 各静注でそれぞれ21.5 \pm 15.7%, 38.1 \pm 19.6%, 60.1 \pm 25.7%であった。これらの例では DC の変化は認めなかった。また平均動脈圧は一部でわずかの低下をみた例もあったが、ほとんどの例では変化を認めなかった。

4) secretin 3U/kg 3回連続静注の脾血流変動に及ぼす影響: secretin 静注による最大血流量増加率は初回投与時65.5 \pm 22.2%, 2回目83.5 \pm 40.2%, 3回目21.0 \pm 18.2%となり、投与間隔30分では血流変動の大きさにはっきりした差を認めないが、15分後に投与す

図5 secretin 静注による脾局所血流量の変動

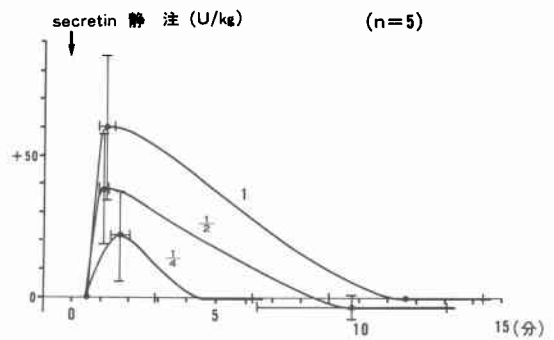
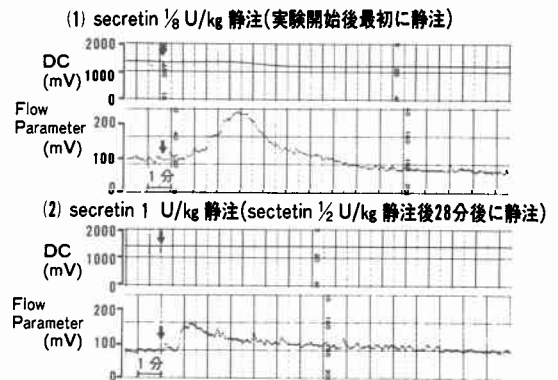


図6 同一犬における secretin 静注による脾局所血流変動にみられた2つの反応パターンの例



ると血流量の変化は小さくなる傾向を認めた。

考 察

レーザードップラー法による血流現象の測定は1972年の Riva らによる網膜血管血流速度測定¹⁴⁾に始まるが、この方法が局所微小循環血流測定に応用されたのは1975年の Stern による皮膚血流測定¹⁵⁾が最初である。1977年 Holloway と Watkins¹⁵⁾¹⁷⁾は Stern により開発されたこの方法を臨床応用に簡便に用いるようにフォトダイオードとファイバー光学系を使用した装置を試作したが、これが LD 5000のプロトタイプとなった。現在市販されているレーザードップラー血流計としてはこの他に Periflux (Perimed KB, Sweden)があり、これは Nilsson, Öberg, Tenland¹⁷⁾¹⁸⁾により開発されたもので、mode interference noise を減少させるため2組の受光ファイバーと2個の光電検出器を使った differential channel method を特色とする。光学ファイバー系を使ったものとしては他に Bonner⁴⁾¹⁹⁾, Wunderlich²⁰⁾もそれぞれ独自の装置を試作している。

レーザードップラー流速測定法は、単色性、可干渉性 (coherence) というレーザーの性質を利用し、レーザー光が運動粒子により散乱された際に生じる運動粒子の速度に応じたドップラー周波数偏移量をヘテロダイン検波法によって検出するものである²¹⁾。微小循環系においては組織内の細胞、結合織、血管壁などは静止した散乱体として働き光をさまざまな方向に散乱させるため、光は赤血球にさまざまな方向から衝突する。また赤血球の運動方向や速度も一様ではないため、生ずるドップラー周波数偏移は全体としてある周波数の広がりをもったスペクトル (spectrum of Doppler frequencies) となる。受光ファイバーを通して集められた散乱光は光電検出器上で互いに干渉し、ヘテロダイン又はホモダイン効果によりビート周波数スペクトルを形成し電気信号に変換されるが、このパワースペクトルの周波数の広がりや強さは赤血球流速と組織内の赤血球密度に関係してくる。血流動態の連続的なモニターのためにはこのビート信号スペクトルからある一つの値を抽出する必要があり、この flow parameter として Stern ら²²⁾はドップラー信号の RMS 周波数

$$\sqrt{\int_0^{\infty} \omega^2 P(\omega) d\omega}$$

(但し ω : 角周波数, $P(\omega)$: ドップラー信号のパワースペクトル) を用いたが、LD5000でもこの計算式が用いられている。この flow parameter はビート信号を簡単な演算回路に通すことによって抽出される (図1)。現在各研究者により用いられている flow parameter の計算式は少しずつ異っており、その相違点の一つは $P(\omega)$ の一次積率をとるか二次積率をとるか

$$\int \omega P(\omega) d\omega \text{ or } \sqrt{\int \omega^2 P(\omega) d\omega}$$

という点にある。Bonner 等⁴⁾¹⁹⁾は flow parameter として平均ドップラー周波数

$$\langle \omega \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} |\omega| P(\omega) d\omega$$

を用い $\langle \omega \rangle$ が、

$$\langle \omega \rangle = \frac{\langle V^2 \rangle^{1/2}}{(12\xi)^{1/2} a} \beta f(\bar{m}) \quad (1)$$

で表わされることを理論的に示した (ただし、 $\langle V^2 \rangle^{1/2}$: 赤血球の RMS 流速; ξ : 実験的定数 (~ 0.1); a : 赤血球の有効半径; β : 装置の性能により決定される定数; \bar{m} : 検出される1個の光子が組織内で赤血球と衝突した平均回数で、組織内の赤血球密

度に比例する)。

また $f(\bar{m})$ は、

$$f(\bar{m}) = \frac{2e^{-2\bar{m}}}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{\infty} \frac{(2\bar{m})^j \Gamma(j + \frac{1}{2})}{\Gamma(j+1) \Gamma(j)} \quad (2)$$

で表わされ、この関数 $f(\bar{m})$ は $\bar{m} < 1$ の時は $2\bar{m}$ に、 $\bar{m} > 1$ の時は $\bar{m}^{1/2}$ に近似する (図7)。彼らは微小循環シミュレーションモデルを用いての実験でこの関係の成立することを確認し、皮膚・筋血流量測定において $2 \sim 60 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ の範囲では、 $\langle \omega \rangle$ は文献上にみられる他の方法による血流量測定値とよく相関しており、絶対値へ換算しうることを述べている⁴⁾²³⁾。組織血液量が多い場合 ($\bar{m} > 1$) は、多重散乱の影響のため、血流量の変化に組織血液量の変化を伴う場合、flow parameter の変化は真の血流量の変化よりも少なくなるといふ。

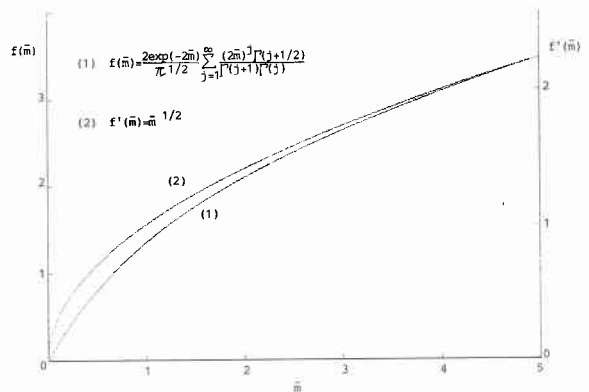
Nilsson ら¹⁷⁾も flow parameter として $P(\omega)$ の一次積率を用い、独自の微小循環シミュレーションモデルを作製して実験を行い、赤血球密度が高くなく測定領域内に大きな血管がない場合は、flow parameter は平均赤血球流速と赤血球密度の積に比例し、したがって血流量とよく比例することを示した。

$P(\omega)$ の二次積率を用いた Stern, Holloway らの flow parameter について(1)式に相当する関係式を Bonner らの理論に基いて導き出してみると、

$$\langle \omega^2 \rangle^{1/2} = \sqrt{\int_{-\infty}^{\infty} \omega^2 P(\omega) d\omega} = \frac{\langle V^2 \rangle^{1/2}}{(12\xi)^{1/2} a} 2\beta^{1/2} \bar{m}^{1/2} \quad (3)$$

となり、 \bar{m} が一定の時は (1)、(3) 式からわかるよう

図7 flow parameter に $P(\omega)$ の一次積率を用いた場合と二次積率を用いた場合との比較 ($f(\bar{m})$ と $\bar{m}^{1/2}$ の曲線比較)



に両パラメーターとも赤血球の RMS 流速に比例する。 \bar{m} は組織内赤血球密度 (組織血液量) に比例しその大きな変化は DC の変化をきたす。したがって DC の変化がない場合 \bar{m} の変化も少ないと考えられ、この場合両パラメーターとも血流量の変化とよく比例すると思われる。 $\langle \omega \rangle$ と $\langle \omega^2 \rangle^{1/2}$ の違いは、定数部分を除けば (1) 式で $f(\bar{m})$ に相当する所が (3) 式では $\bar{m}^{1/2}$ になっていることであり $\bar{m} > 1$ の時は両者間にあまり違いはないが、 $\bar{m} < 1$ の時は $f(\bar{m})$ は $2\bar{m}$ に近似してくることから、 $\langle \omega^2 \rangle^{1/2}$ よりも $\langle \omega \rangle$ の方が血流量とより比例関係に近くなると考えられる (図 7)。

本法のもう一つの問題点はプローブを静止表面にあててえられるゼロ点に対して流入血行を遮断した組織の flow parameter が完全にゼロにはならず、いくらか正の値をとること³⁾²⁴⁾²⁵⁾ (小腸粘膜血流測定において流入血行を完全に遮断した時の flow parameter は 30~70mV (平均 47mV (n=3)) であった)、また本法の、他の血流測定法による測定結果との比較による較正実験においても直線回帰式の Y 切片は正の値になることがいくつかの実験で示されていることである¹⁵⁾²²⁾²⁵⁾。Tenland ら³⁾は切除された組織でも数時間は flow parameter はゼロ点より少し高い値を保ち続けるが数日後はゼロになることを述べており、このゼロ点の差は何らかの生体現象を拾っていると思われるが血流とは異ったものであり、現在のゼロ点についてはまだ検討を要すると思われる。

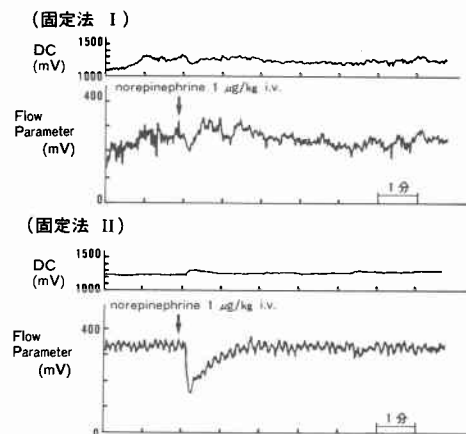
また LD5000 では測定中の DC レベルがゼロ点調整時の DC レベル (baseline DC value) と大幅にずれてくると、雑音成分の大きさが変化し、flow parameter に雑音成分が混入してくる。プローブをゼロ点調整器の静止表面にのせ、イヌ脾の DC レベルで 1,300mV に DC 調整してゼロ点調整を行った後、DC を 800mV および 1,900mV に変化させると flow parameter の値は 0 から -20mV, +5mV のあたりにずれる。ついで犬脾の DC レベルあたりで同様の操作を行うとそれぞれ -60mV, +20mV のあたりまでずれる。すなわち組織の DC レベルが低い程 (イヌでは DC レベルは脾 > 小腸粘膜 > 脾) この誤差は大きくなり、DC レベルが低く flow parameter の値が小さい組織では特にこの誤差は問題となる。

(3)式から考えれば、一般に異った組織では \bar{m} が異なるため、それぞれの flow parameter により各組織間の血流量の比較を行うことはできない。脾臓では基礎状態における flow parameter の値が低く、これは赤血球

密度が非常に高いことで (3)式より説明しうるが、上記の各問題点は脾臓のように赤血球密度の高い組織程顕著にあらわれてくるため、数値的には flow parameter の変化は真の血流量変化とはかなりずれたものになっていると考えられる。

以上の原理や装置に内在する問題のほか、プローブの固定に関して、プローブと組織との間の相対的動きや血液などの介在物により発生するアーチファクトと、プローブによる組織の圧迫の血流に与える影響の問題がある。脾、脾においては平型プローブを臓器表面に貼りつけることにより、圧迫による影響はないとはいえないものの、長時間にわたって安定した血流測定を行うことができた。本法による小腸粘膜血流測定は今までイヌにおいて Feld ら⁷⁾Shepherd ら^{8)~10)}が行っているが、Feld らは腸管内にプラスチックチューブを挿入して、Shepherd らも cigar shaped probe を腸管内に挿入してプローブの固定を行っている。われわれは最初 Feld らの方法を参考にして図 2-A のごとき固定法を行ったが、図 8 に示すように血流曲線および DC 曲線の変動が激しく満足な測定曲線が得られなかったため、図 2-B に示す方法を考案した。これにより多少まだ DC の小さな変動を示すものの比較的安定した血流曲線を長時間にわたって記録することができた。われわれの方法ではプローブの先端の位置が問題となるが、数例において腸壁を切開してプローブの位置を検討し、現在の方法でプローブ先端が粘膜を圧迫することなく表面にほぼ接するあたりに固定されるのを確認した。皮膚、睾丸 (ラット) での検討ではプ

図 8 小腸粘膜血流測定におけるプローブの固定法の比較 (同一犬での固定法 I と II による測定記録の 1 例を示す)



ローブと表面の距離は1mmまで離れても flow parameter の値にはほとんど影響しないとされており²³⁾、小腸粘膜でも0.5mm程の位置の相違では flow parameter の値はあまり変らなかった。DC 曲線が多少動揺を示すのは、腸運動や粘膜絨毛の収縮運動、内容物の介在による影響が考えられ、これらが血流曲線にアーチファクトを与えている可能性があるが、その判別はむづかしいと思われる。

血流曲線にみられた周期性変動については、前述のように特に小腸粘膜ではアーチファクトとの鑑別はむづかしいと思われるが、皮膚、睪丸などにおいても本法により同じような現象が観察されている²³⁾。同様な現象は photoplethysmography で組織血液量の変化としてよく研究され、また生体顕微鏡による個々の小血管の観察でも周期的な収縮が観察され、vasomotion と呼ばれている²⁶⁾。Golenhofen²⁷⁾は、平滑筋は周期1分程の slow rhythm (minute-rhythm) をその固有の性質として有しており、血流の周期性変動にはこの性質に基く小血管の自動的周期性収縮と中枢性調節機構の相方の関与を考えている。脾臓においては従来よりイヌやネコで脾容積や脾重量の変化また脾動脈血流量の測定において周期性変動が観察されており、内臓神経刺激後、脾血行の一時遮断後、catecholamine 投与後、その他いろいろな刺激により惹起されることが知られているが^{28)~30)}、今回の実験でも脾門部をクランプした後に大きな波を認めた。

LD5000の測定領域は表面から深さ0.6~1.5mm (色素沈着や赤血球密度、血管の立体的配列などがこの深さに関係してくる¹³⁾¹⁸⁾²²⁾までの約1mm³とされている。イヌ小腸粘膜の血管構築は Reynolds³¹⁾の文献などにみられるが、絨毛の高さは約1mm、その下に腸腺が約300~400 μ mの層をなしており、われわれの行った小腸粘膜血流測定は主に腸絨毛の赤血球流量を測定していると考えられる¹⁰⁾。

今回われわれは血管作動性物質として主に α 受容体刺激作用を有する norepinephrine を静注して各臓器の局所血流量の変化を観察した。その結果小腸粘膜では明瞭な容量反応関係を得ることができた。Immink ら³⁰⁾はイヌにおいて腹腔内各動脈枝の血流量の norepinephrine 1~1,024ng/kg 静注による変化を電磁血流計にて測定しており、空腸動脈では血流量の低下(最大血流量低下率81.3 \pm 3%, D_{50} 19ng/kg)をみたこと、また上脘十二指腸動脈の脾枝では1 μ g/kg 附近では血流量の低下(最大血流量低下率34 \pm 17%)を

示したが、それより低容量では一定した変化を示さなかったと述べている。また固有脾動脈では血流量は最初増加しその後少し低下をきたすこと(最大血流量増加率219 \pm 52%)、および norepinephrine の投与により血流量の周期性変動が惹起されたことを述べている。これらの結果はわれわれの結果と比較的よく一致している。Immink らは脾臓における血流量の増加の理由として動脈圧の上昇による受動的血管拡張による脾血管抵抗の低下をあげている。

脾臓はイヌやネコでは赤血球の貯蔵所としての機能を有するといわれており、three compartment model が提唱されている。Song と Groom³²⁾³³⁾による猫脾臓の washout analysis によれば、各 compartment はそれぞれ11, 56, 33%の赤血球容量をもち、 $T_{1/2}$ は各々54, 8, 0.5分、また血流量としては0.2, 9.8, 90%を占めるといふ。また norepinephrine により第2の compartment の赤血球容量が大幅に低下すると述べており、このモデルに基いて考えれば今回の norepinephrine 静注による変動曲線において、flow parameter には第3の compartment が、DC の変動には第2の compartment の変動が大きく関与していると考えられる。測定中の DC の変化については主に赤血球密度の変化に関係してくるものの、632.8nm という波長では還元 Hb の方が酸化 Hb よりも吸光度が数倍高く、還元 Hb が増えれば DC は低下すると考えられ、DC 曲線の変動の解析にはこのことも考慮されなくてはならない。

secretin 静注によるイヌ脾血流量変動の測定においてはわれわれは二つの反応パターンを認めた。すなわち静注後1~1.5分後に増加が極値に達するパターンと、投与後3分頃に増加極値をもち血流量増加率の高い反応パターンとである。竹島ら³⁴⁾は secretin (Boots) 1U/kg/時持続刺激下および非刺激下において secretin 0.5~4U/kg を静注し1~2分後に増加極値に達したことを(2U/kg 静注時の最大血流量増加率は27.5%)、一方黒田³⁵⁾は secretin (Boots) 1U/kg 静注にて220~310(平均250)秒後に増加極値に達したことを(最大血流量増加率130~210(平均182)%)述べており、文献上でも異った結果がみられ、実験時の状況設定に未知の相違があることを考えさせる。黒田はまた連続的に二回以上投与すると血流量の増加は次第に少くなり遂には消失するのに対し、外分泌量は比較的良好に保たれたと述べている。われわれの三回連続投与の実験では投与間隔を30分あけると血流量増加率はかわらず、15分では血流量増加率は減少する傾向を

認めたが、このことは血流量の増加がほぼ15分以内に終了するのに対し外分泌量の増加は20～30分続くことを考えると興味深い。secretin 静注による膵血流量増加の機序としては、従来より膵管内圧の上昇による Bayliss 効果説³⁶⁾、分泌活動の亢進による代謝活性の亢進によってもたらされるとするもの³⁷⁾、膵間質への kallikrein の放出による機能性充血説³⁸⁾、また膵外分泌亢進作用と血流増加作用は別のプロセス又はレセプターによるとするもの³⁹⁾などいろいろな説がみられる。黒田や井上らは外分泌機能の廃絶した線維化膵は対して secretin は全く血流増加作用を有しないことより、secretin の血流増加作用は膵外分泌亢進の結果であると述べている。Hilton ら³⁹⁾は pancreozymin や acetylcholine により膵液中の kallikrein が増加することを示し kallikrein を mediator とする機能性充血説を唱えているが、secretin には血流増加作用を認めず、secretin の頻回投与により膵液中の kallikrein の washout 現象を認めている。黒田は secretin による膵液分泌の亢進により膵管内圧が上昇し、kallikrein が組織間隙へ逸脱することにより血流増加をきたすと述べている。われわれの実験では血流量の増加極値に達するまでの時間も異なる二つの反応パターンを認めたが、このことは黒田の説で一元的に説明しうるものか、または複数の mediator またはプロセスの存在を考えねばならないものか、このことを検討するには測定するパラメーターの数をさらにふやした実験が必要と思われる。

以上述べてきたようにレーザー Doppler 微小循環血流測定法は、血流量の測定法として定量的な測定という点においてはいまだいくつかの問題のあること、表層のみしか測定できないこと、プローブの組織表面への良好な固定を得ることが必要であり腹腔内臓器血流の意図下や内視鏡下の測定に困難が予想されることといった欠点がある。しかし手技が簡単で、針を組織に刺入するといった必要がなく、即時応答性で連続的測定法であること、また小さな変化にも鋭敏に反応し時間分解能もすぐれているといった利点があり、急性実験で連続的に血流量の変化を観察したい場合には非常に有用である。またその空間特性、簡便性、無侵襲性を生かして血流分布を調べるのにも有用と考える。臨床応用として消化器領域では内視鏡下の血流測定および手術時への応用が考えられるが、手術時には露出した部位であれば安定した再現性のあるデータを得ることは十分可能であり今後その応用への道を探ってゆ

きたい。

まとめ

(1) レーザー Doppler 血流計 LD 5000 Capillary Perfusion Monitor を用いて、麻酔下でのイヌ小腸粘膜、膵、脾表層の局所血流連続測定を行った。

(2) LD 5000 の flow parameter は、Bonner らの理論に従えば、測定領域内の赤血球の RMS 流速と組織内赤血球密度の平方根の積に比例することを示した。またゼロ点の問題、雑音成分の混入といった問題点を整理し検討を加えた。

(3) プローブの組織への固定法を工夫し、特に小腸粘膜での固定法を改良することにより、固定に関するアーチファクトをかなり軽減することができ安定した血流曲線が得られた。各臓器とも時々血流曲線に周期性変動を認めた。イヌ小腸粘膜では粘膜絨毛の血流測定を行っていると考えられた。

(4) 麻酔下基礎状態における小腸粘膜、膵での flow parameter の値はそれぞれ $580 \pm 187 \text{ mV}$ 、 $223 \pm 81 \text{ mV}$ であった。norepinephrine 静注により各臓器で再現性のある血流反応曲線が得られ、特に小腸粘膜においては明瞭な容量反応関係をうる事ができた。

(5) 脾臓では基礎状態における flow parameter の値が 100 mV 以下と低く、赤血球密度が高いために原理的に問題が多いと思われるが、微小循環レベルにおける血流の規則的な周期性変動と、norepinephrine 静注による反応パターンを、赤血球容量変化 (DC の変化) とともにとらえることができた。

(6) secretin 静注による膵血流量増加に二つの反応パターンを認め、また短時間内 (15分間隔) の連続投与では膵血流量増加率は減少した。

(7) 本法は組織表層の局所 (1 mm^3) 血流の連続的かつ簡便な測定法として、消化器領域においても今後の応用が期待できる。

稿を終るにあたり、本文中 (3) 式を導き懇切に御教授頂きました京都大学理学部物理学教室松原武生教授に深謝致します。

本論文の要旨は第24回日本消化器外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Stern MD: In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 524: 56-58, 1975
- 2) Holloway GA: Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. In: *Non-invasive Physiological Measurements*. vol 2. Edited by P

- Rolfe. London, Academic Press Inc., 1983, p219—249
- 3) Tenland T: On Laser Doppler Flowmetry, Methods and Microvascular Applications. Linköping University Medical Dissertations. No 136, 1982, p1—51
 - 4) Bonner RF, Clem TR, Bowen PD et al: Laser Doppler continuous realtime monitor of pulsatile and mean blood flow in tissue microcirculation. In: Scattering Techniques Applied to Supramolecular and Nonequilibrium System. Edited by S-H Chen, B Chu, R Nossal. New York, London, Plenum Press, 1981, p685—701
 - 5) Rotering RH, Larsen KR, Dixon JA et al: The measurement of canine gastric mucosal blood flow with a laser Doppler velocimeter. *Physiologist* 24: 15, 1981
 - 6) 齊田 宏, 村上元庸, 関 真理ほか: レーザドップラ法によるラット胃粘膜血流測定の検討. *日消病会誌* 81: 16—21, 1984
 - 7) Rotering RH, Dixon JA, Holloway GA et al: A comparison of the He-Ne laser and ultrasound Doppler systems in the determination of viability of ischemic canine intestine. *Ann Surg* 196: 705—708, 1982
 - 8) Feld AD, Fondacaro JD, Holloway GA et al: Measurement of mucosal blood flow in the canine intestine with laser Doppler velocimetry. *Life Sciences* 31: 1509—1517, 1982
 - 9) Shephard AP, Riedel GL: Continuous measurement of intestinal mucosal blood flow by laser Doppler velocimetry. *Am J Physiol* 942: G668—G672, 1982
 - 10) Shepherd AP, Riedel GL, Ward WF: Laser-Doppler measurements of blood flow within the intestinal wall and on the surface of the liver In: *Microcirculation of the Alimentary Tract*. Edited by A Koo, SK Lam, LH Smaje. Singapore, World Scientific, 1983, p115—129
 - 11) Shepherd AP, Riedel GL, Maxwell LC et al: Selective vasodilators redistribute intestinal blood flow and depress oxygen uptake. *Am J Physiol* 247: G377—G384, 1984
 - 12) 井戸健一, 寺田友彦, 川本智章ほか: レーザドップラ法による犬肝組織血流測定の試み. *日消病会誌* 81: 115, 1984
 - 13) Med Pacific Corporation LD 5000 Capillary Perfusion Monitor Operator's Manual. Washington, 1983, p15—17
 - 14) Riva C, Ross B, Benedek GB: Laser doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Invest Opth* 11: 936—944, 1972
 - 15) Holloway GA, Watkins DW: Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. *J Invest Derm* 69: 306—309, 1977
 - 16) Watkins DW, Holloway GA: An instrument to measure cutaneous blood flow using the Doppler shift of laser light. *IEEE Trans Biomed Eng* 25: 28—33, 1978
 - 17) Nilsson GE, Tenland T, Öberg PA: A new instrument for cutaneous measurement of tissue blood flow by light beating spectroscopy. *IEEE Trans Biomed Eng* 20: 12—19, 1980
 - 18) Nilsson GE, Tenland T, Öberg PA: Evaluation of a laser Doppler flowmeter for measurement of tissue blood flow. *IEEE Trans Biomed Eng* 27: 597—604, 1980
 - 19) Bonner R, Nossal R: Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue. *Appl Optics* 20: 2097—2107, 1981
 - 20) Wunderlich RW, Folger RL, Giddon DB et al: Doppler blood flowmeter and optical plethysmograph. *Rev Sci Instrum* 51: 1258—1262, 1980
 - 21) 朝倉利光, 三品博達, 小山富康: レーザドップラ法による血流測定法, 渥美和彦編, レーザー医学—基礎と臨床—, 中山書店, 1980, p107—122
 - 22) Stern MD, Lappe DL, Bowen PD et al: Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 232: H441—H448, 1977
 - 23) Tahmoush AJ, Bowen PD, Bonner RF, et al: Laser Doppler blood flow studies during open muscle biopsy in patients with neuromuscular diseases. *Neurol* 33: 547—551, 1983
 - 24) Holloway GA: Cutaneous blood flow responses to injection trauma measured by laser Doppler velocimetry. *Invest Derm* 74: 1—4, 1980
 - 25) Johnson JM, Taylor WF, Shepherd AP et al: Laser-Doppler measurement of skin blood flow: Comparison with plethysmography. *J Appl Physiol* 56: 798—803, 1984
 - 26) 高木健太郎, 祖父江逸郎, 浅野牧茂ほか: 周期的収縮性. 末梢循環研究会編, 末梢循環とその病態生理, 東京, 東京大学出版会, 1967, p105—155
 - 27) Golenhofen K: Slow rhythm in smooth muscle (minute rhythm). In: *Smooth Muscle*. Edited by E Bulbring, A Brading, A Jones et al, London, Edward Arnold, 1970, p316—342
 - 28) 西丸和義: 脾臓の血管, リンパ管, 体液流. 西丸和義著, 脈管学の基礎的研究, 総括編. 呉, 東京慈恵会脈管学研究所, 1967, p1—21
 - 29) Greenway CV, Lawson AE, Stark RD: Vas-

- cular responses of the spleen to nerve stimulation during normal and reduced blood flow. *J Physiol* 194 : 421—433, 1968
- 30) Immink WFGA, Beijer HJM, Charbon GA : Hemodynamic effect of norepinephrine and isoprenaline in various regions of the canine splanchnic area. *Pflugers Arch* 365 : 107—118, 1976
- 31) Reynolds DG, Kenneth GS : Intestinal microvascular architecture in endotoxin shock. *Gastroenterology* 63 : 601—610, 1972
- 32) Song SH, Groom AC : Storage of blood cells in spleen of the cat. *Am J Physiol* 220 : 779—784, 1971
- 33) Groom AC, Song SH : Effects of norepinephrine on washout of red cells from the spleen. *Am J Physiol* 221 : 255—258, 1971
- 34) 竹島 徹, 宮本二郎 : 交叉熱電対法による脾血流動態の検討 (とくに脾血流と脾外分泌反応との関連性について). *日消病会誌* 76 : 325—339, 1972
- 35) 黒田 慧 : 脾血行動態の研究. *日外会誌* 73 : 325—339, 1972
- 36) Bennet AL, Still EV : A study of the relation of pancreatic duct pressure to the rate of blood flow through the pancreas. *Am J Physiol* 106 : 454—459, 1933
- 37) Inoue, K, Kawano T, Shima K et al : Relationship between development of fibrosis and hemodynamic changes of the pancreas in dogs. *Gastroenterology* 81 : 37—47, 1981
- 38) Beijer HJ, Brouwer FAS, Charbon GA : Time course and sensitivity of secretin-stimulated pancreatic secretion and blood flow in the anesthetised dog. *Scand J Gastroentology* 14 : 295—300, 1979
- 39) Hilton SM, Jones M : The role of plasma kinin in functional vasodilatation in the pancreas. *J Physiol* 195 : 521—533, 1968