

Experimental Studies on Hemodynamics of Peripheral Nerve under Ischemic Conditions – Measurement of Blood Flow by Laser Doppler Method

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8069

阻血状態下の末梢神経組織の血行動態に関する実験的研究 —レーザードップラー法による血流測定—

金沢大学医学部整形外科科学講座 (主任: 野村 進教授)

宮 崎 憲 太 郎

(昭和63年10月25日受付)

末梢神経の局所血流測定法としてレーザードップラー法の有用性を犬坐骨神経で検討した。水素ガスクリアランス法との比較において $r=0.977$ ($p<0.01$) という高い相関を認め、また熱拡散法との同時連続測定においても近似した変化を示した。レーザードップラー法は末梢神経血流測定法として、1) 連続測定が可能, 2) 小組織の測定が可能, 3) 環境変化の影響を受けにくい, 4) 絶対値の較正が可能である、などの利点を有していた。この方法を用い、神経内阻血をもたらす全身的因子として Hypotension と Hypoxia, 局所因子として大血管遮断時の神経の血行動態を連続的に検討した。平均動脈圧 (X) と神経血流 (Y) は $Y=0.533X-0.664$ $r=0.805$ ($p<0.01$) と直線的な関係を示した。Hypoxia において平均動脈圧は $18 \pm 4\%$ 上昇し、神経血流量は $41 \pm 16\%$ 有意に増加した ($p<0.05$)。その経過は平行しており、血流増加の主因は血圧の上昇と考えられた。ついで腹大動脈と大腿動脈遮断における坐骨神経の阻血と神経機能の関係を調査した。9例中6例に大腿中央部で坐骨神経誘発電位 (nerve evoked potential, NEP) の伝導障害が見られた。NEP の消失した群の血流量は、阻血後15分で、正常の $7.7 \pm 4.5\%$ に減少していた。一方阻血後も NEP の消失しなかった群は、15分の血流が $22.5 \pm 2.0\%$ であった。それより末梢神経の機能障害を起こす血流量の臨界点は約7%から20%に存在すると考えられた。

Key words peripheral nerve, blood flow, laser doppler, ischemia

末梢神経組織は刺激の伝導という機能保持のために持続的な酸素の供給が必要であり、神経内微循環がその役割を果たしている。

生体内で神経内阻血をもたらす全身的因子として、Hypotension と Hypoxia, 局所的には大血管遮断による阻血が考えられる。本研究の目的はこれら末梢神経内阻血時の血行動態を解明すると共に、神経機能と血流量の関係を調べ、阻血状態で神経機能を保つための必要な血流量を知ることにある。この目的を達成するために末梢神経内の血流量の変化を経時的に測定する必要がある。これまで末梢神経における種々の局所血流測定法¹⁻⁴⁾が報告されているが、経時的に変化する神経の血流を連続的に測定する方法⁵⁾は少ない。

1964年、Yehe と Cummins⁶⁾ によって発表されたレーザードップラー流速計は1970年代に入り血流測定

法としてクローズアップされてきた。レーザードップラー法は波長が極めて短く、位相が均一で、伝達速度が格段に速いというレーザー光の特性を生かして、空間分解能の飛躍的向上が期待できる。さらに非侵襲的に連続測定が可能であるという利点がある。現在までに皮膚血流⁷⁾を始め生体各部位での応用⁸⁻¹⁰⁾が報告されているが、末梢神経に用いたものは少ない¹¹⁾。そこで本研究では先ず、レーザードップラー血流計の末梢神経組織における有用性について検討し、ついで阻血状態の血行動態について検索した。

材料および方法

I. レーザードップラー法の検討

レーザードップラー法末梢神経血流測定法としての有用性を検討した。

Abbreviations: NBP, nerve blood flow; NEP, nerve evoked potential.

測定装置として、レーザー式組織血流計 LBF-221 (バイオメディカル社、金沢) を用いた。この装置の原理はファイバー端出力 1mW の半導体レーザー (波長 780nm) が光ファイバーで組織に照射されると多重散乱を受けながら一部は透過、又は吸収される。毛細血管壁を透過したレーザー光は、動いている赤血球に衝突するとドップラー効果により、その速度に比例した周波数偏移と量に比例した変化を受ける。後方散乱光を求心性ファイバーによってフォトダイオードに導き、増幅後、ヘテロダイン検波により電気信号処理

回路で分析、演算を行い、血流量を求める。時定数は 2.3秒、SPAN は100に設定した (図1)。末梢神経組織用として直径 550 μ m の Probe を作成した (図2)。

1. 測定範囲-測定深度の計測

レーザードップラー法は組織によりレーザー光の反射や吸収、光学的消散長が異なるため測定範囲も違ってくる。末梢神経組織内での測定範囲を明らかにするために、2本の光ファイバーを用い一方よりレーザー光を、もう一方はオプティカルパワーメーター LSP-

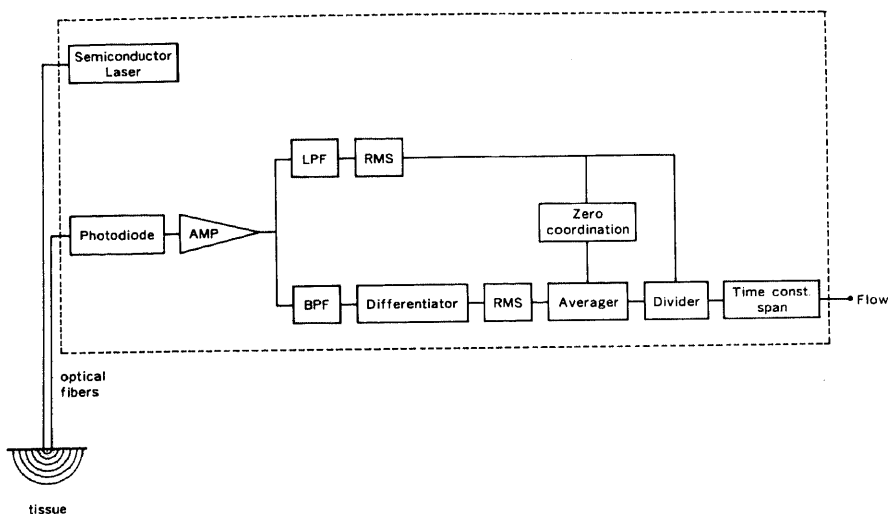


Fig.1. Block diagram of measurement of the laser doppler method. LPE, Low-pass filter; BPF, Band-pass filter; RMS, Root mean square.

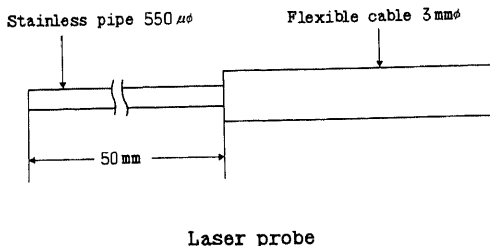


Fig.2. Schema of the laser probe.

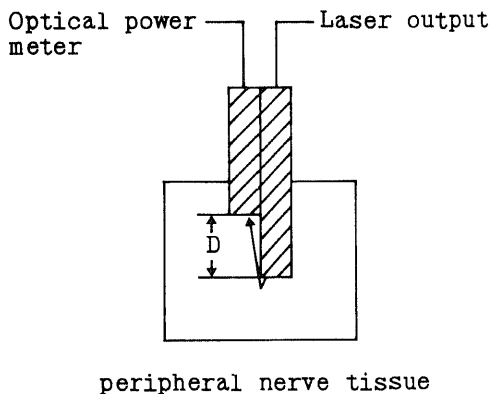


Fig.3. Experiment for studying the sample volume in the peripheral nerve tissue using the laser doppler method. When the distance of probes were changed by 0.1mm, the reflected laser power was recorded.

3000 (三和電気計器社, 東京)に接続した. 犬の坐骨神経を取り出し, ファイバー先端を神経組織内に埋めさせ, マニピュレーターを用いて固定した. ファイバー先端の距離を 0.1mm ずつ変化させ, 反射したレーザー光の強さを測定した (図 3).

2. 吸入式水素クリアランス法との比較

従来より組織局所血流測定法として一定の評価の得られている, 吸入式水素クリアランス法との比較を行った. 測定装置は電気分解式組織血流計 RBF-2 (バイオメディカル社, 金沢) の水素ガス濃度測定装置と記録装置を用いた. 雑種成犬 8 匹を用い気管内挿管後 GOF にて全身麻酔を行った. 呼吸はパンクロニウムプロマイド (0.15mg/Kg) で非動化し, 調節呼吸とした. 頸動脈にカテーテルを挿入し, 血圧測定器 FEN 6102 (日本光電, 東京) にて平均動脈圧をモニターした. 大腿後面で extrinsic vessel を損傷しないように坐骨神経を展開した. 呼吸に伴う下肢の動きの影響を避けるために, 腹臥位で腰椎棘突起を固定し, 腹部を浮かせた. 10%の水素ガスを呼吸を通して与えた. 大腿中央部に水素クリアランス用電極とレーザー probe を設置し, 坐骨神経の血流を測定した (図 4).

3. 熱拡散法との比較

前実験と同じ方法で坐骨神経の大腿中央部に熱拡散法を用いた熱勾配式組織血流計 (バイオメディカル社, 金沢) のセンサーとレーザー probe を設置した (図 4). 腹大動脈を遮断し神経血流の変化を観察し両者を比較検討した. 熱拡散法の原理は, 一定温度差に保った熱電対により血流変化による微細な温度変化から血流量を算出する.

II. 末梢神経血行動態の検討

レーザードップラー法を用い, 末梢神経内阻血をもたらす以下の状態における血行動態について検討した. 方法は前実験に準じた (図 4).

1. Hypotension の影響

成犬 9 匹を用い坐骨神経血流を測定しながら, 頸動脈より段階的に寫血を行い血圧を低下させ, 坐骨神経の大腿中央部の血流を測定した. 寫血操作後, 平均動脈圧とレーザードップラー法の測定値がほぼ一定となった点をプロットした.

2. Hypoxia の影響

成犬 9 匹を用い 10% O_2 を 10 分間吸入させ, この間の坐骨神経血流量と平均動脈圧の変化を観察した. Hypoxia 開始前と終了直前で動脈血酸素分圧 (P_aO_2) を測定した.

3. 大血管遮断による影響

1) 坐骨神経の血行支配

坐骨神経へ流入する主な動脈は前殿動脈, 後殿動脈, 内側大腿回旋動脈, 後大腿動脈の分枝である¹²⁾¹³⁾. 開腹後, 腹動脈に達し, 深腸骨回旋動脈の上下, 大腿動脈は大腿深動脈の上下で絹糸を翼状に掛け, その両端をアルミニウム管に通して引き出し, 絹糸を牽引すれば動脈壁がアルミニウム管に圧迫されて, 血行が遮断されるようにした. レーザードップラー法にて坐骨神経の近位部 (R1), 大腿中央部 (R2), 脛骨神経近位部 (R3) の大血管遮断による血行動態を観察した (図 5). さらに水素クリアランス法を用いて, 両血管遮断による血流の変化を検討した.

2) 神経血流量と神経誘発電位との関係

腹大動脈と大腿動脈を同時に遮断坐骨神経の大腿中

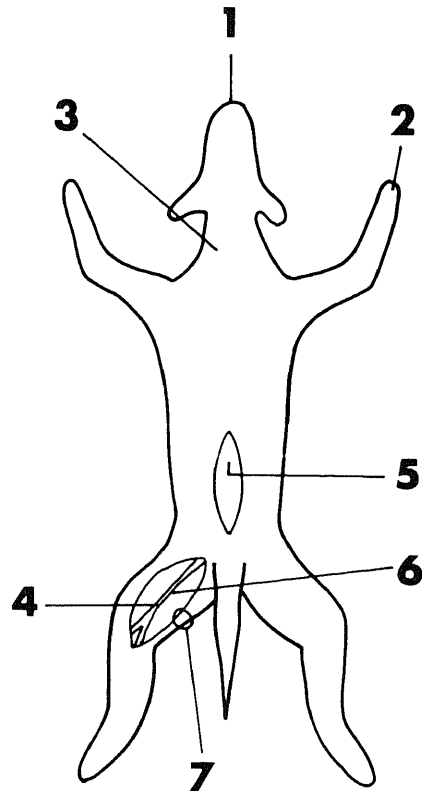


Fig. 4. Schema of measurement of NBF and sciatic NEP. 1, Respirator; 2, Intravenous infusion; 3, Blood pressure monitoring; 4, NBF measurement by Laser doppler method, hydrogen washout technique and thermal diffusion method; 5, Epidural electrode for stimulation; 6, recording electrode for sciatic NEP; 7, reference electrode for sciatic NEP.

央部 (R2) の血流を連続的に観察した。この間、末梢神経の機能を知るために、坐骨神経誘発電位 (nerve evoked potential, NEP) を測定することとした。すなわち、L4 椎体レベルに挿入した硬膜外カテーテル

電極 UPG-100-2P (ユニークメディカル社, 東京) で刺激した。刺激装置はモジュール型筋電計 MS-6 の電圧刺激装置 NT6 (Medelec 社, Surrey) を用いた。刺激には 0.2ms 持続の矩形波を用い、刺激頻度は 50

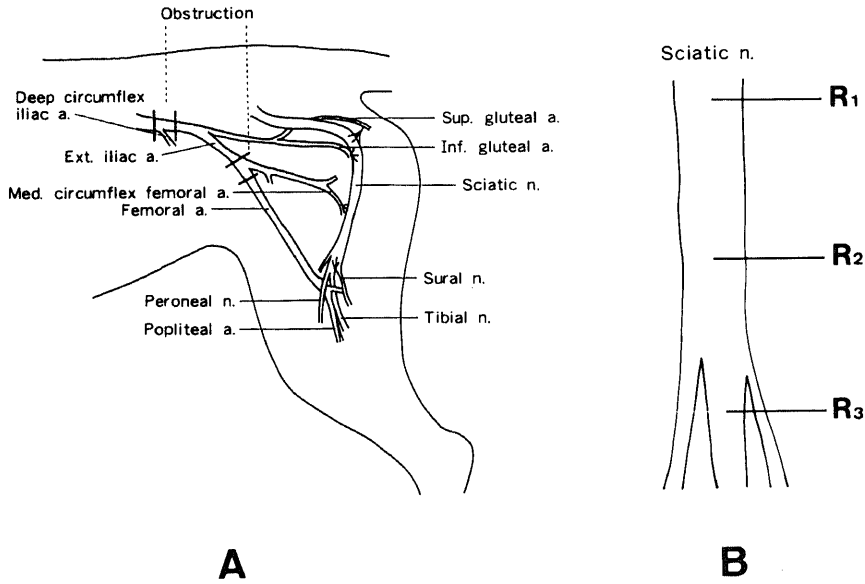


Fig. 5. A: Diagram of arterial blood supply of the sciatic nerve, in which sites of blockage are indicated. B: R1, R2, R3 indicate the recorded sites of nerve blood flow measurement.

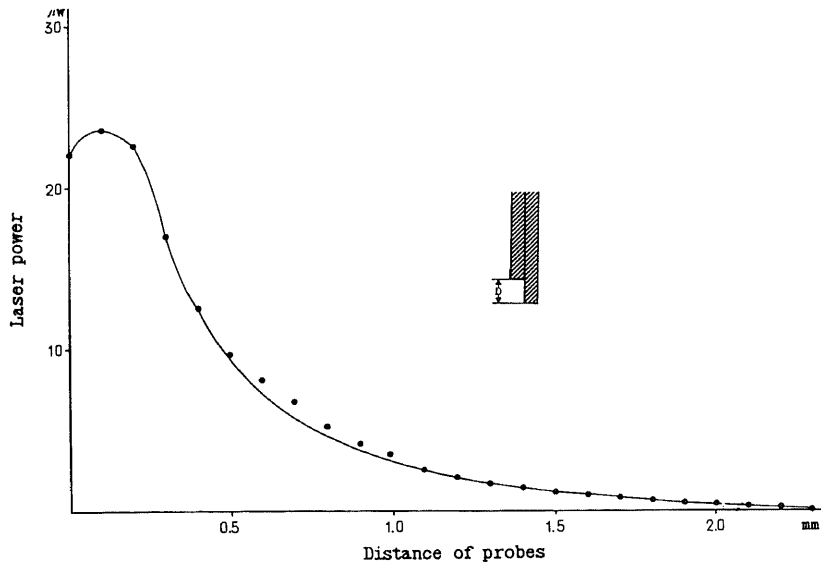


Fig. 6. Correlation between the reflected laser power and the distance of probes.

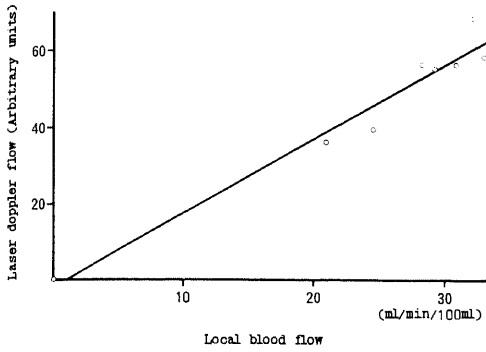


Fig. 7. Relationship of local blood flow between the laser doppler method and hydrogen washout technique. A high correlation was observed. Regression equation, $Y=1.85+3.21 X$; correlation coefficient, $r = 0.955$ ($p < 0.01$).

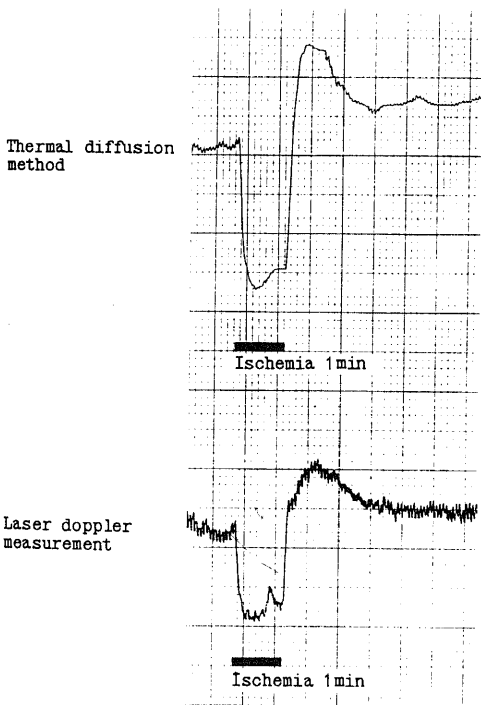


Fig. 8. Change in blood flow in sciatic nerve (R2). Top, thermal diffusion method. Bottom, laser doppler measurement. Ischemia was made in the area shown by obstruction of the abdominal aorta.

Hz, 刺激強度は誘発電位の振幅がほぼ一定する最小値すなわち 50~60V とした. 記録電極には脳波用針電極 NE223S (日本光電社, 東京) を用い, R2 に電極を刺入した. 不感電極は大腿後面の展開に用いた開創器とした. NEP の増幅には Medelec 社製 AA6 を使用し, 加算には同社の DAV6 を用い32回の加算平均を行った. 5分毎に NEP を記録した. 個体差により NEP の消失しなかったものを N (+) 群, NEP の消失したものを N (-) 群とした. 対照群として, 大血管に操作を加えなかったものを C 群, 塩化カリウム静注により心停止を起させたものを D 群とした.

III. 統計学的検討

成績はすべて mean±SD (n) であらわした. 対応ある 2 群の平均値の差は Paired t-test, または分散分析後, Duncan の多重比較を行った. 2 群の相関関係は Pearson の積率相関係数を求め, 有意性の検討は Fisher の r 表によった. 両者の回帰直線方程式を算出した. $p < 0.05$ を有意とした.

成 績

I. レーザードップラー法の検討

1. 測定範囲の決定

末梢神経組織内で発信用と受信用の 2 本のファイバー先端の距離を増加させると 0.3mm より反射光の強さは指数関数的に減少し, 2.2mm まで測定可能であった (図 6). つまり発信されたレーザー光は末梢神経組織内では 2.2mm まで測定可能ということになる. 実際, 血流測定用に用いた probe は発信用と受信用のファイバーが同一平面上にあるので発信されたレーザー光が組織内の赤血球で反射しドップラーシフ

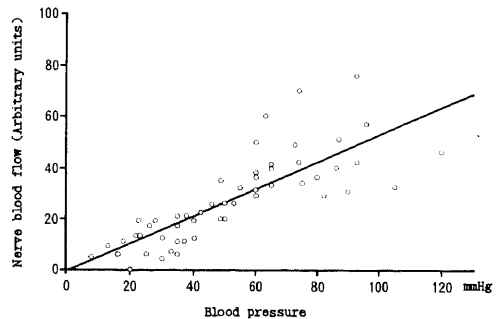


Fig. 9. Relationship between NBF measured by laser doppler method and mean arterial pressure. Regression equation, $Y=0.533 X - 0.664$; Correlation coefficient, $r=0.805$ ($p < 0.01$).

トを起し、受信用ファイバーによって検出されるためには、往復の距離を考えるとその赤血球は 2.2mm の1/2の距離である 1.1mm 以内に存在しなければならない。つまり本装置では末梢神経組織内の測定深度は約 1mm と考えられた。

2. 吸入式水素クリアランス法との比較

レーザードップラー法と吸入式水素クリアランスによる測定値の間には $r = 0.977$ ($n = 8$) ($p < 0.01$) という高い相関が認められた (図7)。吸入式水素クリアランス法は絶対値の測定が可能であり、この方法で

較正が可能である。

3. 熱拡散法との比較

腹大動脈遮断により坐骨神経血流は急激に減少し、以後徐々に一定の値に近づいた。遮断解除により、再び血流は増加し、rebound 現象が認められた。レーザードップラー法と熱拡散法による血流の変化は良く対応していた (図8)。

以上の基礎実験よりレーザードップラー法が末梢神経の血流測定法として有用であることが証明されたので、これを以下の実験に用いた。

Table 1. Effect of hypoxia on blood flow in the sciatic nerve.

n	Mean arterial pressure			Nerve blood flow		
	pre (mmHg)	during	rate (%)	pre (arbitrary unit)	during	rate (%)
1	88	101	116	19	28	147
2	100	118	118	24	39	163
3	103	116	115	37	57	154
4	101	115	114	54	65	120
5	97	112	115	47	66	140
6	94	112	123	47	63	134
7	98	117	119	41	52	127
8	98	118	120	44	70	159
9	97	120	124	66	80	121
	97 ± 4	114 ± 5 *	118 ± 4	43 ± 14	58 ± 16 *	141 ± 16

* , $p < 0.05$ by paired t-test

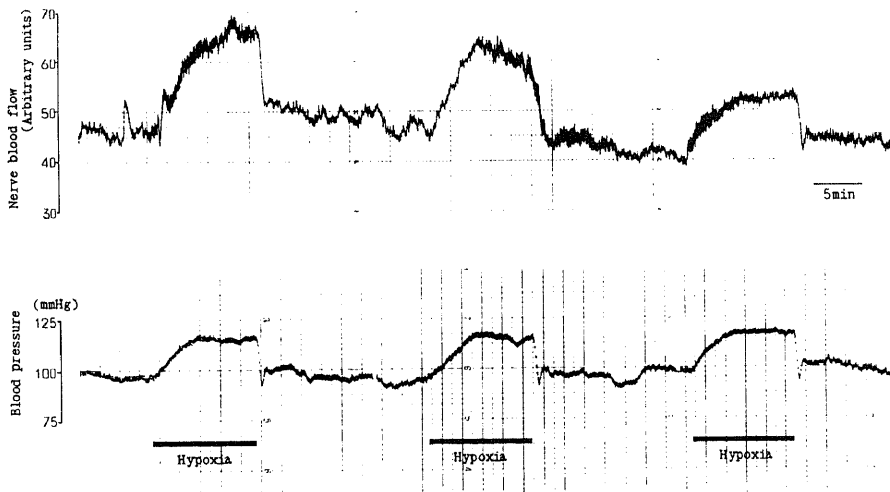


Fig. 10. Effect of hypoxia on NBF and mean arterial blood pressure. Hypoxia was caused by breathing 10% O₂ for 10min.

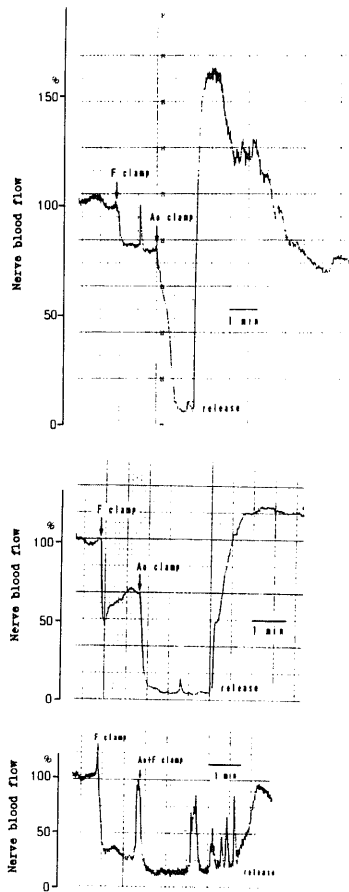


Fig. 11. Changes in NBF when aorta and femoral artery are obstructed. Upper, proximal sciatic nerve (R1). Middle, midsciatic nerve (R2). Lower, proximal tibial nerve (R3).

II. 末梢神経血行動態の検討

1. Hypotension の影響

レーザードップラー法による測定値、神経血流 (Y) と平均動脈圧 (X) は $Y = 0.533X - 0.664$ で $r = 0.805$ ($n = 55$) ($p < 0.01$) と直線的な関係を示した (図9).

2. Hypoxia 影響

10% O₂の10分間の吸入前と終了直前で、P_aO₂は172 ± 7 から 49 ± 3 mmHg ($n = 4$) と有意に低下した ($p < 0.05$). Hypoxia の開始と共に平均動脈圧は 97 ± 4 mmHg から 114 ± 5 mmHg ($n = 9$) と有意に上昇し ($p < 0.05$), 約5分でほぼ一定の値に達した. 神経血流量は血圧の上昇ともななって 43 ± 14 から 58 ± 16 ($n = 9$) と有意に増加した ($p < 0.05$). Hypoxia 解除後は平均動脈圧の低下と共に神経血流量は急激に低下し, Hypoxia 前の値に戻った. この間の, 平均動脈圧と神経血流量の増加率はそれぞれ 18 ± 4%, 41 ± 16% ($n = 9$) であった. しかし両者の間には有意な相関はなかった (表1, 図10).

3. 大血管遮断による影響

1) 坐骨神経の量的血行支配

水素クリアランス法では坐骨神経近位 (R1) で 26.9 ± 3 から 5.9 ± 3 ml/min/100ml, 坐骨神経大腿中央部 (R2) では 25.2 ± 7.3 から 0.5 ± 1.0 ml/min/100ml, 脛骨神経近位 (R3) では 18.2 ± 3.0 から 0 ml/min/100 ml ($n = 4$) と有意に変化した ($p < 0.05$) (表2).

次にレーザードップラー法にて, 同一部位の血流の変化を測定した. 一例を示す. R1 では大腿動脈遮断で20%低下, 引き続き腹大動脈を遮断し, 93%低下した. R2 では大腿動脈遮断で35%, さらに腹大動脈遮断し96%低下した. R3 では大腿動脈遮断で85%, 腹大動脈遮断を追加すると90%低下した (図11). これらの結果より R1 と R3 の間で伝導障害が起こると考えられた. 以上より, 神経の機能に影響を及ぼす血流

Table 2. Nerve blood flow in different segment of sciatic and tibial nerve measured by hydrogen washout technique (ml/min/100ml)

		Aorta and femoral artery block	
		Normal n = 4	n = 3
Proximal sciatic nerve	(R 1)	26.9 ± 3.3	5.9 ± 5.3 *
Mid-sciatic nerve	(R 2)	25.2 ± 7.3	0.5 ± 1.0 *
Proximal tibial nerve	(R 3)	18.2 ± 3.0	0 *

Each value represents, mean ± S. D. *, $p < 0.05$ by paired t-test.

量を知るためには、R2での神経血流量とNEPの測定が有用と推察された。

2) 神経血流量と神経誘発電位との関係

硬膜外電極刺激により単極導出された坐骨神経誘発電位 (NEP) の基本波計は持続時間1~1.5msの陽性



Fig. 12. Typical wave form of NEP.

の緩徐な波に挟まれた陰性のスパイク電位で、伝導速度は $85.5 \pm 3.5 \text{ m/s}$ ($n=12$) であった (図12)。腹大動脈と大腿動脈の同時遮断で、9例中6例にNEPが消失した。1例を示す。遮断により血流は遮断前の7%になるが、15分間はNEPの有意変化はなかった。20分より振幅は急に低下し、完全ブロックとなった。しかし55分頃よりNEPは徐々に回復した。血流も70分後には12%まで回復していた (図13)。3例ではNEPが消失しなかった。

各群のR2の振幅の変化は血流遮断前の波型をコントロールとしてパーセント表示した。血流遮断後10分までは各群に統計学的有意差は認めなかった。15分にはD群は $37.5 \pm 30.0\%$ ($n=7$) と減少しC群、N (+) 群との間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。D群は

Table 3. Changes in the amplitude of the sciatic nerve evoked potentials in four groups.

min	Amplitude (%) of control value			
	C n = 4	N (+) n = 3	N (-) n = 6	D n = 7
5	102.9±2.2	111.4±18.5	98.2±25.2	100.1±14.7
10	100.6±1.6	113.4±20.5	74.7±36.0	95.1±27.7
15	100.3±1.5	101.2± 3.7	44.1±42.0	37.5±30.0
20	101.7±6.0	102.9± 3.7	20.3±26.5	3.2± 9.3
25	101.4±6.7	103.5± 3.1	13.6±21.0	0
30	101.3±6.2	102.5± 6.0	3.8± 6.4	0
35	101.0±7.0	104.2± 3.4	3.7± 9.0	0
40	101.1±6.9	104.1± 3.8	7.8±15.6	0
45	102.9±7.1	104.0± 5.4	13.3±16.5	0
50	103.1±7.3	105.6± 3.6	16.8±18.0	0
55	103.3±7.7	105.9± 3.3	37.0±20.0	0
60	102.0±9.0	106.0± 3.8	44.5±24.0	0

Each value represents mean±S.D. C, group that was not manipulated. N (+), group whose conduction was maintained after obstruction of abdominal aorta and femoral artery. N (-), group whose conduction was blocked. D, group that was dead.

Multiple comparison of means

min	C & N(+)	C & N(-)	C & D	N(+)& N(-)	N(+)& D	N(-)& D
5						
10		NS	NS	NS	NS	
15						
20	NS	*	*	*	*	NS
50						
55		*	*	*	*	*
60						

*, $p < 0.05$ by ANOVA followed by Duncan's multiple comparison with each other at the same time.

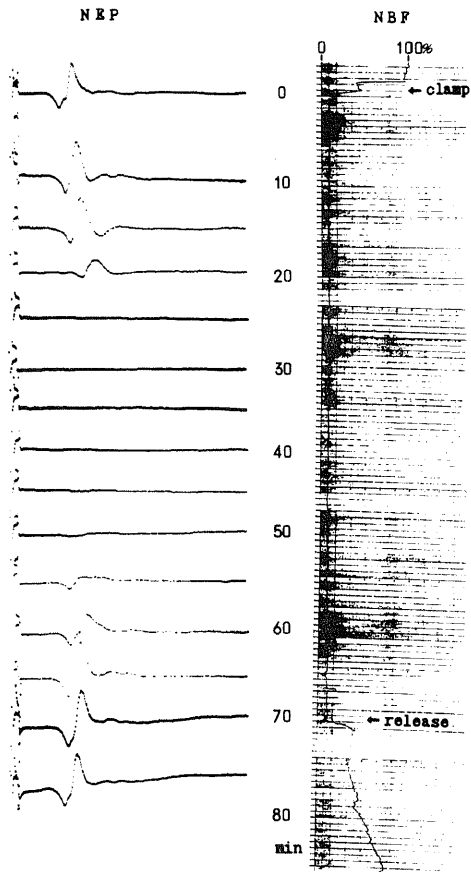


Fig. 13. Recording of sciatic NRP and NBF (R2) after obstructing abdominal aorta and femoral artery.

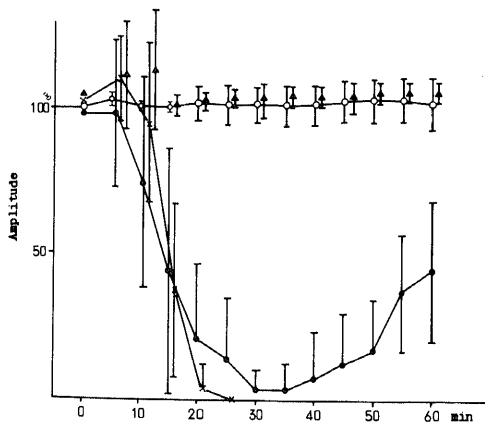


Fig. 14. Changes in the amplitude of sciatic NRP: ○-○, C group; ▲-▲, N (+) group; ●-●, N (-) group; ×-×, D group. Group C, N (+), N (-), D refer to Table 3.

Table 4. Changes in the sciatic nerve blood flow in three groups

Blood flow (%) of control value			
min	C n = 4	N (+) n = 3	N (-) n = 6
5	110.5 ± 2.1	15.8 ± 3.5	6.4 ± 6.0
10	108.5 ± 11.9	16.7 ± 6.1	8.1 ± 4.5
15	112.5 ± 23.4	22.5 ± 2.0	7.7 ± 4.5
20	106.5 ± 23.6	26.8 ± 2.5	6.9 ± 4.4
25	109.3 ± 34.0	30.1 ± 12.0	6.8 ± 3.8
30	99.9 ± 30.0	30.1 ± 16.0	8.1 ± 2.3
35	105.4 ± 32.0	36.9 ± 11.6	9.3 ± 5.6
40	104.3 ± 34.0	36.0 ± 14.4	9.5 ± 5.8
45	105.7 ± 28.7	38.1 ± 12.8	11.7 ± 7.3
50	103.4 ± 28.9	44.6 ± 23.9	10.4 ± 6.7
55	99.6 ± 23.1	44.7 ± 23.6	12.0 ± 7.4
60	102.2 ± 23.5	58.6 ± 46.6	12.7 ± 8.8

Each value represents mean ± S.D. Group C, N(+), N(-) refer to Table 3.

Multiple comparison of means

min	C & N(+)	C & N(-)	N(+)& N(-)
5			
10	*	*	NS
55			
60	NS	*	NS

*. $p < 0.05$ by ANOVA followed by Duncan's multiple comparison with each other at same time.

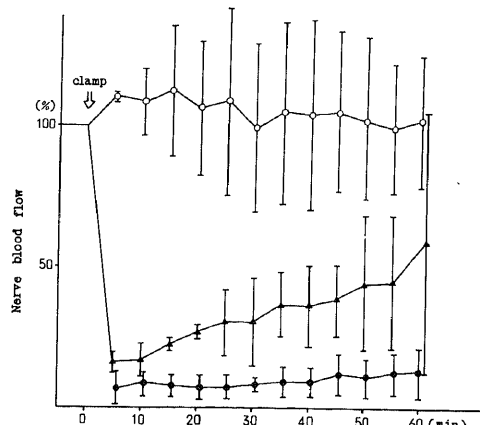


Fig. 15. Changes in the NBF: ○-○, C group; ▲-▲, N (+); ●-●, N (-); ×-×, D group. Group C, N (+), N (-) refer to Table 3.

25分で全例 NEP が消失した。N (-) 群も15分には $44.1 \pm 42.0\%$ 、20分には $20.3 \pm 26.0\%$ ($n = 6$) と減少し以後60分まで、N (+) 群との間に有意差を認めた。しかしN (-) の伝導障害は一過性で40分には $7.8 \pm 15.6\%$ と回復傾向が見られた。50分には $16.8 \pm 18.0\%$ とD群に比し有意に増加した ($p < 0.05$)。N (+) 群とC群の間に有意差はなかった。N (+) 群で2例、N (-) 群で3例に血行遮断後5分から10分で一過性に振幅増大現象を認めた (表3, 図14)。

この時の各群の R2 の血行動態を見ると、遮断後5分、N (+) 群は遮断前の血流の $15.8 \pm 3.5\%$ ($n = 3$)、N (-) 群は $6.4 \pm 6.0\%$ ($n = 6$) と両者ともC群に比し、有意に低下した ($p < 0.05$)。N (+) 群は、その後血流量は15分には $22.5 \pm 2.0\%$ 、30分には $30.0 \pm 16.0\%$ と徐々に増加し、55分の $44.7 \pm 23.6\%$ までC群との間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。N (-) 群は NEP の振幅数がC群、N (+) 群に比し、有意に減少する15分には血流は $7.7 \pm 4.5\%$ に減少していた。25分では $6.8 \pm 3.8\%$ と最低となり以後は徐々に増加した。一旦伝導障害を起こし、その後振幅が有意に回復した40分には血流は $9.0 \pm 25.8\%$ 、60分には $12.7 \pm 8.8\%$ に回復した。N (+) 群は遮断開始より60分までC群に比し有意に血流は低下していた。N (-) 群とN (+) 群の血流量には有意差は認めなかった (表4, 図15)。

考 察

マイクロサージャリーの進歩に伴い末梢神経外科においても血流への関心が高まってきた。末梢神経がどの程度の阻血により機能的障害や組織学的損傷を受けるかを知ることが、指肢再接着術や血管損傷時の末梢神経の外科的操作にとって重要である。これまで末梢神経局所血流測定法として1964年 Auklsnd ら¹⁰ の開発した水素クリアランス法 (吸入式水素クリアランス法) や、1974年 Stosseck ら¹⁰ の報告した電気分解を応用した水素クリアランス法 (電気分解式水素クリアランス法) を用いての報告⁹ はある。しかし、これらの問題点として、電極刺入による組織の機械的損傷による微循環への影響が考えられ、さらに一回の測定に数分を要し、この間血行動態が全く変化しないことが測定条件であり、連続的な測定は不可能である。これに比して1964年 Yahe ら⁹ によって発表されたレーザードップラー法は非侵襲的に、連続的に測定が可能であるなどの利点を有しており、現在までに、皮膚血流を始め、網膜⁹、腎⁹、小腸¹⁰ 等身体各部位の血流測定への応用が報告されている。末梢神経組織については

Rundquist ら⁹ 小数の報告があるだけである。

レーザードップラー法の測定範囲に関してはラットの腎で深度は約1mmとの報告⁹があるが、測定組織、レーザーの出力、probeの形状により異なると考えられており、末梢神経組織においては明らかでない。今回の実験より本装置の末梢神経組織における測定深度は約1mmと考えられ、極めて小範囲の測定が可能ということになる。しかしレーザードップラー法にも幾つかの問題点がある。第一に部位の違いによってレーザー光の透過範囲が異なることである。今回は末梢神経という比較的構造が一定の組織の測定であり問題が少ない。しかし血管系の構造は均一ではない。岡本¹⁰ は犬坐骨神経には小動脈 (口径約60 μ) と毛細動脈 (口径約8 μ) の存在を述べている。今回の測定に関しては神経上膜小動脈を避け、できるだけ均一な部分の測定を行った。第二は、血流中の赤血球 (ヘマトクリット) の変化および酸素飽和度によって出力が変わることである。今回の寫血による Hypotension 時ヘマトクリットは測定していないが、全血の寫血による Hypovolemia であるため問題は少ないと考えられる。今回用いた装置は従来の波長632nmのHe-Neレーザー光と異なり、半導体レーザーで波長は780nmである。この波長はヘモグロビンの酸化度による影響が極めて少ないので、Hypoxia に関して問題ないと考えられる。第三に血流の絶対値との関係である。レーザードップラー法は赤血球の速度と probe 先端の半球領域内の赤血球数との積により血流が算出される。このため血流の絶対値としての表示には限界がある。しかし今回の結果から水素クリアランス法による測定値との間には $r = 0.977$ ($n = 8$) ($p < 0.01$) という強い相関があった。Rundquist ら⁹ もラットの坐骨神経を用いて、¹⁴C iodoantipyrine による血流測定との比較を行い、相関係数は0.73であったと述べている。つまり他の方法で一度校正すれば絶対値を得ることは可能である。

血流の変化と連続的記録については熱拡散法を用いて比較検討した。熱拡散法については Carter ら¹⁰ が Xe クリアランスを用い脳皮質の血流測定において有意な相関を認め、連続測定法としての有用性を報告している。レーザードップラー法は熱拡散法とほぼ同様な反応を示した。しかし熱拡散法は周囲の温度変化の影響を受けやすく、長時間の測定は困難と考えられた。この点レーザードップラー法は温度変化の関係なく安定した測定が可能であった。

以上よりレーザードップラー法は極めて小範囲 (測定深度約1mm) の連続測定が可能で、周囲の温度変

化に影響を受けず、他の方法で絶対値の較正が行えるなどの利点があり、末梢神経血流測定においての有用性が確認された。

末梢神経と阻血の問題は、これまでタニケツを用いた実験¹⁷⁾¹⁸⁾、大血管結紮実験¹⁹⁾²⁰⁾、分節血行遮断実験²¹⁾などが報告されている。今回レーザードップラー法が連続的測定が可能という利点を活かして、末梢神経の阻血をたらず全身的因子としての Hypotension, Hypoxia, 局所因子として Korthals ら¹⁹⁾の方法による大血管遮断における血行動態を検討した。Hypotension について中枢神経系では autoregulation が知られているが、末梢神経では不明であった。Low ら²²⁾は水素ガスクリアランス法を用いて血圧と末梢神経血流量との間に対数関数的な関係を認めている。また Smith ら²³⁾も猫の坐骨神経を用い写血とアンギオテンシンによる血圧変動において autoregulation はなく、平均動脈圧 80-110mmHg の範囲で神経血流量が最も多いと報告している。今回写血による Hypotension において平均動脈圧 (X) と神経血流量 (Y) の間には $Y = 0.533X - 0.664$ ($n = 55$) ($r = 0.865$ $p < 0.01$) の関係を認めた。Eklöf ら²⁴⁾は末梢神経は脳皮質に比し酸素消費は1/20であるが、血流量は1/6であると報告し、阻血に弱い中枢神経と異なり、末梢神経の血流は豊富であり、神経伝導障害が起こるにはかなりの血流低下を要すると述べている。

Hypoxia の影響は中枢神経においては、直接血管を拡張させる作用により、血流が増加することが良く知られている。末梢神経においては Low ら²²⁾は水素クリアランス法による結果より平均血圧の低下と神経血流の減少、血管抵抗の増大を報告し、原因として心筋収縮力の低下と交感神経系反射による末梢血管収縮を上げている。今回の実験では平均動脈圧は $18 \pm 4\%$ 、神経血流量は $41 \pm 16\%$ ($n = 9$) と有意に増加した ($p < 0.01$)。そして両者の時間的な経過はほぼ平行していた。つまり末梢神経の血管系は Hypoxia に特異的な反応を示さず、全身的な血圧の変動によって血流は変化していると考えられた。

末梢神経の血行支配についてはこれまで解剖学的な多くの報告がある。Sunderland²⁵⁾は神経幹表面の longitudinal arranged arterioles, uninterrupted intraneural system of longitudinal plexus, regional nutrient arteries に分類している。岡本¹³⁾は今回用いた犬坐骨神経について、微小血管造影法を用い検討し、一様な長軸方向の連続的立体的毛細血管網を認めている。坐骨神経の各部位で、その血管網に血流を供給するのが、前殿動脈、後殿動脈、内側大腿回旋動

脈、後大腿動脈の分枝である。今回の動脈遮断実験より、脛骨神経近位端 (R3) は大腿動脈の分枝より 85%、残りの血流はより中枢の動脈の分枝と長軸方向の神経内毛細血管網から受けていると考えられる。坐骨神経近位端 (R1) はそれぞれ 20%、80% の血流を得ていた。腹大動脈、大腿動脈両方の遮断により坐骨神経全長に血流低下 90% の高度の阻血状態が確認された。両大血管遮断による水素クリアランス法による計測では、R1 は 26.9 ± 3.3 から 5.9 ± 5.3 ml/min/100 ml と約 20% の低下を示し、R3 では 18.2 ± 3.0 から 0 ml/min/100ml であった。レーザードップラー法と水素クリアランス法の測定法の違いにより若干結果は異なるが、いずれにしても両大腿血管遮断により坐骨神経はかなり高度な阻血状態になると言える。阻血の程度は R1 より R3、つまり中枢より末梢がより強かった。

完全阻血により神経が伝導障害を起こすことが知られているが¹⁷⁾¹⁸⁾、一体どれだけの血流があれば神経の機能に影響を及ぼさないのかは不明であった。そこで著者は両大腿血管遮断により、かなり高度の阻血に陥るが血流は 0 ではない状態となる坐骨神経 (R2) を用い、血流の測定と同時に神経誘発活電位 (NEP) の測定を行い、血流量と神経の機能の関係を検討した。Gieron ら²⁶⁾は猫の腹大動脈、外腸骨動脈、内腸骨動脈を遮断し、坐骨神経は大腿と足関節の間で伝導障害が起こることを述べているが、著者は更に R1, R2, R3 の部位を検討した結果、R2 を実験に選んだ。C 群の神経伝導速度は、 85.9 ± 4.5 m/s で、波型は 3 相性で通常末梢神経幹刺激により誘発電位とほぼ同一であった。阻血による電位の変化は 5 分から 10 分後で N (+) 群の 3 例中 2 例に N (-) 群の 6 例中 3 例に、D 群は 7 例中 5 例に一過性の振幅増大現象が認められた。飯塚ら²⁷⁾は上行大動脈遮断による完全阻血の実験によりこの現象を検討し、神経線維の閾値が低下し興奮性が増大した結果であると述べている。また同時に測定した血流量は、N (+) 群と N (-) 群の阻血後 5 分で、それぞれ $15.8 \pm 3.5\%$ 、 $6.4 \pm 6.0\%$ 、10 分は $16.7 \pm 6.1\%$ 、 $8.1 \pm 4.4\%$ であった。これより完全阻血でなくても、この程度の阻血で神経の閾値に変化を与えることが明らかとなった。15 分後の NEP は、N (-) 群、D 群と N (+) 群、C 群の間に有意な変化を示した。N (-) 群の 15 分の血流量は $7.7 \pm 4.5\%$ 、20 分は $6.9 \pm 4.4\%$ であった。つまり正常の血流量の 7~8% 前後の阻血状態が続くと、NEP の振幅は有意に低下したことになる。この振幅の低下は心停止後の変化である D 群と有意差がなかった。しかし、40 分

過ぎにはN(-)群のNEPの振幅は $7.8 \pm 15.6\%$ と回復傾向を認め、伝導障害は一過性であった。一方N(+)群の血流は15分後 $22.5 \pm 2.5\%$ 、20分には $26.8 \pm 2.5\%$ でC群に比し有意に低下していた。つまり約20%の血流があれば神経の機能は維持できると推察された。今回の結果から約7%から20%の血流が末梢神経の機能障害を起こしうる臨界点と考えられた。

結 論

レーザードップラー法を用いて犬坐骨神経の局所血流量を測定し、吸入式水素クリアランス法、熱拡散法と対比し、末梢神経血流測定法として本法の有用性を検討した。その後、本法を用いて生体内で末梢神経内阻血をもたらす全身的因子として、HypotensionとHypoxia局所因子として大血管遮断条件における血行動態を調査し、さらに、神経の機能維持に必要な血流量を明らかにするために、阻血時の神経誘発電位と血流量との関係を検討した。得られた結論は次の通りである。

1. レーザードップラー法と水素クリアランス法との間には $r = 0.977$ ($n = 8$) ($p < 0.01$)という高い相関が認められ、この方法により絶対値の較正が可能であった。また熱拡散法との同時連続測定において両者はほぼ同様な反応を示した。レーザードップラー法は周囲の温度変化に関係なく測定が可能であった。以上よりレーザードップラー法の末梢神経血流連続測定における有用性を確認した。

2. レーザードップラー法を用いて阻血状態の末梢神経の血流量を検討した結果、

1) 寫血によるHypotensionにおいて神経血流量(Y)と平均動脈圧(X)の間には、 $Y = 0.533X - 0.664$ ($n = 55$) $r = 0.805$ ($p < 0.01$)の関係があり、中枢神経系で見られるautoregulationは認められなかった。

2) 10%酸素吸入によるHypoxiaにより平均動脈圧は $18 \pm 4\%$ 、神経血流は $41 \pm 16\%$ ($n = 9$)有意に増加した($p < 0.05$)。両者の時間的経過は平行しており、血流の変化の主因は血圧の変動と考えられた。

3) 腹大動脈と大腿動脈の同時遮断により坐骨神経は高位により血流量に差があり、末梢により強い阻血状態となる。大腿中央部で9例中6例に坐骨神経誘発電位(NEP)が消失した。両大血管遮断によりNEPの消失した群の血流は遮断後15分で $7.7 \pm 4.5\%$ ($n = 6$)で、NEPの消失しない群は $22.5 \pm 2.0\%$ であった。これより神経の機能障害を起こす臨界点は約7%から20%の間に存在すると考えられた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御懇篤な御指導と御校閲を賜りました恩師野村進教授に衷心より深甚の謝意を表します。また本研究の遂行にあたり御助言、御教示賜りました金沢大学第一生理学、永坂鉄夫教授、神経情報施設、東田陽博教授ならびに、統計学的処理について御指導を賜りました金沢大学衛生学、橋本和夫教授に深く感謝の意を表します。

本論文の要旨は第70回中部日本整形外科学会において発表した。また本実験は文部省科学研究費の援助をうけたものである。

文 献

- 1) Tchetter, T. H., Klassen, A. C., Resch, J. P. & Mayer, M. W.: Blood flow in the central and peripheral nervous system of dogs using a particle distribution method. *Stroke*, 1, 370-374 (1970).
- 2) Sugimoto, H., Monafu, W. W., & Simazaki, S.: Regional sciatic blood flow response to limb movement. *Am. J. Physiol.*, 25, (Heart Circ. Physiol. 2). H439-H441 (1987).
- 3) 松本 昇: 圧迫神経障害に関する実験的研究。日整会誌, 57, 805-816 (1983).
- 4) 宇賀治行雄: 末梢神経牽引による神経内血流動態に関する実験的研究。十全医会誌, 96, 599-612 (1987).
- 5) Rundquist, I., Smith, Q. R., Michel, M.E., Öberg, P. A. & Rapoport S. I.: Sciatic nerve blood flow measured by laser doppler flowmetry and [^{14}C] iodoantipyrine. *Am. J. Physiol.*, 248, H311-H317 (1985).
- 6) Yahe, Y. & Cummins, H. Z.: Localization flow measurement with He-Ne laser spectrometer. *Appl. Physiol. Lett.*, 4, 176-179 (1964).
- 7) 野平久仁彦, 新富芳尚, 大浦武彦: レーザードップラー血流系 PERIFLUX 使用経験。形成外科, 27, 311-317 (1984).
- 8) Tanaka, T.: Velocity measurements in human retinal vessels. *Science*, 186, 830-831 (1974).
- 9) Stern, M. D., Laper, D. L., Bowen, P. D., Chimosky, J. E., Hollowy, G. A., Keiser, H. R. & Bowen, R. L.: Continuous measurement of tissue blood flow by laser doppler spectroscopy. *Am. J. Physiol.*, 232, H441-H448 (1977).
- 10) Shepherd, A. P. & Riedel, G. L.: Continuous measurement of intestinal mucosal blood flow by laser doppler velocimetry. *Am. J. Physiol.*,

- 242, G668-G672 (1982).
- 11) 鴫田俊一, 桜井 実, 飯田 剛, 宮坂芳典: 神経剝離術による血行改善の証明. 日手会誌, 3, 146-149 (1986).
- 12) Miller, C. E.: 犬の解剖学 (和栗秀一, 醍醐正之訳) 373-389 学窓社, 東京, 1970.
- 13) 岡本満男: 坐骨神経の微細血管分布に就いて. 広島医学, 11, 520-525 (1958).
- 14) Aukland, K., Bower, B. F. & Berliner, R. W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.*, 14, 164-187 (1964).
- 15) Stosseck, K., Lubbers, D. W. & Cottin, N.: Determination of local blood flow (microflow) by electrochemically generated hydrogen; construction and application of the measuring probe. *Pfugers Arch.*, 348, 225-238 (1974).
- 16) Carter, L. P., Erspamer, R. & Bro, W. J.: Cortical blood flow: thermal diffusion vs isotope clearance. *Stroke*, 12, 513-518 (1981).
- 17) Makitie, J. & Tetavainen.: Peripheral nerve injury and recovery after temporary ischemia. *Acuta Neuropath.*, 37, 55-63 (1977).
- 18) Lundborg, G.: Ischemic nerve injury. *Scand. J. Plast. Reconstruct. Surg., Supple* 6, 77-87 (1970).
- 19) Korthals, J. K., Korthals, M. A. & Wisniewski, H. M.: Peripheral nerve ischemia. Part 1. Experimental model. *Neurol. Sci.*, 24, 65-76 (1975).
- 20) 吉村光生, 野村 進: 阻血性拘縮における末梢神経障害の影響について. 日災害医誌, 22, 1081-1083 (1974).
- 21) 藤野圭司: 末梢神経内血行動態の変化が軸索の変性と再生に及ぼす影響についての実験的研究. 日整会誌, 61, 383-397 (1987).
- 22) Low, P. A. & Tuck, R. R.: Effects of changes of blood pressure respiratory asidosis and hypoxia on blood flow in the sciatic nerve of the rat. *J. Physiol.*, 347, 513-524 (1984).
- 23) Smith, D. R., Korbine, A. I. & Rizzoli, H. V.: Absence of autoregulation in peripheral nerve blood flow. *J. Neurol. Sci.*, 33, 347-352 (1977).
- 24) Eklöf, B., Lassen, N. A., Nilsson, L., Norberg, K. & Siesjö, B. K.: Blood flow and metabolic rate for oxygen in the cerebral cortex of the rat. *Acta. Physiol. Scand.*, 88, 587-589 (1973).
- 25) Sunderland, S.: *Nerve and Nerve Injuries*, 2nd ed., p164-165, Churchill Livingstone, Edinburgh London, 1978.
- 26) Gieron, M. A., Maki, T. & Korthals, J. K.: Recovery of nerve conduction after transient ischemia. *J. Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 56, 589 (1983).
- 27) 飯塚 正, 黒川高秀: 阻血時にみられる脊髄誘発電位および末梢神経誘発電位に関する実験的研究 — 一過性振幅増大現象について —. 日整会誌, 55, 163-170 (1982).

Experimental Studies on Hemodynamics of Peripheral Nerve under Ischemic Conditions -Measurement of Blood Flow by Laser Doppler Method- Kentaro Miyazaki, Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 97, 989-1002 (1988)

Key words : peripheral nerve, blood flow, laser doppler method, ischemia

Abstract

The reliability of the laser doppler method to measure the local blood flow of peripheral nerve was evaluated in this study. The canine sciatic nerve were employed as test specimens. There was a positive high correlation ($r = 0.977$, $p < 0.01$) between the values obtained by the laser doppler method and the hydrogen gas clearance method. Also, the results of continuous blood flow measurement by this method agreed well with those of the thermal diffusion method. The laser doppler method showed the following advantages. 1) Continuous monitoring is possible. 2) Measurement in small tissue is possible. 3) The results are little influenced by environmental changes 4) The calibration to absolute values is easy. Utilizing the laser doppler method, the local blood flow of canine sciatic nerve was continuously monitored and the influence of the factors which cause ischemia in the peripheral nerves was evaluated. Hypotension and hypoxia were studied as systemic factors and the obstruction of major vessels was evaluated as a local factor. Under hypotension, there was a linear correlation between the mean arterial pressure (X) and the neural blood flow (Y): $Y = 0.533X - 0.664$, $r = 0.805$ ($p < 0.01$). Under hypoxia, the mean arterial pressure increased by $18 \pm 4\%$ and the neural blood flow increased significantly by $41 \pm 18\%$ ($p < 0.01$). The kinetics of both parameters closely paralleled, suggesting that the increase in neural blood flow was mainly attributable to the rise in the blood pressure. With the obstruction of the abdominal aorta and the femoral artery, the correlation of neural ischemia and neural function was estimated. Conduction disturbance of the nerve evoked potentials (NEP) was observed in the mid-portion of the sciatic nerve in six out of nine specimens. In the group of diminished NEP, the neural blood flow was $7.7 \pm 4.5\%$ of control after fifteen minutes of ischemia, while in the group in which the NEP had not diminished, the blood flow was $22.5 \pm 2.0\%$ at fifteen minutes. These results suggest that the critical point of neural blood flow causing the peripheral nerve dysfunction is somewhere between 7% and 20%.