

血管機能の新たな測定方法の検討
～レーザースペックル二次元血流画像化法の応用～

学籍番号 15073302
箕越 功浩

論文要旨

血管機能の新たな測定方法の検討～レーザースペckル二次元血流画像化法の応用～

箕越 功浩

研究の目的は、近年開発されたレーザースペckル二次元血流画像化法(Laser Speckle Flowgraphy:LSFG)による皮膚血流量の測定を応用して、動脈硬化症による血管機能の低下が生じやすい下肢末梢部の血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に評価する方法を開発し、その意義を検討することである。また、その方法を用いて、生活習慣の改善を目的とした健康セミナーの参加者を対象に、生活習慣の改善が血管壁の硬化及び血管内皮機能に及ぼす影響についても検討する。本研究の実施にあたっては、山口県立大学倫理委員会の承認を受けた(承認番号27-14)。

LSFGを利用して血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に測定する方法の検討では、健常者12名(男性6名、女性6名、年齢 19.7 ± 1.2 歳)を対象とした。生活習慣の改善が血管壁の硬化及び血管内皮機能に及ぼす影響の検討では、生活習慣の改善を目的とした健康セミナー参加者のうち12名(男性2名、女性10名、年齢 62.2 ± 5.0 歳)を対象とした。対象者は、いずれも疾病による治療や定期投薬を受けていない18歳以上の健常者とした。反応性充血を起こすための駆血部位は足首とし、駆血圧200mmHgで駆血時間5分間とした。測定項目は、(1)LSFGによる足背の皮膚血流量、(2)RHI(反応性充血指数)、(3)AI@75(心拍数75回/分に補正した脈波増大係数)、(4)CAVI(心臓足首血管指数)、(5)ABI(足関節/上腕血圧比)である。LSFGによる皮膚血流量では、駆血解除直後から1秒以内に急峻な血流の増加が観察され、その後10秒前後をピークとする緩やかな波(第1峰)と30～40秒をピークとする緩やかな波(第2峰)が観察された。皮膚血流量の波形解析により、駆血解除直後の1秒間に占める駆血解除直後0.5秒の割合を $R_{0.5/1.0}$ 、駆血解除直後の血流増加が終息し、第1峰に移行する直前の最低値を基準値として第1峰のピークの血流量の変化率をRH peak 1とした。駆血解除後1～60秒全体の血流量に占める、駆血解除直後の血流増加が終息し第1峰に移行する直前の最低値以上の血流量の割合をRH area 1とした。

$R_{0.5/1.0}$ は、血管壁硬化の指標であるCAVIと有意な負の相関($r = -0.71$, $p = 0.01$)を示した。RH peak 1とRH area 1は、血管内皮機能の指標であるRHIとの有意な正の相関関係(それぞ

れ、 $r=0.67$ 、 $p=0.02$ 、と $r=0.83$ 、 $p=0.01$)から、血管内皮機能の指標となることが示唆された。生活習慣改善を目的とした健康セミナー前後では、体重とBMI、CAVI、 $R_{0.5/1.0}$ は、ほとんど変化しなかったが、RH peak 1とRH area 1は有意でないものの平均値が増加することが観察された。

以上の結果から、LSFGを利用して駆血解除後の下肢末梢部における皮膚血流量の変化を測定することにより、血管機能の重要な因子である血管壁の硬度及び血管内皮機能を同時に評価できることが示された。また、生活習慣の改善によって、体重や血管壁の硬化に変化のみられない段階においても、本研究で開発した方法を用いて血管内皮機能の改善を捉えることができれば、生活習慣改善の継続への強い動機付けを与えることができることが示唆された。

Abstract

A new method for evaluation of the vascular function- Application of 2-dimensional laser speckle flowgraphy-

Katsuhiko Minokoshi

The purpose of this study was to develop a method for simultaneous evaluation of the vascular wall stiffness and vascular endothelial function in the peripheral region of the lower limbs, where a decrease in the vascular function tends to occur due to atherosclerosis, by measuring skin blood flow using the recently developed laser speckle flowgraphy (LSFG), and evaluate the usefulness of this method. In addition, the effects of lifestyle improvement on vascular wall stiffness and vascular endothelial function were evaluated in participants in a health seminar for lifestyle improvement. This study was performed with the approval of the Ethics Committee of Yamaguchi Prefectural University (approval No. 27-14).

The method for simultaneous evaluation of the vascular wall stiffness and vascular endothelial function using LSFG was evaluated in 12 healthy subjects (6 males and 6 females, aged 19.7 ± 1.2 years). The effects of lifestyle improvement on the vascular wall stiffness and vascular endothelial function were evaluated in 12 subjects (2 males and 10 females, aged 62.2 ± 5.0 years) who participated in a health seminar for lifestyle improvement. All subjects were ≥ 18 years old and healthy, without receiving treatment or regular medications due to diseases. To induce reactive hyperemia, a pressure cuff was placed around the ankle and inflated to 200 mmHg for 5 minutes. The measurement items were: (1) the skin blood flow in the dorsal region of the foot measured using LSFG, (2) reactive hyperemia index (RHI), (3) augmentation index (AI) corrected for a

heart rate of 75 beats/min (AI@75), (4) cardio-ankle vascular index (CAVI), and (5) ankle-brachial pressure index (ABI). The skin blood flow measured using LSFG acutely increased immediately - within 1 second after the release of the pressure cuff, and subsequently showed 2 gentle waves with peaks at about 10 seconds (first peak) and 30-40 seconds (second peak), respectively. In waveform analysis of the skin blood flow, the following items were evaluated: ratio of blood flow during the 0.5-second period to that during the 1.0 second period immediately after cuff release ($R_{0.5/1.0}$), ratio of blood flow at the first peak to that at baseline immediately before the first peak appearing after the disappearance of the blood flow increase immediately after cuff release (RH peak 1), and the ratio of the blood flow area above the baseline immediately before the first peak appearing after disappearance of the blood flow increase immediately after cuff release to that during the total period from 1 to 60 seconds after cuff release (RH area 1).

$R_{0.5/1.0}$ was negatively correlated with CAVI as a parameter of vascular wall stiffness ($r = -0.71$, $p = 0.01$). RH peak 1 and RH area 1 were positively correlated with RHI as a parameter of the vascular endothelial function ($r = 0.67$, $p = 0.02$ and $r = 0.83$, $p = 0.01$, respectively), suggesting that they can be parameters of the vascular endothelial function. No significant change was observed in body weight, BMI, CAVI, or $R_{0.5/1.0}$ after the health seminar for lifestyle improvement compared with the values before the seminar, but the mean RH peak 1 and RH area 1 slightly increased after the seminar.

These results suggest that the evaluation of changes in the skin blood flow in the peripheral region of the lower limbs after pressure cuff release using LSFG allows the simultaneous assessment of vascular wall stiffness and vascular endothelial function as important factors of the vascular function. In addition, even in the stage showing no

changes in body weight or vascular wall stiffness after lifestyle improvement, detection of improvement in the vascular endothelial function using the method developed in this study may markedly promote motivation to continue efforts to improve the lifestyle.

目次

第 1 章 序論	1
1.1 研究の背景	1
1.2 動脈硬化症の概要	2
1.2.1 動脈硬化症の病態	2
1.2.2 動脈壁の硬化度の測定方法	2
1.3 血管内皮機能の測定方法	3
1.3.1 血管内皮機能と反応性充血	3
1.3.2 反応性充血における血流依存性血管拡張反応の測定方法	4
1.4 レーザー光を利用した皮膚血流量の測定方法	5
1.4.1 レーザードップラー血流計	5
1.4.2 レーザードップラー血流画像化法	5
1.4.3 レーザー-speckle 血流画像化法(Laser Speckle Flowgraphy:LSFG)	6
1.4.4 レーザー光を利用した反応性充血の測定	6
1.5 本研究の目的	7
1.6 研究の特色・意義	7
第 2 章 研究方法	9
2.1 対象者と倫理的配慮	9
2.1.1 LSFG を用いて血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に測定する方法の検討 (以下研究 1)	9
2.1.2 生活習慣の改善が血管壁の硬化及び血管内皮機能に及ぼす影響の検討 (以下研究 2)	9
2.1.3 倫理的配慮	9
2.1.4 安全性と安全確保のための配慮および実施時の異常発生時の対応策	10
2.2 測定	10
2.2.1 測定項目	10
2.2.2 測定スケジュール	14
2.3 LSFG の波形解析	16

2.3.1	皮膚血流量の分析範囲	16
2.3.2	LSFG により得られる波形(0~120 秒)	17
2.3.3	駆血解除直後から 1 秒までの波形解析	18
2.3.4	駆血解除後から 60 秒までの波形解析	20
2.4	統計学的方法	23

第 3 章 結果

3.1	研究 1	24
3.1.1	波形解析の結果一覧	24
3.1.2	$R_{0.5/1.0}$ と CAVI の相関	25
3.1.3	$R_{0.5/1.0}$ と AI@75 の相関	25
3.1.4	RH peak 1 と RHI の相関	26
3.1.5	RH peak 2 と RHI の相関	26
3.1.6	RH peak 3 と RHI の相関	27
3.1.7	RH area 1 と RHI の分布と相関	27
3.1.8	RH area 2 と RHI の相関	28
3.1.9	RH peak 1 と CAVI の相関	29
3.1.10	RH area 1 と CAVI の分布と相関	29
3.2	研究 2	30
3.2.1	体重	30
3.2.2	BMI	30
3.2.3	$R_{0.5/1.0}$	31
3.2.4	CAVI	32
3.2.5	RH peak 1	32
3.2.6	RH area 1	33

第 4 章 考察

4.1	LSFG による血管壁の硬化の測定	34
4.2	LSFG による血管内皮機能の測定	34
4.2.1	駆血解除後の反応性充血でみられる皮膚血流量の変化	34

4.2.2 血管内皮機能の測定	35
4.3 生活習慣の改善が血管壁の硬化と血管内皮機能に及ぼす影響	36
4.4 LSFSG によって測定可能な血管機能と機器の長所と欠点	36
第 5 章 結語	37
謝辞	37
引用文献	38

略語一覧

ABI: ankle brachial pressure index(足関節/上腕血圧比)

AI: augmentation index;(脈波増大係数)

AI@75(AIを脈拍数75回/分で補正したものの脈波増大係数)

CAVI: cardio ankle vascular index;(心臓足首血管指数)

FMD: flow mediated dilation;(血流依存性血管拡張反応)

LSFG: Laser Speckle Flowgraphy(レーザースペックル血流画像化法)

IMT: intima-media complex thickness(内皮中膜複合体肥厚度)

NO: nitric oxide (一酸化窒素)

PWV: pulse wave velocity(脈波伝播速度)

R_{0.5/1.0} (駆血解除直後から0.5秒後までの血流量が、駆血解除直後から1秒後までの血流量に占める割合)

RH area 1: reactive hyperemia area 1(駆血解除後1~60秒全体の血流量に占める、駆血解除直後の血流増加が終息し、第1峰に移行する直前の血流量以上の割合)

RH area 2: reactive hyperemia area 2(駆血解除直後の血流増加が終息し、第1峰に移行する地点から60秒までの血流量に占める、駆血解除直後の血流増加が終息し、第1峰に移行する地点から60秒後の血流量以上の割合)

RHI: reactive hyperemia index(反応性充血指数)

RH peak 1: reactive hyperemia peak 1(駆血解除直後の血流増加が終息し、第1峰に移行する直前の最低値を基準値として、第1峰のピークの血流量の変化率)

RH peak 2: reactive hyperemia peak 2(第1峰が終息し、第2峰に移行する直前の最低値を基準値として、第2峰のピークの血流量の変化率)

RH peak 3: reactive hyperemia peak 3(第2峰から20秒後の血流量を基準値として、第2峰のピークの血流量の変化率)

第1章 序論

1.1 研究の背景

動脈硬化症は、脳梗塞、心筋梗塞、狭心症、下肢閉塞動脈硬化症など一旦発症すると死亡率が高く、致命的でない場合も患者の生活の質(Quality Of Life: QOL)を著しく低下させる循環器疾患の原因となる臨床的に重要な病態である。平成 28 年度人口動態統計の死因別死亡率(人口 10 万対)によると、死因の 1 位は悪性新生物(28.5%)、2 位が心疾患(15.1%)、3 位が肺炎(9.1%)、4 位が脳血管疾患(8.4%)であり、動脈硬化性疾患である心疾患と脳血管疾患を合わせると 1 位の悪性新生物に迫る割合であることから、健康診断や定期受診時の検査などによる早期発見と効果的な生活習慣の改善指導による予防戦略が求められている¹⁾。

これまでは、動脈硬化症を早期発見する手段として、脈波伝搬速度の測定を基本とする動脈壁の硬化度の測定が実用化され、血管年齢として早期発見や生活習慣の改善への動機付けとして利用されてきた。しかし、動脈壁の硬化が観察される時期は、自覚症状がなくても病変としてはある程度進行した状態であることから、動脈壁硬化の前段階として血管拡張を調節する機能の低下を検出することができれば、より早い段階で動脈硬化症の発症・進展のリスクを予見できるようになり、生活習慣の改善の動機付けに活用することが期待される。

血管内皮は、血管機能の制御において重要な役割を果たしており、その機能低下は動脈硬化症の発症・維持・進展・破綻にも深くかかわっていることが明らかとなっている²⁾。特に、動脈壁の硬化が始まる前の初期病変において、血管内皮が産生する一酸化窒素(nitric oxide: NO)による血管拡張機能の低下が注目されている。多くの研究により血管内皮機能の評価が、動脈硬化症の予後規定因子になることが報告されている³⁾。

現在実用化されている血管内皮機能の測定方法における問題点としては、測定機器が高価であること、検査ごとのディスポーザブルな消耗品が高価であること、手技が複雑であり検者の熟練への依存度が高いために一般的な普及までには至っていないこと、血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に測定できないこと、などが挙げられる。そこで、より簡便な測定方法を開発する必要性があると考え、簡便かつ安定的に皮膚血流量の変化を連続的に測定することができるレーザースペックル血流画像化法を応用して、駆血解除後の反応性充血に伴う皮膚血流量の変化を測定することにより、動脈壁の硬さと血管内皮機能を同時に測定することができないかと考えた。

1.2 動脈硬化症の概要

1.2.1 動脈硬化症の病態

動脈硬化症とは、血管壁の肥厚・硬化など病理学的変化(粥状硬化巣)の発生により血管の弾力性、柔軟性が失われ、血管の機能が低下した状態をいう。粥状硬化巣は、病変の進行により脂肪線条、線維斑、複合病変など多彩な形をとる。脂肪線条は、動脈壁の内膜に侵入した低比重リポ蛋白質(low-density lipoprotein:LDL)を多量に貪食したマクロファージが泡沫細胞として集まった初期病変である。線維斑は、泡沫細胞が崩壊し、コレステロールが細胞間質に沈着して炎症反応が起こり、血管内膜が線維性に肥厚したものである。炎症反応は、血管内皮細胞の障害、中膜の平滑筋細胞の遊走・増殖などを引き起こす。複合病変は、線維斑に壊死、潰瘍、出血、石灰沈着、血栓形成など多彩な病変がみられる粥状硬化巣の完成形である。

Ross(1999)は、動脈硬化症の発生機序として「障害反応説」を提唱した⁴⁾。何らかの危険因子が作用することにより血管壁が損傷すると、それを修復する障害反応が起こるが、危険因子に長期間暴露されると血管壁の損傷と修復が繰り返され、慢性炎症による過剰な防御・修復反応によって動脈硬化病変を形成する。動脈硬化症の危険因子には、糖尿病、脂質異常症、高血圧症などの疾患に加えて、ストレスや不眠などの生活因子、喫煙や運動などの個人的な習慣、年齢・性別も含まれている。

1.2.2 動脈壁の硬化度の測定方法

動脈硬化症は、症状、身体所見、血圧、心電図など一般的な診察所見に加えて、血管の超音波エコー検査、胸部 X 線検査、CT、MRI などの画像診断検査の所見から総合的に診断される。頸動脈エコー検査では、内皮中膜複合体肥厚度(intima-media complex thickness:IMT)や粥腫の存在・性状を調べる。IMT は高血圧、糖尿病、脂質異常症の存在により増加し、その増加とともに脳血管障害や冠動脈疾患の発症リスクは直線的に増加する⁵⁾。以下に、血管壁の硬化度の主な測定方法を示す。

(1)足関節/上腕血圧比(ankle brachial pressure index:ABI)

ABI 値は、足関節部の収縮期血圧を上腕部の収縮期血圧で除した比で算出される。血管が分岐して血管径が小さくなると、血管壁の脈動の反射波が生じる。健常な血管では、心拍による脈動と反射波の干渉により、中枢側の血圧に比べて末梢側の血圧の方が高値になる。しかし、動脈壁の硬化が進行すると反射波が小さくなるので末梢側の血圧は低下する。ABI 値の低下は動脈硬

化症による末梢血管の狭窄の程度を表していると考えられ、0.9 以下になると 95%の感度で血管造影陽性の病変が検出される。

(2)脈波伝播速度(pulse wave velocity:PWV)

PWV 値は、心拍によって発生した脈波が心臓から近い血管と遠い血管に到達する時間差を測定することにより算出される。一般に、血管壁の弾力が失われると、PWV 値は上昇するが、血圧の影響を受けることから、測定値の解釈には注意を要する。

(3)心臓足首血管指数(cardio ankle vascular index:CAVI)

CAVI 値は、血圧と PWV を組み合わせて、大動脈から下腿動脈までの血管を一体化した血管壁の弾力として算出される。血圧に依存しない血管壁の弾力は、収縮期血圧と拡張期血圧の比と血管内径の変化率の関係から算出することができる。CAVI は、血管内径の変化率と PWV の関係を利用して、血圧に依存しない血管壁の弾力を見る指標として開発された。

(4)脈波増大係数 (augmentation index:AI)

AI 値は、駆動圧波に対する反射圧波の比で算出したものである。大動脈壁の圧波を記録すると、収縮前期では心拍によって駆出された血液による駆動圧波が観察され、収縮後期では反射圧波の影響のため圧波の再上昇が出現する。駆動圧波は心臓の収縮によって出現するが、反射圧波は血管系の状況により大きく変化する。AI 値は血管の硬化により上昇し、左心室への後負荷の増加に関係している。

1.3 血管内皮機能の測定方法

1.3.1 血管内皮機能と反応性充血

動脈硬化症の診断に用いられる検査方法には、血管壁の硬さを測定するものが多いが、動脈硬化症の初期病変においては、これらの検査方法では異常値を検出できない時期に、既に血管内皮機能が低下していると考えられている。血管内皮細胞は、NOなどを産生することで血管構造を保持し、動脈硬化症の発症・進展を抑制するように機能する。動脈硬化症の危険因子の影響で血管内皮細胞が障害されると、NOなどの血管保護因子の作用が減弱し、動脈硬化症は促進する⁶⁾。

上肢または下肢を駆血して末梢の血流を遮断した後、駆血を解放すると、駆血した部位より末

梢の血流が増加することを反応性充血という。反応性充血は、血流再開による shear stress の増加により刺激された血管内皮細胞が NO を放出して、末梢血管が拡張されることによって生じる。よって、上肢または下肢を駆血し、駆血解除後の血流増加または血管径の拡大を測定することにより、血管内皮細胞由来の NO 依存性の血管拡張機能を測定することができる。以下に、既に実用化されている主な測定方法を示す。

1.3.2 反応性充血における血流依存性血管拡張反応の測定方法

(1) プレスチモグラフィ

プレスチモグラフィは、ストレインゲージを前腕に巻き、前腕の容積変化を電気抵抗の変化として捉え、前腕血流量を算出することによって行う方法である⁶⁻⁸⁾。この方法には観血的方法と非観血的方法がある。前者は血管作動物質を直接動脈内に投与することにより抵抗血管の血流量の変化を測定する方法である。長所は、動脈内に血管作動物質を投与して評価するため血管反応の生理的メカニズムが明確にできることである。短所は、動脈内に血管作動物質を投与して評価するため身体的な侵襲があり、検査時間が長時間にわたるため被検者への負担が大きくなることである^{2, 9-11)}。後者は、反応性充血による血流量の変化で評価する方法である⁵⁾。長所は、身体的な侵襲はなく反復測定は可能なことである。短所は、血管反応の生理的メカニズムが前者と比較して低下することである¹⁰⁾。両者に共通した短所は、手技が複雑であることである。

(2) 超音波による上腕動脈径の測定(flow mediated dilation: FMD)

現在、臨床で最も使用されている血管内皮機能のスタンダードな測定方法である。駆血用のカフは上腕部または前腕部に装着する。カフ圧は被験者の収縮期圧に 50 mm Hg を加えた圧とし、虚血時間は 5 分間が標準である。超音波を用いて駆血前後の上腕動脈の血管径を、超音波を用いて測定し、血管径の変化率(%FMD)を算出する^{9, 12)}。超音波で測定可能な太い血管レベルでの反応性充血を反映する測定法である。

長所は、非侵襲的で、検査時間も比較的短時間であることから、被検者への負担が少ないことが挙げられる。しかし、従来の手動により血管を抽出する方法では、測定者の熟練の程度により FMD 値にばらつきが見られ、再現性に問題があり、やや特異性に欠けることが指摘されてきた¹³⁾。この問題点を解決するため、最近開発された半自動型血管内皮機能解析装置では、拍動に伴う血管壁の動きを経時的に自動追尾し、しかも解像度の向上による鮮明な撮像が可能になったことから、一般的な臨床現場で活用できるようになったが、機器は高価になった。

(3)指先の動脈の拍動性容積変化の測定(peripheral arterial tonometry: PAT)

指先の動脈の拍動性の容積変化を利用して反応性充血における血流依存性血管拡張反応を測定する機器として、エンドパット 2000□(イタマー・メディカル社、イスラエル)が実用化されている。エンドパット 2000□は、指先の動脈の拡張を拍動性の容積変化(指尖脈波)として測定する機器である。片腕を駆血して駆血開始前と開放後を比較することは FMD と同じであるが、駆血しない側の指先をコントロールとして使うことにより、駆血による交感神経の変化からもたらされる血流量の変化をキャンセルして測定を基準化できる¹⁴⁾。エンドパット 2000□を用いて得られる反応性充血指数(reactive hyperemia index: RHI)は、血管内皮機能の指標として利用されている。長所は、特別な技術習熟を必要とせず、再現性よく測定でき、測定値の被験者間の比較もできることである。欠点は、測定に使用するエンドパッドプローブは単回使用のディスポーザブル製品であることから、ランニングコストが高価なことである。

1.4 レーザー光を利用した皮膚血流量の測定方法

1.4.1 レーザードップラー血流計

従来から、皮膚血流量の測定方法として、レーザードップラー血流計が用いられてきた。これは、レーザー光を血流に当てると、レーザー光の周波数がドップラー効果により変化することを利用した方法であり、皮膚表面から 0.5~1 mm 程度(測定機によって異なる)の深さにある毛細血管内の血流を測定することができる¹⁵⁾。長所は、連続して測定することができるため温熱、寒冷などの物理的刺激による血流量の変化を比較的長時間にわたり連続して測定することが可能であることである。また、測定プローブと皮膚の間に水が浸漬しないようにテープで保護することで水中での測定も可能である¹⁶⁾。皮膚温も測定可能なプローブを併用すれば皮膚血流量を測定している同一部位の皮膚温も同時に測定できる。欠点は、皮膚血流量は一点のみの一次元の情報であり、プローブを装着する部位によって得られる測定値が異なるため、治療による臨床経過を観察するには適していない。プローブを固定するテープの圧迫の程度によっても皮膚血流量は変化する。

1.4.2 レーザードップラー血流画像化法

レーザードップラー血流画像化法は、指定した皮膚の範囲を、レーザー光を移動させながらスキャンすることにより、二次元画像化を行うものである。長所は、血流状態の分布を非接触にカラーマップ化(血流二次元画像)することができるので、鮮明な末梢血流の画像化が簡単に観察できる。MoorLDI2-HR□(Moor Instruments 社、イギリス)は、1ピクセルの空間分解能が 0.1mm なので、

より細かく血流状態を画像化することができる。最大 256x256 ピクセル(65536 ポイント)で血流状態を画像化することができるので、鮮明に小さなエリアの皮膚血流量を画像化ができる。欠点は、256x256 ピクセル設定で1枚の血流画像を測定するのに約 5 分を要することから、血流量の変化を経時的に連続して測定することができないことである¹⁷⁾。

1.4.3 レーザースペckル血流画像化法(Laser Speckle Flowgraphy:LSFG)

LSFG の測定原理は、レーザー散乱を利用した血流画像化装置である。レーザーで生体表面を照明すると、散乱光が干渉し合って、ランダムな斑点模様を作り出す。これを利用して血流のマップを求めている¹⁷⁾。LSFG は眼科診療の領域では臨床応用されており、眼撮影装置レーザースペckルフローグラフィ-LSFG-NAVIO (ソフトケア社、日本)は、眼底血流をリアルタイムに動画として観察することができる。

LSFG とレーザードップラー血流計の大きな違いは、レーザードップラー血流計は一次元の情報に対して、LSFG は二次元画像として得ることができることであり、合成された血流マップから評価したい範囲を指定することにより安定した測定値が得られる。また 1 秒間に 30 フレームの血流データを得ることができるため、瞬間的な血流量の変化を鋭敏に捉えることも可能である。さらに従来の測定機器に比べると測定方法は簡便であり、測定者による技術にも影響を受けない利点もある。測定は非接触性であるため、プローブの圧迫による血流への影響はなくて済む。そのため皮膚の欠損部位でも測定が可能である。欠点は、環境温度や気化熱による皮膚温度や交感神経の影響を受けやすいことである。また皮膚の毛細血管には部位によって分布の程度や深さ、角質層の厚さが異なるため同一被験者における同一部位の経過を観察することは可能であるが、部位間の比較には注意を要する。また、多量の画像データとして保存されるため、通常は 4 秒または 6 秒間の測定が標準とされており、それ以上の長時間の測定はこれまで検討されていない。

1.4.4 レーザー光を利用した反応性充血の測定

一次元レーザードップラー血流計を使用し、駆血解除後の反応性充血のパターンが報告されている¹⁸⁾。健常者と 2 型糖尿病患者を対象として、レーザードップラー血流計による駆血解除後の皮膚充血量の変化を解析し、糖尿病の細小血管障害及び大血管障害を診断する指標の開発を試みている。測定方法は、プローブを前腕に装着し、3 分間の基礎血流量を測定後、収縮期血圧に 20 mm Hg を加えた圧で 5 分間前腕を駆血し、駆血解除後 5 分間の皮膚血流量の変化を測定した。細小血管の血管内皮細胞の機能を評価する新しい指標として、駆血解除後 1 分間の area

under the curve(AUC)を駆血前(ベースライン)の 1 分間の AUC で 除したものを、post-occlusive reactive hyperemia(PORH)-index として提唱している。PORH-index は健常者に比し、糖尿病患者では著しく低下する¹⁸⁾。一方、最大血流量(maximal peak blood flow:MPF)あるいは MPF までの到達時間(time to MPF:TMPF)に関しては、健常者と糖尿病患者の間で有意差は認められない¹⁸⁾。

これまで、LSFG を用いて反応性充血を測定し、血流波形を分析した研究は行われていない。LSFG は、一次元のレーザードップラー血流計に比べて、安定した測定値が得られることや、瞬間的な血流変化を鋭敏に捉えることなど有利な点が多いことから、LSFG を用いて反応性充血を測定することができれば、臨床応用上の意義は高いと考えられる。

1.5 本研究の目的

我々は、健常者 34 名(19~71 歳)を対象に、LSFG を用いて、足背における駆血解除後の皮膚血流量の変化を測定し、既存の動脈硬化の指標と比較した。その結果、駆血解除直後から 1 秒までの血流量に占める駆血解除直後から 0.5 秒までの血流量の割合($R_{0.5/1.0}$)は、血管壁の硬化の指標である心臓足首血管指数(CAVI)および心拍数 75 回/分で補正された脈波増大係数(AI@75)と相関することを報告した¹⁹⁾。しかし、LSFG の測定時間を標準的な 6 秒間で実施したため、駆血解除後 10~60 秒に出現する反応性充血を捉えることができなかった。

本研究では、その知見を発展させ、LSFG による駆血解除後の血流変化の測定を 2 分まで延長することにより反応性充血を捉えることを試みた。まず、駆血解除後の皮膚血流量の変化を解析し、既存の血管内皮機能測定の指標である RHI との相関関係を見ることで、血管内皮機能を測定する指標となるかどうか検討した。次に、その指標を用いて、食生活および運動習慣の改善が、血管壁の硬化と血管内皮機能に及ぼす影響について検討した。

1.6 研究の特色・意義

LSFG を用いた測定方法は、痛みなどの身体的な侵襲が少なく、測定者の手技に影響を受けず、ランニングコストも安価である。また、1 回の測定で血管内皮機能と血管壁の硬化を同時に測定することができれば、既存の測定機器に対する優位性を示すことができる。

LSFG による血管壁の硬化と血管内皮機能の測定方法が確立され普及すれば、機器の単価も引き下げられ、動脈硬化症の早期発見や経過観察、治療による効果の確認、生活習慣を改善す

る指導におけるモチベーションの向上など、モニタリングのツールとして広く活用することが期待される。

第2章 研究方法

2.1 対象者と倫理的配慮

2.1.1 LSFGを用いて血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に測定する方法の検討(以下研究1)

LSFGを用いて血管壁の硬化と血管内皮機能を同時に測定する方法を検討するために、疾病による治療や定期投薬を受けていない18歳以上の健常者をボランティアとして募集した。上下肢に外傷がある者、血流障害などの異常が強く疑われる者は除外した。測定を実施し、分析の対象者となったものは、12名(男性6名、女性6名)であり、その平均年齢は 19.7 ± 1.2 歳であった。

2.1.2 生活習慣の改善が血管壁の硬化及び血管内皮機能に及ぼす影響の検討(以下研究2)

生活習慣の改善が、血管壁の硬化及び血管内皮機能に及ぼす影響を検討するために、生活習慣改善セミナーに参加しているものを対象として、セミナー前後の測定値の変化を検討した。生活習慣改善セミナー参加者は、山口県立大学で開催されている「YPU すこやかライフセミナー」の参加者からボランティアとして募集した。「YPU すこやかライフセミナー」は、メタボリックシンドロームの予防をテーマとして4か月間にわたり生活習慣の改善に取り組むセミナーである。セミナー参加者は、セミナー開始時に対象者自らが自身の健康状態や日常生活を振り返り、それを踏まえて食生活と運動習慣に関する行動目標を決定する。その後、自己記録表(体重、体脂肪率、行動目標の評価、歩数など)の記載、1か月に1回のグループワークを中心とした健康学習会への参加などのプログラムを経て、4か月後のセミナー終了時に各自の取組状況全体を振り返り、今後の行動計画を立てる。

疾病による治療や定期投薬を受けている者、上下肢に外傷がある者、血流障害などの異常が強く疑われる者は除外した。測定を実施し、分析の対象者となったものは、12名(男性2名、女性10名)であり、平均年齢は 62.2 ± 3.5 歳であった。

2.1.3 倫理的配慮

本研究は、山口県立大学倫理委員会の承認を得た上で行った(承認番号 27-14)。被験者には、研究の目的および実験方法を文書と口頭で説明し承諾を得た。研究への参加は任意であり、研究の途中であっても随時これを撤回することができ、不利益が生じることはないことを説明した。また、個人情報や測定で得られたデータの管理・取扱いに関しては厳重な注意を払うことを約束した。測定前に更衣する場合には、スクリーンで仕切られたスペースで更衣できるようにプライバシーの保護や羞恥心への配慮を行った。

2.1.4 安全性と安全確保のための配慮および実施時の異常発生時の対応策

LSFG で使用するレーザーの安全基準は、クラス 1M(IEC60825-1 に基づく)であり、レーザー照射による生体への悪影響はないことが説明されており、被験者の安全は保障されている²⁰⁾。

カフによる下肢の駆血圧、駆血時間に関しては FMD の標準的な測定方法に準じて実施した。被験者に異常感覚や何らかの異常が認められた場合は、即座に実験を中止し、指導教員が状態を確認し、必要時は医師の診察が受けられるようにした。また、安全確保のため、実験前には測定機器が正常に作動するか確認して実施した。実験中は常に被験者の身体的・心理的变化や異常の早期発見に努めた。

2.2 測定

2.2.1 測定項目

(1)LSFG を用いた皮膚血流量の測定

LSFG を用いて、下肢の駆血解除約 10 秒前から測定を開始し、駆血解除約 110 秒後までの足背の皮膚血流量を連続的に測定した。FMD 測定では、超音波ドップラー法で計測の対象になる太い血管の血管径は 45～65 秒に最大値に達するとされており、反応性充血の開始から終息までの全体像を波形として捉えることを観察するために、測定時間は駆血解除約 110 秒後までとした。機器による皮膚血流量の測定の様子、パソコンと制御ボックスを図 1 に示した。LSFG の測定には、LSFG-ANW(ソフトケア社、日本)を使用した。カメラ(測定プローブ)はシリアル通信により制御ボックスに接続されている。制御ボックスとパソコンは USB により接続され、専用ソフト LSFG Analyzer Version 3.28.0 により解析・記録される。測定にあつては、LD(laser diode)出力のレベルおよびカメラからの距離は一定となるように設定した。



図 1 皮膚血流の測定の様子、パソコンと制御ボックス

(2)エンドパット 2000[®]を用いた血管内皮機能の測定

LSFG を用いた反応性充血の測定結果と比較・検討するため、既存の血管内皮機能測定装置であるエンドパット 2000[®](イタマー・メディカル社、イスラエル)を用いた RHI(reactive hyperemia index 反応性充血指数)の測定を行った。また、エンドパット 2000 は、血管壁の硬化を測定する AI(augmentation index 脈波増大係数)を測定できることから、RHI と同時に測定を行った。AI@75 は、AI を脈拍数 75 回/分で補正したものである²¹⁾。RHI、AI@75 の測定の様子を図 2、PAT プローブを図 3 にそれぞれ示した。駆血圧は収縮期血圧+60 mm Hg または 200 mm Hg の高い方の圧力で駆血した。収縮期血圧は、血圧脈波検査装置による ABI 測定時に得られた値を用いた。



図 2 RHI、AI@75 の測定の様子



図 3 PAT プローブ

(3) 血圧脈波検査装置を用いた血管硬化の測定

LSFG を用いた血管壁の硬化の測定結果と比較・検討するため、既存の血圧脈波検査装置 VaSera VS-2000□(フクダ電子、日本)を用いた CAVI(cardio ankle vascular index 心臓足首血管指数)の測定を行った。CAVI は、動脈壁の硬化の指標として利用されている²²⁾。また、ABI(ankle brachial pressure index 足関節/上腕血圧比)を同時に測定した。ABI は末梢動脈疾患に対する診断および重症度評価が可能であり、より進行した動脈硬化病変の指標として利用されている²²⁾。CAVI と ABI の測定の様子を図 4 に示した。非観血血圧用カフは、強く巻くことで測定値に影響を与えるため、同じ強さで均一に巻くことを心掛けた。



図 4 CAVI、ABI の測定の様子

(4) その他

皮膚温度の測定の様子を図 5 に示した。皮膚温度の測定には多機能サーモグラフィ InfReC R300□(日本アビオニクス社、日本)を使用した。本体を固定する三脚の高さおよびカメラからの距離は一定となるように設定した。皮膚温度は実験中の駆血による皮膚温度の低下の有無の確認のために使用した。

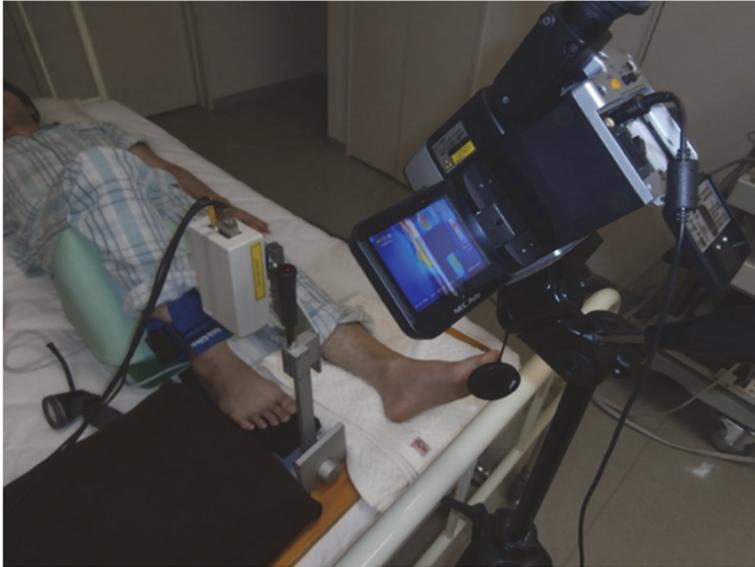


図 5 皮膚温度の測定の様子

脈拍、動脈血酸素飽和度(SpO_2)は、臥位安静が十分保持されているのかを確認し、測定を開始することが可能であるかを判断するために測定した。測定プローブは右上肢の第 2 指へ装着した。脈拍は SpO_2 測定時に検出できる脈波とした。

身長と体重の測定には、ムラテック KDS 社製の DST-210S を使用した。身長と体重は BMI、CAVI、RHI、AI@75 の計算のために用いた。

対象者の属性を知るため生活習慣、生活習慣病、足の症状についてのアンケートに回答してもらった(資料 1)。

2.2.2 測定スケジュール

測定は、山口県立大学看護実験室(E107)で行った。実験室の温湿度は一定になるようにし、部屋は薄暗く静寂を保つように設定した。また気流による皮膚血流、皮膚温度への影響を避けるため、直接冷たい空気に晒されないように、適切な実験環境が設定できるように配慮した。実験中の室温は $26.3 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 、湿度は $46 \pm 8\%$ 、照度は $7.74 \pm 1.72\text{lux}$ 、騒音は $41.8 \pm 5.7\text{ dB}$ であった。温湿度の測定には、リズム時計工業社製の 8RD203-M06、照度の測定には、トプコンテクノハウス社製の IM-2D、騒音の測定には、FUSO 社製の SD-2200 を使用した。温湿度、照度、騒音の測定は、安静にしている被験者のベッドの周囲で行った。測定時間は 9:00~21:00 とした。

測定前 1 週間は、被験者には普段と変わらない生活を送ってもらい、測定前 2~3 時間以内の食事や刺激物の摂取、喫煙、激しい運動、入浴、前日の多量飲酒、体を締めつけるような着衣(補

正下着、弾性ストッキング)、付け爪や長い爪、ペディキュアは避けた上で測定に参加してもらった。

研究 1 は、2017 年 6～7 月に実施し、研究 2 は、2015 年 7～11 月、2016 年 7～11 月に実施した。測定当日の手順を図 6 に示した。

体 位		臥 位				
状 態		安静10分後	安静10分後	安静10分後	駆血5分後	駆血解除 2分後
測定 指標	脈拍・SpO ₂	○				
	CAVI・ABI	○				
	RHI・AI@75		○			
	皮膚血流量			○	○	○
	皮膚温度			○	○	○

図 6 実験プロトコール

研究 1 では、研究の目的および実験方法を説明したのち、生活習慣、生活習慣病、足の症状についてのアンケートに回答してもらった。次に、実験用の衣服に更衣してもらい、身長、体重を測定した。ベッドに仰臥位となり、CAVI と ABI 測定のため両上腕、両足首に血圧測定用カフ、両手首に心電図電極、第 2 肋間胸骨上に心音マイクを装着した。脈拍、SpO₂ 測定のため右手第 2 指にプローブを装着した。臥位安静 10 分後に脈拍、SpO₂ の値が安定していることを確認し、SpO₂ 測定用のプローブを外した。テスト波形パターンが安定していることを確認し、CAVI と ABI の測定を開始した。測定終了後、装着していたカフ等を外した。

次に、RHI と AI@75 を測定するため、両手第 2 指に PAT プローブ、利き腕ではない上腕に駆血用のカフを装着した。全身がリラックスできるようにアームサポートと腕の位置を調節し、PAT プローブに空気を充填した。臥位安静 10 分後にテストモードで左右の波形が表示されていることを確認し、安静時駆血前測定を 5 分間記録した。5 分間の安静時駆血前測定の終了の後、駆血用カフを加圧し、駆血中の測定を 5 分間記録した。続いて駆血用カフのバルブを開放した。開放後測定を 5 分間記録し、測定終了後、PAT プローブ、駆血用カフを外した。

皮膚血流量と皮膚温は、仰臥位のまま、安静 10 分後に測定した。駆血の様子を図 7 に示した。駆血用カフは血圧計に使用されている成人用カフにワンタッチベルトを装着し作成した。駆血部位は足首とし、カフの下縁が外顆、内顆に位置するように装着した。200 mm Hg で加圧して 5 分間維持した後、皮膚温を測定した。皮膚血流量の測定開始約 10 秒後に駆血を解除した。駆血解除はバックル部分のつまみを押さえて瞬間的に解除した。測定は駆血解除後 2 分間連続で行った。皮膚血流量の測定後、皮膚温を測定した。

研究 2 では、RHI と AI@75 の測定を除き、研究 1 と同様に測定した。



図 7 駆血の様子

2.3 LSFG の波形解析

2.3.1 皮膚血流量の分析範囲

測定部位は、足背部分を楕円状に範囲指定した。範囲指定のサイズは被験者全員同一とした。

図 8 に血流マップの 1 例を示した。

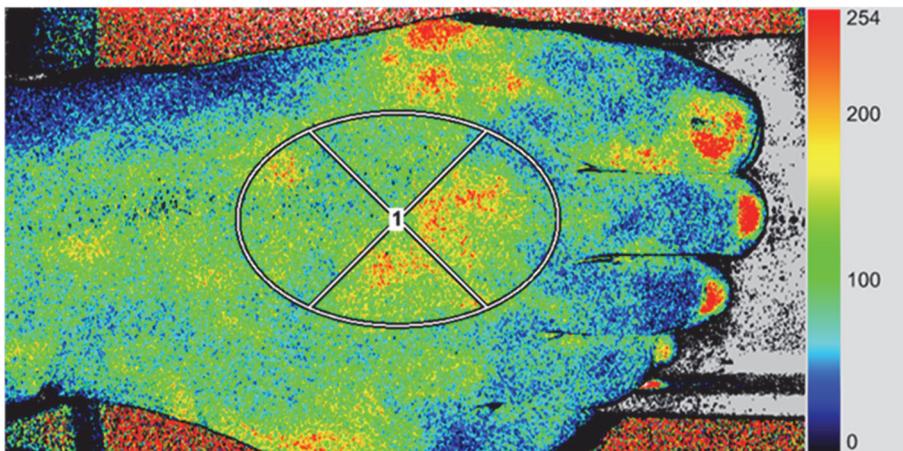


図 8 血流マップ(出典:日本フットケア学会雑誌 Vol.15、No.4、p.196)

2.3.2 LSFG により得られる波形(0~120 秒)

典型的な測定例では、駆血解除直後、まず 1 秒以内の急峻な血流の増加が観察され、その後 10 秒前後をピークとする緩やかな波(第 1 峰)が観察され、続いて 30~40 秒をピークとする緩やかな波(第 2 峰)が観察された(図 9)。このうち、駆血解除直後 1 秒以内の波形を血管壁の硬化の測定に使用し、1~60 秒の波形を反応性充血による血管内皮機能の測定に使用した。

安静時または駆血時の皮膚血流量は個人差が大きいことから、安静時または駆血時の測定値を基準値として血流量の増加を算出すると、測定値を他者と比較することが困難になることが我々の先行研究から示唆された¹⁹⁾。そのため、今回の測定では、得られた波形の中での変化率を算出することにより定量的分析を行った。

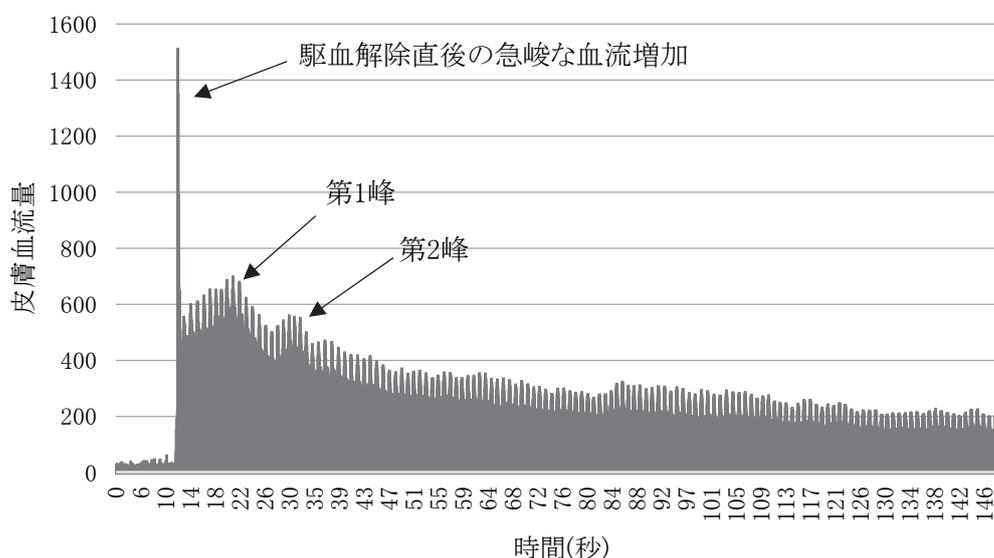


図 9 皮膚血流量の経時変化

2.3.3 駆血解除直後から1秒までの波形解析

図10に駆血解除直後1秒以内に観察される急峻な血流変化を示した。駆血解除直後から0.5秒後までの血流量が、駆血解除直後から1秒後までの血流量に占める割合を $R_{0.5/1.0}$ とした。

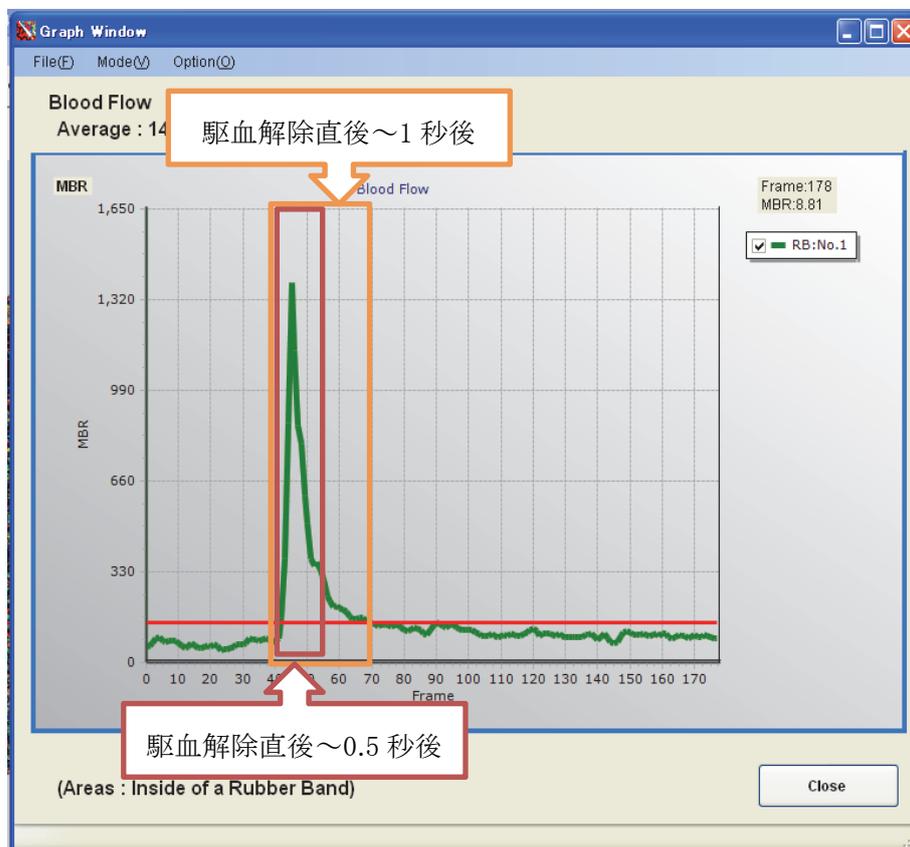


図10 血流グラフ、 $R_{0.5/1.0}$ の分析方法

(出典:日本フットケア学会雑誌 Vol.15、No.4、p.196)

我々は、 $R_{0.5/1.0}$ がCAVIとAI@75と相関することを示し、 $R_{0.5/1.0}$ が血管壁の硬さの指標になることを既に報告¹⁹⁾している(図11、図12)。動脈壁の硬化が進展すると、駆血解除直後に下肢の動脈に流入する血液量の増加による動脈壁の拡張が障害されることから、皮膚血流量増加の立ち上がりを示す駆血解除直後～0.5秒の足背における皮膚血流量の増加が抑制されるために $R_{0.5/1.0}$ が低下する。

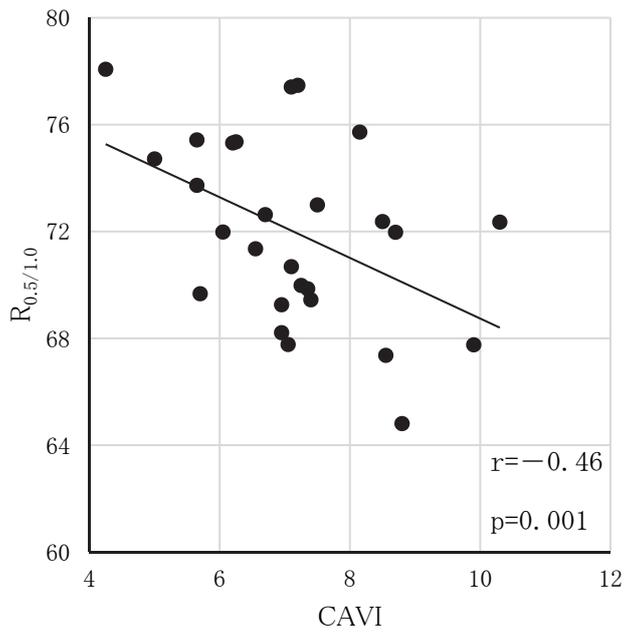


図 11 $R_{0.5/1.0}$ と CAVI の分布と相関

(出典: 日本フットケア学会雑誌 Vol.15、No.4、p.197)

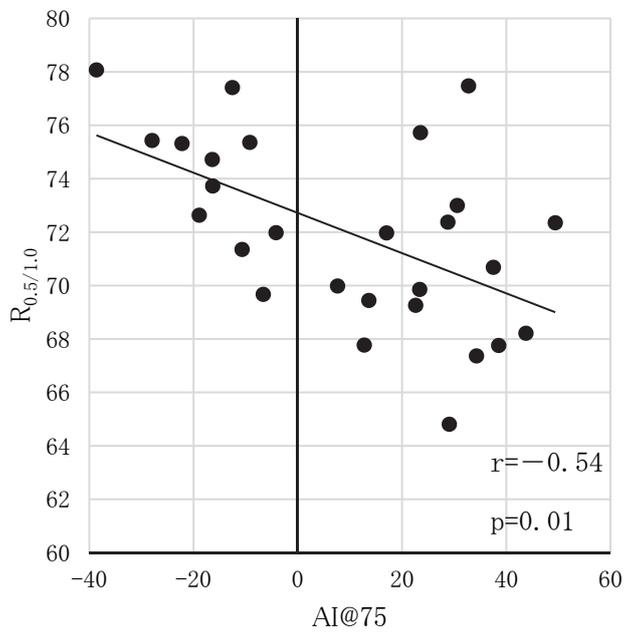


図 12 $R_{0.5/1.0}$ と AI@75 の分布と相関

(出典: 日本フットケア学会雑誌 Vol.15、No.4、p.197)

2.3.4 駆血解除後から 60 秒までの波形解析

反応性充血は、駆血解除後約 1 分以内に観察されることが知られている³⁾。今回の測定においても、1 分以内に 2 つのピークが観察されたため、波形解析の範囲を 1～60 秒に限定した。また 1 秒間に 30 フレーム存在する血流データの一つひとつは、ばらつきが大きいために、3 秒間毎 (90 フレーム) の平均値を算出した。

(1) RH peak 1

駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する直前の最低値を基準値として、第 1 峰のピークの血流量の変化率を RH peak 1 (reactive hyperemia peak 1) とした(図 13)。

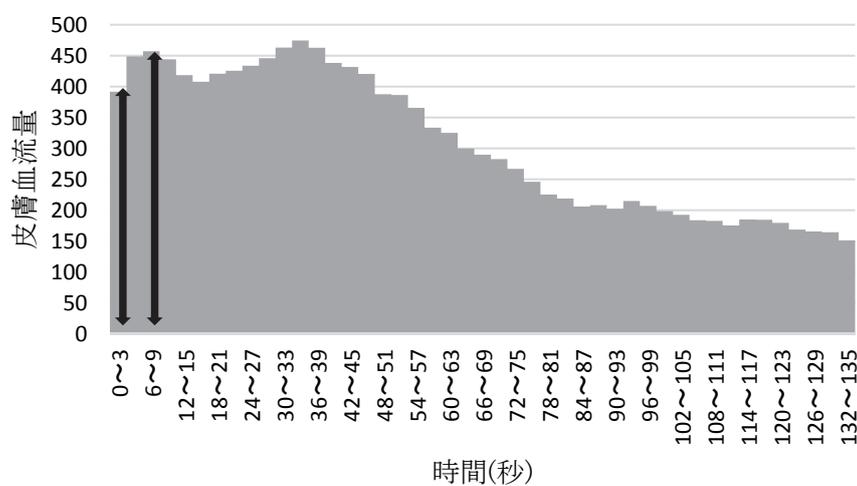


図 13 RH peak 1 の分析方法

(2) RH peak 2

第1峰が終息し、第2峰に移行する直前の最低値を基準値として、第2峰のピークの血流量の変化率をRH peak 2(reactive hyperemia peak 2)とした(図14)。

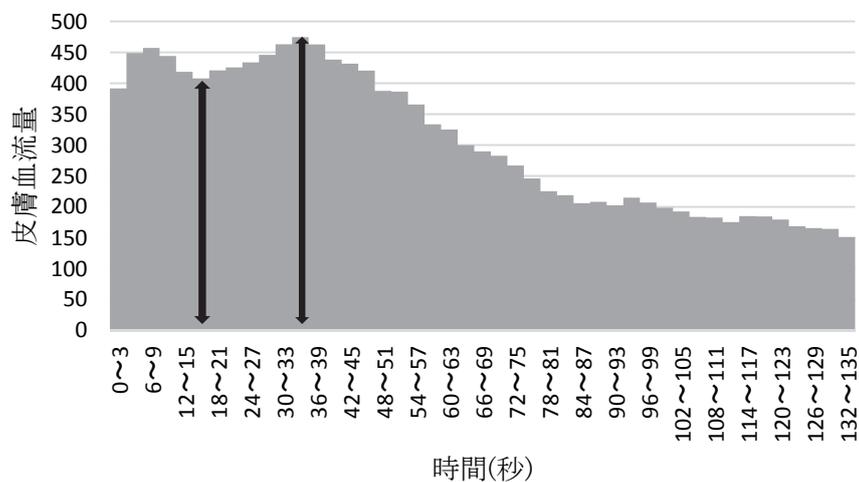


図14 RH peak 2の分析方法

(3) RH peak 3

第2峰から20秒後の血流量を基準値として、第2峰のピークの血流量の変化率をRH peak 3(reactive hyperemia peak 3)とした(図15)。

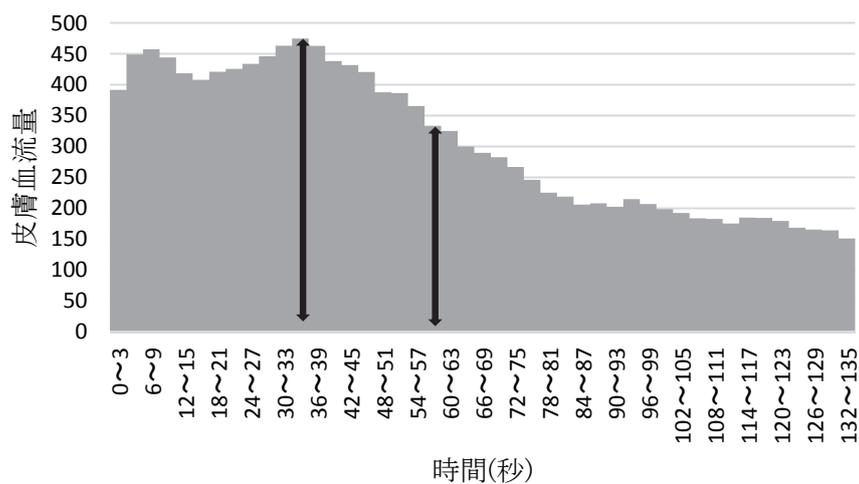


図15 RH peak 3の分析方法

(4) RH area 1

駆血解除後 1～60 秒全体の血流量(実践枠)に占める、駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する直前の血流量以上の割合(点線枠)を RH area 1(reactive hyperemia area 1)とした(図 16)。

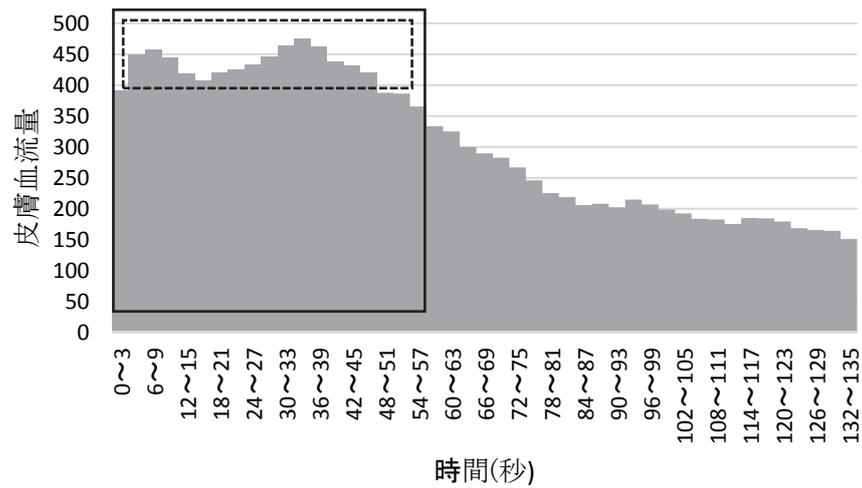


図 16 RH area 1 の分析方法

(5) RH area 2

駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する地点から 60 秒までの血流量(実践枠)に占める、駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する地点から 60 秒後の血流量以上の割合(点線枠)を RH area 2(reactive hyperemia area 2)とした(図 17)。

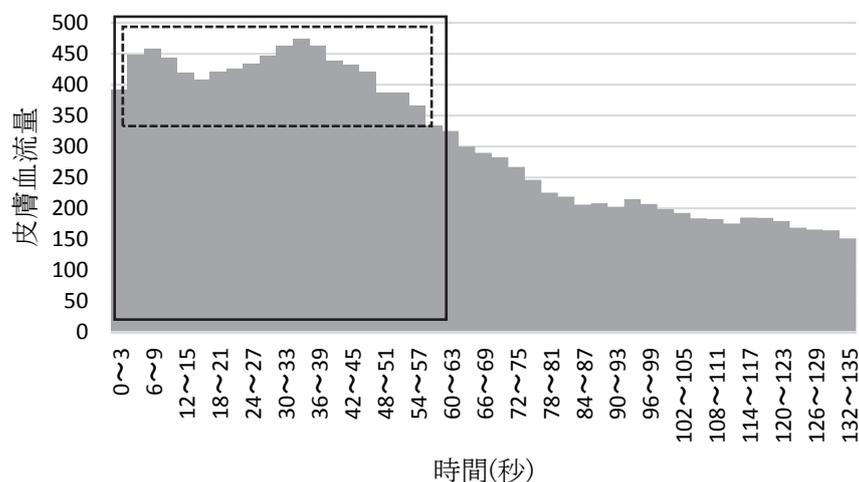


図 17 RH area 2 の分析方法

2.4 統計学的方法

2 つの指標の関連の度合いは、ピアソンの相関係数の検定を用いた。セミナー前後の指標の比較には対応のある t 検定を用いた。有意水準は 5%未満とした。統計解析には、4Steps エクセル統計(第 3 版)に付属しているアドインソフト Statcel3 を用いた。

第3章 結果

3.1 研究1

3.1.1 波形解析の結果一覧

被検者	R _{0.5/1.0}	RH peak 1	RH peak 2	RH peak 3	RH area 1	RH area 2
A	60.1	計測不能	23.8	-32.5	計測不能	25.5
B	57.2	11.3	12.0	-47.8	0.7	25.3
C	64.8	8.8	1.9	-7.4	1.5	8.8
D	66.9	28.6	29.5	-12.7	7.8	36.0
E	64.1	15.3	1.0	-47.4	1.9	33.9
F	77.4	計測不能	8.1	-6.4	計測不能	1.9
G	78.8	19.9	6.3	-22.7	6.4	18.4
H	68.0	10.1	21.1	-34.5	1.6	24.5
I	72.4	5.1	2.2	-47.3	0.4	28.2
J	81.3	計測不能	43.2	-29.9	15.7	10.1
K	73.5	12.0	16.8	-6.3	1.0	25.5
L	62.9	16.7	16.4	-31.5	8.5	21.1
平均値	69.0	14.2	15.2	-27.2	4.1	21.6
標準偏差 (SD)	7.7	7.0	12.7	16	5.3	10.2

被検者 A、F、J において RH peak 1 を計測できなかった理由は、駆血解除直後の瞬間的な血流増加が終息した時点から再び血流増加することなく徐々に低下し、第 1 峰目の血流増加を認めなかったためである。被験者 A、F において RH area 1 計を測できなかった理由は、駆血解除直後の瞬間的な血流増加が終息した時点から再び血流増加することなく徐々に低下し、第 2 峰目の血流増加を認めたとしても、駆血解除直後の瞬間的な血流増加が終息した時点よりも低かったためである。

3.1.2 $R_{0.5/1.0}$ とCAVIの相関

$R_{0.5/1.0}$ とCAVIの分布と相関を図18に示した。CAVIが高値になる(血管壁が硬くなる)に伴い、 $R_{0.5/1.0}$ は低値になる有意な負の相関関係($r = -0.71$ 、 $p = 0.01$)を示した。

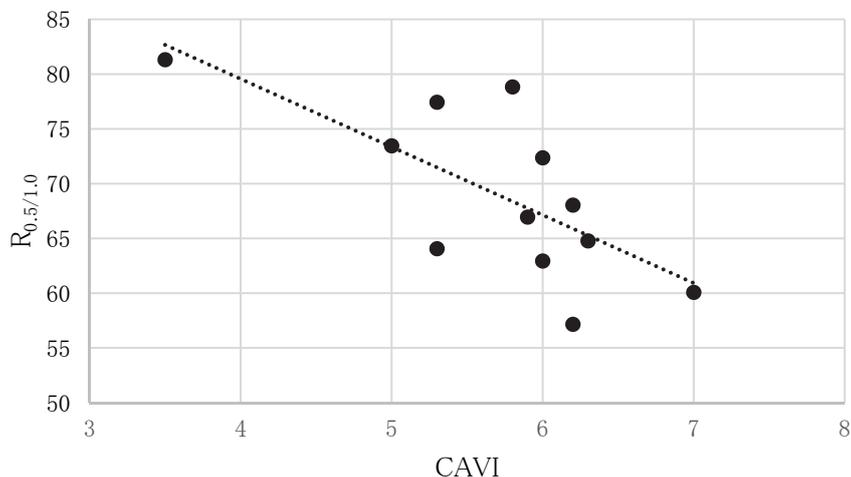


図18 $R_{0.5/1.0}$ とCAVIの分布と相関

3.1.3 $R_{0.5/1.0}$ とAI@75の相関

$R_{0.5/1.0}$ とAI@75の分布と相関を図19に示した。AI@75が高値になる(動脈壁が硬くなる)に伴い $R_{0.5/1.0}$ も高値になる傾向($r = 0.54$ 、 $p = 0.07$)を示した。

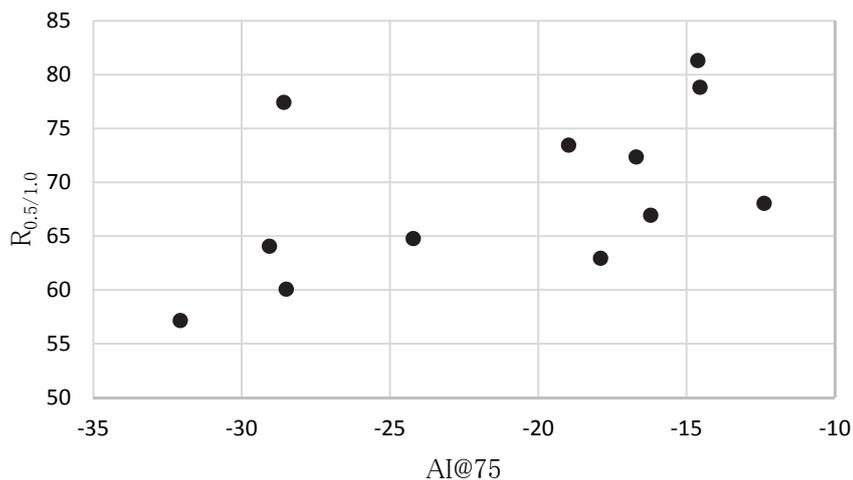


図19 $R_{0.5/1.0}$ とAI@75の分布と相関

3.1.4 RH peak 1 と RHI の相関

RH peak 1 と RHI の分布と相関を図 20 に示した。RH peak 1 が計算できない 3 人は除外した。RHI が高値になる(血管内皮機能が良くなる)に伴い、RH peak 1 も高値になる有意な正の相関関係($r=0.67$ 、 $p=0.02$)を示した。

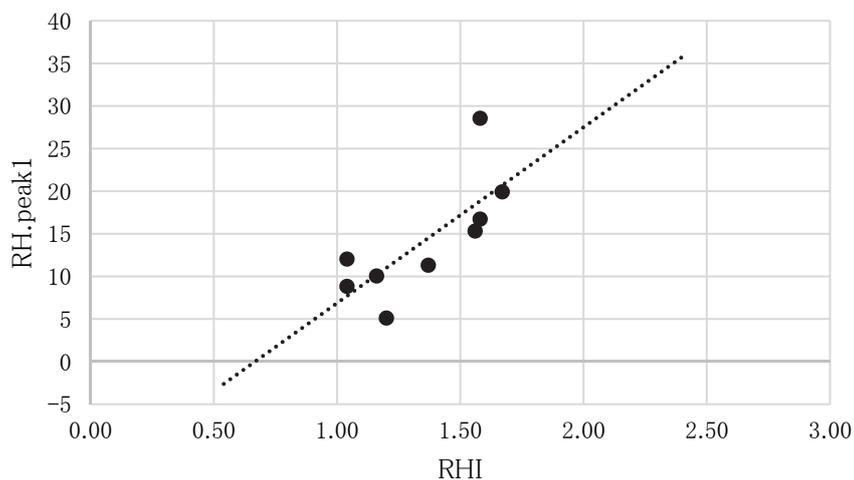


図 20 RH peak 1 と RHI の分布と相関

3.1.5 RH peak 2 と RHI の相関

RH peak 2 と RHI の分布と相関を図 21 に示した。RHI が高値になる(血管内皮機能が良くなる)に伴い、RH peak 2 も高値になる傾向($r=0.49$ 、 $p=0.10$)を示した。

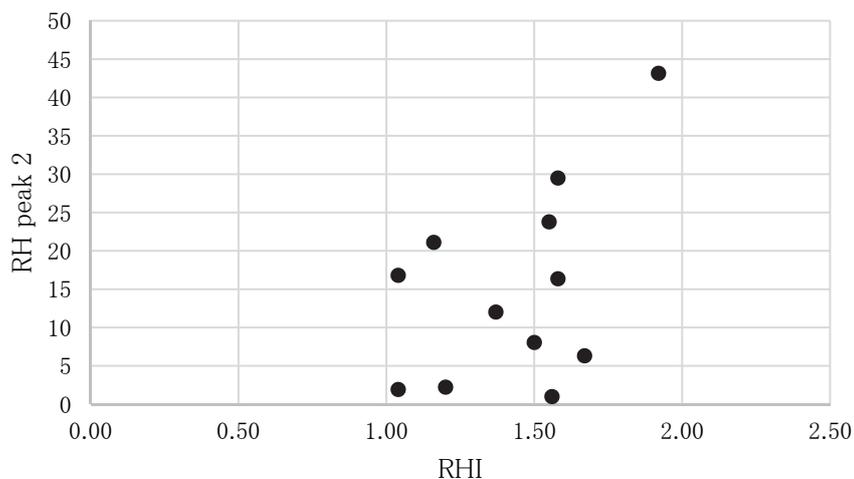


図 21 RH peak 2 と RHI の分布と相関

3.1.6 RH peak 3 と RHI の相関

RH peak 3 と RHI の分布と相関を図 22 に示した。RHI と RH peak 3 は、相関関係($r = -0.18$, $p = 0.58$)を示さなかった。

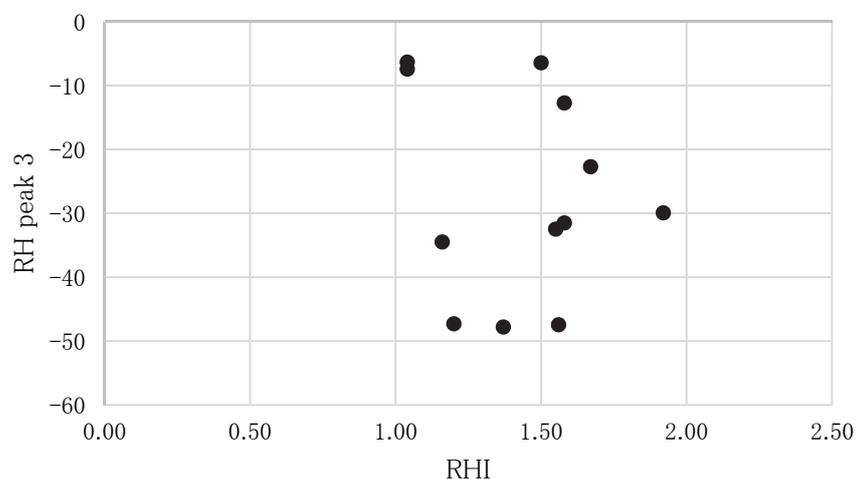


図 22 RH peak 3 と RHI の分布と相関

3.1.7 RH area 1 と RHI の分布と相関

RH area 1 と RHI の分布と相関を図 23 に示した。RH area 1 が計算できない 2 人は除外した。RHI が高値になる(血管内皮機能が良くなる)に伴い、RH area 1 も高値になる有意な正の相関関係($r = 0.83$, $p = 0.01$)を示した。RHI の基準値は 1.67 以上であるが、1.50 以下になると RH area 1 は急に低下する傾向にあった。

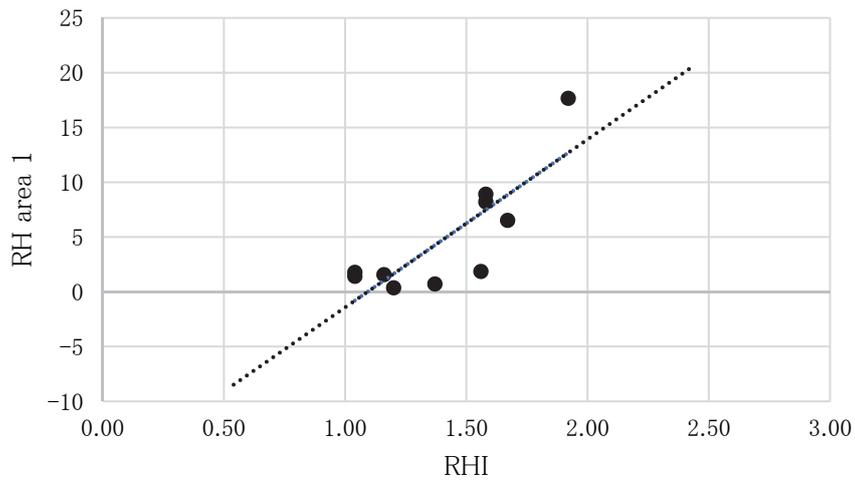


図 23 RH area 1 と RHI の分布と相関

3.1.8 RH area 2 と RHI の相関

RH area 2 と RHI の分布と相関を図 24 に示した。RHI と RH area 2 は、相関関係($r = -0.09$, $p = 0.79$)を示さなかった。

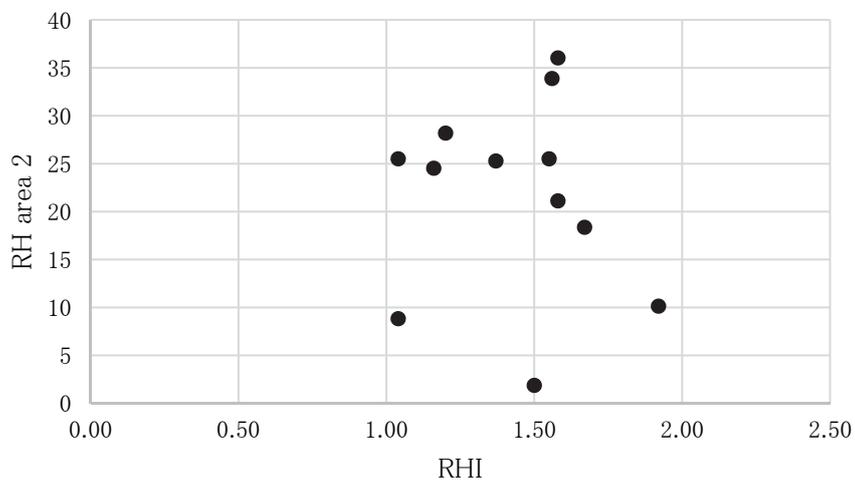


図 24 RH area 2 と RHI の分布と相関

3.1.9 RH peak 1 と CAVI の相関

RH peak 1 と CAVI の分布と相関を図 25 に示した。RH peak1 が計算できない 3 人は除外した。RH peak 1 と CAVI は、相関関係($r = -0.17$ 、 $p = 0.59$)を示さなかった。

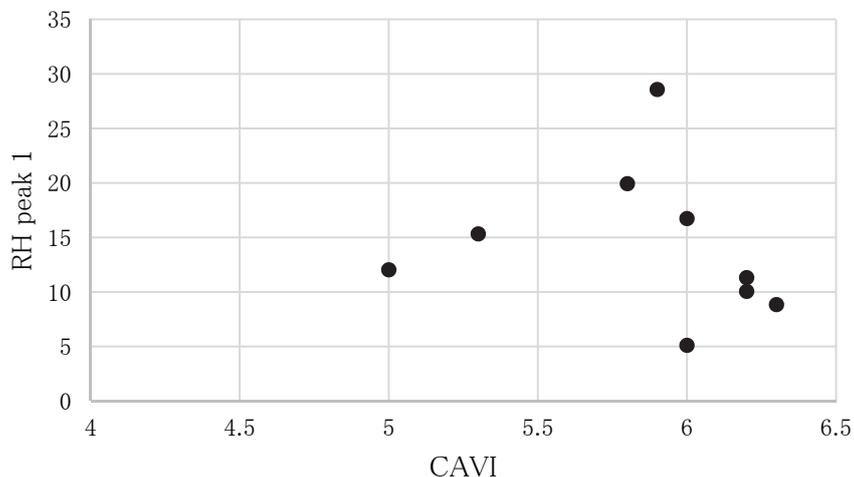


図 25 RH peak 1 と CAVI の分布と相関

3.1.10 RH area 1 と CAVI の分布と相関

RH area 1 と CAVI の分布と相関を図 26 に示した。RH area 1 が計算できない 2 人は除外した。CAVI が高値になる(動脈壁が硬くなる)に伴い RH area 1 は低値となる有意な負の相関関係($r = -0.66$ 、 $p = 0.02$)を示した。

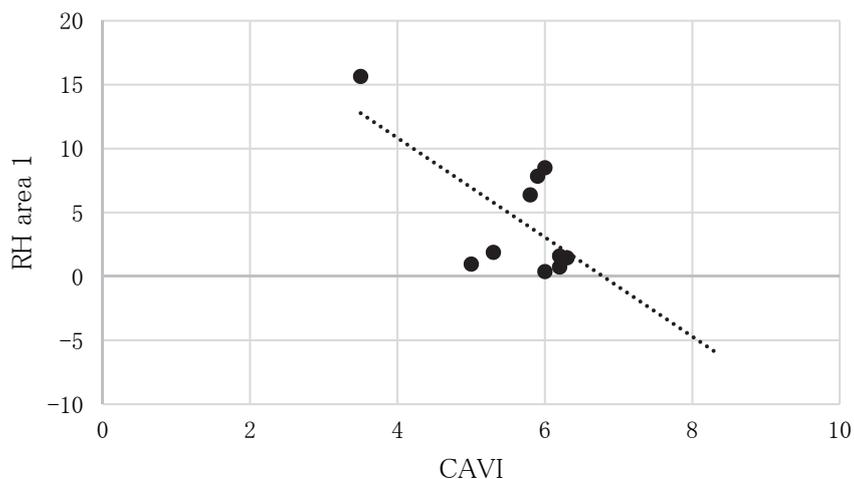


図 26 RH area 1 と CAVI の分布と相関

3.2 研究 2

3.2.1 体重

セミナー前後の体重の平均値と SD を図 27 に示した。セミナー前の体重は $59.3 \pm 9.7 \text{kg}$ 、セミナー後は $58.8 \pm 9.9 \text{kg}$ であり、セミナーによって有意に変化しなかった ($p=0.53$)。

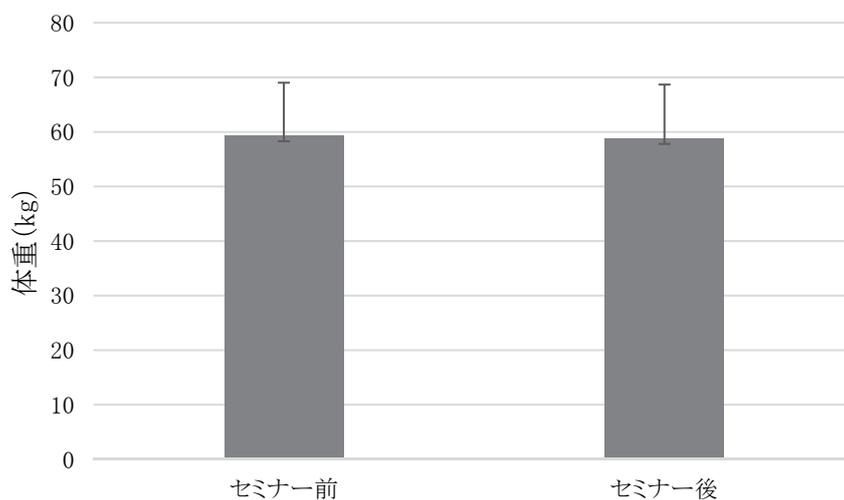


図 27 セミナー前後の体重の平均値

3.2.2 BMI

セミナー前後の BMI の平均値と SD を図 28 に示した。セミナー前の BMI は $23.4 \pm 2.9 \text{kg/m}^2$ 、セミナー後は $23.4 \pm 3.0 \text{kg/m}^2$ であり、セミナーによって有意に変化しなかった ($p=0.78$)。

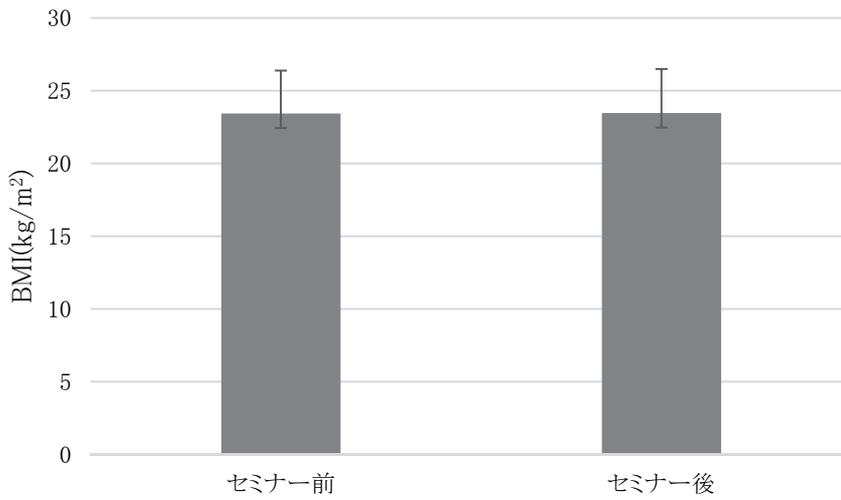


図 28 セミナー前後の BMI の平均値

3.2.3 R_{0.5/1.0}

セミナー前後の R_{0.5/1.0} の平均値と SD を図 29 に示した。セミナー前の R_{0.5/1.0} は 66.8±4.5、セミナー後は 67.7±4.5 であり、セミナーによって有意に変化しなかった (p=0.53)。

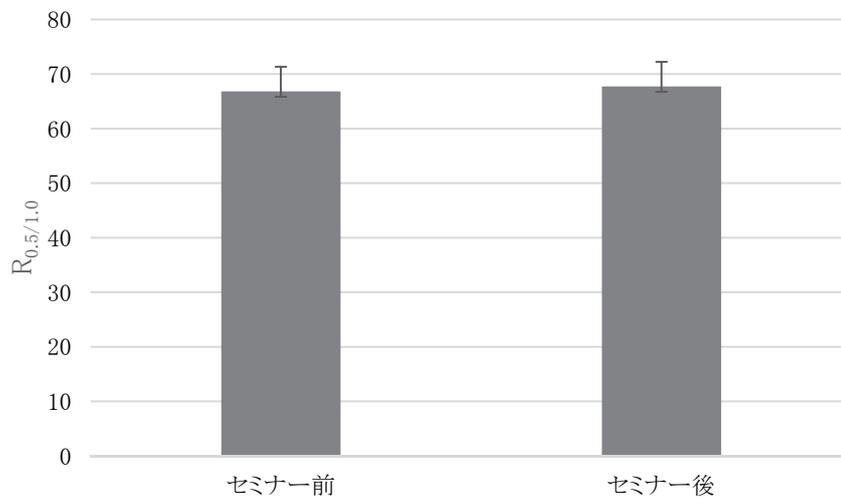


図 29 セミナー前後の R_{0.5/1.0} の平均値

3.2.4 CAVI

セミナー前後の CAVI の平均値と SD を図 30 に示した。セミナー前の CAVI は 8.0 ± 0.6 、セミナー後は 7.9 ± 0.7 であり、セミナーによって、有意に変化しなかった ($p=0.83$)。

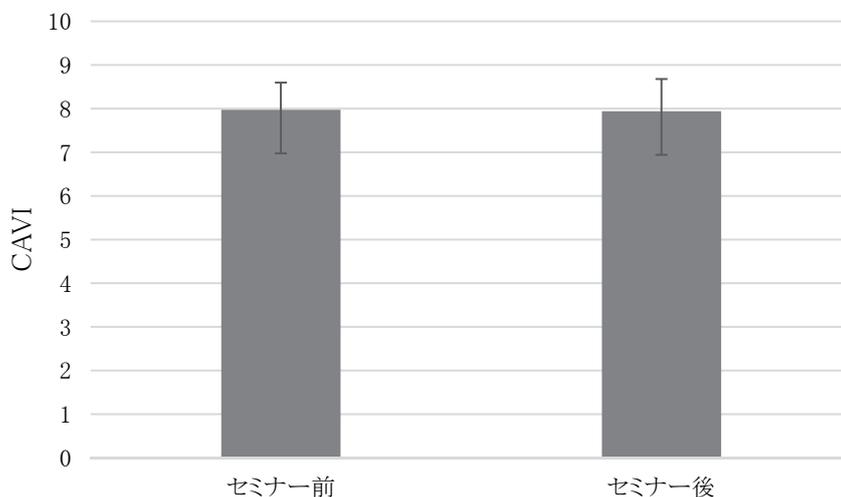


図 30 セミナー前後の CAVI の平均値

3.2.5 RH peak 1

セミナー前後の RH peak 1 の平均値と SD を図 31 に示した。セミナー前の RH peak 1 は 15.4 ± 8.2 、セミナー後は 18.9 ± 11.0 であり、セミナーによって、有意に変化しなかった ($p=0.38$)。

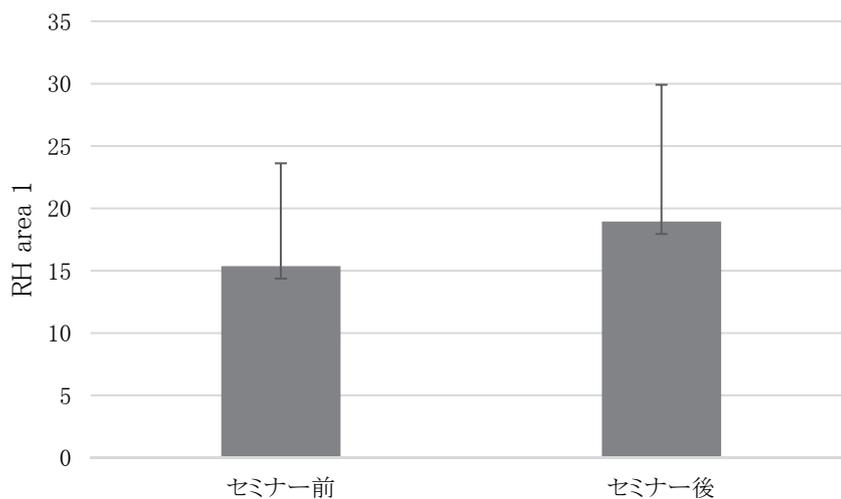


図 31 セミナー前後の RH peak 1 の平均値

3.2.6 RH area 1

セミナー前後の RH area1 の平均値と SD を図 32 に示した。セミナー前の RH area 1 は 4.1 ± 5.1 、セミナー後は 7.8 ± 7.0 であり、セミナーによって、有意に変化しなかった($p=0.16$)。

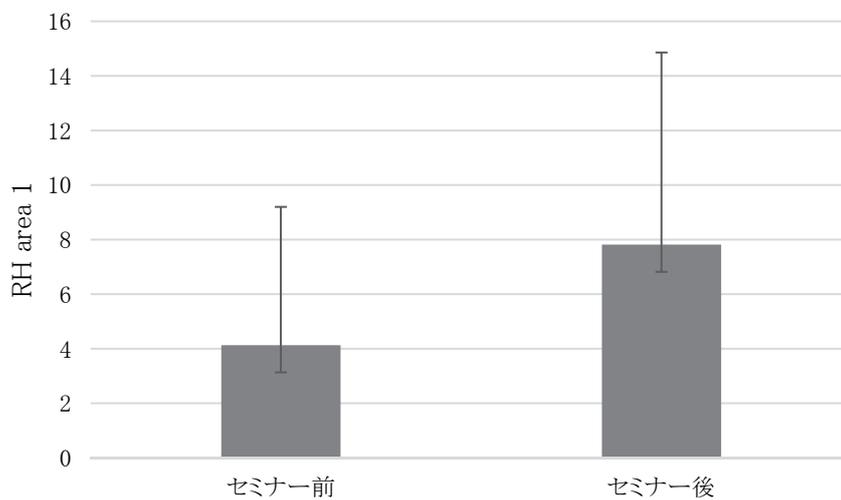


図 32 セミナー前後の RH area1 の平均値

第4章 考察

4.1 LSFSG による血管壁の硬化の測定

LSFSG による皮膚血流量の測定では、駆血解除直後、まず 1 秒以内に急峻な血流の増加が観察される。我々は、駆血解除直後の 1 秒間の血流量に占める最初の 0.5 秒の血流量の割合を $R_{0.5/1.0}$ として、既存の血管壁硬化の指標である CAVI 及び AI@75 と相関することを報告した¹⁹⁾。研究 1 の結果においても、 $R_{0.5/1.0}$ が低下するに伴い、CAVI の測定値は高くなり、有意な負の相関関係($r=0.71$, $p=0.01$)があることが示された(図 18)。駆血解除直後は、駆血部位より下流の動脈に急速に血液が流入し、動脈壁が押し広げられるが、動脈壁の硬化が進展すると動脈壁の拡張が妨げられるため、初期の血流増加が緩やかになる。そのため、 $R_{0.5/1.0}$ は低下すると考えられる。 $R_{0.5/1.0}$ は、血流マップから範囲指定し評価した足背の皮膚血流の支配領域から、足背動脈における動脈中膜における硬さを反映していると考えられる²²⁾。

今回の結果では、 $R_{0.5/1.0}$ と AI@75 の間に有意な相関関係($r=0.54$, $p=0.07$)は認められなかった(図 19)。以前の我々の報告(図 12)では、対象者の年齢が 20~70 歳代(44.9±17.6 歳)の幅広い年齢層で検討し、AI@75 の測定値も -40~50 と広く分布していたのに対し、研究 1 の対象者は 20 歳代(20±0.5 歳)と若年者であり、測定値も -33~-12 の範囲にとどまっていたために、対象者間における動脈壁の硬化の差を検出できなかったものと考えられる。AI@75 は、RHI と同時に測定されるが参考値とされており、CAVI のように動脈壁硬化の指標としてはまだ信頼度と再現性の改善が求められている²³⁾ことから、CAVI に比べて測定の精度が劣ると考えられる。

以上のことより、LSFSG によって測定される駆血解除直後 0~1 秒間の波形解析から得られる $R_{0.5/1.0}$ は、動脈壁の硬化の指標として、既存の指標である CAVI と同等の精度を有する測定法であることが示唆された。

4.2 LSFSG による血管内皮機能の測定

4.2.1 駆血解除後の反応性充血でみられる皮膚血流量の変化

富山らの FMD 測定に関する研究によると、駆血解除後の前腕血液量は 5~10 秒で最大値に達し、超音波ドップラー法で計測の対象になる太い血管の血管径は 45~65 秒に最大値に達することが報告されている³⁾。これは、駆血解除後の反応性充血が毛細血管や細動脈の拡張による血流量の増加に続いて、超音波ドップラー法で計測可能な比較的大きな血管の拡張反応が遅れて出現することを示している。男性 44 名、平均 65 歳を対象に RHI と FMD を同日に測定した先行研究²⁴⁾では、2 つの指標は血管内皮機能を評価する指標にも関わらず、相関を示さなかった($r=$

0.09、 $p=0.62$)という結果が得られており、血管内皮機能でも違った側面を評価しているのではないかと指摘している。本研究では、LSFG を用いて駆血解除後の皮膚血流の変化を 2 分間連続的に測定した結果、10 秒前後をピークとする緩やかな波(第 1 峰)が観察され、続いて 30~40 秒をピークとする緩やかな波(第 2 峰)が観察された。先行研究と考え合わせると、第 1 峰は、反応性充血のうち毛細血管や細動脈の拡張を捉えたものであり、第 2 峰は、比較的太い動脈の拡張を捉えていることが推測される。

4.2.2 血管内皮機能の測定

LSFG は、1 フレーム 1/30 秒の画像を測定しており、1 秒以内の微細な皮膚血流量の変化を記録することができるが、10 秒単位で緩やかに変化する皮膚血流量を捉えるために、本研究では 120 秒まで連続的に得られた測定値を 3 秒ごとに平均して得られる滑らかな波形を計測することとした。計測値の意義については、既存の血管内皮機能の指標である RHI との相関関係を見ることにより検討した。その結果、RH peak 1 と RH area 1 は、RHI と有意な正の相関関係($r=0.67\sim 0.83$)を示したが(図 20、23)、RH peak 2($r=0.49$)、 $p=0.10$ は弱い相関関係を示すにとどまった(図 21)。RHI は、組織の血流量の変化を指先の容積の変化として捉えていることから、駆血解除後 10 秒前後に出現する毛細血管や細動脈の拡張を捉えていると考えられる。そのために、RH peak 2 に比べて RH peak 1 と良好な相関関係を示したと推察される。今回は、FMD を測定していないために、RH peak 2 と FMD の相関関係を検討できていないが、RHI と FMD がそれぞれ異なる反応性充血を測定しているのに対して、LSFG では測定時間を延長することにより、その両方から評価される血管機能の特性を同時に検討できる可能性が示唆された。

FMD では、駆血解除後 45~65 秒に太い血管の血管径が最大値に達するとされている³⁾ことから RH peak 3、RH area 2 については、駆血解除後約 60 秒の値を基準としたが、有意な相関関係は示さなかった(図 23、24)。前腕血液量が最大値になる駆血解除後 5~10 秒の血流変化を用いて検討したほうが皮膚血流においては血管内皮機能を反映しやすいことが RH peak 1 と RH area 1 が RHI と有意な正の相関関係を示したことから推察される。

RH peak 1 と CAVI は相関関係を示さなかったことから、動脈壁の硬化を反映した指標ではないと考えられる(図 25)。RH area 1 と CAVI は有意な負の相関関係($r=-0.66$ 、 $p=0.02$)を示した(図 26)。血管内皮機能が持続的に障害されることにより動脈壁の硬化が進行されるため、高齢者を対象とした測定であれば、図 26 のような結果になることが推察される。しかし、今回の測定の対象者が若年であるため CAVI は基準値の 8 以下と動脈壁の硬化は認められず、1 名以外は測

定値が 5～6.5 に限局していた。また RH area 1 と有意な負の相関関係を示した RHI が基準値 1.67 以上の者は 2 名であり、1 名については他の対象者と比較して RH area 1 は高値であり、CAVI は低値であった。そのため有意な負の相関関係を示したと考え、データは示してはしないが、その対象者を除外して統計処理をしたところ有意な相関関係は示さなかった。

4.3 生活習慣の改善が血管壁の硬化と血管内皮機能に及ぼす影響

体重、BMI、CAVI、 $R_{0.5/1.0}$ は、セミナー前後ではほとんど変化を示さなかった(図 27～30)。今回対象としたセミナーの特徴として、厳しい食事制限や激しい運動の強制などはしていない。そのため体重、BMI の低下にまで影響を及ぼさなかったと考えらる。また、セミナー開始時期は初夏であり、終了時期が晩秋と季節に変化に伴い脂肪の蓄積が生じたことが推測される。これらのことから、セミナーが体格の変化に影響を及ぼさなかったと考える。血管壁の硬さを示す CAVI、 $R_{0.5/1.0}$ は、体重減少に続いて改善されることが多いが、今回は体重に変化がなかったことから血管壁の硬さの改善にまでは影響を及ぼさなかったと考えられる。

RH peak 1 と RH area 1 は、セミナー前後で有意差を認めなかったが、いずれもセミナー終了後は増加の傾向にあり、RH peak 1 に比べ RH area 1 のほうが増加の傾向が強かった。血管内皮機能の改善は、体重減少や CAVI の改善に先行して観察される可能性がある。セミナーによる生活習慣の改善は、体重減少や血管の硬さにまでは影響を及ぼさなかったが、RH peak 1 と RH area 1 の増加により血管内皮機能が改善されていると考えれば、セミナーに参加することによる生活習慣の改善は、血管内皮機能に影響を及ぼしていることが示唆される。これらのことから、LSFG は血管内皮機能の変化を捉える鋭敏な検査方法になる可能性が期待される。

4.4 LSFG によって測定可能な血管機能と機器の長所と欠点

LSFG を使用して、駆血による皮膚血流量の変化を観察することにより、血管壁の硬さと血管内皮機能の両方を一度に評価できる可能性を示した。本法の長所として、被検者の負担が少ないこと、短時間での測定が可能なこと、ランニングコストを必要としないことが挙げられる。欠点として、皮膚血流を鋭敏に捉えるため測定中はわずかな体動でも測定値に変動を及ぼすこと、測定結果の自動解析システムがまだ備わっていないため、測定後直ぐに結果を被験者に提示することができないこと、対象者により第 1 峰の計測ができない場合があることが挙げられる。今後、測定時の体位の工夫、自動解析システムの開発などにより上記の欠点を解消して、信頼性と実用性の高い測定方法の確立のために、一層の改善が必要である。

第5章 結語

健常者 12 人を対象に臥位の状態で足首を 200 mm Hg で 5 分間駆血し、LSFG を使用して駆血を解除する瞬間から約 2 分間の足背における皮膚血流量の変化を経時的に測定した。駆血解除後 1 秒間に占める 0.5 秒の割合($R_{0.5/1.0}$)は、CAVI と有意な負の相関関係を示し、我々が既に報告している結果¹⁹⁾と同様に血管壁の硬化を示していることが再確認された。駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する直前の最低値を基準値として、第 1 峰のピークの血流量の変化率(RH peak 1)と、駆血解除直後の血流増加が終息し、第 1 峰に移行する直前の最低値以上の血流量の割合(RH area 1)は、RHI と有意な正の相関を認めたことから、比較的細い血管の血管内皮機能を反映する指標となることが示唆された。第 1 峰が終息し、第 2 峰に移行する直前の最低値を基準値として、第 2 峰のピークの血流量の変化率である RH peak 2 の意義については、出現する時間から比較的大きな動脈の血管内皮機能を反映する可能性があるが、詳細については今後の検討課題である。以上の所見から、LSFG を用いた駆血解除後の皮膚血流量を測定することにより、血管壁の硬さと血管内皮機能を同時に評価できることが示唆された。

生活習慣の改善が血管機能に及ぼす影響については、生活習慣改善セミナーへの参加前後において体重、BMI、CAVI、 $R_{0.5/1.0}$ は、ほとんど変化を示さなかったのに対し、RH peak 1 と RH area 1 は、有意差を認めなかったが、いずれのパラメーターもセミナー終了後は増加しており、体重や血管の硬さに変化しない状態においても、血管内皮機能が改善し、それを LSFG による測定で捉えることができる可能性が示唆された。

謝辞

貴重な時間を割いてご協力下さいました被験者の皆様に心より感謝致します。本研究を進めるにあたり、ご指導を頂いた指導教員の長坂祐二教授、担当教員の曾根文夫准教授、上白木悦子准教授に感謝致します。

引用文献

- 1)厚生労働省:平成 28 年人口動態統計月報年計(概数)の概況,
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai16/dl/gaikyou28.pdf>
- 2)東幸人:動脈硬化の第一段階としての血管内皮障害, 日本内科化学学会雑誌, 96(8), 151-157, 2007.
- 3)東幸仁:血管内皮機能検査 II, *Angiology Frontier*, 7(3), 121-125, 2007.
- 4)Ross R:Atherosclerosis-an inflammatory disease, *N Engl J Med*, 340, 1928-1929, 1999.
- 5)松尾汎:動脈硬化を画像で見る-生活習慣病の診療に活かす-, 新興医学出版社, 2010.
- 6)高谷具史、川嶋成乃亮:血管内皮機能検査, *Angiology Frontier*, 6(1), 11-16, 2007.
- 7)石橋豊:動脈硬化の初期像を捉える ベッドサイドで可能な血管内皮機能検査, *Medical Tribune*, 34(29), 15, 2001.
- 8)井上卓, 上田慎一郎, 東幸仁.:血管内皮機能シリーズ No.2 プレチスモグラフによる血管内皮機能測定, 血栓と循環, 17(1), 58-62, 2009.
- 9)西野雅巳:血管内皮機能検査の意義と実際, *Jpn J Med Ultrasonics*, 37(3), 243-250, 2010.
- 10)加藤徹, 野出孝一:第 3 回 血管内皮機能の意義, *Vascular Lab*, 6(3), 83-86, 2009.
- 11)東幸仁:検査 動脈硬化の非侵襲的検査法 血管内皮機能検査, *プラクティス*, 30(1), 37-39, 2013.
- 12)吉田雅伸, 富山博史, 山科章:反応性充血試験(FMD), PWV・脈波解析, ABI で何が診断されるか, Vol.23, *The Lipid*, 2012.
- 13)前田久美子, 川崎俊博, 砂塵礼子, 藤本宏美, 川原久美子, 田口晴之, 島田健永, 吉川純一:FMD における MIST システムの有用性, *医学検査*, 61(3201), 615-618. 2012.
- 14)ロン・ダイنشユタイン:血管診断の医用機器 第 26 回 新しいコンセプトの血管機能検査装置 Endo-PAT, *Vascular Lab*, 6(1), 102-105, 2009.
- 15)久保田義則:末梢動脈疾患(PAD)診断と治療の進歩 II 診断と検査 4 機能検査, *日本内科学会雑誌*, 97(2), 43-50, 2008.
- 16)箕越功浩, 伊帳田峻佑, 長坂祐二, 張替直美:赤外線足温器の効果と有用性の検討-足浴と比較した生理的效果-, *山口県立大学学術情報* 7, 77-88, 2014.

- 17)ソフトケア有限会社:眼撮影装置 レーザースペックルフローグラフィ「LSFG-NAVI」,
Softcare Co., Ltd.: <http://www.softcare-ltd.co.jp/>
- 18) Kubli S, Waeber B, Dalle-Ave A, François F: Reproducibility of Laser Doppler
imaging of skin blood flow as a tool to assess endothelial function, *JCVP*, 36 (5), 640-
648, 2000.
- 19)箕越功浩, 張替直美, 高橋則善, 藤居仁, 長坂祐二: レーザースペックル二次元血流画像化
法による皮膚血流量測定の意義, *日本フットケア学会雑誌*, 15(4), 195-198, 2017.
- 20)石川憲: レーザー製品の安全基準と作業安全, *OplusE*, 30(9), 940-945, 2008.
- 21)篠田商会: 血管内皮反応測定・記録装置 エンドパット 2000,
<http://endo-pat.com/index.html>
- 22)小平真理, 富山博史, 山科章: 各論 5 生理機能検査, 1)脈波(PWV)・AI・CAVI・ABI・TBI,
Medical Technology, 38(13), 2010.
- 23)David A. Kass: Augmentation Index(脈波増大係数)とは何か-その生理的概念と臨床応用
-, *Arterial Stiffness 動脈壁の硬化と老化*, 3, 2002.
- 24)寺川宏樹, 藤井雄一, 内村祐子, 上田智広, 中村友美, 小田康子, 河村道徳: 2つの末梢血
管内皮機能検査は相関するか?-FMDとRHI-PATの比較-, *交通医学*, 70, 51-51, 2016.

足についてのアンケート



氏名		性別	男：女	年齢	歳
身長	cm	体重	kg		

1. 生活習慣や生活習慣病についてお聞きします。

- ①喫煙習慣（ある・なし）、1日（ ）本
- ②ストレス（ある・なし）
- ③虚血性心疾患の既往（ある・なし）（ ）年前から、治療（している・していない）
- ④脳血管疾患の既往（ある・なし）（ ）年前から、治療（している・していない）
- ⑤糖尿病（ある・なし）（ ）年前から、治療（している・していない）、治療方法（内服・注射）
- ⑥高血圧（ある・なし）（ ）年前から、治療（している・していない）
- ⑦脂質異常症（高脂血症）（ある・なし）（ ）年前から、治療（している・していない）

2. 足の症状についてお聞きします。

- ①足が冷たい（ある・なし）
- ②足がしびれる（ある・なし）
- ③足の指が青白い（ある・なし）
- ④一定距離を歩くと、主に下腿部が締めつけられるように痛くなり、休まなければならない(数分で回復)
(ある・なし)
- ⑤階段をのぼるのは特につらい（ある・なし）
- ⑥じっとしていても足が痛み、夜もよく眠れない（ある・なし）
- ⑦刺すような痛みが常に持続している（ある・なし）
- ⑧足に治りにくい潰瘍ができる（ある・なし）

3. 記入例を参考に、症状のある部位や範囲を記入して下さい。

※その他症状や傷、気になっていることについて、詳しく記入できればお願いします。



今回の血流測定により得られたデータやアンケート結果の管理については、個人情報の保護に十分に注意すると共に、貴重なデータとして今後の研究に有効活用させていただきます。ご協力ありがとうございました。

山口県立大学大学院 健康福祉学研究科 箕越功浩