

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 31日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390435

研究課題名（和文）：近赤外時間分解分光システムを用いた周術期脳障害モニタリング法の開発

研究課題名（英文）：Development of perioperative cerebral monitoring system using near-infrared time-resolved spectroscopy

研究代表者：垣花 泰之 (KAKIHANA YASUYUKI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号：20264426

研究成果の概要（和文）：研究の目的は、ピコ秒パルス光による近赤外時間分解分光法（TRS）を用いた脳内 cyt. aa3 還元状態モニタリング法の確立である。まず血液ファントムモデルから酸素化、脱酸素化 Hb の吸収係数をもとめ、その結果をもとに 3 波長、6 波長 TRS の cyt. aa3 測定用アルゴリズムを作成した。イヌの体外循環モデル、ブタの心停止モデルを用いて確認したところ、3 波長 TRS に比べて 6 波長 TRS アルゴリズムは、cyt. aa3 のシグナル検出に適していることが確認できた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is the development of the quantitative measurement of the cerebral cyt. aa3 by near-infrared time-resolved spectroscopy (TRS). Firstly, the algorithms of the redox state of cyt. aa3 in 3-wavelength or 6-wavelength TRS system were developed by the absorption coefficient values of oxy- and deoxy-Hb, which were obtained by the study of blood phantom models. Furthermore, the algorithms in 3-wavelength or 6-wavelength TRS system were evaluated by the dog model with cardiopulmonary bypass or the pig model with cardiac arrest. We concluded that the algorithms in 6-wavelength TRS system rather than 3-wavelength are capable of reliably measuring changes in the redox state of cerebral cyt. aa3 during severe conditions such as cardiac arrest.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
2010 年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2011 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：周術期管理学

1. 研究開始当初の背景

体外循環後の脳高次機能障害（認識力の低下等）は半数以上にみられ、5年後の長期的

検討においては、42%に脳障害が持続すると報告されている（N Engl J Med 344: 395-402, 2001）。しかし、周術期脳障害に対する確立

した脳モニタリング法および周術期の理想的な脳管理法は未だない。本研究は、心臓血管術後合併症のなかで重要な課題である脳障害の新たなストラテジーを展開するため、まずその発生を早期に検出できるモニタリング法を確立し、それを基に理想的な周術期脳管理法の構築を目指すものである。この研究は、脳障害モニタリング法およびその治療の新たな方策を立てんとするもので、その成果は麻酔・集中治療領域で未だ確立していない理想的な周術期脳管理法の構築に大きく寄与するのみか、高齢化社会において脳障害を防止することにより多大な医療費や人件費等の大幅な削減を可能にするものである。垣花（代表、鹿児島大学）らは、これまで近赤外線分光法（near-infrared spectroscopy; NIRS）を用い周術期脳内酸素化状態モニタリングの有用性を報告してきたが、重篤な脳障害発症時の脳内酸素化状態を正確に検出するためには、NIRSによる脳内 Hb や脳内 SO₂ だけでは不十分であり、脳内の酸素化状態、エネルギー状態を正確に反映する脳内 cyt. aa₃ の測定が必須であることも指摘してきた。垣花（代表）らは、cyt. aa₃ 測定アルゴリズム（4波長 NIRS 解析法）を北海道大学の田村グループと共同で開発し（J Appl Physiol 83: 1842-8, 1997）、その有用性に関して、動物実験、臨床研究において報告してきた（Adv Exp Med Biol 540: 71-5, 2003, Eur J Cardiothoracic Surg 21: 434-9, 2002, J Biomed Opt 13: 033001, 2008）。

2. 研究の目的

開発した cyt. aa₃ 測定アルゴリズム（4波長 NIRS 解析法）の問題点は、絶対値を算出できないことであった。近年開発された、ピコ秒パルス光による測定法（時間分解分光法：TRS）では、光路長が計測できるため、脳内 Hb の絶対値のみならず、脳内 cyt. aa₃ の絶対値も測定できる可能性がある。そこで、今回の研究で明らかにすることは、まず TRS 装置対応の新たな cyt. aa₃ 測定用アルゴリズムの開発が可能であるのかの検討と、次にその開発したアルゴリズムの正当性を動物

実験等で実証していくものである。

3. 研究の方法

(1) 3 波長時間分解分光システム (TRS) を用いた血液ファントム実験

血液ファントムは、実験の内容を説明し、同意の得られたボランティアより血液 400ml を採血し作製し、使用装置：TRS-20S-0012（1CH 仕様、波長：759nm, 801nm, 834nm）を用い、37℃の恒温槽内に血液ファントムが入った溶液をスターラーで攪拌しながら、液面上部より反射型にてファイバー間距離を 2cm, 3cm, 4cm, 5cm と変えながら測定を行なった。その際、以下の 3 つの条件下で測定を行った。条件 1) 血液ファントムに O₂ 100% ガスをバブリングし完全酸素化状態を作成。条件 2) ドライイースト 1g を添加し酸素濃度を低下させ、完全脱酸素化状態を作成。条件 3) ジチオナイト (Na₂S₂O₄) 1g を添加し完全脱酸素化状態であることを確認。以上の実験より、3 波長 (759nm, 801nm, 834nm) に対応する Hb の吸収係数を決定した。

(2) 3 波長 TRS を用いたアルゴリズムの正当性に関する検討 (イヌを用いた実験)

イヌ 6 匹を用いて実験を行った。麻酔下に胸骨正中切開後、イヌの上行大動脈と右房に送・脱血チューブをそれぞれ挿入し血液温 37℃、100%酸素濃度で体外循環を開始した。頭部の皮膚と筋肉を剥離した後、TRS 装置の送・受光ファイバー間を約 3cm 離して頭蓋骨に装着固定した。体外循環導入後、酸素濃度を 100 - 0 - 100% と変化させることで酸素化型 Hb (oxy-Hb)、脱酸素化型 Hb (deoxy-Hb) および cyt. aa₃ の酸化一還元の full scale を決定した。シアン化ナトリウム (100mg/kg) 投与後、血液希釈によりヘマトクリット (Ht) 値を 35% から 5% まで変化させた。oxy-Hb、deoxy-Hb、総 Hb (t-Hb) の濃度変化と cyt. aa₃ の酸化一還元変化は我々が開発した 3 波長 (759nm, 801nm, 834nm) TRS アルゴリズムを用いて解析した。

(3) 6 波長 TRS を用いた血液ファントム実験

血液ファントムは、実験の内容を説明し、

同意の得られたボランティアより血液 400ml を採血し作製し、使用装置: TRS-20 (6 波長: 689nm, 732nm, 759nm, 782nm, 804nm, 834nm) を用い、37 °C の恒温槽内に血液ファントムが入った溶液をスターラーで攪拌しながら、液面上部より反射型にてファイバー間距離を 2cm, 3cm, 4cm, 5cm と変えながら測定を行なった。その際、以下の 3 つの条件下で測定を行った。条件 1) SO2 100% (room air で完全酸素化状態が得られた)。条件 2) 続けてドライイースト 1g を添加、酸素濃度を低下させた。条件 3) 続けて、ジチオナイト 1g を添加、完全脱酸素化状態にさせた。以上の実験より、6 波長 (689nm, 732nm, 759nm, 782nm, 804nm, 834nm) に対応する Hb の吸収係数を決定した。

(4) 6 波長 TRS を用いたアルゴリズムの正当性に関する検討 (ミニブタを用いた実験)

ミニブタ 4 頭を用いて実験を行った。麻酔前投薬としてケタラル筋注後、気管挿管を行い人工呼吸下にセボフルランにて麻酔を維持し、筋弛緩薬は適宜追加投与した。6 波長時間分解分光システムの計測はミニブタ頭皮を除去し、頭蓋骨にアクリル製のファイバー固定用の治具をアロンアルファにて 2 箇所固定し、一方に送光用ファイバー、もう一方に受光用ファイバーを固定した。ファイバー間の距離は約 30mm とした。パルスオキシメータを耳にとりつけ、SpO2 を連続的にモニタし、同時に etCO2 (呼吸炭酸ガス分圧) も測定した。人工呼吸器の換気条件を調節し、etCO2 を 35mmHg から 60mmHg まで上昇させ、その後に etCO2 を 35mmHg まで回復させ、脳内酸素化状態の変化がどのように変化するか、再現性があるのかを評価した。その間の FI02 は 100% で管理した。次に、再度高炭酸ガス血症 (etCO2 : 60mmHg) を作成し、その状態で KCL (塩化カリウム) を静脈注射し心臓を停止させた。この一連の実験における脳内酸素化状態の変化から、cyt. aa3 のシグナル変化がヘモグロビンから分けて測定できるのかを検証した。

4. 研究成果

(1) 3 波長時間分解分光システム (TRS) を用いた血液ファントム実験

(a) 波長間の吸収係数差について
波長間の吸収係数の差は、(1) 式で表され、条件 1、条件 3 で得られた吸収係数を用いることで、A, B 値が求められる。

$$\Delta\mu_{a2-1} = \mu_{a2} - \mu_{a1} = (\epsilon_2^{HbO2} - \epsilon_1^{HbO2}) [HbO_2] + (\epsilon_2^{Hb} - \epsilon_1^{Hb}) [Hb] = A[HbO_2] + B[Hb] \quad (1)$$

今回は、834nm-801nm, 801nm-759nm, 834nm-759nm の 3 組の波長間吸収係数差と血液量の関係より傾きを求め、この傾きを (1) 式の係数 A, B とみなした。

HbO2 吸収係数 [cm-1mM-1]	Theory (UCL)					TRS 吸収係数 / Theory (UCL)			
	2cm	3cm	4cm	5cm		2cm	3cm	4cm	5cm
759nm	1.3887	1.471	1.407	1.439	1.401	106%	101%	104%	101%
801nm	2.0069	2.116	2.01	2.048	1.987	105%	100%	102%	99%
834nm	2.4727	2.422	2.419	2.511	2.477	98%	98%	102%	100%

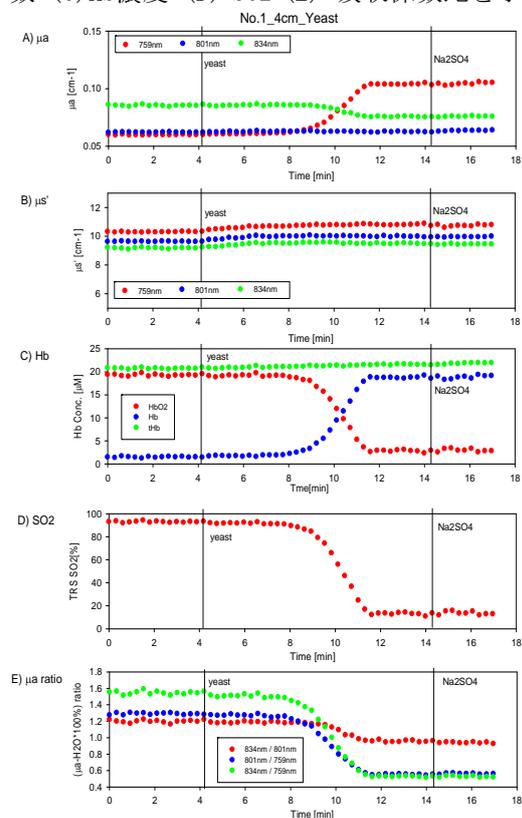
Table. 1 HbO2 吸収係数

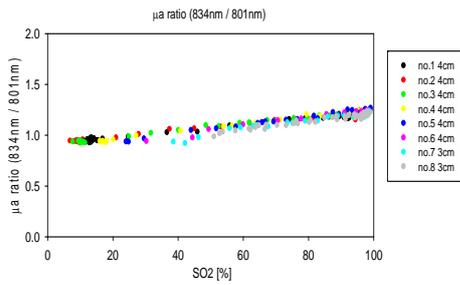
Hb 吸収係数 [cm-1mM-1]	Theory (UCL)					TRS 吸収係数 / Theory (UCL)			
	2cm	3cm	4cm	5cm		2cm	3cm	4cm	5cm
759nm	3.872	3.238	3.291	3.289	3.75	84%	85%	85%	97%
801nm	1.9199	1.95	1.977	2.054	1.989	104%	103%	107%	104%
834nm	1.7972	1.74	1.795	1.894	1.841	97%	100%	105%	102%

Table. 2 Hb 吸収係数

イースト、ジチオナイト添加による結果

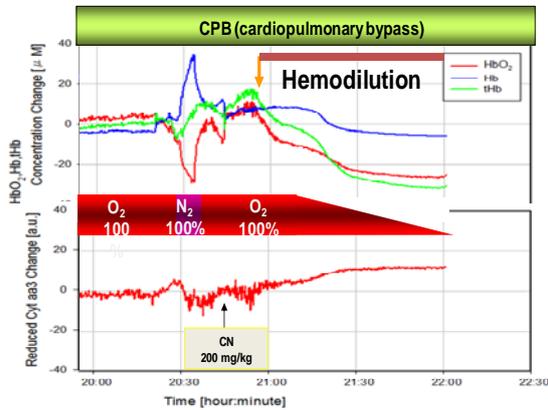
各パラメータ結果 (A) 吸収係数 (B) 散乱係数 (C) Hb 濃度 (D) SO2 (E) 吸収係数比を示す。





各溶液計測で得られた吸収係数比とSO2 の関係は、溶液濃度に依存せず、吸収係数比とSO2 は相関が認められた。

(2) 3波長 TRS アルゴリズムの正当性に関する検討 (イヌを用いた実験)



シアン (CN) によりミトコンドリアの呼吸を停止させたが、3波長 TRS 解析アルゴリズムを用いた測定結果では、血液希釈により cyt. aa3 のシグナルが変化した。窒素吸入による低酸素状態および、血液希釈においても、t-Hb の変化と cyt. aa3 の変化はミラーイメージを示していた。以上の結果は、我々が開発した3波長 TRS による cyt. aa3 測定アルゴリズムでは、cyt. aa3 のシグナルと Hb の吸収変化を完全に独立して測定することが困難であることを示唆するものであった。

(3) 6波長 TRS を用いた血液ファントム実験

今回の計測より求められた各ファイバー間距離での HbO2, Hb の吸収係数を Table.1, 2 に示す。波長間の吸収係数の変動傾向は、ファイバー間距離に依存せず、基準値と傾向が一致した

nm	HbO2吸収係数[cm-1mM-1]					TRS吸収係数 / UCL			
	UCL	2cm	3cm	4cm	5cm	2cm	3cm	4cm	5cm
689	0.7198	0.8573	0.8250	0.7928	0.8287	119%	115%	110%	115%
732	1.0334	1.0597	1.0442	0.9957	1.0287	103%	101%	96%	100%
759	1.3887	1.4246	1.4448	1.394	1.435	103%	104%	100%	103%
782	1.7235	1.6934	1.6382	1.669	1.691	98%	95%	97%	98%
804	2.0366	2.0433	1.9573	1.969	2.030	100%	96%	97%	100%
834	2.4727	2.4894	2.3167	2.307	2.427	101%	94%	93%	98%

Table.1 HbO2 吸収係数

nm	Hb吸収係数[cm-1mM-1]					TRS吸収係数 / UCL			
	UCL	2cm	3cm	4cm	5cm	2cm	3cm	4cm	5cm
689	5.0132	5.4553	5.3758	5.0170	5.2791	109%	107%	100%	105%
732	2.9809	3.2759	3.2758	3.2778	3.0433	110%	110%	110%	102%
759	3.872	3.8035	3.5173	3.5048	3.7786	98%	91%	91%	98%
782	2.4341	2.5180	2.4732	2.5049	2.4737	103%	102%	103%	102%
804	1.8966	2.0648	2.0571	1.9958	1.9914	109%	108%	105%	105%
834	1.7972	1.9047	1.8437	1.7963	1.8506	106%	103%	100%	103%

Table.2 Hb 吸収係数

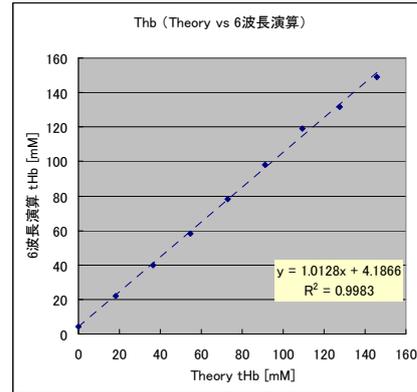


Fig. 1 tHb vs 6波長演算

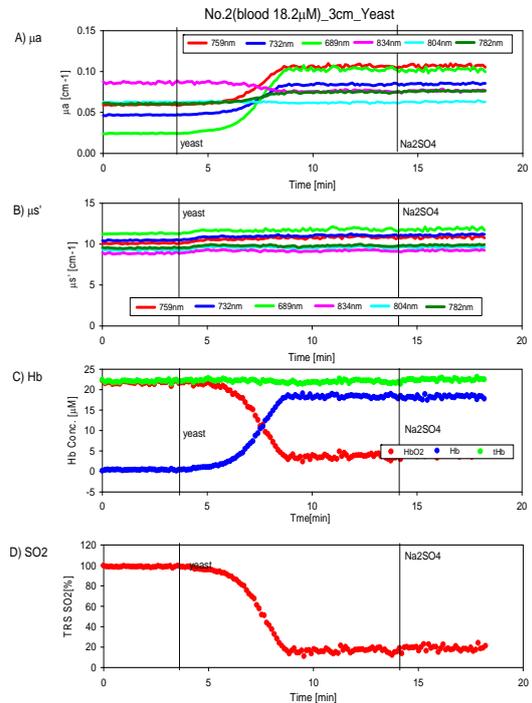


Fig. 2 イースト、Na2SO2 添加 (A) 吸収係数 (B) 散乱係数 (C)Hb 濃度:6波長演算 (D) SO2 : 6波長演算

(4) 6波長 TRS アルゴリズムの正当性に関する検討 (ミニブタを用いた実験)

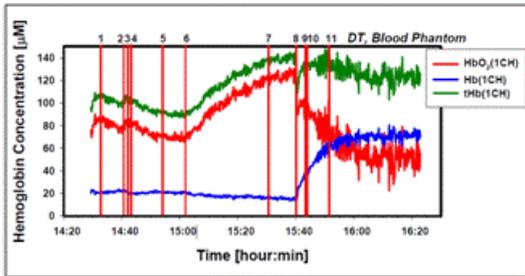


Fig. 1A: (689nm, 732nm, 759nm)によるミニブタ頭部のHb濃度算出結果(光拡散理論)

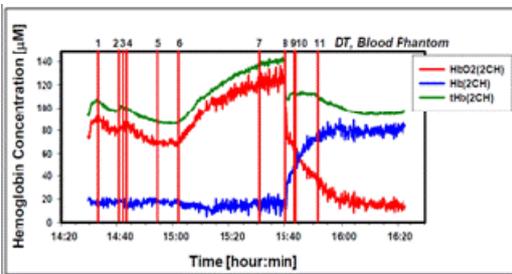


Fig. 1B: (782nm, 804nm, 834nm)によるミニブタ頭部のHb濃度算出結果(光拡散理論)

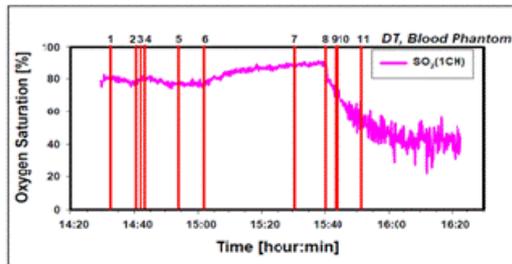


Fig. 2A(689nm, 732nm, 759nm)によるミニブタ頭部の組織酸素飽和度算出結果

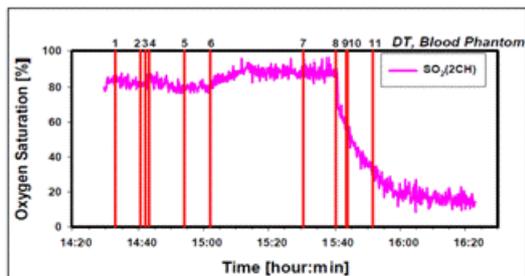
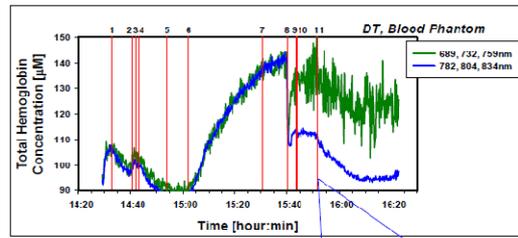


Fig. 2B(782nm, 804nm, 834nm)によるミニブタ頭部の組織酸素飽和度算出結果



拡大図

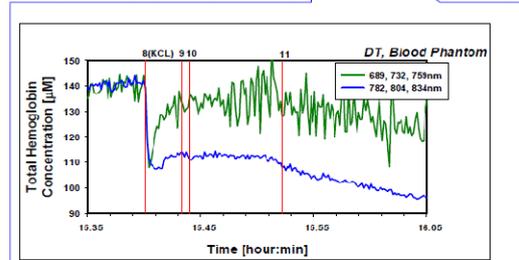


Fig. 3 1CH と 2CH におけるミニブタ頭部のヘモグロビン濃度変化結果の比較 (光拡散理論)

689nm, 732nm, 759nm 波長領域の cyt. aa3 の吸収係数は極めて小さいが、782nm, 804nm, 834nm 波長領域の cyt. aa3 の吸収係数は大きいことが分かっている。今回の一連の実験における脳内酸素化状態の変化から、cyt. aa3 のシグナル変化は、ヘモグロビンの吸収変化から分けて測定できることを確認した

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1. Kakahana Y, Matsunaga A, Yasuda T, Imabayashi T, Oda M, Yamashita Y, et al. Cerebral monitoring using near-infrared time-resolved spectroscopy and postoperative cognitive dysfunction. Adv Exp Med Biol. 査読有、2012;737:19-24
2. Matsunaga A, Kakahana Y, et al. Effect of pneumoperitoneum on functional residual capacity. Adv Exp Med Biol. 査読有、2012;737:239-43.

3. Matsunaga A, Kakihana Y, et al. Impact of skin incision on the pleth variability index. J Clin Monit Comput. 査読有、 2011;25:215-221.
4. Matsunaga A, Kakihana Y, et al. The effects of the phosphodiesterase inhibitor olprinone on global cerebral ischemia. Anesth Analg. 査読有、 110(3):888-894. 2010
5. 垣花泰之、安田智嗣、今林 徹、松永 明、他、近赤外線分光法による術中の脳酸素化状態モニタリングーチトクロムオキシダーゼ測定はなぜ必要なのか？ー、脈管学、査読有、 49:147-152, 2009

[学会発表] (計 4 件)

1. 垣花泰之、近赤外線分光法の未知なる可能性を求めてー特に救急・集中治療領域においてー、第 15 回酸素ダイナミクス研究会、佐賀、2011, 9/10
2. Kakihana Y, Matsunaga A, Oda M, Yamashita Y, et al. Cerebral monitoring by Near-infrared time-resolved spectroscopy and postoperative cognitive dysfunction. The 38th Annual Meeting of the International Society on Oxygen Transport to Tissue, Ascona, Switzerland, 2010, 7/19
3. Kakihana Y, Cerebral monitoring by near-infrared spectroscopy in the operating room and intensive care unit, 6th International SATO Workshop-Advanced Optical Methods for Assessment and Monitoring of Critical Procedures, Erlangen, Germany, 2009, 6/12
4. Kakihana Y, Yasuda T, Imabayashi T, et al, Dynamic changes in cerebral

oxygenation by two methods during cardiac surgery and postoperative cognitive decline, 30th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, Brussels, Belgium, 2010, 3/8

[図書] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

垣花 泰之 (KAKIHANA YASUYUKI)
鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・教授
研究者番号：20264426

(2) 研究分担者

松永 明 (MATUNAGA AKIRA)
鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・准教授

研究者番号：70284883

安田 智嗣 (YASUDA TOMOTUGU)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院
講師

研究者番号：80437954

今林 徹 (IMABAYASHI TORU)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院
助教

研究者番号：90404491

(3) 研究協力者

山下 豊 (YAMASHITA YUTAKA)

浜松ホトニクス (株) 中央研究所
第 7 研究室

小田元樹 (ODA MOTOKI)

浜松ホトニクス (株) 中央研究所
第 7 研究室