

近赤外分光法の脳代謝研究への応用 —実験並びに臨床研究について—

旭川医科大学第一外科
(現. 北海道美唄保健所)

田 村 正 秀

はじめに

昨年第5回の研究会に於て近赤外生体分光法についてその測定原理と基礎的問題を中心に述べた¹⁾。本稿では本測定法の実験及び臨床研究への応用に関して二三の試みを紹介する。

1) cyt. oxidase 酸化還元レベルと組織障害の可逆性:

虚血、低酸素などによる組織障害の予後は組織灌流再開時に組織が酸素を十分利用可能か否かに懸かっている。著者らはラット脱血ショックモデルを用いて治療(再輸血、血管拡張薬など)による組織障害の可逆性を近赤外分光法を用いて検討した。

1)方法: ラット脳の分光測定には750、780、830、940nmの4種の近赤外光をラット頭蓋に照射し各々の透過光を受光素子により検知する。この光信号をパソコンに組み込んだ演算式を用いて脳組織中の酸化Hb量、全Hb(血液)量およびcyt.oxidase(aa3)の酸化還元レベルの測定を行う。用いた演算式は、

$$\Delta [\text{Oxy Hb}] = -1.15\Delta A_{750} + 1.39\Delta A_{780}$$

$$\Delta [\text{Total Hb}] = -0.29\Delta A_{750} + 0.59\Delta A_{780}$$

$$\Delta [\text{Cyt. aa3}] = \Delta A_{830} - \Delta A_{940}$$

なお、装置及び演算式の詳細は著者の文献を参照されたい^{2) 3)}。

気管内挿管麻酔ラットを対象に平均動脈圧30mm Hgになるまで数分間で脱血しショック血圧を60~70分間維持した後、脱血血液全量を~10分間で返血し以後1時間の経過観察を行った(図1)。これを対照にPGI₂アナログ、OP-2507(100μg/Kg体重)皮下投与30分後に脱血を開始、同様な操作を加え比較を試みた。この両群に対し返血60分の時点で血行動態安定例を選びNaCN 20mgの分割静脈投与を施行し脳酸素化レベルの変動を観察した。ショックモデルの詳細は著者らの文献に譲る^{4) 5)}。

図 1

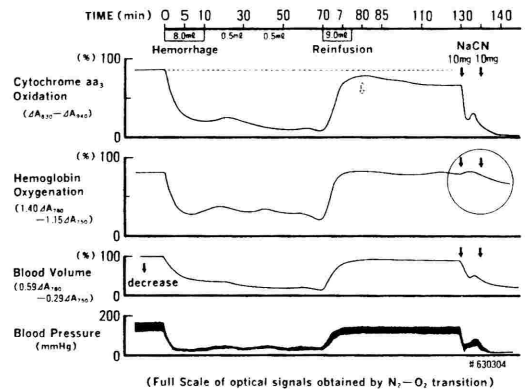


図1: 対照例の脱血ショックおよび再輸血後の経過を示す。この例では実験終了時にNaCNを投与し脳Hb酸素化レベルの変動を見ている。

2)結果: OP-2507前処置群(OP群)および対照群(C群)の予後を表1に提示した。体重100g当たりの脱血量はOP群で平均0.3ml上回っていた。返血1時間後の平均動脈圧が70mm Hg以上の回復を示した例を生存(回復)例とすると対照群で40%、OP群で86%の回復となり有意差を生じた($X^2 < 0.05$)。次に再輸血後1時間までの両群生存例各10例の経過を図2、3に示す。図2上段の脳Hb酸素飽和度はショック時、OP群でやや高値を示すが返血後は両群に有意差を認めない。下段の平均動脈圧は対照群では返血後30~40分頃より低下し多くはショックに陥る。一方前処置群の場合、経時的な血圧回復を認め返血50分頃より両群間で有意差を生じた。図3上段にcyt. aa3酸化還元レベルの推移を示した。注目すべきは返血後OP群でoxidaseの完全再酸化(酸化型ox. は脱血前より最大9.2%増加)が認められたのに対し対照群ではbase lineへの回復は見られず酸化型ox. は脱血前より最小値で11.1%減少していた。下段の脳血液量は再輸血後OP処置群では経時的に対照値に近く回復したが非処置例の場合は返血30分以降逆に減少し動脈圧と同様な経過を示した。一方、脳Hb酸素飽和

度は返血後両群間で有意差を認めず(図2上段) このため対照群に於ける脳血液量の減少(図3下段)は主に還元型Hb量の減少に基づき脳組織での酸素消費の抑制が強く示唆された。この推論の妥当性を確認するために返血60分の時点でMt代謝阻害剤 (uncoupler) NaCN 20 mgを分割静注した成績を図4に提示した。OP処置群(点線)では最大20%に近い脳組織Hb酸素飽和度の上昇が見られ一方、対照群では殆ど有意な変化(最大5%の上昇を認めたが有意差はない)を示さない。即ち前者では組織酸素消費の亢進を後者の場合酸素利用の抑制が明らかとなった。

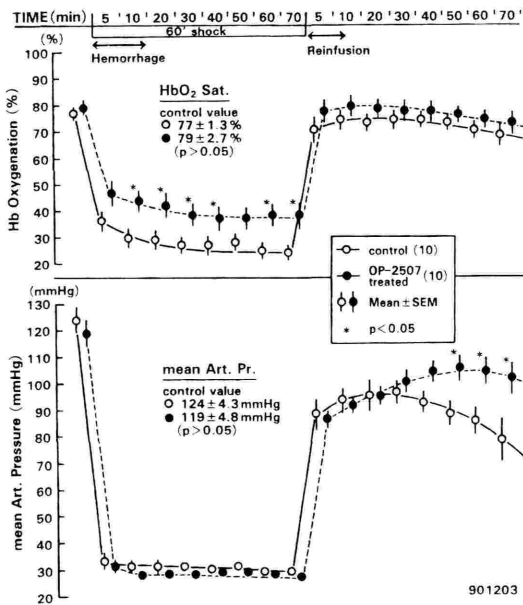
表 1

| | Shed blood volume (ml/100g body wt.) | Died | | Severe hypotension (≤ 70 mmHg) at 60 min. after reinfusion | Recovered (%) |
|------------------------------|---|--------------|------------------------------------|--|----------------------------------|
| | | During shock | Within 50 min. after reinfusion | | |
| Control (n=15) | 1.80 \pm 0.081 (SE) | 2 | 2 | 5 | 6 (40.0%) |
| OP-2507 treated (n=14) | 2.14 \pm 0.123 (SE) | 1 | 0 | 1 | 12 (85.7%) |
| | P(t) < 0.025 | 3 | 2 | 6 | 0.01 < p(X ²) < 0.05 |

Comparison of survivorship of shock rats following blood reinfusion. Each animal was observed for one more hour after the reinfusion and judged as recovered if mean blood pressure was restored to the base-line level or above 70mmHg or more.

表 1: 脱血ショックの予後を対照群とアナログ前投与群で比較する。

図 2

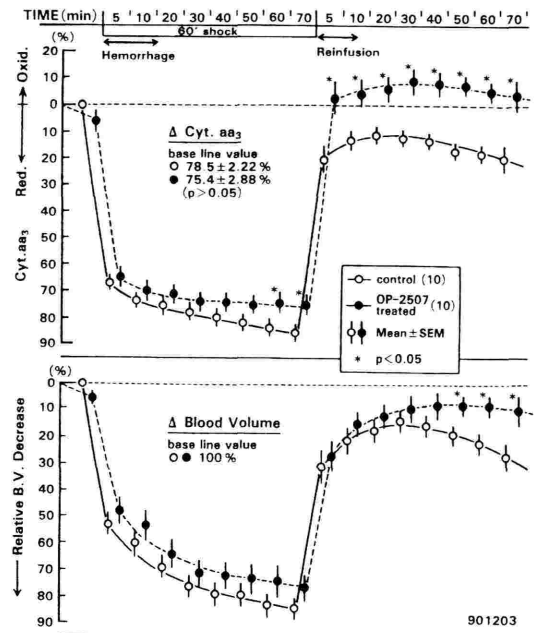


Changes of brain Hb saturation and mean arterial pressure in response to hemorrhagic shock and blood reinfusion. Note a higher Hb saturation during shock in OP-2507 treated rats. Hb: hemoglobin, Sat.: saturation.

図 2: 対照群およびOP-2507前処置群の脳Hb酸素飽和

度(上段)、平均動脈圧(下段)の推移を示す。

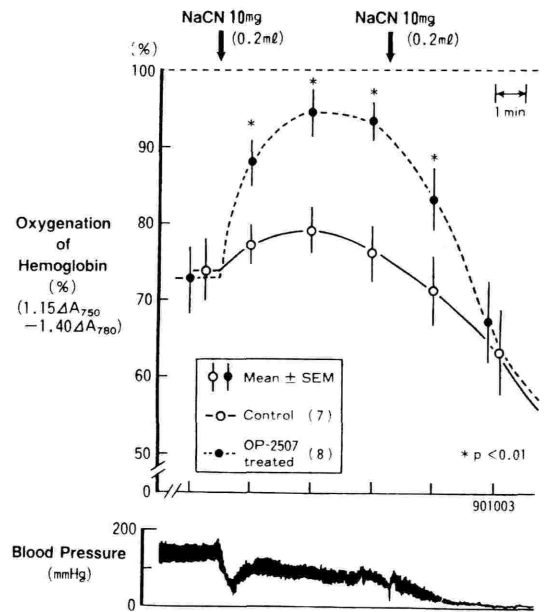
図 3



Changes of cyt.aa₃ redox state and relative blood volume in response to hemorrhagic shock and blood reinfusion. Note the complete reoxidation of cyt.aa₃ in OP-2507 treated rats after the reinfusion. Oxid.: oxidation, Red.: reduction, B.V.: blood volume.

図 3: 脱血ショックおよび再輸血に際してのcyt. ox. redox(上段)と脳血液量(下段)の挙動を示す。

図 4



The effects of intravenous infusion of NaCN on cerebral Hb oxygenation and arterial pressure in rats. NaCN was given 60 min. after the reinfusion of the shed blood. Note the greater increase in Hb oxygenation in the OP-2507 treated rats.

図4：NaCN（10mg）静脈内投与時の脳Hb酸素化レベルの変動を示す。

3) 考察と結語：再輸血後の cyt. ox. 酸化還元レベルは OP 投与群では base line 以上に完全回復（再酸化）し血圧、血液量の回復も良好であった。しかし対照群では ox. の再酸化は認められず返血後の血圧確保が困難となった。即ち cyt. aa₃ redox の回復とショック予後（表1）との間に相関性が窺われ cyt. ox. の完全再酸化が個体の生存（障害の回復）を示唆する指標と考えられた。返血後の脳血液（Hb）量は対照群で次第に低下し主として還元 Hb の減少に基づいた。これは脳組織での酸素消費の抑制を強く示唆する事になる。ここで Mt 電子伝達系の uncoupler である NaCN を用いて Mt 呼吸を停止させると対照群では脳 Hb の酸素飽和度に有意な変化を認めず組織酸素消費の明らかな抑制を裏づける結果となった。一方 OP 前投与群では脳 Hb 酸素化レベルが著しく上昇し Mt 酸素利用の亢進を示した（図4）。この事実は cyt. ox. の再酸化が Mt 酸素利用の回復を示し酸化的リン酸化反応の促進を表すと言える⁵⁾。即ちエネルギー再生系の活発な働きにより組織障害の修復が進み良好な予後をもたらすと考えられる。

今回の検討を通じて著者は安定型 PGL₂ 誘導体、OP-2507 が低酸素環境下で強い組織（脳）保護作用を持つ事を示しこれが組織低酸素傷害に対する細胞機能（Mt 酸素利用能）の温存にあることを実証した。この機序として脱血ショック時の1)組織血流の改善、2)毛細循環系からの細胞内酸素移行の促進、3)細胞（膜）に対する直接効果、4)再輸血（再灌流）時の組織傷害（組織浮腫等）防止作用等が示唆される。

この実験ではショック時の心拍出血量、脳血流量等の血流情報は得られていないが OP 投与群での脳酸素化レベルが高い（静動脈較差が小さい）事より上述の1)が、更に cyt. aa₃ の酸化レベルがより高い、即ち細胞（Mt）内酸素供給の多い事から2)の機序が強く示唆される。なお上述3)、4)に関しては明確な解答を持ち合わせていないが再輸血後の組織浮腫性変化を軽減する事が考えられる。事実、ラット頸動脈結紮により生じる脳皮質の浮腫性変化が OP 前処置により防止されるとの報告が見られる⁸⁾。

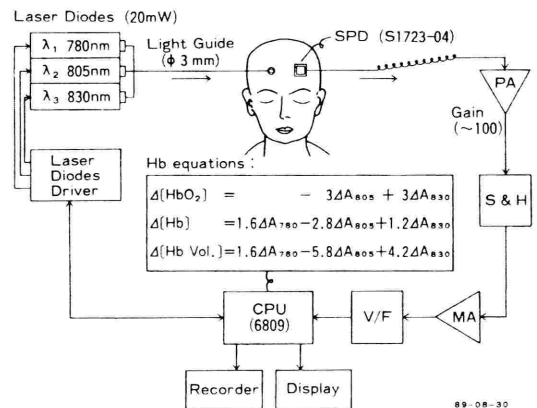
本稿で組織予後を示唆する指標として注目した cyt. aa₃ の酸化還元レベルの意義、測定上の問題等については著者らの文献に記したが^{1)、5)、7)} 今だ測定法に関して画一的な見解がないのが現状である。著者らの用いた二波長測定、Delpy ら⁸⁾、最近の Piantadosi ら⁹⁾ の3～4波

長測定法に於いても同時に生じた Hb 吸光変化の影響を完全に除去することは困難の様である。現在のところ cyt. ox. の吸収変化のない近赤外3波長と Hb 等吸収点波長(805nm)を用いる Hazeki ら¹⁰⁾ の多波長解析法が最も有望視される。最近の in vitro の検討では近赤外部に吸収を持つ cyt. ox. の銅 aa₃ は最も高い酸素親和性を有しその酸化還元変化はミトコンドリア (Mt) の呼吸速度やエネルギー状態に左右されない事が判明した⁷⁾。従って近赤外測定の場合、cyt. ox. は Mt の酸素濃度、少なくとも細胞内 oxygen availability を示す指標と考えられる。

2) 脳 Hb の臨床測定：

1) 方法と成績：著者らはヒト脳での測定を目的に近赤外半導体レーザーを3種(780,805,830nm)を用いる生体分光装置を試作した(図5)。その詳細については著者らの文献を参照されたい^{11)、11)}。ここではヒトでの測定例、とくに体外循環時の脳 Hb 酸素濃度のモニターを中心に紹介する。実際の測定は光源パワーの制約から送受光プローブを頭蓋前額部に4～5cmの距離を置いて装着し反射法を用いて測定した。この為得られる光情報は主に前頭葉皮質に限られる事になる。

図5



SPD: Silicon Photo-Diode, S & H: Sample Hold Circuit, PA: Pre-Amplifier, MA: Main Amplifier, V/F: Voltage-Frequency Converter, ΔA: Absorption

図5：近赤外レーザー光を用いる生体分光装置の概要

図6は6才の昏睡患者で気管内サクション施行時の記録である。血圧低下とともに脳血流量（Hb volume）および酸素化 Hb 量の減少を来し数回の人工呼吸と酸素吸入により脳酸素化レベルが回復するのを示しモニターとして働くのが解る。

図 6

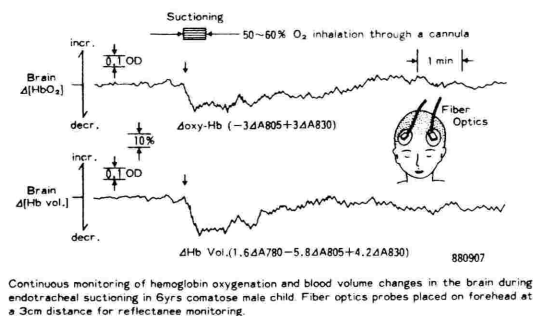


図 6：気管内サクシオン施行時の脳酸素化レベルの記録

図 7 は開心術症例で大血管剝離に際し上大静脈を圧迫牽引した場合の記録である。頭部静脈還流が傷害されるため脳Hb（血液）量が増加、うっ血を生じこれが主に還元型Hb量（静脈性血液）の増大に基づくことが理解される。圧迫の解除により直ちに脳うっ血が改善されるのを示している。

図 7

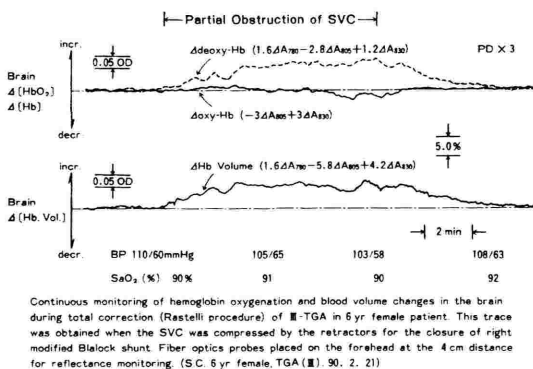


図 7：開心術時一時的に上大静脈を圧迫した際の脳血液量の変動を示す。

図 8 は人工弁による大動脈弁置換手術に際して大動脈遮断解除（心臓への血流再開のこと）時に心筋傷害防止の目的で一時的にポンプ流量を減じ低血圧とした場合を示す。脳血流低下により脳酸素化Hb量（動脈性血液）の明らかな減少と還元Hb量の僅かな増加を認め、その総和である脳Hb量（血液量）はむしろ減少し脱血状態を示す。しかしポンプ流量の回復、送脱血バランスの確保により脳酸素化レベル、血液量は対照時に復している。以上の結果は著者らの脳酸素（血液量）モニターが心臓手術、対外循環時の患者管理に極めて有用であることを示す。

図 8

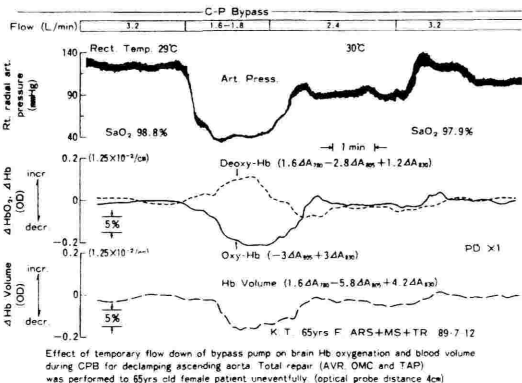
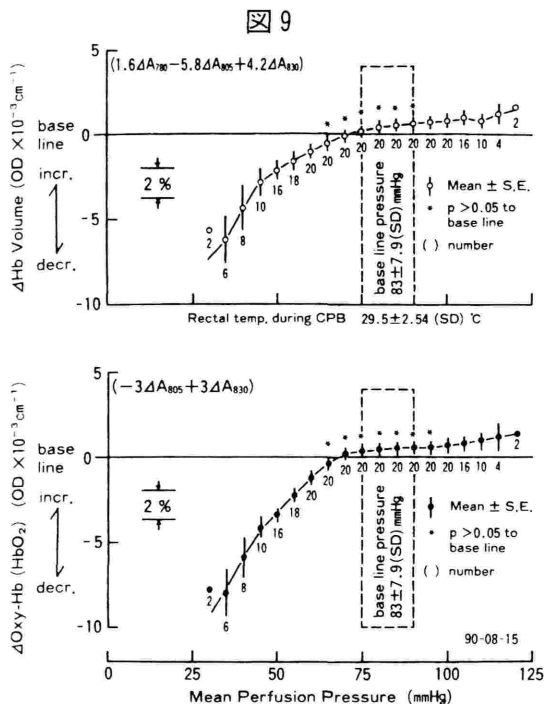


図 8：成人心臓手術時（体外循環中）の脳酸素濃度モニター例

次に、軽度低体温心肺バイパスを用いた成人（40～76才）10症例及び小児（4～14才）5例を対象に体外循環時の平均灌流圧と脳酸化Hb量および脳血液量との関係を検討した。何れの指標もバイパス開始直前をbase line 値にとりこれを基準に灌流時の平均動脈圧 5 mmHg 毎に対応する脳酸化Hb量および血液量の変動値を各々 2 個ずつ読み取った。

図 9 は成人例を示し酸化Hbおよび全Hb量の変動を脳組織内の光路長 1 cm 当たりの吸光(OD)変化として標示した。なお便宜上これらの変動値を%標示する目的でスケールを記入した¹⁾。なお各測定時点での平均値をbase line 値を基準に検討した。即ち各測定群の平均OD値の95%信頼区間を算出し 5 %の危険率でbase line 値との間に有意差を求めた。この図から脳平均灌流圧が 60～65mmHg以上では脳酸素化レベル、脳血液量ともにほぼ一定に保たれ、60mmHg以下では両者とも減少することが解る。しかし脳血液量の減少程度は同時に認められる還元Hb量の増加（図略）により低値に留まっている。



Relationship between oxy-Hb and total Hb content changes in the brain and mean perfusion pressure during CPB. The value shows the mean \pm S.E. from 10 adult patients. The age of patients was 40 to 76 years with the average 61 ± 11.4 (SD).
Hb : hemoglobin, CPB : cardiopulmonary bypass, OD : optical density

図9：成人体外循環時の平均灌流圧と脳酸素化レベル、脳血液量との関係を示す。

図10に小児例の成績を提示する。成人例とほぼ同様な傾向を示し平均灌流圧が40～45mm Hg以下に低下すると脳Hb酸素化レベル及び脳血液量に明らかな減少を認める。これらの成績は軽度低体温下に於いても脳血管自動調節能の存在を示唆し脳平均灌流圧が成人では60mm Hg以下、小児例は40mm Hg以下になると脳血液量の減少が始まると考えられる。

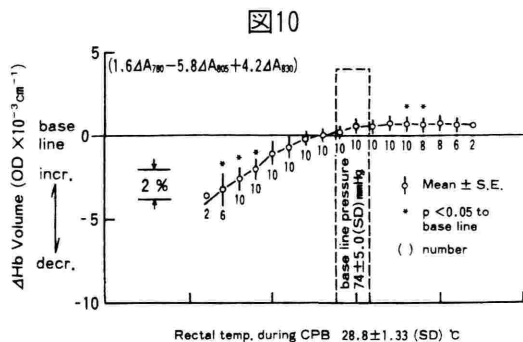
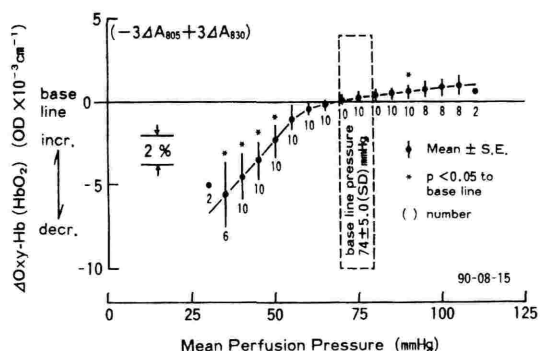


図10



Relationship between oxy-Hb and total Hb content changes in the brain and mean perfusion pressure during CPB. The value shows the mean \pm S.E. from 5 pediatric patients. The age of patients was 4 to 14 years with the average 9 ± 3.9 (SD).
Hb : hemoglobin, CPB : cardiopulmonary bypass, OD : optical density

図10：小児開心術例での脳酸素濃度と脳灌流圧との関係を示す。

以上から著者らが試みた体外循環モニタリングの成績は現行の体外循環手技が脳酸素代謝を生理的範囲に維持し、しかも脳血液量の推移が体外循環中の送脱血バランスを良く反映する事を示した。さらに著者らが光学的に捕らえている酸化Hbの挙動が脳組織静脈性血液の酸素化レベルを標示する事実¹²⁾よりこれが体外循環時の脳酸素需給関係を示すと言える。

2) 考察と結語： 著者らは臨床用装置の開発に当たり半導体レーザーに注目した。レーザー光線は波長が均一、位相が揃っており（コヒーレント）直進性である事より測定精度の向上と装置の小型化を期待したものである。Hbの測定には780nmより短波長光が望ましいがこの領域のレーザー素子の入手が困難のため780,805,830nmの3波長を用いin vitroでのアルゴリズムにより独自の演算式を作製した（図5）。このアルゴリズムのヒト脳への適合性が問題となるが少なくともラット脳モデルに於いてはその信頼性は確認されており臨床に於ける通常の脳Hb測定には問題ないと考えている¹¹⁾。近赤外測定の最大の問題点は吸光変化の定量化が困難な事にある。従って同一個体での吸光変化を比較する事は出来るが異なる個体間では困難である。著者らはDelpyら^{8), 13)}の実験結果に基づき送受光プローブ間距離の4倍を平均光路長と仮定しこれを用いて吸光変化を $\Delta OD / cm$ と標示し異なった症例間での測定値を標準化している。

最近、英国のDelpyら⁸⁾のグループは新生児脳の測定を透過法で行い、水の最大吸光波長965nmを用いて組織吸光量と透過距離（光路長）を測定、独自のアルゴリズムにより単位重量当たりの脳酸化及び還元Hb量の変

化を算出している。彼らはこの方法により個々の症例の測定値を標準化し新生児での脳血液量、血流量、酸素飽和度などの無侵襲測定を試みており注目される¹⁴⁾。

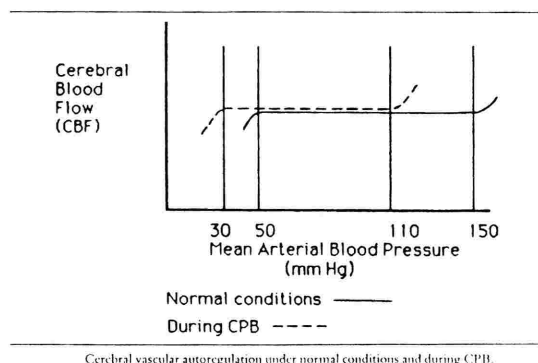
15)。

著者らの無侵襲近赤外測定法では脳Hbの吸光変化を頭皮、筋肉及び頭蓋骨を通して計測している。皮膚、筋肉での吸収変化はプローブを圧迫気味に装着する事ではほぼ無視できるが頭蓋骨(骨髄)が問題とされる。しかし頭蓋骨の血流量、酸素消費は脳皮質のそれに比し著しく少なく透過法で測定する限り問題とならない。事実、Delpy ら¹³⁾によれば頭蓋透過近赤外光の吸光変化はその95%以上が脳実質に基づくと言われる。所が反射法を用いる場合は送受光プローブ間距離が近すぎると頭蓋自体の信号を拾うことになり少なくとも4 cm以上離す必要があると言われる¹⁶⁾。

ここで、脳組織の血液分布を考えると脳血液量全体の約70%またはそれ以上が静脈血と言われ従って主に静脈性Hbの測定が示唆される。著者らが近赤外光を用いて調べた脳Hb酸素化レベルと内頸静脈血酸素飽和度との間に極めて良い相関が認められ脳内静脈血の酸素濃度(飽和度)を光学的に捕らえられていると結論される¹²⁾。これよりオキシメーター等によりSaO₂をモニターすると脳静脈酸素較差が無侵襲に求められ脳での酸素供給関係が解り組織灌流の有力な指標となる。

図9、10に示した脳Hb酸素化レベルと平均灌流圧との関係(曲線)は図11に提示した脳の圧一流量曲線に類似しており軽度低体温体外循環に於いても脳血管自動調節能の存在を示す。更に脳静脈性血液酸素化レベルの低下(静脈酸素較差の拡大)が成人では平均動脈圧60mmHg以下で観察され、これは脳酸素消費が大きく変動しない限り脳血流量の減少を示唆する事になる。同様に小児例では平均灌流圧が45~50mmHg以下になると酸素化Hb量および血液量の減少が始まり灌流圧の安全限界に若干の差異を認めた。

図11



Cerebral vascular autoregulation under normal conditions and during CPB.

図11: 軽度低体温体外循環時の脳に於ける圧一流量曲線(文献17、18より引用)

中等度低体温体外循環時の脳血流自動調節能を検討した最近の報告では平均動脈灌流圧が30~50mmHg以下に下降すると自動調節が失われ脳血流が灌流圧に規定されると言われる^{17)、18)、19)}。今回、成人を対象とした著者らの結果はその下限安全域がやや高値を示したが対象症例に高血圧患者を多く含むことによると考えている。従って正常血圧症例の場合、小児例を含めて脳灌流圧の安全下限は、45~50mmHg前後にあると言える。実際には灌流圧がこれ以下に下がる場合でも脳への酸素供給は酸素摂取率を増す事によりある程度代償される。しかし安全性を考慮すると体外循環開始前の脳酸素濃度(Hb酸素化レベル)を保持すべく灌流圧を調節する事が必要と結論される。

以上に紹介したヒトでの脳Hb測定成績は理論的には全く妥当な結果と考えられる。しかもこれらの情報が即時に、無侵襲、簡便に得られる事より本法の臨床的意義は極めて大きいと言える。今後の問題としては測定値(吸光変化)の定量化、臨床的意義の解明と共に組織(脳細胞等)の酸素化状態、細胞機能に関する直接情報を得る目的でcyt.ox.の測定を臨床の場で行う必要がある。著者らは現在4波長レーザー光を用いる多波長解析法を検討しており、本測定法の実用化が待たれる。最後に第6回侵襲時の体液代謝管理研究会に発表の機会を与えられ感謝しております。

文 献:

- 1) 田村正秀: 光を用いた組織代謝管理—無侵襲生体計測を中心に。侵襲時の体液代謝管理 5: 63-71, 1990
- 2) 田村正秀、橘 秀光、高木 勇、久保良彦、鮫島夏樹: 近赤外光を用いた脳、筋肉代謝の無侵襲計測—その臨床応用を目指して。人工臓器17: 808-811, 1988
- 3) 田村正秀、一色 学、橘 秀光、田村知己: 近赤外分光法を用いる無侵襲生体計測—特に新しい定量的測定法について。呼吸と循環37: 997-1002, 1989
- 4) Butcher HR Jr., Braitberg A: Hemorrhagic shock in rats, a method of therapeutic bioassay. Arch Surg 98: 685-693, 1969
- 5) 田村正秀、一色 学、橘 秀光、久保良彦: ショックとミトコンドリア機能、近赤外生体計測法を用いての検討。呼吸と循環38: 165-171, 1990
- 6) Masuda Y, Ochi Y, Karasawa T, Hatano N, Kadokawa

- T, Okegawa T : Protective effect of a new prostacycline analogue OP - 2507 against cerebral anoxia and edema in experimental animals. *Euro pean J. Pharmacology* 123 : 335-344, 1986
- 7) 星 詳子 : 近赤外領域分光の生体計測への応用
病態生理 9 : 892-898, 1990
- 8) Wray S, Cope M, Delpy DT, Wyatt JS, Reynolds EOR : Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome a₃ and hemoglobin for the noninvasive monitoring of cerebral oxygenation. *Biochim Biophys Acta* 933 : 184-192, 1988
- 9) Piantadosi CA : Behavior of the copper band of cytochrome c oxidase in rat brain during FC - 43 for blood substitution. *Adv Exp Med Biol* 248 : 81-90, 1989
- 10) Hazeiki O, Tamura M : Near quadruple wavelength spectrophotometry of the rat head. *Adv Exp Med Biol* 248 : 63-69, 1989
- 11) 田村正秀、一色 学、橘 秀光、久保良彦、田村知己 : 近赤外レーザー光を用いる無侵襲生体計測、特に本法の臨床応用を目指して。
人工臓器18 : 1573-1580, 1989
- 12) 田村正秀、橘 秀光、高木 勇、久保良彦、鮫島夏樹 : 近赤外分光法を用いる無侵襲生体計測。
日外会誌88 : 680-685, 1987
- 13) Delpy DT, Cope M, van der Zee P, Arridge S, Wray, S, Wyatt JS : Estimation of optical path - length through tissue by direct time of flight measurement. *Physics Med. Biol.* 33 : 1433-1422, 1988
- 14) Edwards AD, Wyatt JS, Richardson C, Delpy DT, Cope M, Reynolds EOR : Cotside measurement of cerebral blood flow in ill newborn infants by near infrared spectroscopy. *Lancet* 2 : 770-771, 1988
- 15) Wyatt JS, Cope M, Delpy DT, Richardson CE, Edwards AD, Wray S, Reynolds EOR : Quantitation of cerebral blood volume in human infants by near - infrared spectroscopy. *J Appl Physiol.* 68:1086-1091, 1990
- 16) Takatani S : Toward absolute reflectance oximetry. 1. Theoretical consideration for noninvasive tissue reflectance oximetry. *Adv Exp Med Biol* 248:91-102, 1989
- 17) Henriksen L, Hjelms E, Lindegurg T : Brain hyperperfusion during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 86:202-208, 1983
- 18) Govier AV, Reves JG, McKay RD, Karp RB, Zorn G, Morawetz RB, Smith LR, Adams M, Freeman AM : Factors and their influence on regional cerebral blood flow during nonpulsatile cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 38 : 592-600, 1984
- 19) Murkin JM : Cerebral hyperperfusion during cardiopulmonary bypass : the influence of PaCO₂. In *Brain Injury and Protection during Heart Surgery*, Hilberman M(ed.). Boston : Kluwer.