

1998年 4月 7日 16:24

JPN-CHN MED ASSO 81-3-3291-9164

P. 2/3

日本財団補助金による

1997年度日中医学協力事業助成報告書

— 中国人研究者・医療技術者招聘助成 —

財団法人 日中医学協会

理事長 中 島 章 殿

年 月 日

I. 招へい責任者 田村 守 (田村)

所属機関 北海道大学 電子科学研究所 職名 教授

所在地 〒060-0812 札幌市北区北12条西6丁目 電話 011-706-2410

招へい研究者氏名 張 思 迅

所属機関 中日友好病院

職 名 医師

研 究 テ ー マ 近赤外分光法の脳神経外科領域への応用

II. 日本滞在日程

平成9年9月25日 ~ 平成10年4月21日

北海道大学 電子科学研究所・研究員

III. 研究報告

< 研究目的 >

近赤外分光法は、組織の酸素化状態をリアルタイムで連続的にモニターすることができる新しい非観血的計測法で、近年多くの注目を集めている。この方法により組織血液量、ヘモグロビン(Hb)、ミオグロビン(Mb)の酸素化状態、さらにミトコンドリア内チトクロームオキシダーゼ(cyt. ox.)の酸化-還元状態を測定できる。特に cyt. ox. の酸化-還元状態の測定は、従来の方法では知り得なかった細胞内(ミトコンドリア内)の酸素化状態の情報を直接与えてくれる。本法は患者モニターのみならず、様々な生体现象解明の一手段としても応用することができる。しかし、現時点ではまだ解決すべき幾つかの問題が残されており、主たる問題点は定量化と cyt. ox. の酸化-還元状態の測定法に関するものである。定量化と cyt. ox. の測定法の問題は、本法の将来性にかかわる重大な問題である。そこで、本研究ではラットを用いて脳神経外科への応用の基礎研究を行なう。

< はじめに - 近赤外領域におけるチトクロームオキシダーゼ(cyt. ox.)の分光学的特性 >

近赤外領域とは可視部と赤外領域の間で、通常700から3000nmの波長領域をいう。この領域の光は、可視部の光に比べ散乱されにくく生体物質による吸収減衰が少ないため、生体組織に対して高い透過性を示す。主要な計測領域は700-1300nmの範囲で、この領域に特徴的な吸収帯を持つ物質は限られており、通常“分光学的酸素濃度指示物質”として測定の対象になっているのは、Hb、Mb、そして cyt. ox. である。

cyt. ox. は、ミトコンドリア内膜に存在し、電子伝達系の末端に位置し、直接酸素に電子を伝達する役割を担っている。体内にとりこまれた酸素の約95%はここで消費されている。cyt. ox. は2個のヘム(heme a, heme a₃)と2個の銅(Cu_A, Cu_B)を有し、heme a₃とCu_B は酸素との反応に直接関与し、heme aとCu_A は主に電子の伝達経路と考えられている。酸化型では830nm付近に幅の広い吸収がみられるが、これの約85%はCu_Aに由来し、残りの約15%はCu_Bとheme群に由来している。可視部の吸収は、heme a+a₃に由来しており、近赤外領域の吸収強度はこの可視部の約5%である。本法は、この銅の酸化型と還元型でのスペクトルの変化をミトコンドリア内の酸素濃度測定に利用している。同様に、Hb、Mbも酸素化型(oxy-)と脱酸素化型(deoxy-)でスペクトルは異なり、このスペクトルの変化をHb、Mbの酸素化状態の測定に利用している。

< cyt. ox. のラットでの測定 >

ある波長 λ_1 の光が、透明試料に照射された時、透過してきた光量 I は次の式で表

されされる。

$$\log I/I_0 = \varepsilon cd \quad (1)$$

ここで、 I_0 :照射光量、 ε :吸光係数、 c :濃度、 d :光路長である。この関係式はBeer-Lambert則として知られ、 $\log I/I_0$ は吸光度である。Beer-Lambert則は散乱のない均一な透明試料でのみ成立するが、生体のような散乱粒子を含む不均一系でも近似的に用いることができる。

ある波長の光 λ_1 が生体に照射されている間に状態AからBに変化した時、吸光度差 ΔA_1 は次のように表される。

$$\Delta A_1 = \varepsilon_1 \Delta [\text{oxy-Hb}] t_1 + \varepsilon_2 \Delta [\text{deoxy-Hb}] t_2 + \varepsilon_3 \Delta [\text{cyt. ox.}] t_3 \quad (2)$$

ここで ε は吸光係数、 $\Delta []$ はそれぞれの濃度変化、 t は光路長で $t_1 = t_2 = t_3$ とみなすことができる。oxy-Hb, deoxy-Hb, cyt. ox.による個々の信号は、お互いにまた背景となる組織の吸収から区別されなければならないので、多波長を用いた計測が必要である。それぞれの波長について(2)式と同様の式をたて、連立方程式をたててoxy-Hb, deoxy-Hb, cyt. ox.の濃度変化を求める。しかし、生体において真の光路長をもとめることは不可能なため、ここで得られる値は変化量の絶対値ではなく相対値である。

< cyt. ox. の測定意義 >

cyt. ox.の酸化-還元状態は、直接細胞内の酸素化状態に関する情報を与えてくれるが、その測定意義はまだよく理解されていない。そこでまず、ラットを用いた実験結果から、生体におけるcyt. ox.の測定意義を示した。

定常状態を保ちながら段階的に FiO_2 を下げていった時の脳内Hbの酸素化-脱酸素化状態、cyt. ox.の酸化-還元状態と脳波の変化を測定した。 FiO_2 を21%から16%に下げるとoxy-Hbは減少し、脳波の低振幅速波化を認めたが、cyt. ox.の酸化-還元状態に変化は見られなかった。 FiO_2 8%でHbが約60%脱酸素化された時点でcyt. ox.の還元が始まった($PmtO_2$ 約0.2mmHg)。さらにcyt. ox.が60~65%まで還元された時点($PmtO_2$ 約0.08mmHg)で脳波上徐波が出現し、 FiO_2 0%でcyt. ox.の完全還元($PmtO_2$ 約0.06mmHg)が生じ、それよりわずかに遅れて脳波の平坦化を認めた。

脳波は、脳の機能状態を示す一つの指標と考えられ、低酸素症において出現する徐波は脳機能低下を示している。この徐波の出現時期は一定しており、cyt. ox.が60~65%還元された時点であった。また、低酸素状態で脳内cyt. ox.の還元とPCr/Piの

低下はほぼ同程度に進行することが報告されている。従って、cyt.ox.の還元は、低酸素状態における脳の代謝障害、機能障害の早期指標と考えられる。

<おわりに>

今回、ラットを用いてHbの酸素化状態及びcyt.ox.の定量に関する研究を行なった。今後、臨床応用までにはまだ数年かかると思われるが、患者管理においてHbのみを測定した場合、絶対値表示の無い本法単独ではモニターとして不十分である。しかし、我々が測定したcyt.ox.の還元開始は、生体が危険な状態になりつつあることを示しており、一種の“アラーム”として使うことができ、cyt.ox.を測定することによって、本法単独でもモニターとしての役目を十分に果たせると考える。ただし、このことはcyt.ox.の測定が正確になされることが前提になっている。今回のラットの実験結果は今後の臨床応用、特に脳神経外科領域への応用の基礎を拓いた。