

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15595

研究課題名(和文) 拡散反射分光法を用いた分娩時リアルタイム胎児脳機能評価法の開発

研究課題名(英文) Development of novel real time monitoring for fetal brain metabolism using diffuse reflectance

研究代表者

藤井 知行 (Fujii, Tomoyuki)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：40209010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素性虚血性脳障害(HIE)は分娩進行中に発生する脳性麻痺の主要原因となる。本研究は拡散反射分光法を技術を用いてHIE発症予知に有益な脳代謝光シグナルの同定を目的とした。新生仔ラットモデルを用いて光計測を行った。その結果、散乱振幅の低下が低酸素による脳のダメージの発生前に生じることが確認された。一方で、総ヘモグロビン量、酸素飽和度の変化は脳の不可逆的障害が発生した後に生じていた。以上より散乱振幅はHIEの発症予知、予防のためのターゲットとなる計測パラメーターであることが確認された。本研究の成果はHIEの発生低減につながる新たな分娩モニタリング法の開発に寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Hypoxic ischemic encephalopathy (HIE) during labor is one of the major causes for cerebral palsy. This study aimed to identify intrinsic optical signals to detect tissue deterioration prior to the occurrence of HIE during labor using a rat neonate model. In the model, rat neonates underwent left carotid artery ligation followed by an exposure to 8% oxygen. Real-time monitoring for the rat neonate were carried out and the optical data on diffuse reflectance were collected to quantify total hemoglobin, deoxy-Hb concentration and scattering amplitude signal. Rapid reduction of scattering amplitude signal was detected in the hypoxic exposure. This alteration was reflected brain water content caused by hypoxic exposure. This study suggests that scattering amplitude can be a candidate of optical parameter to predict brain tissue deterioration triggered by hypoxia during labor.

研究分野：周産期医学

キーワード：低酸素虚血性脳障害 拡散反射分光 ラットモデル 分娩

1. 研究開始当初の背景

分娩時の低酸素性虚血性脳障害 (hypoxic ischemic encephalopathy: HIE) は出生児の脳性麻痺 (Cerebral Palsy: CP) の主要な原因因子である。成熟児の 1000 分娩に対して 1-8 例程度の頻度で発生して児の神経学的後遺障害を生じることが多い。分娩進行中には胎児心拍数陣痛モニタリング (cardiotocogram: CTG) が行われている。これは圧受容体、化学受容体を介して生じる胎児心拍数の変動という間接的な所見から、胎児の血液循環の障害や酸素供給の減少を推定するという評価法である。この技術は 1960 年代に確立し、以降現在にいたるまで広く普及しており胎児状態評価の中心的位置を占めている。しかし、CTG における判断には経験と習熟が必要であり、また胎児状態の判断について評価者間でのばらつきが大きいことも知られている。そのため、CTG のみに依存した胎児状態評価の精度には限界があり、新たな非侵襲的な胎児生体情報モニタリング法の開発に対する期待は大きい。

拡散反射分光法の技術は生体内の光伝播現象に注目した生体医用光学における一分野として注目されている。生体内への浸透が深い近赤外光の波長域 (700nm ~ 1000nm) は光学的窓と呼ばれる。この近赤外光を組織にあてて拡散反射して体表に戻ってきた光を検出することで生体内の情報をえることが基本原理である。この技術の臨床応用として近赤外光スペクトロスコピー (near-infrared spectroscopy: NIRS) による脳機能評価は精神疾患の補助診断として行われている。これまで産婦人科領域への臨床応用はない。過去に経腹的アプローチによる妊娠中の胎盤機能評価についての研究報告はあるが、胎児の生体情報を直接的に見ることのできるモニタリングへの応用は検討されていない。

2. 研究の目的

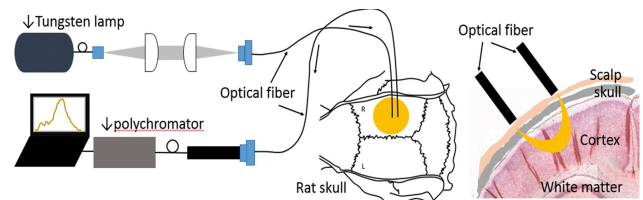
本研究は拡散反射分光法を応用して、分娩の進行中に経膈的な児頭へのアプローチにより胎児脳内の循環代謝状態をリアルタイムに計測する新規の非侵襲的モニタリングシステムの開発を目指して、HIE ラットモデルを用いて基礎的データを収集することを目的としている。

3. 研究の方法

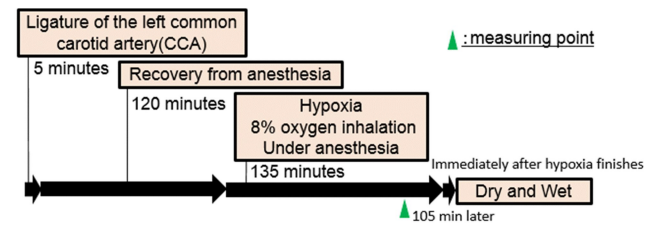
HIE ラットモデルを用いて拡散反射分光スペクトルシグナル計測を行うシステムを確立した。ヒト胎児に相当する新生仔ラットに対する麻酔法、計測プローブ、データ収集に適した脳表部位についてそれぞれ最適化を行い経時的連続性に再現性の高い計測値を得ることができるようになった。脳血流量、酸素飽和度、ミトコンドリア代謝、散乱のそれぞれに特異的な拡散反射光のデータの収集を行った。片側の総頸動脈を結紮した仔ラットとコントロール仔ラットの間での比較

を行うことで HIE 発症の予知、予測に有用な光信号の探索を行った。また、光信号 HIE に伴う脳組織変化の特徴と光信号の相関について検討し、脳浮腫およびその後生じるアポトーシスに関連する光シグナル波長の同定を進めた。本研究の HIE モデルの模式図とプロトコールを下に示す。

核酸反射分光シグナル計測システム概要



新生仔ラット HIE モデルのプロトコール



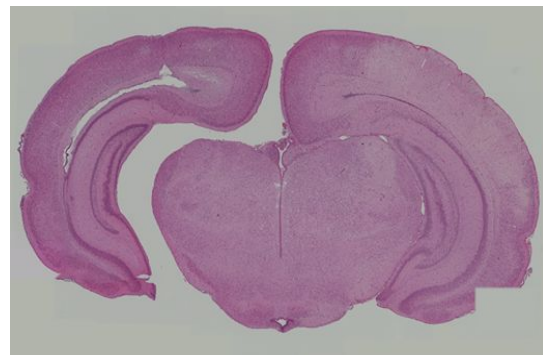
4. 研究成果

(1) 低酸素脳虚血障害の発生の評価

総頸動脈を行い、低酸素負荷を与えた後 24 時間の時点で総頸動脈の結紮を行った左半球では、結紮のない右大脳半球と比較して脳組織が浮腫状となり、HIE の脳組織のダメージが TTC 染色で確認された。

低酸素暴露後 24 時間時点での HE 染色

写真の左側が右大脳半球、左が左大脳半球。左大脳半球に浮腫が顕著。



TTC 染色

HIE 脳障害の部位が白色となっている。



(2) 脳血流量の変化

脳血流量は総頸動脈を結紮した左半球では減少したが、低酸素暴露開始後は結紮を行った左半球の方が右半球よりも血流量が増加していた。この変化は低酸素負荷に対して、酸素供給が乏しい左半球での血管拡張を反映した変化であると考えられた。

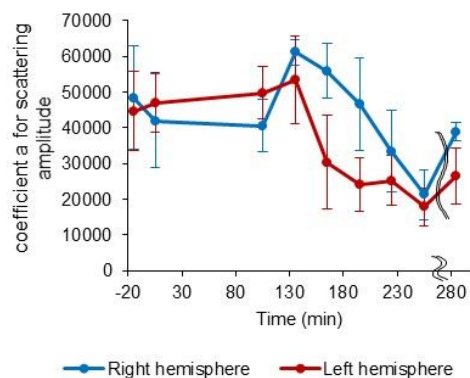
(3) 脳酸素飽和度の変化

酸素飽和度は総頸動脈を結紮した左半球では低下したが、興味深いことに、低酸素暴露下では左右の大脳半球は同じ程度のレベルの酸素飽和度に低下して両半球間の差はわずかとなった。

(4) 散乱振幅の変化

散乱振幅は総動脈を結紮した左半球で上昇していたが、低酸素暴露直後より左半球で顕著に低下して右半球と有意な違いを示した。この変化は脳血流量の差と比較してより早期に検出された。

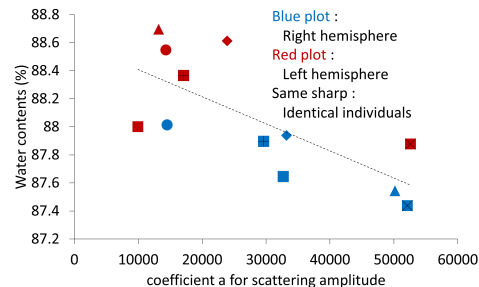
プロトコール実施中の散乱振幅の変化



(5) 散乱振幅と脳水分含有量の相関

散乱振幅の値は脳組織の水分量と逆相関を示すことが明らかとなった。低酸素刺激によって生じた血管拡張による脳組織の浮腫に対して散乱振幅が最も鋭敏な拡散反射シグナルであることを示している。

大脳半球の水分量と散乱振幅の相関



(6) 本研究の結果を踏まえた将来的展望

以上の結果を踏まえて、散乱振幅は HIE 予知、予防のためのターゲットとなる計測パラメーターであると考えられた。

本研究の成果は、拡散分光計測技術を活用した分娩時の胎児の状態把握のためのモニタリング法の開発に寄与することが期待される。

しかし、現在の計測システムでは、頭部の皮膚を切開して頭蓋骨に直接プローブを当てることで光シグナルデータの精度を高めているが、臨床応用を見据えた場合には頭皮越しに信頼性の高い光計測をできる工夫が必要と考えている。また、プローブを当てる部位を変えた場合のデータの変動の解釈や光シグナル値の定量化も臨床的使用の観点から重要であり、今後これらの課題を克服して臨床使用に耐えうる機器の試作が望まれる。そこでは、精神疾患の補助診断技術として確立している近赤外光分光計測 (near-infrared spectroscopy : NIRS) に使用されている技術が役立つと考えている。また、産科領域における使用を見据えて経膈的な使用に耐えうる耐防水性、衛生的なプローブカバーについても開発が必要である。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 4 件)

(学会賞受賞) 木下紗林子、川内聡子、佐藤俊一、宮木麻衣、西館泉、永松 健、拡散反射分光法を用いた新生仔ラット低酸素性虚血性脳障害モデルのリアルタイム診断、第 36 回日本レーザー医学会、2016 年 10 月 24-25 日、栃木県総合文化センター (栃木県・宇都宮)

木下紗林子、永松 健、川内聡子、佐藤俊一、西館泉、藤井知行、新生仔ラット低酸素性虚血性脳障害モデルにおける光散乱信号の有用性、日本脳循環代謝学会、2016 年 11

月 11-12 日、徳島県郷土文化会館（徳島・徳島市）

Sakiko Kinoshita, Takeshi Nagamatsu, takyuki Iriyama, Atsushi Komatsu, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii, Monitoring of intrinsic optical signals relating to cerebral hemodynamics and cellular morphology in a rat hypoxic ischemic encephalopathy model. 第 68 回日本産科婦人科学会学術集会、2016 年 4 月 21-24 日、東京国際フォーラム（東京都・千代田区）

Sakiko Kinoshita, Takeshi Nagamatsu, Takayuki Iriyama, Atsushi Komatsu, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii. Relation between level of edema and light scattering signal for the brain in a hypoxic ischemic encephalopathy model rat. 第 69 回日本産科婦人科学術集会、2017 年 4 月 14-16 日、広島グリーンアリーナ（広島県・広島市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井知行 (FUJII, Tomoyuki)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：40209010

(2) 研究分担者

永松 健 (NAGAMATSU, Takeshi)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：1260161922