

令和元年9月9日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11410

研究課題名(和文) 蘇生後脳症に対するチトクロームaa3酸化状態による脳モニタリング法の構築

研究課題名(英文) Development of cerebral monitoring by the redox state of cytochrome aa3 for post-resuscitation encephalopathy

研究代表者

垣花 泰之 (Kakihana, Yasuyuki)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：20264426

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、時間分解分析法(TRS)が、蘇生後脳内変化を正確に検出できるのかを評価し、蘇生後脳症に対する新たな脳モニタリング法の構築を目指すものである。今回の研究では、modified Beer-Lambert lawと光子拡散理論を用いることで、浅層と深層の脳内S<sub>02</sub>の情報を分離して検出できることが示された。一方、散乱係数(us')やCyt. oxの測定により、脳内S<sub>02</sub>では検出できない脳浮腫発症を検出できる可能性が示唆された。以上より、TRSを用いた脳内S<sub>02</sub>、us'、Cyt. oxの測定は、ベッドサイドにおいて蘇生後脳症発症までの脳内変化を経時的に測定できると結論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心肺停止に対する迅速な心肺蘇生法と脳低体温療法の導入は、救命率向上と蘇生後脳症の軽減に大きく寄与しているが、それ以外の脳保護療法に関する明確な指針は確立していない。今回の研究結果より、TRSは蘇生直後の急性期変化だけでなく、蘇生数時間後に発症する蘇生後脳症をベッドサイドでリアルタイムにモニタリングできる可能性が示されたため、今後の脳保護療法の選択や導入時期に有用な情報を与えてくれるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to examine whether near infrared time-resolved spectroscopy (TRS) can detect acute changes after resuscitation and post-resuscitation encephalopathy onset, and aim to construct a new brain monitoring method. In this study, it was shown that by using two analysis methods (modified Beer-Lambert law and photon diffusion theory), information of cerebral oxygen saturation (cS<sub>02</sub>) in the shallow and deep region of the brain enables to detect separately. On the other hand, the measurement of the scattering coefficient (us') or cytochrome oxidase (Cyt. ox) suggested the possibility of detecting the onset of cerebral edema which cannot be detected by cS<sub>02</sub>. Based on the above, it was concluded that measurement of cS<sub>02</sub>, us', and Cyt. ox using TRS at the bedside can monitor not only acute brain changes during resuscitation but also severe brain changes such as post-resuscitation encephalopathy onset over time.

研究分野：救急・集中治療医学

キーワード：近赤外線時間分解分光法 蘇生後脳症 心停止 脳内酸素飽和度 チトクロームaa3 散乱係数

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 心肺停止により脳への酸素供給が途絶えると、意識は数秒以内に消失し、3-5分以上の心停止では、たとえ蘇生に成功しても脳障害（蘇生後脳症）を生じる可能性が高くなる。蘇生後脳症の病態には、脳組織への酸素運搬能の低下（低酸素血症）と脳血流量の低下（虚血）の2つの病態（低酸素性虚血）が混在する。心拍再開後には急激な脳内エネルギー代謝の回復が起こるが、数時間後にはグルタミン酸等の興奮性アミノ酸が2次的に上昇し、遅発性脳内エネルギー代謝障害が惹起される。蘇生後一時間から脳浮腫が発生することも報告されている<sup>1)</sup>。さらに遅発性脳内エネルギー代謝障害時には脳組織内酸素代謝が低下し、傷害程度が高度な場合は脳浮腫を主体とした脳循環障害が引き起こされ、この病態が更なる脳虚血障害を引き起こす。蘇生後48-72時間での脳血流量の一過性増加と脳酸素代謝の一過性低下が著しいほど予後不良であるため、この時期に至るまでの治療法が非常に重要となる<sup>2)</sup>。つまり、ベッドサイドで脳血流量の増加、脳酸素代謝の低下、脳細胞傷害、脳浮腫等を連続的にモニタリングすることで、蘇生後脳症の脳管理法を明確に示すことが可能性となる。さらに、蘇生後1時間から脳浮腫が認められるとの報告もあり、蘇生後直ちに脳モニタリングを開始する必要がある。

(2) 蘇生後脳症の重症度を検査するには、CT やMRI は極めて有用であるが、測定のために循環動態が不安定な患者を移動するリスクや、急性期に連続的計測ができない点が問題となる。それ以外の脳モニタリングとしては、脳波、体性感覚誘発電位（SEP）、頭蓋内圧モニタリング、経頭蓋血流ドップラー、バイオマーカーとして、NSE、S-100 $\beta$ 、クレアチンキナーゼ（CK）、髄液乳酸値なども検討されているが、確立したものはない。一方、近赤外線分光法（Near-infrared spectroscopy: NIRS）は、ベッドサイドで非侵襲的かつリアルタイムに脳内酸素飽和度をモニタリングできる装置である。近年、院外心停止患者の病院到着時の脳局所酸素飽和度（rSO<sub>2</sub>）値が、90日後の蘇生後脳症の予後判定に有用であることが報告され<sup>3)</sup>、さらに脳内酸素飽和度を指標に行った胸骨圧迫法が、蘇生後脳症の予後改善に繋がる可能性が示唆され救急領域において新たに注目を集めている。NIRS は、ベッドサイドで非侵襲的かつ連続的に脳内酸素飽和度をモニタリングできる装置として開発され、上記のように救急領域において蘇生時のリアルタイムな脳モニタリング法として注目を集めているが、心拍再開後の蘇生後脳症に対する脳モニタリング法としてのNIRSの有用性に関しては、未だ懐疑的である。それは、CT で脳浮腫による大脳のびまん性腫脹、皮髄境界の不明瞭化、MRI で大脳皮質のびまん性の細胞性浮腫を反映した拡散強調画像での高信号化が認められる重篤な脳障害を呈する蘇生後症例においても、NIRSで測定すると脳内酸素飽和度は正常～高値を示し、蘇生後脳症の増悪変化を全く検出できないためである。それは次の理由で説明できる。現在のNIRS 測定原理は、血管内（動脈、静脈、毛細血管）に存在するヘモグロビンの吸収変化から脳内酸素飽和度を算出している。さらに、組織内の血液分布は、静脈血が60～70%を占めるため、NIRS で測定した脳内酸素飽和度値は内頸静脈血酸素飽和度とほぼ同様な変化を示すことが知られている。重篤な蘇生後脳症を呈する患者の急性期の特徴は、脳血流量の一過性増加と脳酸素代謝の一過性低下であり、シャント血流が生じるため、脳細胞レベルで低酸素が生じていたとしても、血管内の酸素化状態（静脈血の酸素飽和度）は高く維持され、NIRS で測定した脳内酸素飽和度はあたかも良好な酸素化状態が保たれているような結果を示すことになる<sup>4)</sup>。この問題を解決する唯一の方法は、血管内ではなく、細胞内の酸素化の情報を検出することである。

(3) 我々はNIRS による4波長解析法を用いてチトクロームオキシダーゼ測定の有用性を報告してきた<sup>5)</sup>。さらに、ピコ秒パルス光を用いた時間分解分析法（TRS）によるチトクロームオキシダーゼ測定のアロリズムの研究開発も行ってきた。TRS は、ヘモグロビンの吸収による酸素飽和度の絶対値だけでなく、組織の散乱も同時に計測できる装置である。組織の散乱に影響す

る因子としては、ミトコンドリアの膨化などがある。また、脳浮腫の発生も散乱係数に影響を与える可能性がある。つまり、TRS を用いて連続的に散乱係数をモニタリングすることで、脳浮腫の発生や治療による脳浮腫の軽減効果がリアルタイムに測定できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、我々がこれまで開発してきたチトクロームオキシダーゼ測定近赤外線分光法が、蘇生後の急性期変化（脳血液量の増加、脳酸素代謝の低下、脳浮腫の増悪、など）を正確に検出できるのかを頭部CTやMRI の画像で評価し、蘇生後脳症に対する新たな脳モニタリング法の構築を目指すものである。

## 3. 研究の方法

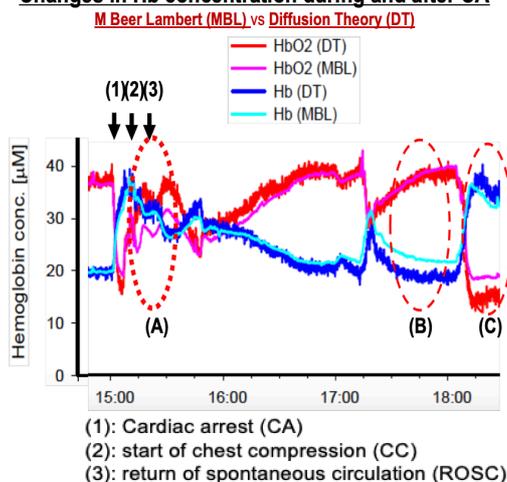
全身麻酔下のブタ (10-13kg)の右側頭頂部に矢状静脈洞を避けてピコ秒パルス光を用いた時間分解近赤外線分析法 (TRS) の送受光プローブを装着した。動脈圧の連続モニタと動脈血液ガス測定のために大腿動脈にカテーテルを挿入し、輸液と薬剤投与のために右内頸静脈に中心静脈カテーテルを挿入した。心室細動誘発装置を用いて心室細動による5分間の心停止を誘発した後、心肺蘇生 (人工呼吸と胸骨圧迫) を5~10分間行い、アドレナリン静注と電気的除細動により自己心拍を再開させた。脳内酸素化型 Hb (脳内 oxy-Hb)、脳内脱酸素化型 Hb (脳内 deoxy-Hb)、脳内血液量 (脳内総 Hb)、脳内酸素飽和度 (脳内 SO<sub>2</sub>)、散乱係数(μs')の変化を TRS (ピコ秒パルス光: 1CH (短波長): 760, 689, 732nm, 2CH (長波長): 834, 782, 803nm) を用いて連続的にモニタリングした。脳内チトクロームオキシダーゼ(Cyt. ox)の酸化還元変化は3つの長波長 (834, 782, 803nm) と3つの短波長 (760, 689, 732nm) の差アルゴリズムを用いて算出した。蘇生後脳症の発症に関しては、脳内 CT、MRI を用いて検討した。実験の過程において、脳内 SO<sub>2</sub>低下時に deoxy-Hb の吸収変化が大きくなり、フォトマルの測定精度の問題点が指摘されたため、吸収係数・散乱係数の波長依存性を考慮したアルゴリズム (μs'(λ) = aλ<sup>-b</sup>; λ: 波長[um], a: scatter amplitude, b: scatter power) を用いて Cyt. ox.の酸化・還元状態を解析した。

## 4. 研究成果

(1) 今回の実験において TRS を用いて測定した脳内 SO<sub>2</sub>は、心停止前の50%前後から心停止により約25%まで低下した。蘇生開始により脳内 SO<sub>2</sub>は約45%まで回復し、電気的除細動により自己心拍が再開すると約75%まで著明に上昇した。また、著明な脳内血流量(脳内総 Hb)の増加も認められた。さらに TRS から得られる結果を詳細に解析したところ、解析法の違い

((1)modified Beer-Lambert law (MBL)と(2)光子拡散理論に基づく時間分解分光法 (DT) ) により脳内酸素化の変化の違いが見られることが判明した(Fig. 1)。

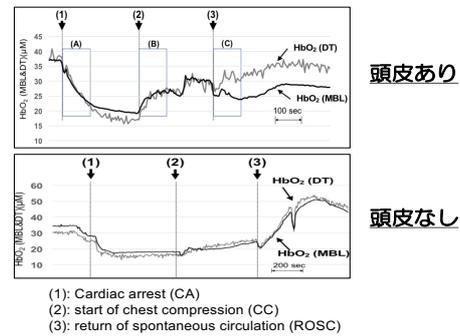
Fig. 1 **Changes in Hb concentration during and after CA**



(2) 頭皮を剥離した場合としない場合とで比較したところ、頭皮なしでは、MBLとDTの解析法による違いが見られなくなった(Fig. 2)。つまり、MBL解析法により算出する

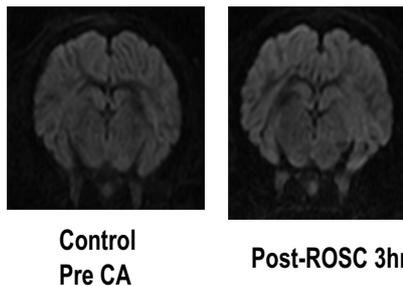
と頭部の浅い領域(特に頭皮)の情報が検出でき、光子拡散理論に基づく時間分解分光法(DT)を用いて解析すると、深部の脳領域の情報の検出が可能になることが示された。この結果は従来の臨床研究での報告結果と一致していた(Stroke 2001;32:2492)。

Fig. 2 心肺蘇生前後の脳HbO<sub>2</sub>(DT or MBL)の変化



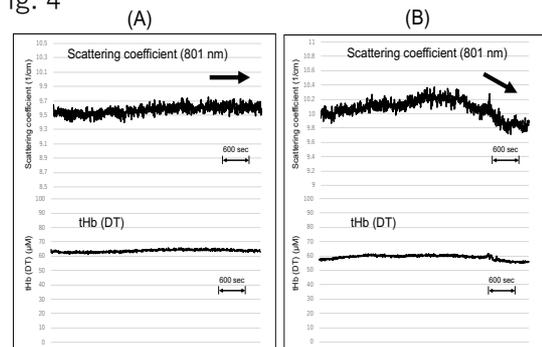
(3) 蘇生後脳症発症に関しては、蘇生後3、6、12時間でMRIを測定したところ、T2画像で心停止前と比較して大脳皮質と小脳に高信号が認められた(Fig. 3)。MRIのT2強調画像所見とTRSによる脳内SO<sub>2</sub>、脳内Cyt. ox、散乱係数(us')の変化を比較検討したところ、TRSの散乱係数(us')変化により脳浮腫発症を検出できる可能性が示唆された(Fig. 4)。

Fig. 3 MRI data before and after CA



Occurrence of post-resuscitation encephalopathy was observed at 3 hr after ROSC by the diffusion-weighted MRI imaging (DWI).

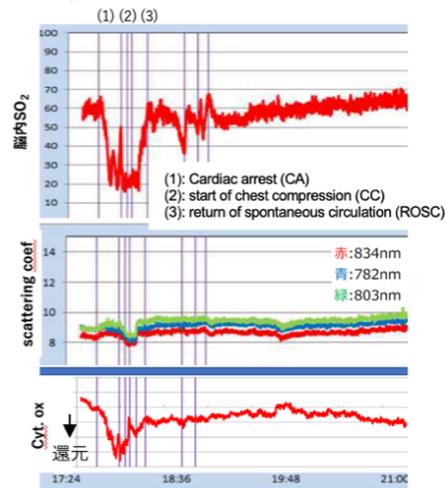
Fig. 4



(4) 一方、実験の過程において脳内SO<sub>2</sub>の著明な低下時に、deoxy-Hbの吸収が予想以上に大きく変化し、フォトマルの精度上、正確な吸収変化を測定できていない可能性が示唆された。脳内Cyt. oxを測定するには、正確な吸収変化を検出する必要があるため散乱係数の波長依存性を考慮したアルゴリズム( $\mu s'(\lambda) = a \lambda^{-b}$ ;  $\lambda$ : 波長[um], a: scatter amplitude, b: scatter power)を用いて再解析を行ったところ、Fig. 5の結果が得られた。

この結果では、蘇生後3時間のMRIのT2画像で心停止前と比較して大脳皮質に高信号が認められ、脳浮腫の発症が示唆されたが、その時点でのTRSによる脳内SO<sub>2</sub>は一見改善傾向を示し、散乱係数では大きな変化を認めなかったが、Cyt. oxは徐々に還元され脳内酸素化の悪化を示していた。以上の結果より、TRSを用いた脳内SO<sub>2</sub>やCyt. ox、散乱係数などの経時的変化をベッドサイドでリアルタイムにモニタリングし、それぞれのパラメータを

Fig. 5



総合的に評価することで、蘇生後急性期の変化から蘇生数時間後の脳症発症の変化まで正確かつ経時的に検出できる可能性がある」と結論した。

<引用文献>

- (1) Xiao F, Bench to bedside: brain edema and cerebral resuscitation: the present and future. Acad Emerg Med. 2002;9:933-946.
- (2) Kusaka T, Ueno M, Miki T, et al, Relationship between cerebral oxygenation and phosphorylation potential during secondary energy failure in hypoxic-ischemic newborn piglets. Pediatr Res. 2009;65:317-322.
- (3) Ito N, Nishiyama K, Callaway CW, et al, Noninvasive regional cerebral oxygen saturation for neurological prognostication of patients with out-of-hospital cardiac arrest: a prospective multicenter observational study. Resuscitation. 2014;85:778-784.
- (4) Minami T, Ogawa M, Sugimoto T, et al, Hyperoxia of internal jugular venous blood in brain death. J Neurosurg. 1973;39:442-447.
- (5) Kakihana Y, Matsunaga A, Yasuda T, et al, Brain oxymetry in the operating room: current status and future directions with particular regard to cytochrome oxidase. J Biomed Opt. 2008 May-Jun;13(3):033001.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Kakihana Y, Kamikokuryo C, Furubeppu H, Madokoro Y, Futatsuki T, Miyamoto S, Haraura H, Hatanaka K, Eguchi T, Saitoh Y, Miura N, Suzuki H, Ueda Y, Yasuda T, Ito T. Monitoring of Brain Oxygenation During and After Cardiopulmonary Resuscitation: A Prospective Porcine Study. Adv Exp Med Biol. 2018;1072:83-87.

〔学会発表〕（計 3 件）

- ① 垣花 泰之、THE POTENTIAL OF NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY AS AN OXYGENATION INDEX OF PIVOTAL ORGANS AND TISSUE OXYGENATION IN CRITICALLY ILL PATIENTS、第8回世界ショック学会、2016
- ② 垣花 泰之、Monitoring of brain oxygenation during and after cardiopulmonary resuscitation-A prospective porcine study、ISOOT2017、2017
- ③ 垣花 泰之、近赤外線分光法の新たな可能性を探るー危機的状況での必要な情報とは？、第21回日本光脳機能イメージング学会、2018

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://com.kufm.kagoshima-u.ac.jp/~icu/staff.html>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：安田 智嗣

ローマ字氏名：Yasuda Tomotsugu

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：80437954

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。