

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591299

研究課題名(和文) 近赤外線時間分解分光法による新生児期の貧血と多血症における脳内酸素化に関する研究

研究課題名(英文) Cerebral oxygenation and hemodynamics in premature infant using near-infrared time-resolved spectroscopy

研究代表者

磯部 健一 (ISOBE KENICHI)

香川大学・医学部・准教授

研究者番号：00159815

研究成果の概要(和文)：未熟児貧血は極低出生体重児において一般的な疾患であり、輸血が重要な治療である。血中ヘモグロビン(Hb)濃度やヘマトクリットによる輸血の適応基準が現在広く用いられているが明確なエビデンスはない。我々は近赤外線時間分解分光装置(TRS)を用いて貧血動物モデルと未熟児貧血の児において脳内Hb濃度、脳内Hb酸素飽和度(ScO_2)と脳血液量(CBV)を測定した。動物実験にてTRSが脳内酸素化状態や血行動態をモニターするのに使用できることを証明した。10例の未熟児で15回測定した。輸血後にCBVは著明に減少し、 ScO_2 は有意に上昇した。CBVと ScO_2 の測定は輸血の必要性を評価するのに有用である。

研究成果の概要(英文)：Anemia of prematurity is a common disease, particularly in very low birth weight infants, and transfusion is an important treatment. However, there is no clear evidence for the currently widely used transfusion criteria using the blood hemoglobin level (Hb) and hematocrit value (Ht). Thus, preparation of new transfusion criteria using an index other than the Hb and Ht has been attempted. We measured the cerebral Hb concentration, Hb oxygen saturation (ScO_2) and cerebral blood volume (CBV) in anemic animal model and infants with anemia of prematurity using time-resolved near-infrared spectroscopy (TRS). In animal study, we demonstrated that TRS method could be used to monitor the cerebral oxygenation and hemodynamics in the anemic neonates at the bedside. Thus, fifteen measurements were performed in 10 premature infants. CBV significantly decreased and ScO_2 significantly increased after transfusion. Measurement of CBV and ScO_2 is useful to investigate the necessity of transfusion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：新生児学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・胎児・新生児医学

キーワード：貧血、脳内酸素化状態、脳血液量、近赤外線分光法、時間分解分光装置、新生児未熟児、新生仔豚、

1. 研究開始当初の背景

(1) 未熟児・新生児に輸血や血液製剤を使用

する頻度の高い疾患として未熟児貧血と多血症が挙げられる。未熟児貧血に対する輸血

は日本小児科学会新生児委員会から「未熟児貧血に対する輸血ガイドライン」が示されている。多血症の治療として部分交換輸血が行われているが、その適応については明確な基準はない。輸血、部分交換輸血の何れにおいても血液検査や臨床症状に基づいて行われているのが現状である。これら疾患のいずれにおいても臓器組織は低酸素に陥るが、臓器組織の酸素化状態を指標としての輸血や部分交換輸血は行われていない。未熟児貧血と多血症の児の脳組織および他の組織の酸素化状態と循環動態を検討した研究は少ない。超音波ドプラーを用いた研究において輸血および部分交換輸血によって脳循環と酸素化の改善が示唆されている。

(2) 近赤外分光法 (NIRS) は、装置も小型でリアルタイムに脳内酸素化、循環状態の評価が可能であるが、NIRS を用いた研究は少ない。連続波長 NIRS (cwNIRS) を用いたけんきゅうでは、輸血により脳内酸素化ヘモグロビンの前値からの増加と超音波ドプラーで脳血流速度の低下が報告されている。また貧血のある早産児において頸静脈圧迫による脳内静脈血酸素飽和度 (SvO₂) を測定し、動脈血酸素飽和度 (SaO₂) から脳内酸素抽出率 ((SaO₂-SvO₂)/SaO₂) を算出し、ヘモグロビン濃度との間に弱い負の相関 (r=-0.24) しか認められなかったが、輸血後の脳内酸素抽出率は低下したことが報告されている。Kurth らは、cwNIRS の測定値の信頼性に関して脳内 Hb 酸素飽和度は実際よりも高値を示す危険性を指摘している。また、Yoshitani らは、ヒト成人の血液希釈時における内頸静脈血酸素飽和度と cwNIRS で測定した脳内 Hb 酸素飽和度の変化に解離が生じ、その理由は不明であることを報告している。最近、組織の光学的パラメーター (光路長、散乱係数) や臓器組織内の絶対的ヘモグロビン濃度の測定がベッドサイドできる小型の近赤外線時間分解分光装置 (TRS) が開発された。我々はこの TRS の信頼性を検討するために基礎的研究を行い、脳組織に類似したファントムや低酸素負荷新生仔豚モデルで脳内 Hb 濃度や Hb 酸素飽和度が正確に測定できることおよび在胎 30 週から 41 週の新生児を対象とした脳の光学的特性および脳内酸素化状態の発達的变化の検討で、修正在胎週数との間に有意な相関を認めることを世界で最初に報告した。この TRS を利用すれば、従来の cwNIRS では正確に測定することが不可能であった脳内 Hb 濃度や酸素飽和度を高精度に測定できるので、未熟児貧血や多血症の児の脳循環・代謝を明らかにすることが可能となり、過度の輸血を回避できることが予想される。

2. 研究の目的

(1) 新生児医療において、未熟児貧血は一般的な疾患であり、主に極低出生体重児において検査の為の採血、急速な身体発育と未熟性に伴う相対的なエリスロポエチン不足及び鉄欠乏に起因して生じている。未熟児貧血は短期的には多呼吸、無呼吸、頻脈、体重増加不良、活力減弱などの症状を呈し、脳室内出血、脳室周囲白質軟化症の発症を増加させる可能性も指摘されている。長期的には発育や発達障害の原因となる。未熟児貧血に対しては、予防、非輸血治療及び輸血などの介入が行われている。新生児に対する輸血治療基準は血中ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値を指標としたものが汎用されているが、これらの基準には明確なエビデンスがないのが現状である。現行の輸血基準については、それが高いことにより過剰な輸血が行われている可能性があるとの観点から、より厳しい基準を設けるべきとの議論がある。一方で、血中ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値以外に新たな基準を得ようとする試みとして、血液中の乳酸値の測定や超音波ドプラーによる脳循環の評価および NIRS による脳内酸素化状態の評価などもなされている。

(2) 我々は TRS を用いて簡便に脳内ヘモグロビン濃度、脳内酸素飽和度を測定することができ、脳血液量 (CBV) の絶対量が算出できることを報告してきた。貧血の児において輸血時にこれらのパラメータを測定することで、輸血による脳循環動態への影響について、新たな知見を得ることができる。また、これらのパラメータを用いることで、脳循環状態、酸素代謝状態に基づいた新たな輸血療法実施の指標を得ることができる可能性がある。本研究では、慢性の未熟児貧血モデルの新生仔動物を用いた研究は困難であるので、急性貧血モデルの新生仔豚を用いた基礎的研究と未熟児・新生児を対象とする臨床研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 近赤外線時間分解分光装置と解析法

近赤外線時間分解分光装置 (TRS) は、761、795、835nm の 3 波長のピコ秒レーザー光を備えた TRS-10 (浜松ホトニクス社製) を使用した。投光部と受光部間距離を 30mm とした。新生仔豚を用いた基礎的研究では矢状抱合に平行に 5mm 外側の左頭頂部で、新生児を対象とした臨床研究では児の前額中央部でプローブアタッチメントを固定した。測定された 3 波長の re-emission profile を Patterson の拡散方程式へフィッティングし、各波長の光拡散係数、光吸収係数を算出した。また、計測された 3 波長の photon 平均飛行時間に生体内における光速を乗することで

各波長の平均光路長を算出した。各波長の光吸収係数から脳内の酸素化 Hb (oxyHb)、脱酸素化 Hb (deoxyHb)、両者の和である総 Hb (total Hb) 濃度を算出し、脳内 Hb 酸素飽和度 (ScO₂) (ScO₂= oxyHb/ total Hb x 100) と脳血液量 (CBV) (CBV=動脈血 Hb 濃度×64500 (Hb 分子量) ×10⁻⁶ / (total Hb×10⁻²×1.05 (脳組織密度)) ×10) を計算した。

(2) 新生仔豚を用いた急性貧血状態における脳内酸素化状態の基礎的研究

①生後 24 時間以内の新生仔豚 8 頭を用いた。気管内挿管しフェンタネスト、臭化パンクロニウムを用いて人工呼吸管理を行い、2 本の臍動脈にカテーテルを挿入し、一方は血圧・心拍の連続測定に、他方はそれより浅く挿入し検査用血液の採取等に用いた。また臍静脈および末梢静脈にラインを確保し、臍静脈より輸液を行った。

②血液-アルブミン溶液部分交換は臍帯動脈より瀉血し、同時に末梢静脈より 5%ブタアルブミン溶液を血圧が変動しない速度で注入した。1 回の交換は 25ml で 20 分間隔で 4 回行い、合計 100ml の血液を交換した。

③脳内 Hb 濃度の測定は、血液交換の 1、2、3、4 回目前と 4 回目終了 20 分後に各々 10 回行う。同時に動脈採血し、血液ガス分析、血液 Hb 濃度、ヘマトクリット (Ht) 値を測定した。

④酸素供給量が神経細胞の恒常性を維持できる最低レベルよりも更に減少すると神経細胞活動の低下が惹起され、酸素消費量は減少する。従って、TRS でモニターできる種々のパラメータ (oxyHb、deoxyHb、total Hb 濃度、ScO₂、CBV) と動脈血 Hb 濃度との関係を検討した。

(3) 未熟児貧血における臨床的研究

①研究期間中に香川大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターNICU に入院していた極低出生体重児で、BCSH の 4 カ月未満の児に対する赤血球輸血ガイドラインに従って輸血療法の適応とされ、頭蓋内病変、染色体異常、心奇形を有しない児で、両親から同意の得られた児を対象とした。10 名でのべ 15 回の計測を行った。

②輸血前後に TRS による連続測定を 15 分間行い、その内安定した 5 分間のデータを使用した。また同時に呼吸・心拍、血圧、動脈血酸素飽和度 (SpO₂) を記録した。また超音波ドプラーを用いて、前大脳動脈の resistant index (ACA-RI) を測定した。

4. 研究成果

(1) 新生仔豚を用いた急性貧血状態における脳内酸素化状態の基礎的研究

動脈血 Hb 濃度は前値の 13.3 ± 2.4 g/dl から 4 回の血液交換後には 3.5 ± 0.6 g/dl へ有意に低下した (図 1)。動脈血 Hb 濃度の低

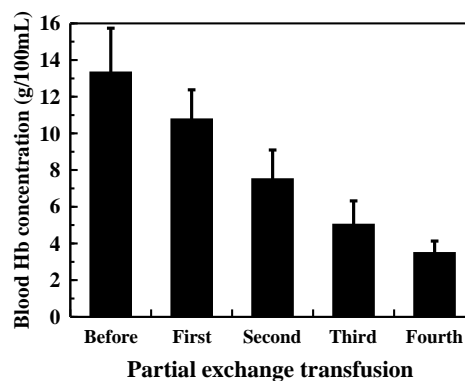


図 1. 血液交換前後の血液 Hb 濃度

下に伴って TRS で測定した脳組織の光吸収係数は 2 回目の血液交換以後有意に減少した。同時に平均光路長も有意に長くなった。現在、臨床の場で使用されている cwNIRS では、アルゴリズムに光路長の変化が考慮されていないので貧血時の ScO₂ を正確に測定できない可能性がある。

①動脈血の Hb 濃度と脳内の oxyHb および total Hb の間に各々有意な正の相関 (oxyHb : r=0.92, p<0.0001、total Hb : r =0.73 を認めた。脳内の脱酸素化 Hb は、Hb 濃度が約 7 g/dl までは殆ど一定で、それ以下で有意に低下した (図 2)。

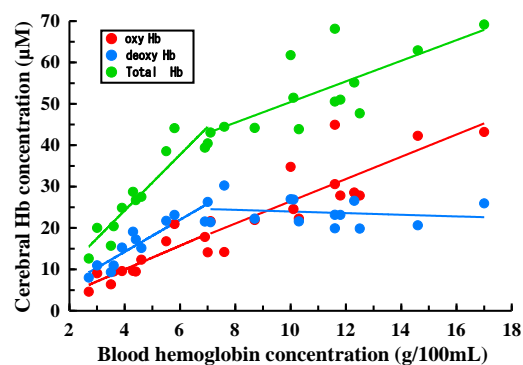


図 2. 血液 Hb 濃度と脳内 HB 濃度の関係

②ScO₂ は動脈血の Hb との間に 7.0g/dl 以上で有意な正の相関 (r=0.72, p<0.0001) を示した (図 3)。これらの結果より、貧血の進行にともなって脳内の oxyHb は減少するが、一方 deoxyHb は Hb 濃度が約 7 g/dl までは殆ど一定で、ScO₂ は約 60% から約 40% へ低下することが明らかとなった。これらは酸素抽出率

が増加して脳組織への酸素供給量を維持していることを示している。Hb濃度が4g/dlより下がると血圧の低下とともに脳内の total Hb も低下した。これは脳循環の低下を意味している。

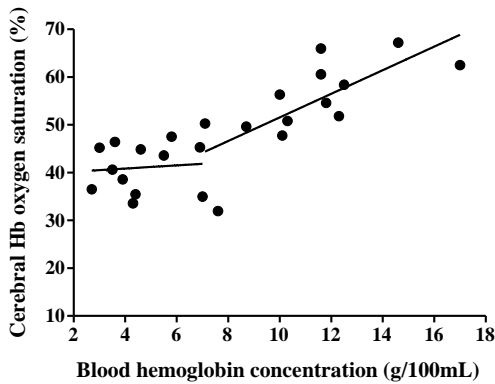


図3. 動脈血 Hb 濃度と脳内 Hb 酸素飽和度との関係

③CBVは動脈血Hb濃度の低下に伴い増加した(図4)。血中Hb濃度が10.5g/dL以上では、

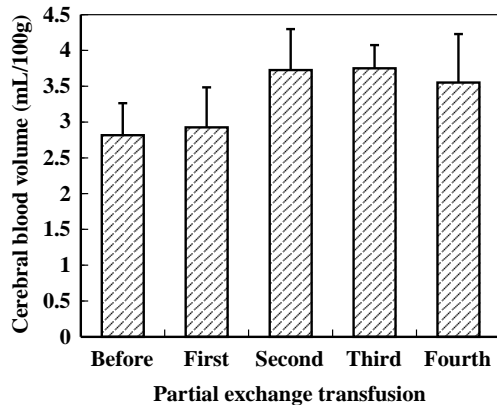


図4. 血液交換と脳血液量の関係

CBVの増加は緩やかであり、血中Hb濃度が10.5g/dLから4.0g/dLの間では、CBVは急速に増加した。しかし、血中Hb濃度が4.0g/dL以下となるとCBVは減少した。以上より、動脈血Hb濃度が約10~4.0g/dLの間では、脳循環の代償機構により、CBVを増加させ脳組織への酸素供給を維持していると考えられた。

以上の成績より、TRSによって貧血時の脳循環・酸素化状態を正確に評価できる可能性が示唆された。

(2) 未熟児貧血における臨床的研究

対象となった症例について、在胎週数の中央値は27週0日、出生時体重の中央値は749gであった。輸血実施時の修正在胎週数は中央値30週5日、輸血前血中ヘモグロビン濃度

は平均±標準偏差で9.5±1.4g/dl、輸血後血中ヘモグロビン濃度は13.1±0.9g/dl、輸血量は17.2±3.0ml/kgであった。

①輸血前後のCBV、ScO₂、平均血圧(mean BP)、心拍数(HR)、前大脳動脈抵抗係数(ACA-RI)を検討した。輸血によりCBVは輸血前の2.55±0.61 ml/100gから2.11±0.29ml/100gへ有意に減少し、ScO₂は71.9±4.9%から74.2±4.5%へ有意に増加していた。Mean BP、HR、ACA-RIには有意な変化は認められなかった。

②図5に輸血による血中Hbの変化に伴うCBVの変化を示す。全例で血中Hbの上昇によりCBVが低下していた。しかしCBVの変化率は症例毎に異なっていた。

③図6に輸血前血中ヘモグロビン濃度と、輸血によるCBV低下率(血中ヘモグロビン濃度が1g/dL上昇する毎のCBVの上昇量)の関係を示す。輸血前血中ヘモグロビン濃度が低いほど有意にCBV低下率が大きかった(r=0.706、p<0.01)。

④図7に輸血前CBVと、輸血によるCBV低下率の関係を示す。輸血前CBVが大きいほど、輸血によるCBVの低下率が大きかった(r=-0.800、p<0.01)。

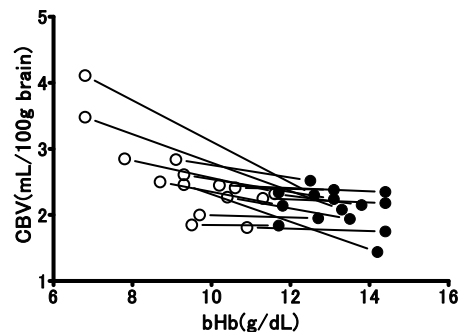


図5. 血液Hb濃度とCBVの関係

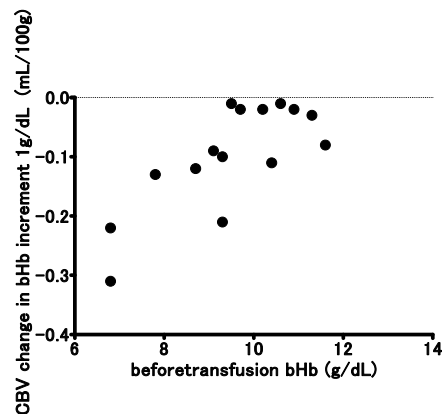


図6. 輸血前血中Hb濃度と、輸血によるCBVの低下率

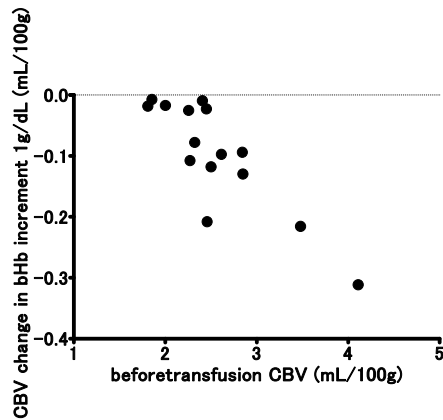


図 7. 輸血前 CBV と輸血による CBV 低下率の関係

考察：我々は、本研究において過去に報告されていない未熟児の輸血前後の CVB の絶対値測定を初めて行った。

早産児において、貧血の進行による脳の血行動態の変化はまだほとんど解明されていない。ウサギ急性貧血モデルにおいて、貧血により脳血流量 (CBF) が増加することが示されている。また、ヒトにおいても成人で、貧血により CBF が増加することが報告されている。しかし、貧血の進行による CBV の変化はこれまで明らかとなっていない。今回の測定では、輸血前の CBV が、過去に我々が報告した新生児、早期産児における CBV を基準とすると比較的高値となっていた。このことから、今回測定対象となった早期産児において、未熟児貧血の進行に対し CBV を増大させることで脳への酸素供給を維持する機構が存在することが推測される。

今回の我々の測定で新たに輸血前の血中 Hb が低いほど、輸血による CBV の変化率が大きいことが明らかとなった (図 6)。一方で輸血前の Hb が高い症例では、輸血による CBV の低下がわずかしか生じていない。このことは、前述の CBV の代償性の増大は血中 Hb があるレベルを下回った時点で急速に生じている可能性を示している。

図 7 で示したように、輸血前 CBV が高い症例ほど、輸血による CBV の低下率が大きかった。輸血による CBV の低下を貧血の進行により高値となった CBV が正常化しているとするれば、図 6 で示した結果と合わせ、輸血前に CBV の絶対値を測定することで、輸血適応を検討するための重要な情報が得られると考えられる。

ScO₂ は動脈血及び静脈血の混合酸素飽和度であり、組織中の動脈血、静脈血割合の変動により大きく変化する。すなわち、動脈血酸素飽和度が一定である条件下では、動脈血の割合が上昇すれば ScO₂ は増加し、静脈血の割合が増加すれば、ScO₂ は低下する。

脳の血液量の調整は、主に細動脈の収縮、拡張

により生じていると考えられている。輸血による変動もこれに従うとすれば、輸血による脳血液量の減少は、動脈の収縮による動脈血量の減少によって生じていると考えられる。よって ScO₂ が輸血により増加するとは考えにくい。しかし、今回の測定により、輸血によって ScO₂ が有意に増加することが確認された。

上記の輸血によって脳動脈血の割合が減少するというモデルが正しいとすれば、この結果は、輸血によって脳静脈血酸素飽和度 (SvO₂) が増加していることを示唆している。SvO₂ の増加は、脳の酸素摂取率が低下していることを意味する。すなわち、輸血前、貧血の進行により酸素摂取率が増加し、輸血によってそれが正常化、すなわち低下したことが、輸血による ScO₂ 増加の原因であると推測される。これは、貧血による CBV の増加は、それだけでは脳への酸素供給の低下を十分に代償できていない可能性を示している。

結論として、輸血時の CBV、ScO₂ 測定は TRS によって簡便に測定でき、新生児医療における脳モニターとして有用であると考えられた。

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 3 件)

- ① Kato I, Kusaka T, Nishida T, Koyano K, Nakamura S, Nakamura M, Konishi Y, Kunikata J, Jinnai W, Yasuda S, Okada H, Itoh S, Isobe K. Extruterine environment influences spontaneous low-frequency oscillations in the preterm brain. Brain Dev 査読有 2012, in press
- ② Tanimoto K, Kusaka T, Nishida T, Ogawa K, Kato I, Ijichi S, Mikami J, Sobue I, Isobe K, Itoh S. Hemodynamic changes in the breast and frontal cortex of mother during breastfeeding. Pediatr Res 査読有 70: 400-405, 2011
- ③ Kusaka T, Isobe K, Miki T, Ueno M, Koyano K, Nakamura S, Nishida T, Itoh S. Functional lateralization of sensorimotor cortex in infants measured using multichannel near-infrared spectroscopy. Pediatr Res 査読有 69: 430-435, 2011

[学会発表] (計 5 件)

- ① 小谷野耕佑、磯部健一他. 未熟児貧血における輸血療法時の脳血液量、脳内ヘモグロビン酸素飽和度の変化について. 第 56 回日本未熟児新生児学会, 2011. 11. 15. 東京

- ② Kosuke Koyano, Kenichi Isobe et al. Cerebral blood volume in anemic piglets using near-infrared time-resolved spectroscopy. BRAIN' 11 & BRAINPET' 11, 2011.5.27. Barcelona, Spain
- ③ Kosuke Koyano, Kenichi Isobe et al. The impact of blood transfusion on cerebral hemodynamics and oxygenation in anemic premature infants. BRAIN' 11 & BRAINPET' 11, 2011.5.27. Barcelona, Spain
- ④ Kosuke Koyano, Kenichi Isobe et al. Changes in cerebral blood volume of piglets with acute anemia induced by partial blood exchange transfusion. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research, 2010.4.16. Taipei, Taiwan
- ⑤ Kenichi Isobe, et al. Effects of hemodilution on cerebral optical properties and hemodynamics in newborn piglets using near-infrared time-resolved spectroscopy. ISOTT2008, 2008.8.6. Sapporo, Japan

6. 研究組織

(1) 研究代表者

磯部 健一 (ISOBE KENICHI)
香川大学・医学部・准教授
研究者番号：00159815

(2) 研究分担者

日下 隆 (KUSAKA TAKASHI)
香川大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：50274288

河田 興 (KAWADA KOU)
国立病院機構京都医療センター・小児科・医長
研究者番号：402843691
(H20)

大久保 賢介 (OKUBO KENSUKE)
おおくぼ小児科・院長
研究者番号：80335851

久保井 徹 (KUBOI TOHRU)
東京都立小児総合医療センター・総合周産期
母子医療センター新生児科・医員
研究者番号：00437683
(H20～H21)

中村 信嗣 (NAKAMURA SHINJI)
香川大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号：30437686
(H20)

小谷野 耕佑 (KOYANO KOUSUKE)
香川大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号：20437685
(H22)

西田 智子 (HISHIDA TOMOKO)
香川大学・教育学部・教授
研究者番号：00243759