

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25860911

研究課題名(和文) 低酸素虚血負荷後の脳循環と脳波測定による脳障害の重症度予測に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Monitoring cerebral hemodynamics and neural activity using TRS and EEG can predict the severity of brain injury in asphyxiated newborn piglet

研究代表者

中村 信嗣 (Nakamura, Shinji)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30437686

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)：本研究では、低酸素虚血負荷後の脳波と脳循環酸素代謝変化をamplitude integrated EEGと時間分解分光装置を用いて測定し、その病理学的脳障害との関係を調べた。その結果、負荷後の脳血液量増加は脳波抑制時間と相関し、病理学的脳障害の重症度とも相関した。また、臨床においても、低酸素性虚血性脳症児においても、生後12時間以内に脳血液量が増加するものは、生命予後及び神経学的予後が不良であることを報告した。これらの結果より、脳血液量と脳波抑制時間は、生後早期に脳障害を簡便に且つ定量的に評価できるパラメーターとして有用であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Monitoring cerebral neural suppression and hemodynamics using aEEG and Time resolved spectroscopy in asphyxiated piglet and HIE neonates.

The aim of this study is to examine the relationship between changes in cerebral blood volume (CBV) and the low amplitude-integrated electroencephalography (aEEG) duration (LAEEG) after a HI insult. The following results had been reported. At first, there was a positive linear correlation between changes in cerebral blood volume and low-amplitude aEEG duration within 6h after HI insult. Secondly, asphyxiated piglets showed that their histopathological cerebral damages correlated with increase in CBV after HI insult. Furthermore, in clinical study, neonates with severe brain damage also showed increase in CBV within 12 h after birth compared with healthy neonates. Since, an early increase in CBV and longer LAEEG indicate severe brain injury.

研究分野：新生児

キーワード：新生仔豚 低酸素虚血 脳波抑制 脳血液量

1. 研究開始当初の背景

低酸素性虚血性脳症 (HIE)は、新生児領域において予後不良な疾患の1つである。先進国でも、HIEは1000出生に3-4件の割合で起き、長期的神経学的障害や発達障害を引き起こすことが知られている。現在、このHIEに対し臨床での予後改善効果が認められている治療は脳低温療法(hypothermia: HT)だけである。しかし、このHTを行ってもHIEの約50%の症例は予後不良である。この予後改善が低い理由としては、治療対象に治療不要な軽症から治療に反応しない重症のものまで含まれているためである。今後のHIEに対する脳保護戦略は、「HTの正確な適応症例を決め、正確な効果判定を行うこと」が大前提であり、その上で「軽症例へのHTの過剰適応を減らし、現行のHTプロトコールでは効果が見込めない重症例にはHT治療期間の延長や併用療法を考慮し行うこと」である。このためには、HIEの重症度判定を正確に行う診断方法が必要不可欠である。

HT適応を決めるHIEの診断方法は、血液ガス結果、Apgar scoreとともにSarnat分類やThompsonスコアという臨床所見を評価する主観的診断方法に加え、近年では補助診断方法として脳波(amplitude integrated-EEG: aEEG)が用いられている。生後6時間以内でのaEEGでの低振幅状態や脳波活動抑制状態は予後不良を示す所見であり、aEEGにより治療が不要である軽症例を除外診断することが可能となった。しかし、脳波抑制所見が同様であってもその脳障害の程度にはバラつきがあるために、aEEGによってHIEの中等症と重症の区別を行うことはできない。

脳波同様、脳循環代謝変化は出生後に起こる生体反応の中で重要であり、特に生後早期の変化は明らかではない。我々は以前より、近赤外光時間分解測定方法(TRS)を用いて、新生児脳循環代謝の病態に関する基礎的研究を新生児豚仔死モデルを用いて行い報告

してきた(Shinji Nakamura, Asian Pediatric Society Reseach Congress 2010, Taipei Taiwan; 2011, Denver USA; 2012, Seoul Korea; Brain monitoring & neuroprotection in the newborn 2012, Florida USA)。この研究で、低酸素虚血負荷後の脳循環変化とaEEG変化について調べると、低酸素虚血負荷後のaEEG脳波抑制所見が同程度のもので脳循環代謝変化には違いがあることを発見した。そこで、aEEGでは区別できない中等症と重症の脳障害をTRSを用いて区別ができる可能性があると考えた。

臨床応用のためには、HTを開始する生後6時間以内の超早期に、ベッドサイドで簡便に非侵襲的に持続的測定が行える検査でなければならない。TRSはこのような臨床応用ができる脳循環代謝モニターの一つである。

2. 研究の目的

本研究では、aEEGと脳循環代謝モニターを用いたHIEの新しい重症度診断方法の確立が目的である。特に、中等度と重症HIEの区別を行うための診断方法を確立する。本研究課題では、軽症、中等症、重症の脳障害を呈する3つの新生児豚仔死モデルを用いて、低酸素虚血負荷後6時間以内のaEEG・脳循環変化と病理組織学的脳障害の関係を明らかにする。また、負荷後6時間以内での3群のaEEG・脳循環変化の違いを明らかにし、両パラメーターを用いたHIEの重症度判定方法を確立する。

3. 研究の方法

生後24時間以内の新生児豚仔を対象に、新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)の新生児豚仔モデル(負荷群n=13、コントロールn=3)を用いて行った。低酸素虚血負荷は脳波が低振幅脳波(LAEEG)になるまで吸入酸素濃度を低下させ、LAEEGを認めた後20分間は平均血圧が負

荷前の 60%以上、その後 5-10 分間は 50%以上になるように吸入酸素濃度を調節し、蘇生を行った。蘇生後は、24 時間まで人工呼吸器管理を行いながら、血圧や動脈血酸素飽和度など生体パラメーターを持続モニタリングすると同時に、aEEG 及び脳血液量 (CBV)、脳内 Hb 酸素飽和度 (ScO₂)、血液ガスも持続測定を行いながら、適宜、血液ガス測定も行った。

また、組織学的評価においては、21 頭の新生仔豚仮死モデルを用いて、蘇生後 5 日目には、組織還流を行い、脳及び肺、心臓、腎臓、肝臓を摘出し、ホルマリン固定後、パラフィン切片を作成し、HE 染色による障害度判定を行った。

また、臨床症例において、HT 施行と非施行の HIE 例で、生後 6 時間以内から 72 時間までの脳循環代謝変化を後方視的に比較検討した。2010 年 7 月 1 日から 2013 年 7 月 31 日までに香川大学医学部附属病院 NICU にて HT を施行された HIE 児 4 例 [MRI 異常なし (normal): 1 例、脳性麻痺 (CP): 2 例、死亡: 1 例] を対象とした。HT 非施行例は、以前当院にて HT 非施行であった HIE 児 6 例 (normal: 4 例、CP: 2 例)。全例で、TRS を用いて、生後 6 時間以内から 72 時間までの CBV と ScO₂ の、両パラメーターの時間変化量を測定した。

4. 研究成果

HI 負荷での新生仔豚の CBV は HI 負荷開始後に増加し、頂値に達した後、低下した。

またその後、蘇生直前が最低値となった。CBV 減少量 (負荷前値-蘇生直前値) が大きいものほど、病理組織上の脳障害が高度であった。HI 負荷中の CBV の増加後の低下はその autoregulation 破綻を示唆すると考えられた。HI 負荷中の CBV 低下が強いものほど病理組織学的予後不良となることから、子宮内低酸素虚血下での胎児脳の autoregulation 破綻を防ぐことが予後改善につながると考え

られた。HI 負荷中の CBV の低下は、HI 負荷後 5 日目の病理組織学予後不良に関係がある事が見いだされ、HI 負荷時の CBV の調節で、同様な組織障害を来すモデル作成が可能となった。

また、本研究では、負荷後には、CBV が増加するものやしないものなど、多様な CBV 変化を示し、脳波抑制 (LAEEG) 持続時間も多様であったことから、この CBV 変化、すなわち、蘇生後 6 時間以内での CBV 増加 (CBV) と LAEEG 持続時間の相関関係を調べた。その結果、蘇生後 1, 3, 6 時間後の脳血液量増加と脳波抑制 (LAEEG) 持続時間は正の相関を示した (Nakamura S, 2014)。これは LAEEG 持続時間が長い脳障害が重篤な症例ほど、脳循環の自動調節能が悪いことを示していることが考えられた。

また、病理組織学的脳障害と蘇生後に認める CBV 増加の関係は、皮質白質、灰白質、海馬での壊死、梗塞巣の所見スコアからなる障害度と脳血液量増加は正の相関関係を示した (Nakamura M, 2015)。このことから、蘇生後の脳血液量増加は、重篤な脳障害を反映していることが考えられた。しかし一方では、ScO₂ は、

臨床症例の検討では、生後 6 時間以内の CBV (mL / 100g brain) は、HT 施行 CP・死亡例 (n=3) は、それ以外 (n=7) (HT 施行 normal、非 HT 施行 normal、非 HT 施行 CP) に比して有意に高値であった (3.21 ± 0.2 vs 2.43 ± 0.38 , $p < 0.05$)。また、生後 40~72 時間での CBV、ScO₂ (%) は、HT の施行、非施行に関係なく、CP・死亡例では著しく高値を認め (3.16 ± 0.56 , 86.1 ± 4.91) normal 例では、高値にはならず、CP・死亡例よりも明らかな低値を示した (2.54 ± 0.34 , 75.0 ± 4.08) ($p < 0.05$)。生後 6 時間以内の HT 施行前に既に CBV が高値である場合は、HT 施行しても予後不良である可能性が高いと考えられた。また、HT 施行前および生後 72 時間ま

で、CBV、ScO₂ 高値を認めた場合は、HT による予後改善が不十分であることが予想された。CBV や ScO₂ は、HT 効果が不十分である重症 HIE を選別し、他の脳保護治療を早期に開始する指標と成り得る。

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 8 件)

- 1) Nakamura S, Walker DW, Wong FY. Cerebral haemodynamic response to somatosensory stimulation in near-term fetal sheep. *J Physiol*. 査読有 595:1289-1303, 2017. doi: 10.1113/JP273163
- 2) Kubo H, Shimono R, Nakamura S, Koyano K, Jinnai W, Yamato S, Yasuda S, Nakamura M, Tanaka A, Fujii T, Kanenishi K, Chiba Y, Miki T, Kusaka T, Ueno M. Hypoxic-Ischemic Encephalopathy-Associated Liver Fatty Degeneration and Effects of Therapeutic Hypothermia in Newborn Piglets. *Neonatology*. 査読有 111:203-210, 2016. doi: 10.1159/000450721
- 3) Nakamura S, Koyano K, Jinnai W, Hamano S, Yasuda S, Konishi Y, Kuboi T, Kanenishi K, Kusaka T. Simultaneous measurement of cerebral hemoglobin oxygen saturation and blood volume in asphyxiated neonates by near-infrared time-resolved spectroscopy. *Brain & development*. 査読有 37(10):925-932, 2015. doi: 10.1016/j.braindev.2015.04.002
- 4) Nakamura M, Jinnai W, Hamano S, Nakamura S, Koyano K, Chiba Y, Kanenishi K, Yasuda S, Ueno M, Miki T, Hata T, Kusaka T. Cerebral blood volume measurement using near-infrared time-resolved spectroscopy and histopathological evaluation after hypoxic-ischemic insult in newborn piglets. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 査読有 42:1-9, 2015. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2015.02.009
- 5) Nakamura S, Kusaka T, Koyano K, Miki T, Ueno M, Jinnai W, Yasuda S, Nakamura M, Okada H, Isobe K, Itoh S. Relationship between early changes in cerebral blood volume and electrocortical activity after hypoxic-ischemic insult in newborn piglets. *Brain Dev*. 査読有 36:563-571, 2014. doi: 10.1016/j.braindev.2013.08.005
- 6) Nakamura S, Kusaka T, Yasuda S, Ueno M, Miki T, Koyano K, Nakamura M, Okada H, Isobe K, Itoh S. Cerebral blood volume combined with amplitude-integrated EEG can be a suitable guide to control hypoxic / ischemic insult in a piglet model. *Brain Dev*. 査読有 35:614-625. 2013. doi: 10.1016/j.braindev.2012.10.007
- 7) Koyano K, Kusaka T, Nakamura S, Nakamura M, Konishi Y, Miki T, Ueno M, Yasuda S, Okada H, Nishida T, Isobe K, Itoh S. The effect of blood transfusion on cerebral hemodynamics in preterm infants. *Transfusion*. 査読有 53:1459-1467. 2013. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03953.x
- 8) 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. Extrauterine environment influences spontaneous low-frequency oscillations in the preterm brain. *Brain Dev*. 査読有 35:17-25. 2013. doi: 10.1016/j.braindev.2012.03.007

[学会発表](計 17 件)

- 1) Nakamura S. Development of neurovascular coupling in the fetal sheep and newborn lamb. Perinatal Society of Australian and New Zealand (PSANZ). 2016.05. Enter tainmot and Convention Centre (Australia・Townsville)
- 2) Nakamura S. Impact of hypercapnia on neurovascular coupling in the fetal sheep and newborn lamb. Perinatal Society of Australian and New Zealand (PSANZ). 2016.05. Enter tainmot and Convention Centre (Australia・Townsville)
- 3) Yasuda S, Hamano S, Jinnai W, Nakamura M, Nakamura S, Koyano K, Kusaka T. Relationship between cerebral hemodynamics after hypoxic_ischemic insult and cerebral metabolism in newborn piglets. The 11th Congress of Asian Society for Pediatric Research. 2015.04. Osaka International Convention Center (Japan・Osaka City)
- 4) 安田真之, 神内済, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 中村信, 日下隆. 新生仔豚仮死モデルを用いた脳循環、脳代謝の基礎的検討(第5報). 第118回日本小児科学会学術集会. 2015.04. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 5) Yasuda S, Hamano S, Jinnai W, Nakamura M, Nakamura S, Koyano K, Kusaka T, Itoh S. Relationship between Changes in Cerebral Hemodynamics during Hypoxic-ischemic Insult and Cerebral Metabolism in Newborn Piglets. *Pediatric Academic Societies and Asian Society For Pediatric Research (PAS/ASPR)*. 2014.05. (Canada・Vancouver)

- 6) 小谷野耕佑, 有岡誠, 喜多條真穂, 新居広一郎, 若林誉幸, 近藤健夫, 神内濟, 中村信嗣, 安田真之, 日下隆. 脳循環指標を用いた早産児貧血における輸血療法基準作成の検討. 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会. 2014.11. ひめぎんホール(愛媛県・松山市)
- 7) Nakamura S, Kusaka T, Koyano K, Miki T, Uno M, Jinnai W, Yasuda S, Nakamura M, Okada H, Isobe K, Itoh S. Relationship between early changes in cerebral blood volume and electrocortical activity after hypoxic-ischemic insult in newborn piglets. ASPR-PSM 2013 Joint scientific Meeting 9th ASPR Congress & 20th PSM Annual Congress. 2013.05. Borneo Convention Center Kuching (Malaysia・Sarawak)
- 8) Jinnai W, Kusaka T, Wakabayashi T, Sugino M, Kunikata J, Nakamura S, Koyano K, Ueno M, Miki T, Nakamura M, Yasuda S, Isobe K, Itoh S. Relationship between cerebral blood volume and cortical electrical activity during hypothermia in piglet asphyxia model. ASPR-PSM 2013 Joint scientific Meeting 9th ASPR Congress & 20th PSM Annual Congress. 2013.05. Borneo Convention Center Kuching (Malaysia・Sarawak)
- 9) Kusaka T, Nakamura S, Koyano K, Jinnai W, Nakamura M, Yasuda S, Ueno M, Miki T, Itoh S. Influence of a free radical scavenger on neuronal damage in a newborn piglet hypoxic-ischemic model. ASPR-PSM 2013 Joint scientific Meeting 9th ASPR Congress & 20th PSM Annual Congress. 2013.05. Borneo Convention Center Kuching (Malaysia・Sarawak)
- 10) Nakamura M, Nakamura S, Koyano K, Jinnai W, Kunikata J, Yasuda S, Miki T, Ueno M, Kusaka T, Isobe K, Itoh S. Evaluation between pathological and aEEG scoring after hypoxic-ischemic insult in newborn piglet model. ASPR-PSM 2013 Joint scientific Meeting 9th ASPR Congress & 20th PSM Annual Congress. 2013.05. (Malaysia・Sarawak)
- 11) Kusaka T, Nakamura S, Koyano K, Yasuda S, Okawa S, Tanikawa Y, Feng G, Sato C, Hoshi Y, Yamada Y, Itoh S. Relationship between interoptode distance and optical pathlength factor in infants assessed by near-infrared diffuse optical tomography. ASPR-PSM 2013 Joint scientific Meeting 9th ASPR Congress & 20th PSM Annual Congress. 2013.05. (Malaysia・Sarawak)
- 12) 安田真之, 神内濟, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 中村信, 日下隆, 伊藤進. 新生仔豚を用いた低酸素虚血負荷後超早期における脳循環変化と病理学的脳障害の関係. 第50日本周産期・新生児医学学会学術集会. 新生仔豚仮死モデルを用いた遅発性脳エネルギー代謝障害時の脳循環と脳代謝の基礎的検討(第4報). 第58回日本未熟児新生児学会. 2013.11. 石川県立音楽室(石川県・金沢市)
- 13) 神内濟, 中村信嗣, 浜野聡史, 若林誉幸, 國方淳, 小谷野耕佑, 安田真之, 中村信, 日下隆, 伊藤進. 新生仔豚低酸素性虚血性脳症モデルにおける低酸素虚血負荷中の脳血液量の変化パターンと病理組織との関係. 第58回日本未熟児新生児学会. 2013.11. 石川県立音楽室(石川県・金沢市)
- 14) 中村信嗣, 神内濟, 國方淳, 小谷野耕佑, 安田真之, 岩瀬孝志, 日下隆, 伊藤進. 左中大脳動脈領域の脳梗塞症例における脳循環代謝変化の経時的変化について. 第58回日本未熟児新生児学会. 2013.11. 石川県立音楽室(石川県・金沢市)
- 15) 小谷野耕佑, 新居広一郎, 富田理絵, 神内濟, 中村信嗣, 安田真之, 日下隆, 伊藤進. 新生仔豚を用いた低酸素性虚血性脳症モデルにおけるエダラボンの効果: 病理組織学的検討. 第40回日本小児臨床薬理学会学術集会. 2013.11. 慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県・横浜市)
- 16) 日下隆, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 神内濟, 中村信, 安田真之, 伊藤進. 新生仔豚低酸素性虚血モデルでの蘇生後早期の脳循環変化と予後との関係. 第116回日本小児科学会. 2013.04. 広島国際会議場(広島県・広島市)
- 17) 安田真之, 鈴木裕美, 濱野聡史, 若林誉幸, 神内濟, 小谷野耕佑, 中村信嗣, 中村信, 日下隆, 伊藤進. 新生仔豚仮死モデルを用いた低酸素性虚血性脳症における脳循環と脳代謝の検討. 第116回日本小児科学会. 2013.04. 広島国際会議場(広島県・広島市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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