

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号： 11401  
 研究種目： 基盤研究 (C)  
 研究期間： 2009 ~ 2011  
 課題番号： 21591788  
 研究課題名（和文） 自家蛍光観察システムを用いた新しい術中心筋モニターの開発  
 研究課題名（英文） Development of monitoring system in heart injury by the ratio of FAD/NADH fluorescence intensity  
 研究代表者  
 山本 文雄 (YAMAMOTO FUMIO)  
 秋田大学・大学院医学系研究科・教授  
 研究者番号：00127474

## 研究成果の概要（和文）：

FDA蛍光とNADH蛍光の強度は血液などによる蛍光吸収の不均一性の影響を受けるが、同じ蛍光波長の強度比（FAD/NADH）は不均一性の影響を受けにくい事を新たに確認することに成功した。さらに本研究では、自家蛍光強度比（FAD/NADH）を求め、血液などによる蛍光吸収の不均一性が補正し、リアルタイム画像処理の撮影に成功した。また、二波長励起光源の照明のムラや撮像フレーム条件などの開発システムの基本性能について評価を行い、これまでの実験で、UVライトと発光ダイオードの50/秒の切り替えで心筋障害部位の観察出来ることが明らかとなってきた。これまで数ミリであった可視範囲を、ラット心臓程度までは可能とした。

## 研究成果の概要（英文）：

The ratio of FAD to NADH was an effective index for quantitative analysis of index state in cardiac muscle. Also, we were available and evaluated the basic performance of the development systems such as an irregularity or the imaging frame condition of the illumination of two excitation light sources, and it became clear that we could observe the myocardial infarction by a change of 50 a second of a UV light and the light emitting diode in rat.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：循環器・高血圧、シグナル伝達

## 1. 研究開始当初の背景

開心術後の心機能の改善、治療成績向上のためには、手術手技だけではなく、心筋虚血、再灌流時障害の軽減、予防が肝要である。すなわち、開心術中に冠循環、心筋 redox、さらには心筋エネルギー代謝の状態が無侵襲でかつ visual にリアルタイムに評価できれば、より早く問題点を検出し、迅速な対応が可能となり、手術リスクの軽減と成績向上が見込まれる。これまでの研究で、還元型ニコチンアミドジヌクレオチド (NADH: reduced nicotinamide adenine dinucleotide) 蛍光観測システムを開発し、従来困難とされていた In vivo の計測にも成功してきた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでのシステムを発展させ、より鋭敏で鮮明なイメージが得られるように NADH・FAD (フラビンアデニンジヌクレオチド、flavin adenine dinucleotide) 蛍光観測システムを作成し、開心術、非開心術を問わず、心臓手術中の心臓評価法としての可能性を模擬実験ならびに動物実験で評価することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) リアルタイム自家蛍光強度比 (FAD/NADH) 演算部の試作

紫外線 LED と青色 LED を使用し、FAD 用励起光 (460nm) と NADH 励起光 (360nm) が発行できる様にライトの個数、電源を調節した。(Figure 1)



二種類の励起によって得られる蛍光波長は緑色帯域であるために血中へモグロビンによる吸収を受けやすい。そのため、観測できる蛍光強度は血管の分布の状況、血管内血液量の変化の影響を受けることが想定できる。本研究では、FAD 蛍光と NADH 蛍光の強度は血液などによる蛍光吸収の不均一性の影響を受けるが、同じ蛍光波長の強度比 (FAD/NADH) は不均一性の影響を受けにくい。すなわち、自家蛍光強度比 (FAD/NADH) を求めることにより、血液などによる蛍光吸収の不均一性が補正できることになる。

麻酔下のラット心臓に二種類の励起光を交互に当て、得られる二つの蛍光画像を CCD カメラで撮影し、その比 (FAD/NADH) をリアルタイムにコンピューターにて演算を行い、ディスプレイに映し出し、心筋代謝機能のイメージングを行った。

(2) 自家蛍光強度比 (FAD/NADH) イメージングの基礎実験

模擬実験として、ラットを用いて、種々のアングルにより模擬実験を行い、二波長励起光源の照明のムラや撮像フレーム条件などの開発システムの基本性能について評価実験を行った。その後、ラットの冠状動脈の一部を

結紮し、小さな心筋梗塞モデルを作成し、FAD/NADHのイメージ画像を作成し、評価検討を行った。

#### 4. 研究成果

生体組織組織の酸素濃度が低くなると、NADHが多く生成される。これまでの研究で、励起光として紫外線を照射し、NADHの蛍光強度を測定することで梗塞部位の確認がされていた。しかし、NADHのみでは、画像に撮影状況によるアーチファクトが多く認められた。そこで、本研究では組織中に酸素が十分な時に存在するFADの蛍光画像を撮影し、NADHとの蛍光強度との比を求めて画像とした。

(1) FAD用励起光(460nm)とNADH励起光(360nm)となるように、紫外線LED 800個と青色LED 200個で、それぞれ72W、18Wが最適な励起光を出すことが判明した。

(Figure. 2)

また、1/50秒ごとのFADとNADH励起光を切り替えるのが最適であることが判明した。

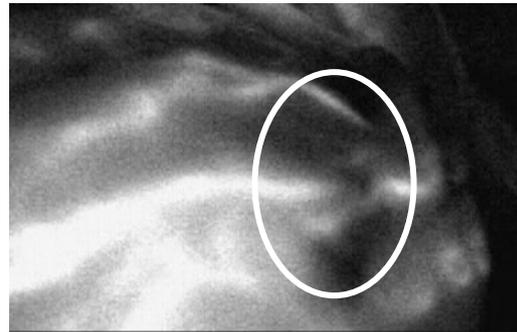


(Figure 2)

解析アルゴリズム：画像は視差を発生させないため1台のカメラにより撮影し、FADとNADHの画像を交互に撮影する。撮影した画像をコンピューター内で1フレーム毎にピク

セルを数値に変化し、FAD画像とNADH画像に分け、FAD/NADHの蛍光強度比を計算し、イメージデータとしてディスプレイ上に表すことに成功した。

(2) Figure 3に酸化還元状態を示すFAD/NADHの比の画像の一例を示す。これは、FADとNADHの画像の演算より得られた画像である。暗く映る部分が酸素濃度の低い部位である。(心筋梗塞部位)



(Figure 3)

これまで、数ミリであった可視範囲を、ラット心臓程度までは可能とした意義は大きい。しかし、遠近による違い、傾斜による色調の補正が完全ではなく、拍動する心筋組織の動的評価には、更なる演算システムの改良が必要であると考えられた。

#### 5. 研究組織

##### (1) 研究代表者

山本 文雄 (YAMAMAOTO FUMIO)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00127474

##### (2) 研究分担者

田中 郁信 (TANAKA FUMINOBU)

秋田大学・医学部・医員

研究者番号：10152365

(3) 連携研究者

小笠原 康夫 (OGASAWARA YASUO)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60444022