

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

胎児聴覚検査法の確立と母子検診への活用

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高 橋 正 紘

平成 16 (2004) 年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告	
胎児聴覚検査法の確立と母子検診への活用……………	1
高橋 正紘	
II. 分担研究報告	
1. 音響ストレスによる胎児発育障害について：マウス実験系の確立と 麻酔によるストレス緩和効果について……………	5
牧野 恒久	
2. 光トポグラフ法による各種脳梗塞患者における脳循環動態に関する研究……………	12
灰田 宗孝	
3. 近赤外線分光法による胎児聴覚評価……………	17
原田 竜彦	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表……………	20
IV. 論文別刷	

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

総括研究報告書

胎児聴覚検査法の確立と母子検診への活用

主任研究者 高橋 正紘 東海大学教授

**研究要旨** 昨年度の研究成果において、近赤外線分光法を用いて胎児脳血流変化が胎児聴覚評価法として有用であることが確認できた。本年度は測定を継続するとともに、昨年度の被験者に対する追跡調査を行い、出生児の障害ならびに検査の母子双方への有害性の有無の確認を行った。これに加えて、近赤外線分光法による酸素ならびに脱酸素ヘモグロビンの変動の意義を確認すべく一般被験者と脳梗塞を有する被験者にて手指運動児時のヘモグロビン変動の特徴について確認した。また、胎児に対する音響負荷の危険性について検証するために、マウスを用いて妊娠初期に強大音刺激を行い胎児の発育に対する影響を観察した。

近赤外線分光法による胎児聴覚評価では、協力した9名の被験者のうち、7名で複数の刺激周波数で脳活動を示唆する酸化ヘモグロビンが還元ヘモグロビンと乖離して増大する変化が確認できた。測定中ならびに測定後ともに、被験者の体調ならびに妊娠経過に異常は認めなかった。また、出生児はいずれも健康にて、聴覚障害を含む先天性障害を認めず、3児については自動式 ABR により聴覚が正常であることを確認した。手指運動時の正常者と脳梗塞者におけるヘモグロビン変動では、運動に伴い正常者では酸素化ヘモグロビンは増大し、脱酸素ヘモグロビンが減少するパターンを示すのに対し、脳梗塞群の多くは脱酸素ヘモグロビンが増大し、酸素化ヘモグロビンが減少する結果であった。マウスにおける実験では、妊娠3日目・5日目・7日目に騒音負荷を行ったところ、胎児体重は対象群に比べ有意に減少し、妊娠7日目に音響暴露した群が最も減少が大きかった。仙座骨数も7日目に音響暴露した群で対象群より有意に減少していた。音響暴露する際に麻酔をかけた群では、音響暴露の影響が軽減された。

結論として、近赤外線分光法を用いた胎児聴覚評価法は検査結果の信頼性はいまだ不十分であるが、安全な方法として今後さらに検討する価値があると考えられた。音響刺激時のヘモグロビン変動のパターンは様々であったが、脳梗塞者の検討から基礎となる脳血流量によってパターンが変化するものと考えられた。したがって、どのパターンをもって有意な反応とするかをさらに検討する必要があると考えられた。胎児への音響暴露は、妊娠初期において胎児発達への悪影響が懸念されるが、マウスでは麻酔にて影響が軽減されたことから母体への音響ストレスが主たる要因と考えられ、母体への音響刺激を避け胎児のみの音を聞かせる形で検査を行うことで、より安全に検査ができると考えられた。

**分担研究者**

牧野恒久 東海大学医学部教授

灰田宗孝 東海大学医学部教授

原田竜彦 東海大学医学部講師

して有用であることが確認できた。本年度は測定を継続するとともに、昨年度の被験者に対する追跡調査を行い、測定方法である近赤外線分光法についての一般的な検討を行うとともに、動物実験において胎児に継続的な音響刺激がいかに関与するかについて検討した。

**A. 研究目的**

昨年度の研究成果において、近赤外線分光法を用いて胎児脳血流変化が胎児聴覚評価法と

**B. 研究方法**

### ① 近赤外線分光法による胎児聴覚評価

触診ならびに超音波にて胎児の頭部ならびに心臓の位置を確認し、頭部上の腹壁（多くの場合下腹部）に光トポグラフィー装置（日立メディコ）のプロープ群を、心臓上に胎児聴覚評価装置の胎児心拍・胎動測定用プロープを設置した。さらに、その上の腹壁全体を胎児聴覚評価装置の音響刺激用透明半球で覆う形とした。また、実際の音響刺激時には母体側で直接音響が聴取されないようイヤーマフで遮音した。胎児聴覚の測定には、250Hz-4000Hz、90-100dB SPL の純音刺激を1分間連続にて行った。この際の光トポグラフィー装置における、照射光が脳表において反射するレベルを測定することにより脳表における酸素化および脱酸素ヘモグロビン量の変動を測定し胎児聴覚の有無を評価した。

### ② これまでの被験者に対する追跡調査

これまで測定に参加した被験者について、測定実施後の母体および胎児の健康上の問題の有無ならびに出生した児の先天性障害の有無を確認した。

### ③ 脳梗塞者と正常者における近赤外線分光法における測定結果の比較

正常対象 13名・脳梗塞軽症 17名・脳梗塞中等症 6名・脳梗塞重症 2名・多発性脳梗塞軽症 19名・多発性脳梗塞高度 13名・脳幹部梗塞 2名のそれぞれの被験者ならびに患者について光トポグラフィー装置を用いて、手の把握運動時の全ヘモグロビン量・酸素化ヘモグロビン量・脱酸素ヘモグロビン量の変化を測定した。

### ④ マウスにおける音響ストレスによる胎児発育障害

妊娠マウスに9-34kHz・100dBのランダム周波数の超音波を音響ストレスとして妊娠3・5・7日目に8時間ずつ暴露し、妊娠18日目に、胎盤と胎児体重・仙椎尾骨部の骨化数を指標にして胎児発育への影響を観察した。

### (倫理面への配慮)

事前に各被験者に対して具体的に検査方法

について説明を行い、了解を得てから実施した。本研究課題実施にあたり、初年度（13年度）に本学医学部倫理委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

### ① 妊娠被験者における測定結果

音響刺激による心拍変動ならびに胎動の惹起はいずれの被験者においても見られなかった。

光トポグラフィーによる胎児脳血流測定においては9名の被験者のうち、7名で複数の刺激周波数で脳活動を示唆する酸化ヘモグロビンが還元ヘモグロビンと乖離して増大する変化が確認できた。このうち1被験者ではすべての刺激周波数で反応であった。2000Hz刺激では反応のあった7被験者すべてで、1000Hzの刺激では4被験者で、500Hzでは3被験者で、250Hzでは2被験者で、4000Hzでは1被験者のみでそれぞれ脳活動を示唆する測定結果が得られた。

### ② 被験者に対する追跡調査

測定中ならびに測定後ともに、被験者の体調ならびに妊娠経過に異常は認めなかった。

出生児はいずれも健康にて、先天性障害を認めなかった。3児については、自動式ABRにより聴覚評価を行い、両耳とも正常所見であった。以後、現在までの追跡調査において、新たな身体的な問題を生じていない。

### ③ 脳梗塞者と正常者における近赤外線分光法における測定結果の比較

正常対象では、手指運動に伴い全ヘモグロビンと酸素化ヘモグロビンは増大し、脱酸素ヘモグロビンが減少するパターンを示すのに対し、脳梗塞群の多くは全ヘモグロビンと脱酸素ヘモグロビンが増大し、酸素化ヘモグロビンが減少する結果であった。

### ④ マウスにおける音響ストレスによる胎児発育障害

胎児体重は、いずれの時期に音響ストレスを与えた群とも対象群に比べ有意に減少し、妊娠

7日目に音響暴露した群が最も減少が大きかった。仙座骨数も7日目に音響暴露した群で対象群より有意に減少していたが、3日目と5日目の暴露群では対象群と有意差を認めなかった。

妊娠7日目で音響暴露する際に麻酔をかけた群では、胎児体重・仙座骨数ともに麻酔をかけなかった群よりも有意差をもって大きい結果であった。

#### D. 考察

近赤外線分光法を用いた胎児聴覚評価において、9被験者のうち7被験者において少なくともひとつの刺激周波数にて確実な脳活動を示唆する反応が得られた。刺激周波数ごとの反応を見ると、3000Hz以上の高周波音では反応が検出しにくいと考えられる結果で、高周波音は腹壁で反射し子宮内には到達しにくいという胎児聴覚について知見を裏付ける結果であった。一方、2000Hz以下の刺激では2000Hzが最も良好な反応が得られ、これより周波数が低くなるほど明瞭な反応が少なくなる傾向であった。このことは本実験における音響刺激レベルはSPL(sound pressure level)で統一されていたため、音響心理学的知見にて同一のSPLの刺激では2000Hzでラウドネスが大きかったためと考えられた。

上記の結果は近赤外線分光法が胎児の脳活動を反映していることを示唆する結果といえるが、反応の得られなかった2被験者においても、出生後の聴覚ならびに神経活動に問題はなかったことから、結果の信頼性は高くないと考えられた。一方、近赤外線分光法はすでに無侵襲な脳機能検査として使用されているが、胎児検査として使用した場合においても、母体・胎児双方に対する安全性は高いと考えられた。

近赤外線分光法における酸素化ならびに脱酸素ヘモグロビン変動の意味について、脳梗塞患者を対象に検討したが、基礎となる脳血流の状態により脳活動時の変化のパターンが異な

ることが確認できた。胎児聴覚評価においても、酸素化ならびに脱酸素ヘモグロビン変動のパターンが様々であったが、このような胎児脳血流の違いが影響したものと考えられた。

マウスにおける実験においては、音響ストレスによる胎児発育障害に影響することが確認できた。このような影響は妊娠初期に起こりうるものと考えられるが、いずれの時期においても検査目的で胎児へ音響負荷を行う場合には留意すべき点である。麻酔の併用により影響が軽減できたことから、胎児発育への影響は母体のストレスを介したものと考えられる。本研究における音響負荷は、胎児に対して腹壁上から直接行い母体にはほとんど聞こえない形とした。この方法は、母体の音響によるストレスの発生を軽減でき、胎児への悪影響を少なくできると考えられることから、胎児聴覚評価に置く方法として推奨できる。

#### E. 結論

近赤外線分光法により胎児脳表の血流変化の観測が有用な方法となりうる可能性が示唆された。酸素化および脱酸素ヘモグロビンの変動パターンは胎児脳血流の状態により様々であると考えられ、どのような変化を有意とすべきかという判定基準の作成が課題となると考えられた。

一方、胎児に対する音響負荷は胎児発育へ悪影響を及ぼす可能性が潜在的にあり検査に際してはこの点に常に留意すべきである。実際には本検査を受けた被験者には母子ともに悪影響はなかった。音響刺激方法では、胎児のみに音響を負荷し、母体に音響によるストレスが生じないように配慮すべきと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Shanta Fahmida Haque, Shun-Ichiro Izum, Hiroyuki Aikawa, Takahiro Suzuki, Hidehiko Matsubayashi, Takayo Murano, Goh Kika, Masae Ikeda, Kenichi Goya, Tsunehisa Makino. Anesthesia and acoustic stress-induced intra-uterine growth retardation in mice. *The Journal of Reproduction and Development* 2004, in press.
  - 2) 田中順子、中澤博江、灰田宗孝、長村義之。医学部における IT を用いた教育の現状—アンケート調査の結果報告— *医学教育* 34 (2) : 75-80, 2003
  - 3) 灰田宗孝. 特集：脳梗塞の分子生物学的病態とその治療：超急性期のフリーラジカスカベンジャーの療法を中心に. 実験的脳梗塞の治療：Nitric Oxide 合成阻害薬を中心に. *老年医学* 41(5):697-701, 2003
  - 4) 灰田宗孝. 情報手段としてのインターネット 1. 実地医科のためのコンピュータ入門 成人病と生活習慣病 33(5): 613-618, 2003
  - 5) 灰田宗孝、実地医科のためのコンピュータ講座. 医療現場におけるコンピュータ 成人病と生活習慣病 33(5): 751-755, 2003
  - 6) 灰田宗孝. 実地医科のためのコンピュータ講座. プレゼンテーションとコンピュータ 成人病と生活習慣病 33(7): 867-871, 2003
  - 7) Atsuhiko Iijima, Munetaka Haida, Norio Ishikawa, Akinnori Ueno, Haruyuki Minamidani, Yukito Shinohara. Re-evaluation of tropicamide in the papillary response test for Alzheimer's disease. *Neurology Of Aging* 24:789-796, 2003
  - 8) 灰田宗孝. 情報手段としてのインターネット情報手段としてのインターネット成人病と生活習慣病. 33(9):1139-1144, 2003
  - 9) 灰田宗孝. 実地医科のためのコンピュータ講座. 論文作成とコンピュータ. 33(11): 1405-1408
2. 学会発表
- 1) 原田 竜彦 高橋 正紘：胎児の聴覚評価—近赤外線分光法の活用—  
第 47 回日本聴覚医学会学術講演会にて口演  
(*Audiology Japan* 45(5): 537-538, 2002 に抄録掲載)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)  
特記すべき事項なし

## II. 分担研究報告



厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

音響ストレスによる胎児発育障害について：マウス実験系の確立と  
麻酔によるストレス緩和効果について

分担研究者 牧野 恒久 東海大学教授

研究協力者 和泉俊一郎 東海大学助教授

**研究要旨** ストレスは、生殖機能に重大な影響を及ぼし、着床阻害、胎児発育障害、さらには胎児死亡や流産をおこす。我々は、初期妊娠マウスに低周波帯域の超音波を音響ストレスとして暴露し、その影響を特に胎児について検討した。10週齢のJcl:ICRマウスに100 dbで9~34 KHzのランダム周波数の超音波を8時間、妊娠3、5、7日目に暴露した。妊娠18日目に胎児発育を、胎盤と胎児体重、仙椎尾骨部の骨化数（以下 仙尾骨数、number of ossified sacrococcygeal vertebrae）等で検討した。妊娠初期では、7日目の超音波暴露のみで有意（ $p<0.001$ ）に、胎児発育障害を認めた。さらに、全身麻酔下で7日目に超音波を暴露した場合、有意（ $p<0.001$ ）にこの胎児発育障害が解除された。このことから、超音波によるマウスの胎児発育障害は、母体の情動に対するストレスを介した間接的な超音波の作用であると考えられた。また、マウスの胎児発育障害のデータ解析に際しては、今回確立したマウスモデルが実験系として有用であることが示されるとともに、仙尾骨数がかつとも鋭敏な指標であることが示唆された。

#### A. 研究目的

生殖機能にストレスが影響するという報告は多々見られる。例としては、子宮内胎児死亡や、胎児の発育の阻害や行動変化などである。これらの問題の中で、胎児の発育遅延（IUGR）は頻繁に見られ、人の妊娠における重大な合併症である。このIUGRに関する危険因子としては喫煙、飲酒や低社会経済状態、重労働などが挙げられる。また、精神的な影響として、不安や恐怖や、情動的なストレスはIUGRを起こすと言われている。実験的な研究においては、精神的なストレスとしていろいろな種類のもので妊娠した齧歯類に付加されて、IUGRの研究がなされている。今回の研究で、我々は超音波ストレスを、精神的なストレスの一つの候補として取り上げ、初期の妊娠マウスに付加した。まず最初にストレスがIUGRや流産を起こすかという事を明らかにした上で、もし副作用が見られた場合はいつの時期が最も妊娠期間において感受性が高いのかということを検討した。これにより精神的ストレスによる胎児障害の実験モデル系の確立を目指した。我々

は子宮内と胎児の状態を、妊娠18日目において検討し、対照群と比較した。次にわれわれは全身麻酔の影響を、第一段階で検討した結果に対して検討した。今回の研究において我々は、超音波が妊娠においてストレスを付加するものとして機能するかどうかを明らかにするとともに、いつが最も感受性が高い時期であるのか、という事をその性格が精神的な経路を介するものであるのか、機械的な影響であるのかということも含めて検討した。

#### B. 研究方法

10週齢のJcl:ICRの妊娠マウス(クレア日本株式会社)が今回の研究で用いられた。実験動物は24℃の室温、12時間の明暗サイクルの状態です。実験動物は、自由に水と食事がとれる状態で、三周期の性周期が順調であることを観察した上でproestrusの日に交尾させた。次の日に膈栓を確認して妊娠第1日目と表記した。

実験1:

妊娠マウスは妊娠3日目(N=7)、5日目(N=8)、7日目(N=6)に超音波(100db、9-34Hzのランダム周波数)を9時から17時までの8時間暴露された。マウスは妊娠18日目に頸骨脱臼により処理し、胎児の発育および成熟度(生存胎児の体重、胎盤重量、仙椎尾骨部の骨化数(以下 仙尾骨数、number of ossified sacrococcygeal vertebrae)を調べた。胎児骨格の染色手技は後述する。9匹のJcl:ICRのマウスは対照群として超音波をかけずに、やはり18日目に分析した。

#### 実験2:

4匹のJcl:ICRのマウスを1群として、妊娠7日目(N=6)に超音波を9時から17時までの8時間負荷し、同時に笑気(60-70%)、酸素下においてイソフルレン(Rhodia organique fine limited、英国)で麻酔を行った(8時間)。イソフルレンの吸入は一匹ずつ別々のマスクで行った。体温は直腸計を用いてモニターし、 $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 前後をヒートランプを用いることにより維持した。他の5匹のマウスをやはり1群として、妊娠7日目に8時間イソフルレンで麻酔のみを行った。これらのグループのマウスは実験1と同様の方法で、胎児発育を分析した。

#### 胎児骨格の染色手技:

マウスの胎児を95%エタノールで四日以上固定した後、皮膚、内臓、脂肪組織を取り除き、アセトンに2日以上つけ込み、脂肪を除去した。さらに以下に示す染色液で2、3日染色した。染色液の組成は「70%エタノールに溶かした0.3%フィルター後のalcian blue 8GS(C.I 74240, Chroma) 1容量。95%エタノールに溶かした0.1%フィルター後のalizarin red S(C.I 58005, Chroma) 1容量。酢酸 1容量。70%エタノール 17容量。」である。標本はその後、水で洗い、1%のKOH水溶液に12-48時間入れ、骨格は周りの組織から見える状態となった(fig. 1)。標本は20%のグリセリンを含有する1%KOH水溶液に1-5日間保存された。染色された標本は50%、さらに80%のグリセリンを経て最終的に100%のグリセリンに永久保存された。

#### 統計処理:

一元分散分析により統計処理を行い、必要に応じてpost-hoc比較としてScheffe testを行った。対応のないt-test又はMann-Whitney U-testはグループ間の比較において必要な場合に応じて用いた。p値が0.05以下の場合を統計的有意とした。

### C. 研究結果

#### 実験1

各グループ間で比較した胎重は7日目にストレスをかけたグループにおいて、他のグループに比べもっとも減少していた( $p < 0.0001$ )。対照群と比較した場合、3日目、5日目のストレス群においても有意な結果が得られた( $p < 0.01$ )(fig.2)。一方3日目と5日目のストレス群の間には有意な差は見られなかった。対照群と比較した場合、胎盤重量に関しては、コントロール群と比較して、有意な減少が、5日目( $p < 0.001$ )と7日目( $p < 0.0001$ )のストレス群において、見られた(Table)。しかし、3日目のストレス群においてはコントロール群との差は見られなかった。仙座骨数は、7日目のストレス群において最も有意に減少していた( $p < 0.0001$ , vs 3rd, 5th, control group)(fig.3)。しかし、3日目と5日目のコントロール群との有意な差は見られなかった。

#### 実験2

妊娠7日目の、生存胎児の体重( $p < 0.001$ )、胎盤重量( $p < 0.001$ )と仙座骨数( $p < 0.001$ )においては超音波 ストレスをかけた場合、麻酔をかけたグループとかけなかったグループの間に有意差が認められた(fig.4, 5)。一方麻酔をかけた場合は、超音波ストレスをかけたか、かけなかったかにかかわらず胎児の成長に違いが認められなかった。しかし、対照群と比較した場合、胎児の体重( $p < 0.001$ )、胎盤重量( $p < 0.001$ )と仙座骨数( $p < 0.001$ )に有意差が認められた。ただし、流産率と胎児死亡率の差は認められなかった。対照群と比較した場合に、生存胎児の体重( $p < 0.01$ )、胎盤重量( $p < 0.05$ )と仙座骨数( $p < 0.001$ )に有意差が見られたことから、超音波ストレスとは別に、麻酔自体も胎児発育に影響

することが認められた。

#### D. 考察

IUGRの危険因子についてはいくつかの研究が見られる。ストレスの種類が違えば、妊娠に対する影響も違う。精神的なストレスは妊娠の結果を悪くする危険因子の一つである。超音波ストレスに対して最も感受性のある妊娠時期を解明するために、妊娠3、5、7日目に超音波を暴露した。マウスの胎児発達において、妊娠3日目は受精卵がプラストシスト期の直前である。この時期は子宮への着床準備期である。妊娠5日目は胎芽が子宮の中に着床する時期である。7日目は着床後であるが、胎盤が完成する前の時期である。これらの選択した時期は胎児に対するストレスとしての影響を解明するために妊娠初期の時期として選ばれたものである。その結果妊娠7日目に超音波ストレスをかけることによってIUGRがJcl:ICRのマウスに起こることが明らかになった。7日目の妊娠の時期は胎芽が急速にプラストシスト期で分化しつつあり、エクトプラセンタ・コーンが子宮上皮や血管に侵入する時期である。着床によって生じた子宮陥凹はこの時期胎盤が発育することにより消失し、胎盤周囲と胎盤は密な接着状況となる。このように7日目は胎芽と母親との間との密着を確立するために最も大事な時期となる。

子宮動脈抵抗の上昇と胎児発育の阻害との間には有意な関連があることを報告されており、この胎児血流の減少が胎芽の細胞分化を遅らせ、胎盤の発育を阻害し、その結果IUGRを起こしていると考察されている。我々の実験からは、この子宮動脈血流の減少を何が起こしているかという事を明確にすることはできないが、候補としてはノルアドレナリンが考えられる。ストレスや不安は血漿のノルアドレナリン値の上昇をとめない、ノルアドレナリンの投与は妊娠ヤギにおいて胎児血流を下げる事が証明されている。このように考察してみると、超音波によるストレスが栄養膜浸潤を阻害していることが考えられる。

二番目の実験において、我々は超音波ストレスの時期に麻酔を用いてみた。超音波ストレス

の副作用は麻酔によって回復されている(fig.5)。おそらく麻酔によって、母体の情動的ストレスが取り除かれたことが考えられる。麻酔をかけた場合には、超音波をかけるか、かけないかに関わらず、それらの間に差がなかったことから麻酔自体が超音波ストレスの悪影響を完全に取り除いたことが考えられる。この所見から、超音波ストレスは決して直接の機械的影響を胎児に及ぼしているのではなく、母体の、精神的、さらには内分泌を介した経路での間接的な影響を持っている事が考えられる。

追加所見としては、対照群と比較して麻酔自体もIUGRを引き起こすことが判明した。特に仙坐骨数に着目した場合には明確にそのことが示された。我々の研究によって、骨の発育、特に仙坐骨数に注目することにより、それが胎児発育を鋭敏に反応するパラメータとなることが示された。今後さらに超音波によって起こるIUGRのメカニズムや、母体を介する経路に関する研究が追加されなければならない。

#### E. 結論

妊娠初期では、7日目の超音波暴露のみで有意( $p<0.001$ )に、胎児発育障害を認めた。さらに、全身麻酔下で7日目に超音波を暴露した場合、有意( $p<0.001$ )にこの胎児発育障害が解除された。このことから、超音波によるマウスの胎児発育障害は、母体の情動に対するストレスを介した間接的な超音波の作用であると考えられた。また、マウスの胎児発育障害のデータ解析に際しては、今回確立したマウスモデルが実験系として有用であることが示されるとともに、仙尾骨数がもっとも鋭敏な指標であることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Shanta Fahmida Haque, Shun-Ichiro Izumi, Hiroyuki Aikawa, Takahiro Suzuki, Hidehiko Matsubayashi, Takayo Murano, Goh Kika, Masae Ikeda, Kenichi

Goya, Tsunehisa Makino. Anesthesia and acoustic stress- induced intra-uterine growth retardation in mice. The Journal of Reproduction and Development 2004, in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特記すべき事項なし

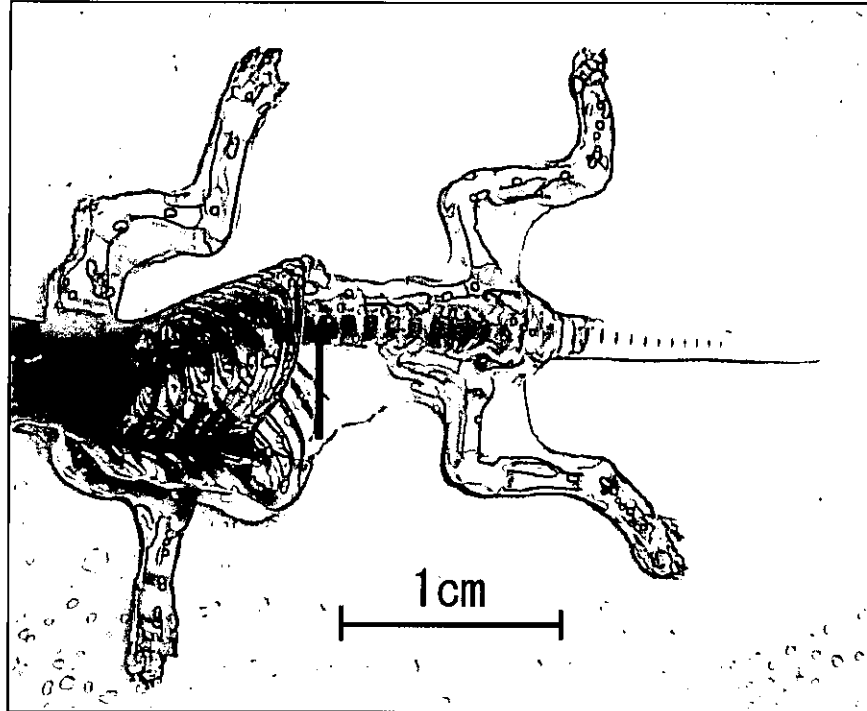


Fig.1 妊娠 18 日齢におけるマウス胎児の骨格系

標本は脂肪組織を取り除くため、アセトンにつけ、alcian blue、alizarin red、酢酸、エタノールの溶液で染色した。これらの標本は 1%の KOH 水溶液にいれられ、その後最終的にグリセリンの中に保存された。黒い部分が骨化した部分であり、灰色の部分が軟骨である。詳細な説明は本文中の方法を参照のこと。

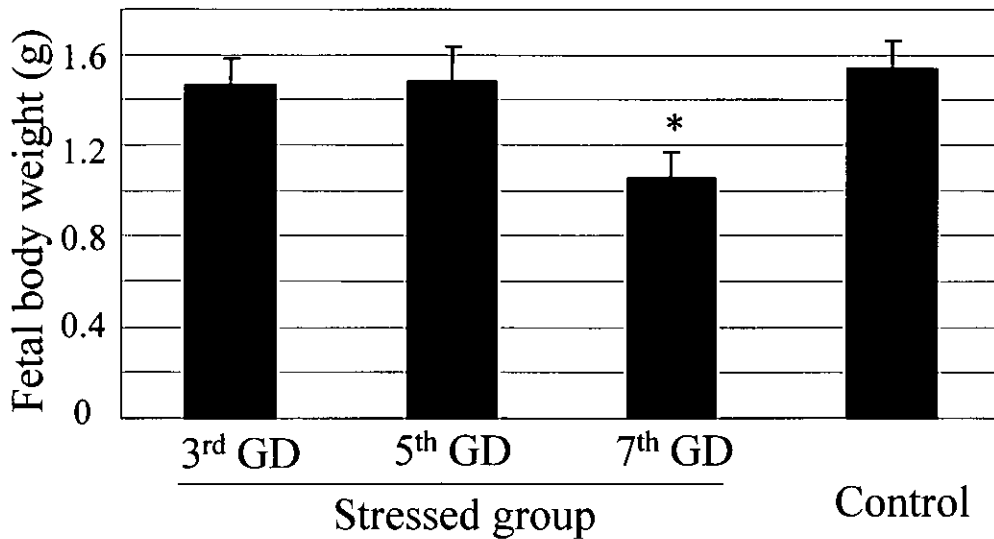


Fig.2 妊娠 18 日齢における胎児体重への音響ストレスの影響

胎児体重は 7 日目にストレスをかけた場合、3 日目、5 日目、コントロール群と比較して有意に減少した。\*は他群と比較して  $p$  が 0.0001 以下という事を示している。数値は全て平均±標準偏差で表現してある。

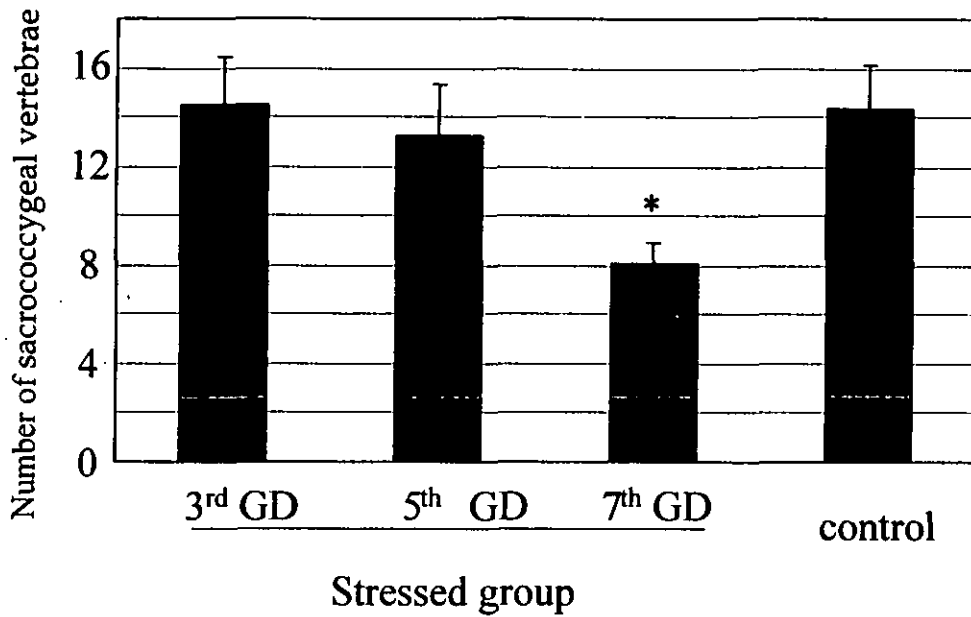


Fig.3 妊娠 18 日齢における仙坐椎骨数への音響ストレスの影響

仙坐骨数は 7 日目にストレスをかけた場合、3 日目、5 日目、コントロール群と比較して有意に減少した。\*は他群と比較して p が 0.0001 以下という事を示している。数値は全て平均±標準偏差で表現してある。

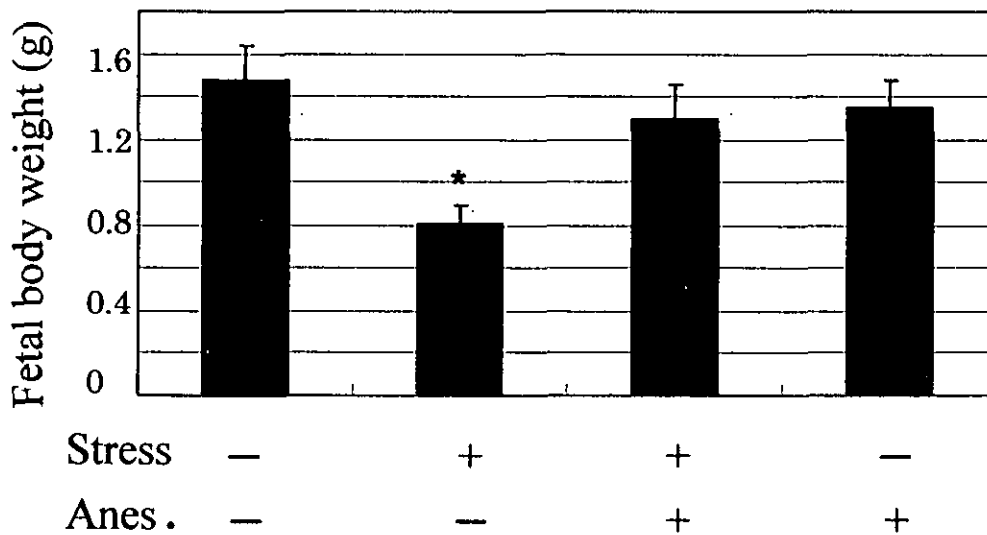


Fig.4 妊娠 18 日齢における胎児体重への麻酔又はストレスの影響

胎児体重は 7 日目にストレスをかけた場合、3 日目、5 日目、コントロール群と比較して有意に減少した。\*は他群と比較して p が 0.001 以下という事を示している。数値は全て平均±標準偏差で表現してある。"Anes"、"Stress"はそれぞれイソフルレンで麻酔した事と超音波ストレスを与えた事に対応している。

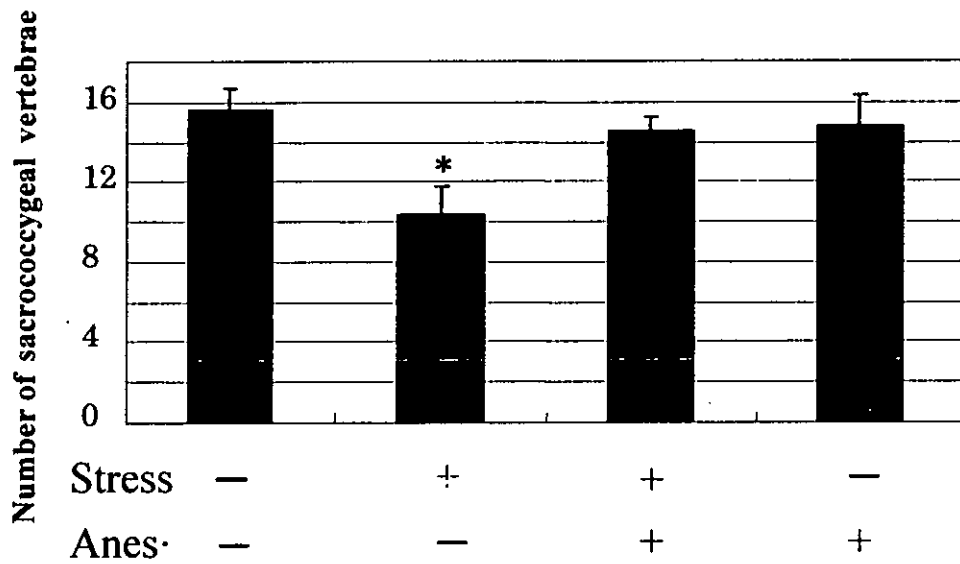


Fig. 5 妊娠 18 日齢における仙座坐数への麻酔又はストレスの影響  
 仙座椎骨数は 7 日目にストレスをかけた場合、3 日目、5 日目のグループ( $p < 0.001$ )と、コントロール群( $p < 0.0001$ )と比較して有意に減少した。\*は他群と比較して  $p$  が 0.001 以下という事を示している。\*\*他群と比較して  $p$  が 0.0001 以下という事を示している。は数値は全て平均±標準偏差で表現してある。"Anes"、"Stress"はそれぞれイソフルレンで麻酔した事と超音波ストレスを与えた事に対応している。

研究要旨 昨年度求められた光トポグラフ信号の正常パターンを基に、各種脳梗塞患者におけるヘモグロビンの変化を検討し、それぞれの疾患の脳循環動態についての知見を得ることを目的とする。

#### A. 研究目的

昨年度は光トポグラフで得られる信号について、正常人で得られるパターン（正常パターン）について検討した。本年度は、多発脳梗塞など基本的に脳動脈硬化が存在すると思われる患者について、光トポグラフを実施し、慢性的血流障害が存在するかを検討する。

#### B. 研究方法

##### 1) 対象

対象は 81 名である。その内訳は、

- ・正常対象：13 名（男性 13 名）、平均年齢 68.3 歳
- ・脳梗塞軽症：17 名（男性 16 名、女性 1 名）、平均年齢 66.2 歳（男性 66.1 歳、女性 60 歳）
- ・脳梗塞中等症：6 名（男性 6 名）、平均年齢 71.0 歳
- ・脳梗塞重症：2 名（男性 1 名、女性 1 名）、平均年齢 55 歳（男性 57 歳、女性 53 歳）
- ・多発脳梗塞軽症：19 名（男性 19 名）、平均年齢 66.2 歳
- ・多発脳梗塞高度：13 名（男性 12 名）、平均年齢 74 歳（男性 72.5 歳、女性 89 歳）
- ・脳幹部梗塞：2 名（男性 2 名）、平均年齢 71.5 歳

測定にあたって、光トポグラフの原理の説明、測定目的、予想される結果、安全性、予想される危険と健康被害について説明し、本人の測定に対する同意を文書でとり、実施した。

##### 2) 測定方法

測定は光トポグラフ測定装置（ETG-100、日立メディコ、日本）を用いた。図 1 に光トポ

グラフ装置を示す。本装置の詳細は昨年度の報告書に譲る。今回は、そのヘモグロビン変化を検討する。タスクは図に示す様に手の把握運動を 1 分毎に行い、間に 1 分間の休止期を設けている。信号は 2 回分を積算し、平均して提示することで、生理的変動の影響を軽減している。

#### C. 研究結果

図 3 に軽度多発脳梗塞と中等度多発脳梗塞の例を示す。軽度多発脳梗塞群は小梗塞の散在が認められる程度である。しかし、中等度多発脳梗塞群はそれら小梗塞の癒合が認められる。正常者はこれら梗塞像を認めない群とした。光トポグラフにおいては正常群 13 名全例に図 4 に示すパターン（正常パターン）を認めた。図の 2 本の縦線はこの間で手の把握運動を行ったことを示す。一番上の曲線は酸素化ヘモグロビン（oxy-Hb）の変化を示し、2 番目の曲線は全ヘモグロビン（total-Hb = oxy-Hb + deoxy-Hb）の変化を示している。また運動中に低下する曲線は脱酸素ヘモグロビン（deoxy-Hb）の変化を示している。つまり、正常人で認められる光トポグラフ信号のパターンは、課題の負荷の間では、total-Hb、oxy-Hb の増加が認められ、deoxy-Hb の低下が認められることとなる。信号は手の把握運動開始後 7 秒程度遅れて立ち上がっている。

昨年度はこの正常パターンがどれほどの頻度でみられるかを検討した。本年度は異常パターンとしてどのようなものがみられるかを、種々の脳梗塞患者を対象に調べた。その結果、多くの患者で図 5 に示すように、deoxy-Hb と total-Hb が上昇し、oxy-Hb のは上昇していな



いのが認められた。内頸動脈閉塞患者においては2例ではあるが、図6に示す様に deoxy-Hb と total-Hb の上昇がみられた。この場合、若干 oxy-Hb の上昇もみられているが、他の一例は、oxy-Hb は変化していない。

#### D. 考察

通常、脳の神経活動に伴う、脳代謝の増加に対し、そこへの血流供給は代謝増加分を遙かに上回るため、正常パターンにみられるように、oxy-Hb と total-Hb が上昇し、その分 deoxy-Hb が減少するパターンとなる。しかし、脳梗塞患者においては梗塞巣以外の部位においても、動脈硬化病変の存在から、代謝に伴う十分な脳血流増加が得られず、oxy-Hb のオーバーシュートがみられなかったものと考えられる。そのため、deoxy-Hb が増加し、total-Hb の増加分は deoxy-Hb の増加分で消費されているため、oxy-Hb が変化しないか、若干の増加、もしくは低下が認められたと考えられる。つまり、これらの変化は、代謝の増加量に見合った脳血流増加が得られているかの目安となる。脳が神経活動を行うに当たって、十分な脳血流の供給を受けうるかを示す指標と考え、脳血管障害患者の予後を推定するためには重要な所見であると推定される。これら、異常パターンの出現頻度は、脳血管障害の重症度に関連していると考えられる。

#### E. 結論

光トポグラフ法により、脳血管障害患者の脳血流予備能ともいえる、血流動態が求められることが明らかとなった。今後、この臨床的有用性の検討が求められる。

#### F. 健康危害情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ・田中順子、中澤博江、灰田宗孝、長村義之。  
医学部における IT を用いた教育の現状—アンケート調査の結果報告— 医学教育 34 (2) : 75-80, 2003

- ・灰田宗孝. 特集：脳梗塞の分子生物学的病態とその治療：超急性期のフリーラジカルスカベンジャーの療法を中心に. 実験的脳梗塞の治療：Nitric Oxide 合成阻害薬を中心に. 老年医学 41(5):697-701, 2003
- ・灰田宗孝. 情報手段としてのインターネット 1. 実地医科のためのコンピュータ入門 成人病と生活習慣病 33(5): 613-618, 2003
- ・灰田宗孝. 実地医科のためのコンピュータ講座. 医療現場におけるコンピュータ 成人病と生活習慣病 33(5): 751-755, 2003
- ・灰田宗孝. 実地医科のためのコンピュータ講座. プレゼンテーションとコンピュータ 成人病と生活習慣病 33(7): 867-871, 2003
- ・Atsuhiko Iijima, Munetaka Haida, Norio Ishikawa, Akinnori Ueno, Haruyuki Minamidani, Yukito Shinohara. Re-evaluation of tropicamide in the papillary response test for Alzheimer's disease. Neurology Of Aging 24:789-796, 2003
- ・灰田宗孝. 情報手段としてのインターネット 情報手段としてのインターネット 成人病と生活習慣病. 33(9):1139-1144, 2003
- ・灰田宗孝. 実地医科のためのコンピュータ講座. 論文作成とコンピュータ. 33(11): 1405-1408

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

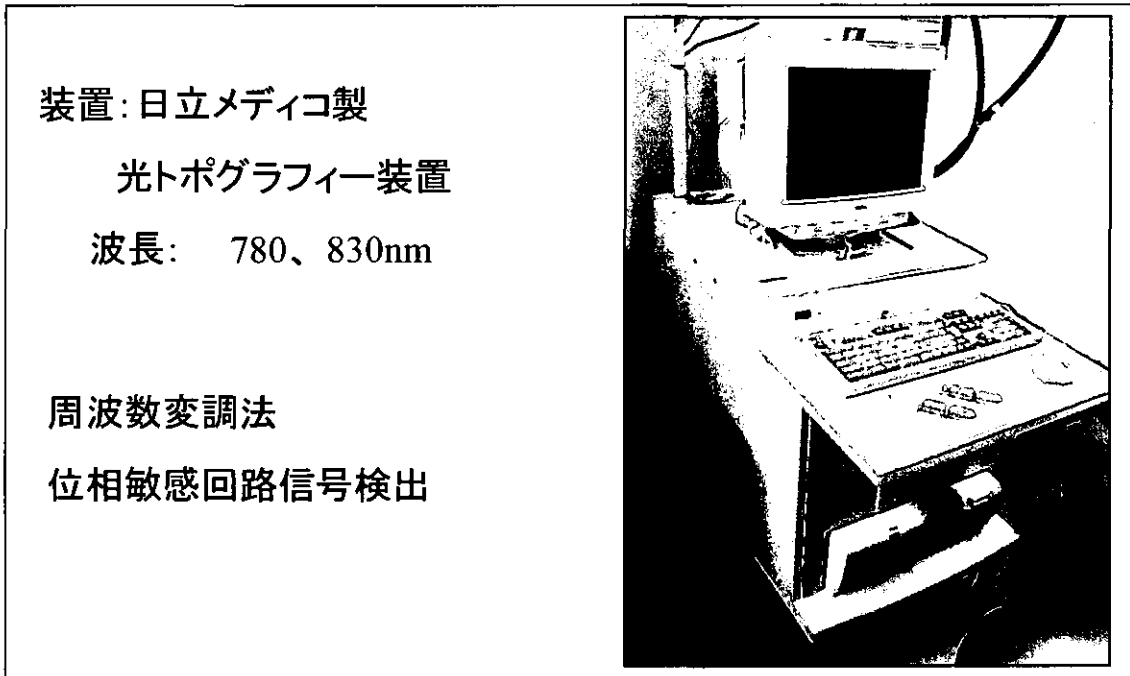


図1 日立メディコ製光トポグラフ装置 ETG-100

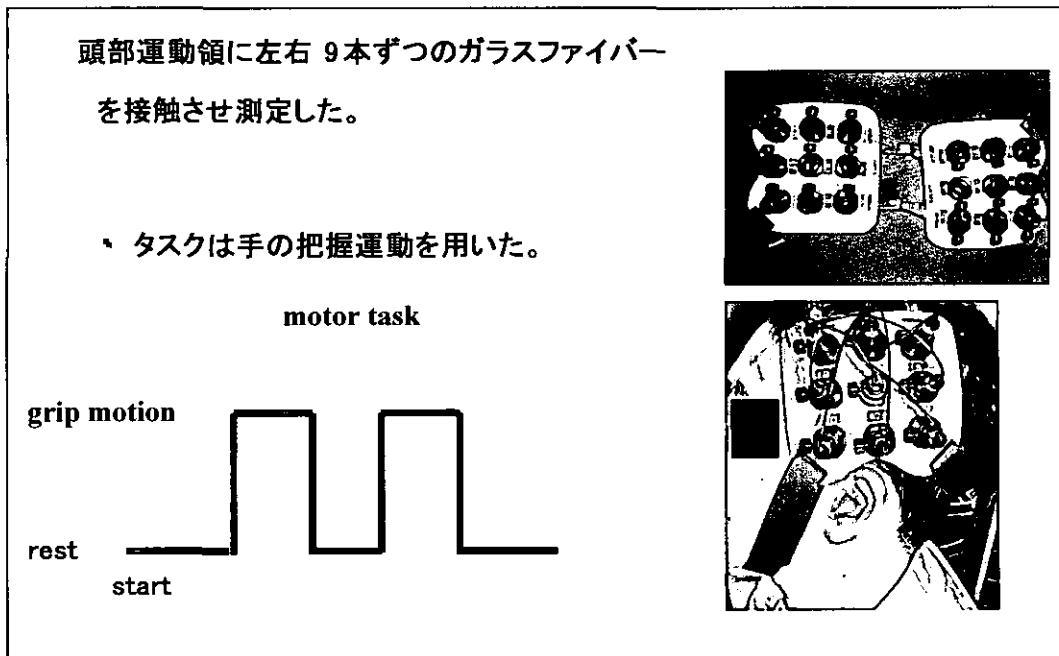


図2 プローブとその配置、頭部への装着状況、タスクの詳細。

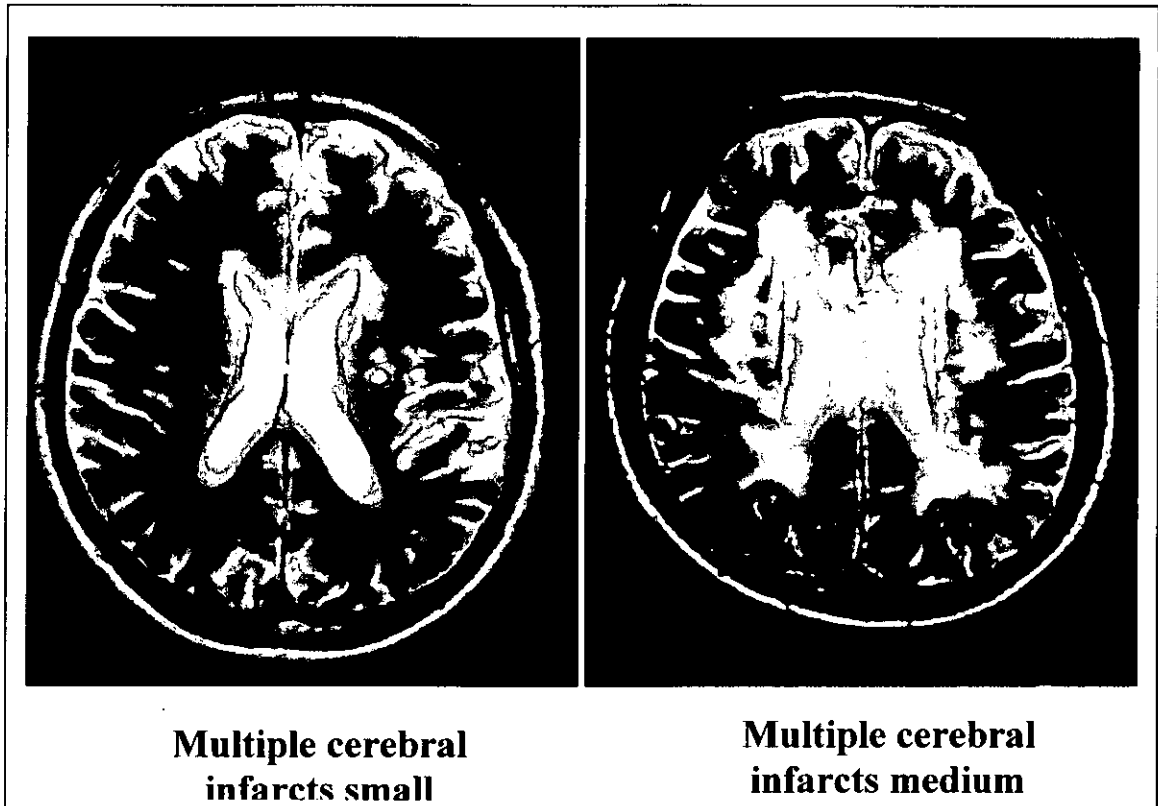


図3 左：軽度多発脳梗塞、右中等度多発脳梗塞（梗塞巣の癒合がみられる）

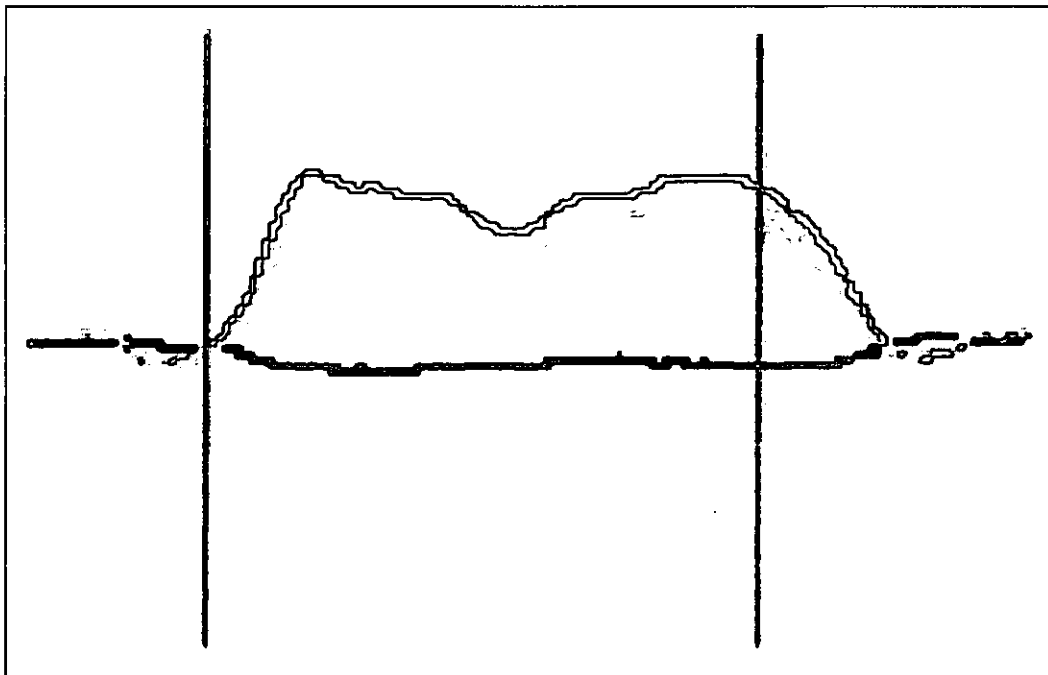


図4 正常者で認められた光トポグラフ信号。2本の縦線の間で手の把握運動が行われている。一番上の曲線が oxy-Hb の変化を、2番目の曲線が total-Hb の変化を、一番下で若干低下しているのが deoxy-Hb の変化である。信号は手の把握運動開始後7秒程度遅れて立ち上がっている。

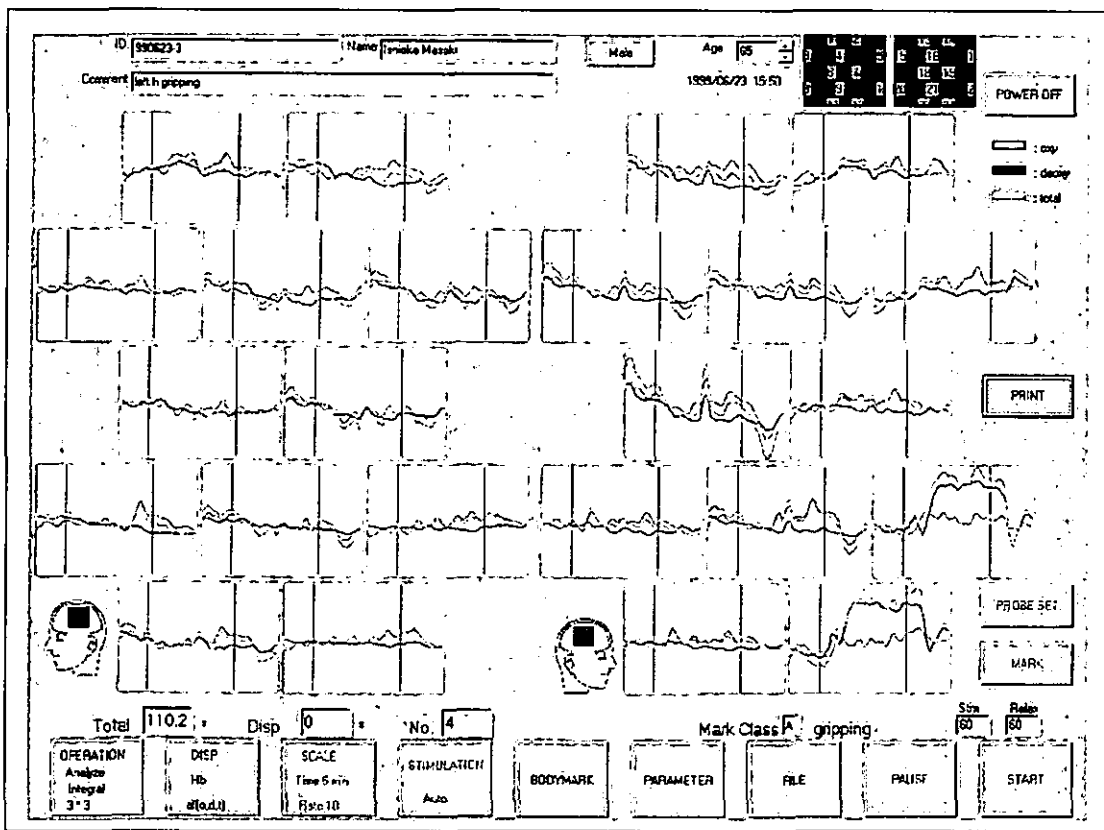


図5 右脳梗塞患者での右手運動負荷時のパターン

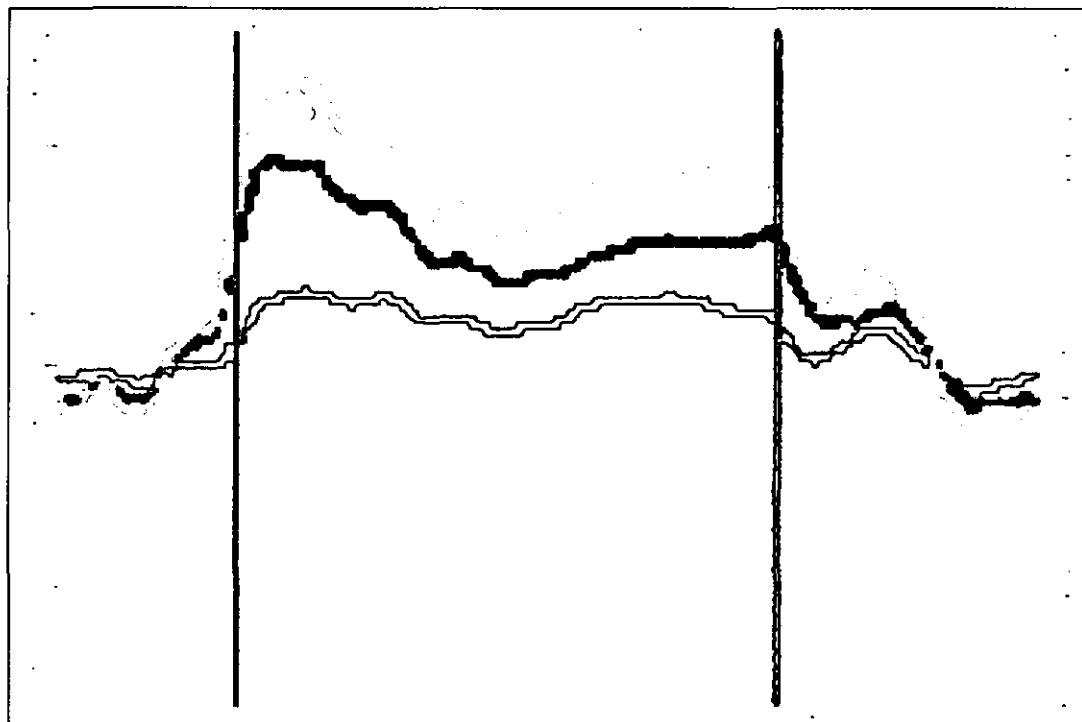


図6 右内頸動脈閉塞患者でのヘモロビン変化パターン