

光音響技術を用いたウサギ胎盤の  
組織内血液酸素飽和度計測に関する研究

せい きぐな  
精 きぐな

(産婦人科学専攻)

防衛医科大学校

平成 29 年度

## 目 次

	頁
<b>第 1 章 緒 言</b>	
1. 1 目 的	1
1. 2 胎児低酸素血症	1
1. 3 胎児心拍監数モニタリング	2
1. 4 光を用いた新しい胎児低酸素血症の指標	4
1. 5 光音響技術	5
1. 6 小 括	7
<b>第 2 章 ウサギ低酸素血症モデルの作成</b>	
2. 1 背景と目的	9
2. 2 方 法	9
2. 2. 1 実験動物と麻酔管理	10
2. 2. 2 動静脈採血ルート	11
2. 2. 3 採血プロトコル	12
2. 2. 4 実験 1 動脈血血液ガス分析値の検討	13
2. 2. 5 実験 2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値 の検討	14
2. 2. 6 統計学的分析方法	14
2. 3 結 果	15
2. 3. 1 実験 1 動脈血血液ガス分析値の検討結果	15
2. 3. 2 実験 2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値 の検討結果	16
2. 4 考 察	17
2. 4. 1 動脈血血液ガス分析値	17
2. 4. 2 静脈血と動脈血の血液ガス分析値	18
2. 4. 3 動脈と静脈：計測モデルとしての評価	20
2. 5 小 括	20
<b>第 3 章 光音響技術による<i>in vivo</i> 血液酸素飽和度計測</b>	
3. 1 背景と目的	22
3. 2 方 法	22
3. 2. 1 検量法 1	23
3. 2. 2 検量法 2	25
3. 2. 3 光音響信号計測系	26
3. 2. 4 <i>in vivo</i> 血液酸素飽和度計測	27

	頁
3. 2. 5 光音響技術による血液酸素飽和度計測の精度評価	28
3. 3 結 果	28
3. 4 考 察	29
3. 5 小 括	33
<b>第 4 章 光音響技術によるウサギ胎盤内血液酸素飽和度計測</b>	
4. 1 背景と目的	35
4. 2 方 法	35
4. 2. 1 実験動物と産科麻酔管理	35
4. 2. 2 計測プロトコル	37
4. 2. 3 胎仔心拍数波形診断	38
4. 2. 4 近赤外分光分析法(NIRS)	39
4. 2. 5 光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測	39
4. 2. 6 組織内血液酸素飽和度算出のための検量方法	40
4. 2. 7 血液酸素飽和度分析方法と胎仔低酸素血症評価	42
4. 3 結 果	43
4. 4 考 察	44
4. 5 小 括	49
<b>第 5 章 総括と今後の課題</b>	
5. 1 総 括	51
5. 2 本研究の限界	51
5. 3 今後の課題と展望	52
<b>第 6 章 結 論</b>	56
研究業績	57
謝 辞	59
引用文献	60
図 表	70
付記別表	97

## 第1章 緒言

### 1.1 目的

本研究の目的は、新しい胎児評価指標となりうる胎盤内血液酸素飽和度を、光音響技術により低侵襲に計測する基礎的技術を確立することである。

### 1.2 胎児低酸素血症

母体から胎児への酸素供給、つまり胎児の体の酸素化 (fetal oxygenation) は、児の成長発達にかかわる重要な子宮内環境因子である。Fetal oxygenation を主に担うのは胎盤であるが<sup>1)</sup>、胎盤を介して供給される酸素が減少することで起こる胎児の低酸素血症は、子宮内胎児死亡の原因となるだけでなく児の神経学的予後を増悪させる主な原因と考えられている<sup>2)</sup>。子宮内胎児死亡は妊娠 1000 件あたり 6.2 件の発生率で起こるとされているが<sup>3)</sup>、その 88% で胎盤に低酸素を示す病理学的所見が見られるとの報告もあり<sup>2)</sup>、この事実は低酸素血症が子宮内胎児死亡に大きく関わっていることを示唆している。また、妊娠期間中から出生後 4 週間以内に起こる運動機能障害、いわゆる脳性麻痺は児の神経学的予後にもっとも大きな影響を及ぼす脳障害であるが、その発生率は、満期の分娩で出生した児 1000 人あたり 1.5~2.5 人である<sup>4)</sup>。そのほとんどが子宮内における低酸素

血症および虚血により発生する脳症（hypoxic-ischemic encephalopathy : HIE）であり<sup>4)</sup>、分娩開始前の子宮内においてすでに完成しているものと考えられている<sup>3,4)</sup>。したがって、妊娠期間を通じての fetal oxygenation の評価は、子宮内胎児死亡や HIE を防ぐ臨床上の目的において極めて重要である。

### 1. 3 胎児心拍数モニタリング

Fetal oxygenation を類推する手段として現在最も広く用いられている手法は、胎児心拍数の監視である。1817年にフランス人医師 Laennec が聴診器を発明して以降、胎児心音の観察が始まった。1833年、Kennedy が世界で初めて、胎児心拍数が医学的意義を有する観察項目であることを発表し<sup>5)</sup>、胎児心拍数は重要な子宮内環境評価項目であるとの概念が徐々に浸透した。さらに1960年前後に開発された胎児心拍監視装置により<sup>6-8)</sup>、継続的に胎児心拍数を観察し胎児の状況を類推する診断材料として広く用いられ始めた。

現在用いられている胎児心拍監視装置は、超音波ドプラや心電図などの原理を利用した機器である。母体腹壁にセンサを装着し、20分間以上継続して取得した胎児心拍数波形と、同時に取得した子宮内圧波形の関連をパターン分類することにより、胎生32週以降の胎児の状況を類推する。このパターン分類は胎児心拍監視装置の開発者の一人である Hon らによるもの<sup>9)</sup>が世界各国の分類の

基本とされている。この診断方法は簡便であり、児が良好な状態にあることを保証する手段として極めて有効である。不良なパターンが皆無であった場合、fetal oxygenation が良好な率は 99.7 %と報告されている<sup>3)</sup>。逆に不良なパターンは胎児の低酸素血症を反映していると解釈され、何らかの医学的介入が要求される。本邦では日本産科婦人科学会により、詳細な胎児心拍数波形レベル分類が定められている。表 1 にそのレベル分類に応じて推奨される診療指針を示した<sup>10)</sup>。表中「レベル 3」以上の不良な胎児心拍数波形であった場合、胎児の低酸素血症が強く疑われ、急速遂娩の考慮が推奨されている。急速遂娩とは、帝王切開術や吸引分娩、鉗子分娩など、母体ないしは母児両者に比較的大きな身体的負担のかかる外科処置である。しかし、この診断方法には、不良な胎児心拍パターンが真に児の低酸素血症を反映しているものではないという大きな問題点が存在する。

全分娩のおよそ 15~19 %に不良な胎児心拍パターンが認められるが<sup>11)</sup>、そのうち実際に低酸素血症に陥っていたのは 10~45 %程度と報告されている<sup>3)</sup>。こうした胎児心拍数波形診断に従い医学的介入が行われることで、過剰な急速遂娩が行われている可能性は否めない。事実、胎児心拍モニタリングが広まり数十年が経過している今、帝王切開分娩率は上昇の一途をたどりながらも脳性麻痺の発生率は依然として横ばいである<sup>12)</sup>。これは、不良な胎児心拍パターンを根

抛に脳性麻痺を避けるべく帝王切開分娩が行われるものの、その胎児心拍パターンが胎児低酸素血症を正確に表していないために過剰な帝王切開が行われている結果とも考えられる。胎児心拍は自律神経系や心筋抑制などの様々な要因による複雑なアウトプットであるため<sup>13)</sup>、胎児の神経系が成熟する胎生 32 週以降のみが評価可能となる。こうした胎児心拍数波形のパターン分類では胎児の状況を解読しきれず<sup>12, 14, 15)</sup>、胎生 32 週以降であっても実際の低酸素状態を過大評価している可能性がある一方で、早産児における HIE を見逃している可能性が考えられる。また、胎児心拍数波形診断は比較的時間を要する方法であるため、通常の健診では省略され、妊婦の胎動自覚などの主観的な指標に依って胎児評価を行っていることも多い。こういった要因が分娩開始前にすでに完成している HIE を見逃す原因となりうることも考えられ<sup>3)</sup>、分娩時のみならず妊娠中の日常診療においても fetal oxygenation を効率よく評価できる簡便な手法が求められる。

#### 1. 4 光を用いた新しい胎児低酸素血症の指標

こうした胎児心拍数波形診断の問題点を克服、またはその機能を補完するため、胎児低酸素血症の診断のための客観的な評価手法が追究されてきた。表 2 にその代表例を示す。

胎外生活を行うヒトの酸素化を客観的に評価する指標の代表として、血液酸素飽和度が挙げられる。パルスオキシメトリの登場により<sup>16, 17)</sup>、動脈血酸素飽和度は低侵襲かつリアルタイムに計測できる指標となり、臨床現場において広く用いられている。胎生期においては胎盤内で母体血と胎児血が共存し、絨毛間腔や迷路部などの部位で母体血と胎児血の間のガス・物質交換が行われ、**fetal oxygenation** が保たれる。この胎盤内もしくは胎児の血液酸素飽和度を計測することで、**fetal oxygenation** の指標としようとする研究が近年始まっている(表2)<sup>18-20)</sup>。 その手法の中にはパルスオキシメトリと同様の、光を用いた血液酸素飽和度計測手法が含まれる。血液中の酸素担体であるヘモグロビンは、酸素化によりその色調を変化させる。酸素化ヘモグロビンは鮮やかな赤を、脱酸素化ヘモグロビンは暗赤色を呈するこの特徴は、それぞれのヘモグロビンが吸収しやすい光の波長が異なることを示している。このヘモグロビンの光に対する特性を利用し、酸素化ヘモグロビンが吸収しやすい波長の光と、脱酸素化ヘモグロビンが吸収しやすい波長の光を複数用いることで、血液酸素飽和度の計測が可能な技術が複数研究されている。本研究では、これら光学的手法のひとつである光音響技術を用い、胎盤内血液酸素飽和度の計測を試みた。

## 1. 5 光音響技術



本研究で計測手法として選択した光音響技術による血液酸素飽和度計測法は、1880年 Bell らが発表した光音響現象<sup>21)</sup>を利用した技術である。対象物質が光を吸収した際に生じる熱膨張から発生する超音波をとらえ、分析する<sup>22)</sup>。酸素化ヘモグロビンが吸収しやすい波長の光と脱酸素化ヘモグロビンが吸収しやすい波長の光を複数照射し、各種ヘモグロビンの光吸収により生じる熱膨張から発生する超音波信号（光音響信号）を観測する。得られた光音響信号を分析することで、総ヘモグロビン量や、総ヘモグロビン中の酸素化ヘモグロビン及び脱酸素化ヘモグロビンの含有率、すなわちヘモグロビン酸素飽和度（ここでは異常ヘモグロビンを考慮しない **functional oxygen saturation**<sup>23)</sup>）を算出することができる<sup>24, 25)</sup>。理論上、ヘモグロビンが分布する部位全てが計測対象となるため、動静脈のみならず組織内に分布する毛細血管内のヘモグロビンの酸素飽和度、いわゆる「組織酸素飽和度」を計測することも可能である。他の光学技術と同様低侵襲であり、リアルタイム性に優れるが、特に、超音波を検出する過程でその到達時間から光吸収が起きた場所を特定できるため、ほかの光学技術に比較して「空間分解能が高い」という大きな利点がある<sup>22)</sup>。また、受信対象が超音波であるため、臨床で広く用いられている超音波画像に得られたデータを組み込むことも可能な点は、超音波画像化装置を日常的に用いる胎児診断における極めて大きな利点と言え、この手法が日常診療における **fetal oxygenation** の評

価手法となりうる可能性を示している。

本研究では、防衛医科大学校医用工学講座が画像診断の研究のため開発してきた光音響信号計測装置を用い、胎盤内血液酸素飽和度を計測する基礎技術を確立するため、ウサギを用いた一連の実験を行った。生体において比較的広範囲での血液酸素飽和度の計測を行うため、計測対象となるウサギ低酸素血症モデルを作成した（第2章）。次いで同モデルの血液酸素飽和度計測において光音響技術による高精度の計測を実現するため、適切な検量方法の確立を行った（第3章）。最後に妊娠ウサギを用い、胎児心拍数波形診断、光音響技術と同様光を用いた技術である近赤外分光分析法（NIRS）、第3章の計測手法を応用した光音響技術の3手法を用い、胎児低酸素血症の評価を行った。手法間の比較により、光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測の医学的意義、光音響技術による計測の臨床的意義について検討した（第4章）

## 1. 6 小 括

胎児監視の臨床的命題は、子宮内胎児死亡の減少、長期的な神経学的予後が不良な児を減らすことにあるが、そのいずれにも胎児の低酸素血症が深く関わっている。現在胎児の低酸素血症の診断に一般的に用いられている胎児心拍数波形診断は、**fetal oxygenation** を評価する診断方法としては限界がある。そこで

胎児低酸素血症の確実な診断のため、日常診療においてより正確な fetal oxygenation をリアルタイムに評価できる直接的な指標の確立が求められる。本研究では、胎児へ酸素供給を行う胎盤に着目し、胎盤に含まれる血液の酸素飽和度を経時的に、かつ非侵襲的に計測できる手法を模索した。光と超音波のハイブリッド技術である光音響技術を計測手法として選択し、これまで防衛医科大学校医用工学講座において開発されてきた光音響信号計測装置により、ウサギ胎盤内血液酸素飽和度の経時的計測を試み、その医学的意義を考察した。

幅広い血液酸素飽和度を計測するための低酸素血症モデルを作成し（第2章）、同モデルにおいて光音響技術による血管内血液酸素飽和度が従来の血液ガス分析機器と同等の精度で計測できる検量方法を確立した（第3章）。最後に本研究の目的である胎盤内血液酸素飽和度の光音響技術による計測を行い、その医学的意義を検証した（第4章）。

なお、実験に用いた全ての機器、薬剤及び消耗品の詳細を付記別表に記載した。

## 第2章 ウサギ低酸素血症モデルの作成

### 2. 1 背景と目的

本研究において血液酸素飽和度計測手法として選択した光音響技術は、これまで主に、腫瘍などの低酸素飽和度領域の画像診断を目的とした研究に用いられてきた<sup>26-28)</sup>。これらの研究においては、高酸素飽和度領域に囲まれた低酸素飽和度領域を描出することが目的とされるため、相対的な血液酸素飽和度の計測にとどまっている。光音響技術により計測された血液酸素飽和度を既存の血液酸素飽和度計測方法の値と比較した研究は複数行われているが<sup>29-31)</sup>、生体における計測精度が十分確立されたとは言えない状況である。

従って本研究では、第一段階として光音響技術による血液酸素飽和度計測が、*in vivo*において高い精度を持つことを証明することが必要であると考えた。そこで、比較的広範囲の血液酸素飽和度を一定時間安定して保つことのできる動物モデルの作成とその評価を行った。

全身麻酔人工呼吸器管理下に置いたウサギを用い、その呼吸条件を変更することで低酸素血症モデルの作成を試みた。本研究において変更した呼吸条件は、分時呼吸回数である。分時呼吸回数を3段階に変更し、動脈血および静脈血の血液ガス分析値が低酸素血症時にどのように推移するかを考察し、安定した低酸素飽和度の計測モデルとなりうるか検討を行った。

### 2. 2 方法

本実験プロトコルはすべて防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て行っ

た。（承認番号 13091）

## 2. 2. 1 実験動物と麻酔管理

体重約 3 kg の 15 週齢から 21 週齢の成獣<sup>32)</sup>雌ウサギ（Japanese White、系統 Kbs）14 羽を実験に供した。使用したすべてのウサギは北山ラベス社（長野県）の販売によるものである。購入後室温 25 °C、湿度 50 ± 5 % に保たれた個別のケージに 1 週間以上飼育した。24 時間 1 周期の明暗リズムおよび飼育用ペレットと自由飲水による管理下に置き明らかな疾患のないものを使用した。なお、実験前の絶食期間は設けていない。

実験に用いた機器の配置を図 1 に示す。麻酔導入はケタミン 35 mg/kg 体重およびキシラジン 5 mg/kg 体重の、大腿部への筋肉内注射により行った<sup>33)</sup>。睫毛反射消失後、ウサギを加温手術台上に仰臥位固定し、頸部と左後肢の剃毛を行った。左後肢のパルスオキシメーター、右後肢の非観血的動脈圧計、および体幹の針電極 3 点誘導法 II 誘導心電図が接続された動物用生体モニタによりモニタリングを行った。非観血的動脈圧は 2 分ごとに計測を行った。体温保持のため、ウサギの体幹を直腸温モニタ付き保温ブランケットで覆い、ウサギ直腸温の正常範囲 39~40 °C<sup>34)</sup> の範囲で体温保持を行った。

左耳介静脈に挿入した 24 ゲージ留置針より生理食塩水の維持輸液を 6 mL/kg/h で行った<sup>35,36)</sup>。甲状軟骨 1 横指頭側から胸骨上端まで頸部正中切開を置き、正中切開尾側端から 3 cm の右側方切開を加え L 字切開とした。甲状軟骨より 1 cm 尾側で気管切開を行い、気管内チューブ（内径 4 mm 外径 5.3 mm）を挿入し、4 cm 挿入した

ところで固定した (図 2A )。なお、この気管内チューブは新生児用気管内チューブを 11 cm の長さに切断したものを用いた。気管内チューブと人工呼吸器は、Y 字アダプタと、市販のシリコンチューブを介して接続した。気管内挿管後速やかに臭化ロクロニウム 0.6 mg/kg 体重を静脈注射し<sup>36)</sup>、自発呼吸の消失確認後人工呼吸を開始した。人工呼吸の開始条件は、体重 3 kg としたときの以下の式<sup>37, 38)</sup>より算出した値に従い、分時呼吸回数 40 回、1 回換気量 19 mL の設定とした。

$$\text{分時呼吸回数} = 53.5 \times (\text{体重})^{-0.26} \quad 2-(1)$$

$$1 \text{ 回換気量} = 0.0062 \times (\text{体重})^{1.01} \quad 2-(2)$$

セボフルラン 1.0 % による吸入麻酔、および自発呼吸兆候を認めた時の臭化ロクロニウム 0.6 mg/kg 体重の静脈注射により麻酔を維持した<sup>36)</sup>。なお、セボフルラン濃度は、麻酔深度および動脈圧の基準に応じ、0.5 % から 2.0 % の間で調整した<sup>39)</sup>。動脈圧の基準は、平均動脈圧 40 mmHg 以上、または収縮期動脈圧 60 mmHg 以上を保つこととした<sup>40)</sup>。

## 2. 2. 2 動静脈採血ルート

図 2B に動静脈採血ルート確保の概要を示した。右総頸動脈を露出し、右鎖骨下動脈と右総頸動脈の起始部を同定した。右総頸動脈に切開を入れ、22ゲージ留置針を挿入した。このとき、灌流している動脈血を確実に採取するため、カテーテル先端が右総頸動脈起始部に来るよう固定した。留置針は三方活栓と耐圧チューブを介し、観血的動脈圧計測トランスデューサに接続した。凝血を防ぐため、125 単位の

ヘパリンを加えたバッグ入り 500 mL 生理食塩水（ヘパリン加生食）<sup>41,42)</sup>を加圧バッグで加圧し、すべての動脈ラインをヘパリン加生食で満たした。トランスデューサは前述の動物用生体モニタに接続し、観血的動脈圧の監視を行った。

次に、右総頸動脈の浅層かつ外側に走行する右外頸静脈を同定し、20ゲージ留置針を挿入し、留置針先端が右外頸静脈と右鎖骨下静脈合流部に來るよう固定した。このとき、灌流する静脈血流を妨げないように、結紮は一切行っていない。留置針は三方活栓を介しヘパリン加生食バッグに接続した。

ここに記載したすべての血管の名称はZottiの記述に従った<sup>43)</sup>。

### 2. 2. 3 採血プロトコル

本研究で用いた可搬式血液ガス分析機器i-STATにおいて1回の血液ガス分析に必要な血液サンプルは0.15 mLであるため、再検の必要量を考慮し1回のサンプル採取につき0.3 mLの採血を行った。ウサギが生理学的変化を引き起こさない採血量の限界は、24時間で体重の15%までの採血と報告されている<sup>44)</sup>。ここで用いた体重3.0 kgのウサギに換算すると、1日の採血限界量は25.5 mLであり、その限界量を超えないよう採血プロトコルを立案した。

事前の計測より、留置針先端から三方活栓までの死腔は0.23 mLであったため、採血プロトコルを以下のように定めた。

- ① 血液採取部位から0.5 mL（死腔の約2倍）吸引しヘパリン加生食を除去
- ② ヘパリンリンス済みのシリンジで0.3 mLの血液サンプルを採取

③ ①で吸引した0.5 mLを再注入しへパリン加生食0.3 mLを注入

②で採取した血液サンプルを速やかにi-STATカートリッジ CG4+ に封入し、血液ガス分析を行った。i-STATは電極法により、サンプル中の酸素分圧 (PO<sub>2</sub>)、二酸化炭素分圧 (PCO<sub>2</sub>) および pH を直接計測し、酸素飽和度 (SO<sub>2</sub>)、重炭酸イオン濃度 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) は以下の2-(3)と2-(4)式に従い算出される<sup>45)</sup>。

$$SO_2 = 100 \times (X^3 + 150X / (X^3 + 150X + 23400))$$

$$X = PO_2 \times 10^{(0.48(pH-7.4)-0.013(HCO_3^- - 25))} \quad 2-(3)$$

$$\log (HCO_3^-) = pH + \log (PCO_2) - 7.608 \quad 2-(4)$$

#### 2. 2. 4 実験1 動脈血血液ガス分析値の検討

この実験における検討事項を、①人工呼吸器管理下におかれたウサギの呼吸回数変更後、動脈血血液ガス分析結果が定常状態になるか、また、②定常状態になる場合に要する時間、の2点とした。

ウサギ7羽を実験に使用した。

図 3A に示すように、ウサギの分時呼吸回数を Step1 から4まで段階的に変更した。分時呼吸回数40回をスタートとし25分間の観察時間を置いたのち、呼吸回数を30回に減少させ ( Step1 )、20回 ( Step2 )、30回 ( Step3 )、40回 ( Step4 ) と順次分時呼吸回数を変更し、それぞれのステップを25分間とした。各々のステップにおいて、分時呼吸回数を変更した時点を0分とし、0.5、1、2、3、5、10、15、20分の時点で採血プロトコルに従い動脈血を採取した。各ステップの20分での



値を次ステップの0分の値とし、各ステップにおける動脈血血液ガス分析値の変化を分析した。

集中治療のため人工呼吸器管理を必要とする患者において、呼吸条件を変更した場合、動脈血血液ガス分析値が安定する時間は7から20分後とされている<sup>46,47)</sup>ため、ここでは血液ガス分析の採取時間を20分までとした。この実験における1羽あたりの総採血量は33回、9.9 mLである。

## 2. 2. 5 実験2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値の検討

実験1で用いたウサギ7羽とは別の7羽で実験を行った。

この実験における検討事項を、①静脈血血液ガス分析値は定常状態に至るのか、②定常状態になる場合に要する時間、③静脈血血液ガス分析値は動脈血血液ガス分析値と並行に変化するのか、の3点とした。

分時呼吸回数の変更は2. 2. 4の実験と同様に行った。各ステップにおいて分時呼吸回数変更後2、5、10、15、20分後に動静脈の同時採血を行い(図3B)、各々のサンプルについて血液ガス分析を行った。ここでの採血タイミングは動静脈の同時採血を行う手技上の限界を考慮し設定した。この実験における1羽あたりの総採血量は21回、12.6 mLである。

## 2. 2. 6 統計学的分析方法

各ステップにおいて得られた7羽の動脈血または静脈血の血液ガス分析結果について、ステップごとに one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) を行い、

有意差があったステップについて、Tukey 検定（Tukey honest significant difference test）で多群間比較を行った。呼吸回数変更後に「定常状態」とであると判断する基準を以下のように2点定めた。定常状態となった最初の時間を「定常時間」とした。

- （1）各ステップの0分の値と、定常時間経過後すべての値の間に有意差がある
- （2）定常時間経過後のステップ内すべての値の間に有意差がない

動静脈同時採血の結果については、2. 2. 5 検討事項③を検討するため、回帰分析を用い、動脈血血液ガス分析値と静脈血血液ガス分析値の相関を評価した。

ここで行った統計学的分析には、市販の統計用ソフトウェア Windows Excel Office 2013（Microsoft Co., Redmond, WA）と JMP Pro software, version 11.2.0, SAS Institute, Ltd., Cary, NC)を用いた。なお、有意水準は95%とし、以降のデータはすべて平均±標準偏差（Standard deviation; SD）で示した。

## 2. 3 結果

動脈血血液ガス分析の検討（実験1）に7羽を用い、同時採血の動静脈血血液ガス分析の検討（実験2）に別の7羽を用いた。全14羽の平均体重は $3.02 \pm 0.09$  kgであった。用いた14羽の実験開始前、分時呼吸回数40回の時の動脈血血液ガス分析結果を表3に示す。

### 2. 3. 1 実験1 動脈血血液ガス分析値の検討結果

図4は動脈血の酸素分圧（ $\text{PaO}_2$ ）、酸素飽和度（ $\text{SaO}_2$ ）、二酸化炭素分圧

(PaCO<sub>2</sub>)、および pH の変化を示したグラフである。各ステップにおける定常時間を表 4A に示す。PaO<sub>2</sub> および SaO<sub>2</sub> はいずれのステップにおいても 0.5 分で定常状態となった。PaCO<sub>2</sub> はすべてのステップで 3 分以内に定常状態となった。

pH は Step1 で 1 分、Step2 で 3 分、Step3 で 1 分の定常時間であったが、Step4 では緩徐な低下が続き定常状態に達しなかった。

## 2. 3. 2 実験 2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値の検討結果

図 5 に動静脈血の酸素分圧 (PO<sub>2</sub>)、酸素飽和度 (SO<sub>2</sub>)、二酸化炭素分圧 (PCO<sub>2</sub>) および pH の推移を示す。表 4B に動静脈血血液ガス分析結果の定常時間を示す。ほとんどのステップにおいて静脈血血液ガス分析は定常状態に至らなかった。

静脈血酸素分圧 (PvO<sub>2</sub>) および静脈血酸素飽和度 (SvO<sub>2</sub>) は不規則な変動が続き、定常状態に至らなかった。静脈血二酸化炭素分圧 (PvCO<sub>2</sub>) は Step1 で 2 分、Step2 で 15 分後に定常状態となった。Step3 と Step4 では有意な変化を認めなかった。pH は Step1 のみにおいて 5 分で定常状態となったが、Step2 では不規則に変動した。Step3、Step4 では 0 分から有意な変化を認めなかった。

動静脈の血液ガス分析値のうち、PCO<sub>2</sub> と pH は強い相関を認めた。回帰分析の結果、PaCO<sub>2</sub> と PvCO<sub>2</sub>、動脈血 pH と静脈血 pH の相関は図 6 に示す散布図と以下の回帰式によって表された。

$$\text{PaCO}_2 = 0.9316 \times \text{PvCO}_2 - 4.4425 \quad 2-(5)$$

$$(\text{動脈血 pH}) = 1.0835 \times (\text{静脈血 pH}) - 0.5795 \quad 2-(6)$$

相関係数 R はそれぞれ0.9178 と 0.9453 であった。

## 2. 4 考 察

呼吸回数変更後、 $\text{PaO}_2$  と  $\text{SaO}_2$  は 0.5 分で定常状態となり、 $\text{PaCO}_2$  は 3 分以内に定常状態となることが示された。対して、静脈血血液ガス分析値はほとんど定常状態に至らず、動脈とは異なる推移が認められた。動脈血血液ガス分析値と静脈血血液ガス分析値で強い相関関係が認められたのは  $\text{PCO}_2$  および  $\text{pH}$  ( $R = 0.9178$ 、 $0.9453$ ) であった。

### 2. 4. 1 動脈血血液ガス分析値

人工呼吸器設定変更後の定常時間に関与する因子として Sasse らは以下の項目を挙げている<sup>46)</sup>。

- ① 肺における換気血流バランス
- ② 換気量
- ③ 末梢動脈への血液循環

本実験においては、ほぼ同じ体重の健康なウサギを用いており、分時換気量も固定されているため、③の末梢動脈への血液循環へのみで定常時間を変動させうる因子と考えられる。

一般的に、組織へ運搬される酸素の量は以下の式によって表される<sup>48)</sup>。

$$\text{運搬される酸素 (DO}_2\text{)} = \text{心拍出量} \times \text{動脈血酸素含有量} \quad 2\text{-(7)}$$

文献上、ウサギのkg体重あたりの心拍出量はヒトの約2.39倍であり<sup>49)</sup>、式2-(7)よりウサギの $DO_2$ は人よりも大きくなる。さらに、ウサギの心臓から末梢組織までの距離はヒトよりも小さいため、ウサギの循環機構は高容量の酸素が素早く全身に循環する効率の高いものであると言える。この循環機構が、ヒトにおける定常時間である7~20分に比較し、0.5分と極めて短時間に定常状態に至る主因であると言える。これまで行われてきた複数のウサギを用いたパルスオキシメトリにかかわる実験では<sup>50-52)</sup>、経験的に呼吸条件変更の2分後が動脈血酸素飽和度の定常時間とされてきたが、この実験により定常時間は0.5分であることが示された。

酸素化の指標である $PaO_2$  および $SaO_2$  と異なり、 $PaCO_2$  が定常状態に達するには最長で3分の時間を要した。 $PaO_2$  が15 mmHg 以上の変化を見せるのに対し、 $PaCO_2$  の変化は10 mmHg程度に収まっており、 $PaCO_2$  の変化パターンは $PaO_2$  の鏡像を呈さなかった。Ivanovらの報告では<sup>53)</sup>、分時呼吸量の急激な変更ののち、 $PaCO_2$  は $PaO_2$  に比較し緩徐に低下していくことが記されており、ここでの結果と合致する。また、Slonimらは<sup>54)</sup>、二酸化炭素は代謝の過程において産生されるため $PaCO_2$  は $PaO_2$  の鏡像を呈しないとしており、ここでの実験結果と合致する。

#### 2. 4. 2 静脈血と動脈血の血液ガス分析値

実験2において、静脈血の血液ガス分析値はそのほとんどが定常状態に至らなかった。酸素化を示す指標である $PO_2$  および $SO_2$  は動静脈間での相関を認めず、動脈血と静脈血は異なる変化パターンを持つことが示された。

Kornerらによるウサギの実験では<sup>55)</sup>、急激な低酸素血症に陥った時、一時的な頻

脈ののち徐脈に陥り、末梢の血管収縮が動脈圧を上昇させることにより心拍出量が減少するとある。同様に急激な低酸素血症における生理学的変化を観察している複数の研究では<sup>56,57)</sup>、低酸素血症に陥った場合、末梢組織に運搬される酸素は減少するが、組織における酸素の取り出し率はわずかな上昇しか認められないと報告されている。

組織における消費酸素（VO<sub>2</sub>）は以下の式により定義される<sup>57)</sup>。

$$\text{心拍出量} = \frac{\text{動脈血含有酸素} - \text{静脈血含有酸素}}{\text{動脈血含有酸素} - \text{静脈血含有酸素}} \quad 2-(8)$$

$$\text{血中酸素含有量} = \left( 1.34 \times \text{ヘモグロビン量} \times \frac{\text{動脈血含有酸素} - \text{静脈血含有酸素}}{100} \right) + 0.003 \times PaO_2 \quad 2-(9)$$

式2-(8)に2-(9)を代入して

$$VO_2 = \text{心拍出量} \times 1.34 \times \text{ヘモグロビン量} \times \frac{\text{動脈血含有酸素} - \text{静脈血含有酸素}}{100} + 0.003 \times (PaO_2 - PvO_2) \quad 2-(10)$$

式 2-(10) より、組織において消費される酸素は動静脈間の PO<sub>2</sub> および SO<sub>2</sub> の差に比例することがわかる。本研究において計測された酸素化指標である PO<sub>2</sub> と SO<sub>2</sub> の動静脈血間の差は分時呼吸回数40回の時に最も大きく、20回の時に最も小さい。前述のように、低酸素血症では心拍出量は減少し、SaO<sub>2</sub> - SvO<sub>2</sub> および PaO<sub>2</sub> - PvO<sub>2</sub> も減少するため、組織における酸素消費量が減少する。さらに、低酸素血症のアシドーシスによるヘモグロビン酸素乖離曲線の右方偏移のため酸素親和性が高まることが知られており<sup>58)</sup>、これらの反応により急激な低酸素血症に適応するものと考え

られる。

#### 2. 4. 3 動脈と静脈：計測モデルとしての評価

全身麻酔・人工呼吸器管理下のウサギにおいて、分時呼吸回数を減少させることで有意に動脈血酸素飽和度が低下し、いずれのステップにおいても 0.5 分から20分の間定常状態を保ったことから、この方法により、安定した低酸素血症モデルが作成されたと言える。動脈血血液ガス分析値に対して静脈血血液ガス分析値は個体差が大きく、変動が激しい結果となった。静脈血は酸素化のみならず組織の代謝を反映する指標であるため、動脈とは異なる変動を持つ複雑な指標であると考えられる。また、静脈は動脈に比較して径が大きく血流が緩徐であるため、局所的な血液中の変化が即時に全身に反映されるとは考えにくい。同一の解剖学的名称を持つ静脈であっても、採血位置が 5 mm 異なるだけで血液ガス分析結果が異なるとの報告もあり<sup>59)</sup>、静脈血の情報の解釈を動脈血と同様に行うことはできない。本研究では、光音響技術による酸素飽和度計測の精度をより厳密に評価するため、この低酸素血症モデルの動脈を次章に述べる研究の計測対象とした。

#### 2. 5 小 括

血液酸素飽和度計測に用いるウサギ低酸素血症モデルを作成した。比較的制御が簡易な呼吸回数を変更条件として選択し、安定した低酸素血症モデルを作ることができた。動静脈血の血液ガス分析値を分析した結果、次章に述べる光音響技術による酸素飽和度計測の研究においては当モデルの動脈を対象とすることとした。

なお、当モデルは Journal of Surgical Research 誌に出版されている。

Sei K, Fujita M, Hirasawa T, Okawa S, Kushibiki T, Sasa H, Furuya K, Ishihara M.

Appropriate timing of blood sampling for blood gas analysis in the ventilated rabbit. J Surg Research. 2016; 206(2)325-36.



## 第3章 光音響技術による *in vivo* 血液酸素飽和度計測

### 3. 1 背景と目的

第3章では、生体における光音響技術による高精度な血液酸素飽和度計測を目的とした。

第2章で作成した低酸素血症モデルを用い、外科的に露出した血管を対象とし光音響信号の計測を行った。同時に至近部位で採取した血液の血液ガス分析値を基準値とし、光音響技術による酸素飽和度値と比較を行った。高精度の計測にあたり、適切な検量方法の確立が必要である。ここでは既存の検量方法（検量法1）と独自の血管モデルを用いた検量方法（検量法2）の2種によって光音響信号から酸素飽和度を算出した。2種の検量方法による値を基準値と比較し、その相関および一致度を統計学的に評価した。

### 3. 2 方法

一連の実験は防衛医科大学校動物倫理委員会の承認を得て行った。（承認番号13091）

ここで光音響信号計測に用いた照射光は、図7に示した Oregon Medical Laser Center (OMLC) が公表するヘモグロビンのモル吸収係数から<sup>60)</sup>、脱酸素化ヘモグロビンが頂点を持つ750nmと、脱酸素化ヘモグロビンと酸素化ヘモグロビンの曲線が交わる等吸収点である800nmの2波長を用いた。2波長の光を照射して得られる光音響信号の比を用い、酸素飽和度の計算を行った<sup>61-63)</sup>。

本研究において用いられる酸素飽和度は、胎児ヘモグロビンやメトヘモグロビンなどの異常ヘモグロビンを除外し、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンのみをヘモグロビン分画とする functional oxygen saturation とし<sup>23)</sup>、酸素化ヘモグロビン量  $[HbO_2]$  と脱酸素化ヘモグロビン量  $[Hb]$  から以下の式3-(1)により求めた。

$$SO_2 = \frac{[HbO_2]}{[HbO_2] + [Hb]} \times 100 (\%) \quad 3-(1)$$

### 3. 2. 1 検量法 1

検量法 1 は、パルスオキシメトリ、NIRS や光音響信号計測を用いた酸素飽和度の算出に用いられてきた従来法である<sup>25, 61, 62)</sup>。

図 7 の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンのモル吸収係数  $\varepsilon$  ( $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) から<sup>60)</sup>、血液の吸光係数  $\mu_a$  を算出することができる。濃度 15 g/dL の脱酸素化ヘモグロビンの波長 750 nm と 800 nm の吸光係数はそれぞれ 7.52、4.08 であり、同じく酸素化ヘモグロビンの吸光係数は 2.77 と 4.37 と算出できる。この各ヘモグロビンの吸光係数から、ある酸素飽和度を持つ血液の吸光係数を波長ごとに Lambert-Beer の法則にしたがって導くことができる。ここで、総ヘモグロビン濃度 15 g/dL の血液中の脱酸素化ヘモグロビン濃度を  $[Hb]$ 、酸素化ヘモグロビン濃度を  $[HbO_2]$  とし、式 3-(2) に従って波長 750 nm および 800 nm の光に対する血液の吸光係数  $\mu_{a750}$  および  $\mu_{a800}$  を求める。

$$\mu_{a750} = 7.52 \times [Hb] + 2.77 \times [HbO_2]$$

$$\mu_{a800} = 4.08 \times [Hb] + 4.37 \times [HbO_2] \quad 3-(2)$$

光音響信号の強さは吸収される光エネルギーに比例するため、光音響信号の強さ（最大値 maximum intensity とする） $p$  は $\mu_a$ に定数 $K$ をかけたものとして表される<sup>22, 64)</sup>。 $K$ は物質固有の定数（Grueneisen 定数）と到達した光の強度で決定される定数である。

したがって、750 nmと800 nmの光を照射したときに得られる光音響信号の最大値 $p_{750}$ 、 $p_{800}$ は以下のように表される。

$$\begin{aligned}
 p_{750} &= 7.52 \times K[Hb] + 2.77 \times K[HbO_2] \\
 p_{800} &= 4.08 \times K[Hb] + 4.37 \times K[HbO_2]
 \end{aligned}
 \tag{3-3}$$

図8 上段左図は総ヘモグロビン濃度を 15 g/dL としたときに式3-(3)で得られる光音響信号強度を示したものである。

連立方程式3-(3)の解として、 $[HbO_2]$  および $[Hb]$ を求めることができ、酸素飽和度 $Sc_1O_2$ を求めることができる。

図8 下図に示した検量線1は、x軸に酸素飽和度、y軸に計測した $p_{750}$ と $p_{800}$ の比、

$$\frac{p_{750}}{p_{800}} = \frac{7.52 \times [Hb] + 2.77 \times [HbO_2]}{4.08 \times [Hb] + 4.37 \times [HbO_2]}
 \tag{3-4}$$

を取った。モデル動物動脈から得られた光音響信号強度を当てはめ酸素飽和度 $Sc_1O_2$ を算出した。

### 3・2・2 検量法2

検量法2は独自の血管モデルから得られた光音響信号をもとに検量線を作成する外部標準法である。健康な雌ウサギ成獣（体重3053 g）の耳介静脈から、血液15 mLを採取し、凝血を防ぐため血液1 mLあたり20 IUのヘパリンを加えた<sup>65)</sup>。

ウサギ鎖骨下動脈とほぼ同じ内径<sup>66)</sup>のポリ塩化ビニルチューブ内に採取した血液を封入したものを血管モデル（図9）とした。血液1 mLあたりに還元剤ジチオン酸ナトリウム（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ）を5 mg添加し酸素飽和度を0%に調整した血液と<sup>67)</sup>、100%酸素ガスを約2分間吹き込み酸素飽和度100%に調整した血液<sup>29)</sup>をチューブにそれぞれ注入した。

後述の光音響信号計測系により750 nmと800 nmで、酸素飽和度0%と100%血液の光音響信号をそれぞれ計測し光音響信号最大値を得た。なお、光音響信号計測前後でサンプル内の血液の酸素飽和度をi-STAT、カートリッジCG4+で計測し、それぞれ0%、100%のまま変化がないことを確認している。

酸素飽和度0%検体から得られた波長750 nmおよび800 nmのときの光音響信号最大値はそれぞれ1220 V/J、618 V/J。酸素飽和度100%血液から得られた波長750 nmおよび800 nmのときの光音響信号最大値はそれぞれ346 V/J、488 V/Jであった。ある[Hb]、[HbO<sub>2</sub>]を持つ血液から得られる光音響信号最大値 $p_{750}$ 、 $p_{800}$ は、式3-(5)のように表される。

$$p_{750} = 1220 [\text{Hb}] + 618[\text{HbO}_2]$$

$$p_{800} = 346 [\text{Hb}] + 488 [\text{HbO}_2] \quad 3-(5)$$

図 8 上段右図は総ヘモグロビン濃度を 15 g/dL としたときに式3-(5)で得られる光音響信号強度を示したものである。

検量法 1 と同様に、この連立方程式の解から酸素飽和度を算出することができる。

図 8 下図に示した検量線 2 は、x 軸に酸素飽和度、y 軸に計測した  $p_{750}$  と  $p_{800}$  の比、

$$\frac{p_{750}}{p_{800}} = \frac{1220 \times [\text{O}_2] + 346 \times [\text{Hb}]_2}{618 \times [\text{O}_2] + 488 \times [\text{Hb}]_2}$$

3-(6)

を取り、得られた光音響信号を当てはめ酸素飽和度  $\text{Sc}_2\text{O}_2$  を算出した。

### 3. 2. 3 光音響信号計測系

用いた光音響信号計測系を図 9 に示した。Nd:YAG レーザーの第 3 高調波を励起光として可変式光パラメトリック発振器を用い、パルス光を発生させた。パルス幅は 6~8 ns であり、周波数は 10 Hz であり、ビームサンプラーおよびエネルギーメーターでその変動の監視を行った。ここでの 1 回の照射は 1 波長あたり 2 秒間である。

図 9 に用いたプローブを示した。環状に配置した焦点型音響センサの中央に径 600  $\mu\text{m}$  の光ファイバーを固定し、筒状に一体化させたものである<sup>68)</sup>。センサは 20  $\mu\text{m}$  の厚さのフッ化ビニリデン三フッ化エチレン共重合体 (P(VDF-TrFE)) 膜製のものを用いた。焦点は 8 mm、外径 5.0 mm、内径 1.4 mm の太さであり、0.5~17.4 MHz の帯域幅で -6 dB の感度である。音響センサで検出した光音響信号は超低雑音増幅器で増幅され、100 MSa/s のサンプリングレートで 10 ビットデジタルに記録される。照射された励起光の吸収により発生する応力波 (光音響信号) の

強度を波長ごとにオシロスコープで観測した。

### 3. 2. 4 *in vivo* 血液酸素飽和度計測

雌ウサギ（*Japanese White*、系統 Kbs）計 7 羽を実験に供した。15 から 21 週齢のウサギ成獣を用いた<sup>32)</sup>。すべてのウサギは北山ラベス社の販売である。

第 2 章の方法に準じ、全身麻酔・人工呼吸管理を行った。頸部 L 字切開創より胸骨柄外側に位置する右総頸動脈起始部を同定し、右鎖骨下動脈近位部を 1 cm 程度露出した（図 10）。右総頸動脈起始部にカテーテル先端が来るよう、22 ゲージ留置針を挿入し動脈ラインとした。

光照射部位は図 10 に示すように、カテーテルにレーザーが照射されず、かつカテーテル先端から至近距離である右鎖骨下動脈起始部とした。第 2 章で用いたプロトコルで計測を行い、すべての光音響信号計測は、動脈血酸素飽和度定常状態の呼吸回数変更後 0.5~20 分に完了した。

呼吸回数の各段階において、右外頸動脈起始部に挿入したカテーテルから血液サンプルを採取し、直後に右鎖骨下動脈の光音響信号を計測した。血液サンプルは採取直後に i-STAT を用いて血液ガス分析を行い、得られた酸素飽和度（ $\text{SaO}_2$ ）を基準値とした。

1 羽につき、分時呼吸回数 40 回、30 回、20 回、30 回、40 回の 5 段階で 1 回ずつ、光音響信号および血液ガス分析を行った。2 秒間 21 回の光音響信号計測で得られた光音響信号最大値の平均値を  $p_{750}$  または  $p_{800}$  として検量線 1 と検量線 2 にあてはめた血液酸素飽和度  $\text{Sc}_1\text{O}_2$  および  $\text{Sc}_2\text{O}_2$  を得た。

### 3. 2. 5 光音響技術による血液酸素飽和度計測の精度評価

検量法1と検量法2の手法間比較と誤差の分析を行うため、線形回帰分析と Bland-Altman 分析を用いた<sup>69)</sup>。まず、線形回帰分析により基準値  $SaO_2$  と  $Sc_1O_2$  および  $Sc_2O_2$  の相関を評価した。続いて詳細な誤差の検討を行うため、 $SaO_2$  を標準とし、Bland-Altman 分析を行った<sup>69)</sup>。 $Sc_1O_2$ 、 $Sc_2O_2$  のそれぞれにおいて、固定誤差と比例誤差の有無を評価し、一致度の指標として許容範囲 95% limit of agreements (95%LOA) の幅を用いた<sup>70)</sup>。比例誤差の有無を検討する Student-t 検定にあたり、自由度34、信頼区間95%の  $t$  値 = 2.03 を用いた。解析ソフトは JMP Pro software version 11.2.0 (SAS Institute Ltd., Cary, NC) を使用した。

### 3. 3 結果

7羽の雌ウサギ（体重  $3.10 \pm 0.09$  kg）から、1羽につき5ポイント、計35ポイントのデータを得た。照射された光の強度は最大で  $3.18 \text{ mJ/cm}^2$  であった。これは American National Standards Institute Z136.1<sup>71)</sup> に定められた生体照射に関する安全規格  $20\sim 100 \text{ mJ/cm}^2$  以下であった。

すべての光音響信号計測は、呼吸回数変更から動脈血酸素飽和度が定常状態となる  $0.5\sim 20$  分の時間内に終了した。

図11に  $Sc_1O_2$  と  $SaO_2$ 、 $Sc_2O_2$  と  $SaO_2$  の散布図を示した。回帰分析の結果、 $Sc_1O_2$  の相関係数  $R$  は 0.965、 $Sc_2O_2$  の  $R$  は 0.964 と、ほぼ等しく強い相関を示し

た。得られた回帰式は、

$$Sc_1O_2 = 1.44 \times SaO_2 - 50.2 \quad (p < 0.001)$$

$$Sc_2O_2 = 1.13 \times SaO_2 - 11.5 \quad (p < 0.001) \quad 3-(7)$$

また、回帰直線からのばらつきを示す標準誤差は、 $Sc_1O_2$  で3.18、 $Sc_2O_2$  で2.51であった。

さらに  $SaO_2$  を標準として、 $Sc_1O_2$  と  $Sc_2O_2$  について行った Bland-Altman plot を図12に示した。 $Sc_1O_2$  の 95%LOA は上端 -8.38 (95%信頼区間CI ; -25.6~8.84) から下端 -11.5 (95%CI ; -28.7~5.72) であった。95%LOAが負に偏位していることから、 $Sc_1O_2$  は常に値を負の方向へ乖離させる、負の固定誤差があると言える。 $Sc_2O_2$  の95%LOAは上端 0.675 (95%CI ; 0.319~1.03) から、下端 -1.09 (95%CI ; -1.44~ -0.731) であり明らかな固定誤差は認められなかった。

$Sc_1O_2$  の t値は -13.0、 $Sc_2O_2$  の t値は 0.475 であった。ここでは  $t_{0.05} = 2.03$  であるため、 $Sc_1O_2$  は比例誤差があると判断できる。固定誤差と比例誤差により、 $Sc_1O_2$  は酸素飽和度の低下に伴い負の誤差が増加する判断できる。

基準値との一致度の指標となる  $Sc_1O_2$  と  $Sc_2O_2$  の95%LOA幅は、それぞれ3.12と1.76であった。

### 3. 4 考 察

ウサギ低酸素血症モデルにおいて、光音響信号技術による動脈血酸素飽和度計測を行い、同時に至近部位から採取した動脈血の血液ガス分析値と比較した。得られた光音響信号から酸素飽和度を算出するにあたり、従来法（検量法1）と独自の



血管モデルから得られた光音響スペクトルを用いた方法（検量法2）の2種を用いた。

計35ポイントの計測において、回帰分析の結果から、 $Sc_1O_2$ 、 $Sc_2O_2$ 両者ともにほぼ同等の強い相関（ $R = 0.965$ 、 $0.964$ ）を認めたが、 $Sc_1O_2$ の標準誤差は $Sc_2O_2$ に比較して大きく（3.18、2.51）データのばらつきが大きいことが示された。 $Sc_1O_2$ に比較し、 $Sc_2O_2$ は図11中の $y=x$ の近くに分布しており、 $SaO_2$ との一致は高かった。Bland-Altman分析により、 $Sc_1O_2$ は常に $SaO_2$ よりも低値を算出し、その誤差は低酸素飽和度領域に行くにしたがって大きくなることが明らかになった。 $Sc_2O_2$ はいずれの指標においても高い一致度、正確度を示した。

$Sc_1O_2$ の算出で用いた検量法1は既知のヘモグロビンモル吸収係数を用いた検量方法であり、従来光音響技術による低酸素領域の画像化の研究に主に用いられてきた<sup>27,63,72</sup>。ここで用いた検量法1と検量法2の違いは、想定する血液中の光の経路の長さ、つまり光路長の違いである。

Lambert-Beerの法則によると、物質が吸収する光エネルギー（ $\Delta I$ ）は照射された光の強さ $I_0$ 、透過してきた光の強さ $I$ 、物質の吸光係数 $\mu_a$ と光路長 $d$ を用い、下の式によって求められる。

$$\Delta I = I_0 - I = I_0(1 - \exp(-\mu_a d)) \quad 3-(8)$$

この光エネルギー $\Delta I$ は、式3-(3)における定数 $K$ を決定する項の1つであり、得られた光音響信号から対象物の吸光係数 $\mu_a$ 、つまりヘモグロビン量を算出する際の変

数となる。散乱体内での光吸収を表した modified Lambert-Beer の法則によると<sup>73)</sup>、散乱体内での光吸収は、屈折した光路長の総和、 $d$ に依存する。つまり、散乱のある物質では屈折を繰り返すため $d$ が大きくなることで吸収する光エネルギー $\Delta I$ が大きくなるため、定数 $K$ が大きくなり、得られる光音響信号の強度は上昇する。

ここで用いた検量法 1 では血液をヘモグロビン溶液とみなし、血液中に入った光が直進すると仮定して算出する。しかし、実際の血液中では赤血球が血液中に分布しているため、光は直進しない。ヒト赤血球は 34 g/dL の濃度のヘモグロビン溶液が厚さ7 nmの脂質二重膜に内包された構造である<sup>74)</sup>。赤血球内に進入した光は、細胞膜面での屈折により赤血球内で散乱し、複雑な光伝搬を起こす<sup>75)</sup>。したがって、赤血球に封入された状態でヘモグロビンが局在する血液の中を光が伝搬する場合には、吸収とともに散乱が起こることとなり、 $d$ は大きくなる。検量法 2 では、実際の血液から得た光音響信号を用い、酸素飽和度の算出を行っている。このとき得られた光音響信号は血液中で赤血球による散乱を繰り返した、実際の $d$ を反映した値である。

これまでの光音響技術による血液酸素飽和度計測では、血液に光が到達するまでに光の大部分が吸収されるため、弱い光しか到達しない血液内で起こる光の散乱は非常に小さく、無視できるものとして検量法 1 で校正が行われてきた<sup>24, 76)</sup>。しかし、血液酸素飽和度を正確に計測するにあたり、光の散乱を考慮する必要がある<sup>77)</sup>との認識が広がりつつある。洗浄赤血球液の吸収を double integrating sphere technique により計測した報告では、洗浄赤血球液の光吸収は同じ濃度のヘモグロビン溶液の約 2 倍程度とされており<sup>78)</sup>赤血球内の光の散乱による $\Delta I$ の増強が無視できないことを

示唆している。

検量法 1 において算出した場合、得られた光音響信号が散乱による増強の結果であることを考慮しないため、 $[Hb]$ および $[HbO_2]$ はいずれも過大評価されることとなる。対して検量法 2 は、散乱体である血液から得られた光音響信号を用い、散乱による光音響信号の増強を補正した方法と言える。実際の血液内で起こる散乱の強さと光路長の詳細な関係は明らかではないが、 $[Hb]$ および $[HbO_2]$ の過大評価が、 $Sc_1O_2$ における、基準値に比較し常に低い値を出す傾向の原因と考えられる。

$Sc_1O_2$ での低酸素飽和度領域に行くにつれて誤差が大きくなるという結果は、式 3-(1)より、おもに $[Hb]$ の過大評価が原因となったものと考えられる。特に低酸素飽和度領域である静脈や、動脈血と静脈血が混在する組織内血液酸素飽和度の計測の場合、従来の検量法 1 を用いた方法では血液酸素飽和度が実際よりも低く算出され、大きな誤差を生じる可能性がある。

通常、生体組織の血液酸素飽和度を計測する場合、生体組織における血液含有率は 3~5 % と想定されている<sup>29)</sup>。含有されている血液が少ない場合、赤血球に到達するまでに減弱した光から発生する弱い血液由来の光音響信号においては、散乱による光路長の変化が酸素飽和度に影響する度合いは小さいかもしれない。しかし、第 4 章で計測対象とする胎盤の血液含有率は 3~5 % よりもはるかに高いことが予想される。ヒト胎盤の血管についての報告<sup>79)</sup>では、満期のヒト胎盤の胎児側の血管体積は 45 立方センチメートル、母体血が充満する絨毛間腔は 174 立方センチメートル、胎盤全体の体積は 433 立方センチメートルとされている。この報告によると胎盤の血液含有率は  $(174+45) \div 433 \times 100 = 50.6\%$  にものぼる。腹壁表面から胎盤の血液酸

素飽和度を計測する場合、0.5%程度の血液を含む皮膚<sup>80)</sup>、3~5%の血液を含む腹壁や子宮壁の下に、はるかに高い血液含有率を持つ胎盤が位置している。この血液濃度の高い臓器において血液酸素飽和度を計測する場合、赤血球による散乱を考慮する必要があると考えられ、本章における検量法2による血液酸素飽和度算出法は胎盤計測にも適切に応用できると考えられる。

我々がここで計測した血液酸素飽和度は、メトヘモグロビンや一酸化炭素ヘモグロビン、胎児ヘモグロビンなどの異常ヘモグロビンを考慮していないが、健常な個体の場合、異常ヘモグロビンの含有率は1.5%未満であり、通常ほとんど考慮は必要ないとされている<sup>81)</sup>。第4章においては胎盤の血液酸素飽和度を計測するが、胎盤では母体血と胎児血が混在しており、成人ヘモグロビンとともに胎児ヘモグロビンが存在する。胎児ヘモグロビン由来の各種ヘモグロビンの波長600から1050nmにおけるモル吸光係数は、成人ヘモグロビンに比較してわずかに差が認められるが、この差はヘモグロビンの光学特性を利用した血液酸素飽和度計測において誤差を生じる大きさではないとされている<sup>82)</sup>。したがってここで行った算出法を次章における胎盤内血液酸素飽和度計測に適用するにあたり、大きな誤差は生じないと考えられる。

### 3.5 小 括

第2章で作成したウサギ低酸素血症モデルを用い、動脈を対象として光音響信号計測を行い、高精度の計測を実現するための検量方法の検討を行った。従来法と独自の血管モデルを用いた検量方法の2種を用いて血液酸素飽和度を算出し、至近部

位で同時に採取した血液から得られた血液ガス分析による酸素飽和度と、得られた2種の血液酸素飽和度を統計学的に比較した。血管モデルから得られた光音響信号を基にした検量法2による酸素飽和度は、血液ガス分析値と良好に一致し、適切な検量方法であることを示した。

## 第4章 光音響技術によるウサギ胎盤内血液酸素飽和度計測

### 4. 1 背景と目的

本研究の目的は、ウサギ胎盤内血液酸素飽和度を計測する、低侵襲かつリアルタイムな手法を、光音響技術を用い確立することである。第3章までの実験で使用したウサギ低酸素血症モデルを応用し、光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測を行った。ここでは、従来法である胎児心拍数波形による評価法、先行研究としてすでに胎児胎盤内血液酸素飽和度計測に用いられている近赤外分光分析法

( Near-infrared spectroscopy NIRS ) (表2) <sup>18,83)</sup> を併用し、3手法による胎仔低酸素血症の検出能を比較することにより、光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測の医学的特長及び意義を検討した。

### 4. 2 方法

本実験は防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号16013)

#### 4. 2. 1 実験動物と産科麻酔管理

妊娠ウサギ7羽 ( Japanese White 、系統 Kbs ) を実験に供した。ウサギはすべて北山ラベス社による販売であり、交配後妊娠を確認した状態で購入した。室温 25 °C、湿度 50 ± 5 % に保たれた個別のケージに1週間以上飼育した。24時間1周期の明暗リズムおよび飼育用ペレットと自由飲水による管理下におかれ明らかな疾

患のないものを使用した。なお、実験前の絶食期間は設けていない。

一般的に、ウサギの分娩は交配後30から31日目にもっとも多くなるため<sup>84)</sup>、十分に胎盤が成熟しており、かつ実験中に分娩開始の可能性が低い交配後28日目に実験を行った。第2章の方法に従い前麻酔、体位保持、母体モニタリングを行い、第3章と同様に右総頸動脈にカテーテルを挿入した。第4章では、妊娠期の特性により以下の分時呼吸量と麻酔維持方法の変更を行った。

#### ① 1回換気量の変更

一般に、妊娠動物では血中プロゲステロン濃度の上昇により二酸化炭素に対する感受性が高くなるため、1回換気量と呼吸回数が上昇するとされているが<sup>85)</sup>、妊娠ウサギの正常分時呼吸回数および1回換気量は検索の限り文献が見当たらない。ヒトの場合、妊娠期には呼吸回数の変化はないが、プロゲステロン濃度の上昇と増大する子宮による横隔膜挙上により、1回換気量が約1.3倍に増加することが報告されている<sup>86)</sup>。四足歩行であるウサギにおいては妊娠子宮が横隔膜に及ぼす物理的影響はヒトほど大きくないものと考えられるため、第2章、第3章で行った1回換気量の1.1倍で人工呼吸器管理を開始した。分時呼吸回数を40回、1回換気量は式4-(1)に従った。

$$1 \text{ 回換気量 (mL)} = 0.0062 \times (\text{体重})^{1.01} \times 1.1 \quad 4-(1)$$

#### ② 維持麻酔方法の変更

妊娠期においては、母体低血圧により子宮の血流が低下することで胎児死亡

やアシドーシスが誘発されるため、維持麻酔が必要な場合、ヒトの場合には通常の血圧の 80 % 以上を保つことが求められる<sup>87)</sup>。妊娠後期（交配後21から30日）の覚醒時のウサギの平均動脈圧は  $77 \pm 3.5$  mmHg と報告されており<sup>88)</sup>、この 80 % 以上の血圧は平均動脈圧で約60 mmHg以上となる。

第3章までの実験で用いたセボフルランをはじめとするガス麻酔は、血管拡張による低血圧を来しやすいことが知られており<sup>89)</sup>、第4章での実験のように子宮への血流を維持することが必要な環境では不適切な可能性がある。そのため、心拍出量増加による血圧上昇効果を持つケタミンを維持麻酔薬とした<sup>90)</sup>。ウサギ胎盤血流を計測した Barzago らの方法に従い<sup>91)</sup>、ケタミン25 mg/kg 体重の筋肉注射を30分ごとに行い麻酔維持を行った。筋弛緩薬の使用は第2章と同様である。

#### 4. 2. 2 計測プロトコル

第3章と同様に母体の呼吸回数を変更した。40回、30回、20回、30回、40回のステップを各20分観察し、それぞれを Step1 から 5 とした。Step1 は正常相、Step2 と 3 は低酸素血症相、Step4 と 5 は回復相である。各ステップの 3 分、10分の時点で母体の右総頸動脈に挿入されたカテーテルより動脈血を採取し、可搬式血液ガス分析機 i-STAT で血液酸素飽和度を計測した。ここでは、3 分と 10 分の 2 回の計測結果の加算平均をそのステップの動脈血酸素飽和度として扱った。



#### 4. 2. 3 胎仔心拍数波形診断

母体下腹部を全面的に剃毛し、汎用超音波画像装置を用いて胎仔および胎盤の位置を確認した。汎用超音波画像装置のパルスドプラモードにより胎仔心臓の血流波を計測し、実験中録画を行った。パルスドプラの血流波形は5秒間に1回更新されるため、5秒間の総心拍数を1分あたりの心拍数に換算し心拍図波形図を作成した(図13)。

得られた胎仔心拍数波形図から、日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン<sup>10)</sup>に準拠し簡易的に診断を行った。実験開始時の胎仔心拍で、10分以上一過性徐脈がなく安定している箇所の平均的な心拍数を「基線」と定義した。この基線から心拍数が増加し、10分以上安定している場合、基線の変更があったものとみなし、基線よりも増加した場合を「頻脈」、減少した場合を「徐脈」とした。なお、ここでは5秒間の心拍数を整数で数え毎分呼吸回数に換算しているため、胎仔心拍波形図の診断指標の一つである基線細変動については捕捉できず、評価対象外とした。また、子宮収縮の計測を行っていないため、子宮収縮と徐脈の起こるタイミングで鑑別される早発一過性徐脈及び遅発一過性徐脈はここでは判断せず、一過性徐脈はすべて変動一過性徐脈及び遷延性徐脈の2つに分類した。日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン通り、遷延性徐脈は2分以上持続したもの、15秒以上2分未満の徐脈は変動性一過性徐脈とした。

妊娠満期のヒト胎児における正常心拍数は毎分120回から160回とされており、高度徐脈(一過性徐脈、基線変更による徐脈の両者を含む)の基準は、最下点70から80回/分未満の場合とされている。ウサギ胎仔における高度徐脈の基準は存在し

ないが、ここでは Step1 正常相の基線の 2 分の 1 を高度徐脈の判断基準と定め、以下の項目について評価を行った。

- ① 基線変更（徐脈または頻脈）
- ② 一過性徐脈の有無
- ③ 一過性徐脈の種類
- ④ 徐脈が存在した場合、高度徐脈かどうか

表 5 に上記の項目からウサギ胎仔低酸素血症の有無を評価するために用いたレベル分類表を示した。

#### 4. 2. 4 近赤外分光分析法（NIRS）

胎仔心拍を監視する胎仔の胎嚢に位置するよう、NIRS 装置の新生児用ソマセンサーを配置した。図14に実際の配置を示す。実験開始から終了まで、NIRS による組織内血液酸素飽和度の変化を記録した。この NIRS 装置では、発光部から発した光が伝搬する、センサ直下最大深度約 4 cm 内に含まれるすべての組織の血液酸素飽和度の変化を 1 つの値として算出するため、母体皮膚から子宮内すべての組織が含まれる。この装置では 6~7 秒間に得た平均測定値が表示される。

#### 4. 2. 5 光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測

母体腹壁の呼吸運動や腸管・子宮の蠕動により、計測対象となる胎盤が移動する可能性があるため、ここでの光音響信号計測は汎用超音波画像に光音響信号を重畳可能な超音波信号計測システムを使用し、超音波画像で胎盤の位置を確認しつつ光

音響信号を計測した。胎盤が最も腹壁から近い位置にあるものを光音響信号計測の対象とした。汎用超音波画像装置が発する超音波が光音響信号計測に影響するため、心拍監視対象の胎仔から十分離れた位置にいる胎仔を光音響信号計測の対象とした。

超音波信号計測システムのリニアアレイトランスデューサに両側から10本ずつ、計20本の光ファイバーを装着し（図15）、光ファイバーを介してパルス光を照射した。光ファイバーの配置によって焦点距離が約1 cmとなったため、体表に光の焦点が位置するように10 mm厚の音響結合用高分子ゲルをウサギ腹壁表面に置き、脱気した超音波用ゲルを介してトランスデューサを配置した。トランスデューサの周波数は9 MHzに設定した。照射光は750 nm、800 nmの2波長とし、条件は第3章と同様、パルス幅は6~8 ns、周波数は10 Hzである。1波長あたりの照射時間は5秒間、波長切り替えに4.5秒を要する。2波長の信号を取得したのち、データ保存に約1分の時間を要するため、光音響信号計測は1.5分ごとに施行した。

実験装置の配置を図16に示した。

#### 4. 2. 6 組織内血液酸素飽和度算出のための検量方法

得られた光音響信号から血液酸素飽和度を算出するため、ウサギ血液を用いた計測モデルを作成した。第3章で用いた血管モデルと同様に、ウサギから採取した血液にヘパリンを加えた。アガロースを体積比6%で生理食塩水に溶解させたものを40℃まで冷却したところに、体積比0.5%<sup>80)</sup>のウサギ血液と、散乱係数を調整するため静注用脂肪乳剤を加え、冷やし固めたものを皮膚・皮下組織モデルとした。静注用脂肪乳剤の混合率は、皮膚組織の等価散乱係数 $\mu_s'$ の文献値<sup>92)</sup>と用いた静注

用脂肪乳剤の等価散乱係数  $\mu_{SI}'$  の文献値<sup>93)</sup> から、式4-(2)を用い混合率を算出し 9% とした。

$$\mu_{SI}' = (1-g) \times 320 \times \left( \frac{\lambda}{1000} \right)^{-2.4}$$

$$\text{混合率 (\%)} = \frac{\mu_{SI}'}{\mu_{SI}'} \times 100 \quad 4-(2)$$

$\lambda$  はここで用いる光の波長(nm)を、 $g$  は光が散乱する方向により決定される定数であり、ここでは文献値より 0.66 とした<sup>93)</sup>。図17に示すようなアクリル製の枠に市販のポリ塩化ビニリデン膜を張り、前述した血液、静注用脂肪乳剤入りのアガロース液を流し込み固めた。ウサギの腹壁表面から子宮表面までの距離は約 3 から 4 mm であったため、厚さ 4 mm の皮膚・皮下組織モデルを作成した。

光音響信号を計測する胎盤モデルは、径 40 mm、高さ 13 mm のポリスチレン製ディッシュに血液希釈液を満たしたものをを用いた。胎盤が含有する血液量はおよそ 50% 程度<sup>79)</sup>であるため、ウサギ血液を体積比 50% として生理食塩水で希釈した液体を調整した。希釈血液 1 mL あたりに還元剤ジチオン酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) を 5 mg 添加し酸素飽和度を 0% に調整したものと<sup>67)</sup>、100% 酸素ガスを約 2 分間バブリングし酸素飽和度 100% に調整したもの<sup>29)</sup>をそれぞれ用意しディッシュに満たした。希釈血液表面と皮膚・皮下組織モデルとの間に空気が混入しないよう、ディッシュの上に皮膚・皮下組織モデルを置き (図17)、酸素飽和度 100%、0% の順に 750 nm、800 nm の波長光で光音響信号を取得した。この 100% と 0% のモデルの光音響信号に基づき第 3 章と同様に検量線を作成した (図17)。

#### 4. 2. 7 血液酸素飽和度分析方法と胎仔低酸素血症評価

図18に示すウサギ胎盤の超音波画像上で、母体皮膚・皮下組織、胎盤の2か所のRegion of Interest (ROI)を設定した。ウサギ胎盤は図19、図20Aに示すように、母体血のみを含む脱落膜と胎仔血・母体血の混在する迷路部に分けられるため、胎盤内部の詳細がすべての画像において弁別可能な例については、母体皮膚・皮下組織、脱落膜と迷路部の3か所にROIを設定した(図18)。パルス光周波数は10 Hzであるため1波長5秒間の2波長分の計測で光音響信号は1波長あたり51回記録される。51回記録された画像すべてにおいて、同一胎盤のほぼ同一の部分となるようROIを手動で設定した。母体皮膚は30ピクセル、胎盤は20ピクセルのROIとした。51回の平均のROI内に含まれるピクセルごとの光音響信号強度よりピクセルごとの総ヘモグロビン量および血液酸素飽和度を算出した。

ROI内の平均血液酸素飽和度を算出する際、ROIの血液量、つまり総ヘモグロビン量の分布を考慮する必要がある。各ピクセルは異なる総ヘモグロビン量を持っており、異なる酸素飽和度の血液が分布している。異なる総ヘモグロビン量を持つピクセルが集まったROIの平均血液酸素飽和度を計算するため、式4-(3)を用いて算出を行った。まず各ピクセルの血液酸素飽和度とそのピクセルの総ヘモグロビン量をかけて重みづけしたものを全ピクセル分加算し、ROI内のすべてのピクセルの総ヘモグロビン量で除すことで総ヘモグロビン量を相殺し、ROI内の平均血液酸素飽和度を算出した。

$$\text{ROI内平均血液酸素飽和度} = \frac{\sum_{i=1}^N (\text{tHb}_i \times \text{SO}_{2i})}{\sum_{i=1}^N \text{tHb}_i} \quad 4-(3)$$

ここで、 $N$ はROI内のピクセル数、 $tHb_i$ は任意のピクセル  $i$  内の総ヘモグロビン量、 $SO_{2i}$ は任意のピクセル  $i$  内の血液酸素飽和度を示す。

#### 4. 3 結 果

交配28日後の妊娠ウサギ 7羽を実験に用いた。用いたウサギの体重は  $3.68 \pm 0.26$  kgであり、平均妊娠胎仔数は  $8 \pm 2$  羽であった。

7羽のうち、1羽は Step5 で子宮内胎仔死亡及び母体死亡に到り、Step4 までの計測となったため、計 7羽、34ステップでの計測を行った。光音響信号計測により得られた組織内血液酸素飽和度は 373 ポイントであった。

図21のグラフは、胎仔心拍数波形レベル、NIRS 血液酸素飽和度、光音響技術による胎盤内及び母体皮膚・皮下組織内血液酸素飽和度の 7羽平均値を経時的に示したものである。Step1 における 7羽の母体の動脈血酸素飽和度平均は  $96.6 \pm 3.2\%$ 、NIRS による組織内血液酸素飽和度は  $57.1 \pm 7.1\%$ 、光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度は  $52.6 \pm 13.9\%$ 、母体皮膚・皮下組織血液酸素飽和度は  $74.6 \pm 10.4\%$  であった。

光音響技術による 2か所の組織内血液酸素飽和度（皮膚・皮下組織、胎盤）と NIRS による組織内血液酸素飽和度は、正常相から低酸素血症相までほぼ一様に緩徐に低下した。Step3 において光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度は最低値まで達し、その後の回復相（Step4 から 5）にかけては回復傾向に入ったが、NIRS 血液酸素飽和度および皮膚・皮下組織内血液酸素飽和度は最後まで緩徐に低下を続けた。なお、子宮内胎仔死亡に至った母体 1羽は胎盤内血液酸素飽和度が回復傾向

に入らなかった。胎仔心拍レベルは低酸素血症相後半から徐々に上昇を認め、

Step5 で初めて3以上の「急速遂婉を考慮」するレベルとなった。

画像条件が良好であった1羽で胎盤内光音響信号の詳細な分析を行った。図22はその1羽の胎仔心拍数波形図、光音響技術による3部位（脱落膜、迷路部、母体皮膚・皮下組織）の計測およびNIRSによる計測結果である。胎仔心拍はStep1で高度一過性徐脈を認めレベル3となった後、Step2と3ではほとんど変化せず、回復相のStep4後半で頻脈とともに一過性徐脈が1回発生し、判定はレベル3となった。

Step5で急激に徐脈に陥り、実験開始時点の2分の1未満となったため判定は4となった。同一個体でとらえられているNIRSによる血液酸素飽和度、光音響技術による脱落膜、皮膚・皮下組織内血液酸素飽和度は、Step1から2までは明らかな変化を認めなかったが、Step3で緩徐な低下が始まり、Step5に入り急激に低下した。一方、胎仔血を含む部位である迷路部の血液酸素飽和度は、Step3から緩徐に低下したものの、Step5前半まではほか部位に比べて低下が目立たない。Step5後半で胎仔心拍が急激な徐脈に陥ったのとほぼ同時に急激に低下したが、その低下幅は他部位が20~30パーセントポイントであるのに比較し、約10パーセントポイントにとどまった。

#### 4. 4 考 察

妊娠ウサギ7羽において、光音響技術を用い、母体皮膚・皮下組織および胎盤内血液酸素飽和度の計測を行った。同時に胎仔心拍数とNIRSによる組織内血液酸素飽和度の計測を行い、結果を比較した。

光音響技術によるウサギ胎盤内血液酸素飽和度の7羽平均では、正常相から低酸素血症相にかけて緩徐に低下し、その後の回復相で上昇を認めた。NIRSによる組織内血液酸素飽和度変化と、光音響技術による皮膚・皮下組織内血液酸素飽和度は、実験時間を通じてほぼ並行に緩徐な低下を続けた。胎仔心拍数波形判定レベルは、2手法による組織内血液酸素飽和度計測の低下よりも遅く変化する傾向があった。

ここで用いたNIRS装置は、組織内血液酸素飽和度の変化量を観察できる手法として既に商品化され臨床で用いられている。光音響技術による胎盤および母体皮膚・皮下組織内血液酸素飽和度の変化タイミングは、NIRSによる血液酸素飽和度の変化とおおよそ同時であり、各部位での低酸素血症をとらえる感度はNIRSとほぼ同等と考えられた。また、Step1の正常相における胎盤内血液酸素飽和度の7羽平均値は $52.6 \pm 13.9\%$ であった。ヒト満期娩出後胎盤において絨毛間腔血液の酸素飽和度を血液ガス分析で測定した複数の研究では、正常妊娠例においておよそ50から70%程度であったと報告されており<sup>94,95)</sup>、本研究の結果とほぼ合致する結果であった。光音響技術による組織内血液酸素飽和度計測の定量的な精度を絶対的に評価できる手法は存在しないが、この結果は光音響技術による組織内血液酸素飽和度計測値の精度をある程度裏付けるものと考えられる。

NIRSと光音響技術の最大の相違点は、光音響技術の持つ高い空間分解能である。ここで用いたNIRSによる組織内血液酸素飽和度は、ソマセンサーの発光部から受光部までの範囲で光が到達する深度約4 cmまでに含まれるすべての組織における血



液酸素飽和度の変化量の平均的な値である。この場合、母体皮膚・皮下組織、子宮壁、胎盤脱落膜、胎盤迷路部、胎仔を含む組織内の血液酸素飽和度の変化を一つの値として見る事となる。

図20にウサギとヒトの胎盤の模式図を示す。ウサギの胎盤はヒトと同様、血液漿膜胎盤と呼ばれる種類に分類され、その血管形態からヒトは絨毛型、ウサギは迷路型<sup>96)</sup>に分類される。ヒト胎盤では、母体血は子宮動脈から脱落膜内の子宮胎盤動脈（らせん動脈）へ運ばれ、胎盤胎児部である絨毛間腔へ噴出される。胎児血は、絨毛間腔内に臍帯動脈が樹状に分岐した「絨毛」として分布する。絨毛内の胎児血は1層の栄養膜を隔て絨毛間腔に満たされている母体血に接触し、物質交換が行われる<sup>97)</sup>。ウサギの胎盤では母体側のらせん動脈が脱落膜内で動脈洞を形成する。この動脈洞から複数の動脈が分岐し、胎盤胎児部である迷路部を胎仔側まで貫通したのち、胎盤胎児側から母体側に向けて蜘蛛の巣状の血管網を形成する。胎仔の血管は、迷路部に進入したのちに著明な分岐を形成しつつ胎盤母体側へ向かい、2層の栄養膜を隔て母体血との間で物質交換が行われたのち、臍帯静脈となって胎仔へと運搬<sup>98)</sup>される。この血管分布より、ウサギの胎盤の迷路部はヒト胎盤の絨毛間腔に相当する役割を果たし、迷路部内には母体・胎児血が混在し、脱落膜には母体血のみが存在する分布となる。

図21に示した7羽平均のグラフでは、母体呼吸回数回復ステップにおける NIRS による組織内血液酸素飽和度と光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度の推移の差が明らかとなった。回復相における胎盤内血液酸素飽和度の回復を検知したのは光音響技術のみであった。本研究で用いた低酸素血症モデルは、第2章で示したよう

に低酸素血症とともに末梢組織の虚血が起こる。ここで NIRS が計測している組織の層は母体皮膚・皮下組織、子宮壁、脱落膜、迷路部、胎仔の 5 層以上となる。末梢組織の虚血は各層によって異なる度合いで起こると考えられ、各層における総ヘモグロビン量は必ずしも一定の割合で低下するわけではない。このモデルにおいては急激に低酸素血症および虚血に陥るが、NIRS ではこうした急激な虚血が起こる場合、血液酸素飽和度が変化しなくとも総ヘモグロビン量の変化により計測値が変化することが指摘されており<sup>99)</sup>、本研究の結果においてもその性質が反映されているものと考えられる。また、NIRS は浅層と深層が異なる変化幅で変化する場合、浅層の変化を捉えやすいことが指摘されている<sup>100)</sup>。図21に表れている NIRS 結果と超音響技術による母体皮膚・皮下組織計測結果の並行な推移は、NIRS が浅層である皮膚・皮下組織の組織内血液酸素飽和度の変化を優先的にとらえている結果であると考えられた。対して、超音響技術による計測では、高い空間分解能のため浅層と深層の判別が可能であり、ROI内における総ヘモグロビン量による重みづけを行う算出法を取るため、総ヘモグロビン量変化にも影響を受けない。回復相における胎盤内血液酸素飽和度の回復を超音響技術によって捉えられたことは、他手法においては検出困難な胎仔血を含む部位の変化を正確に抽出できていることを示唆している。

図22に示した、胎盤内の詳細な超音響信号分析の一例では、胎仔血を含む迷路部の変化幅は一貫して他部位に比較し小さかった。これは、母体と胎仔による低酸素血症への代償を反映しているものと考えられる。

母体が急激な低酸素血症に陥ると、母体血中に含まれる酸素分圧が低下すると同時に、母体の末梢血管が収縮することで<sup>56,57)</sup>、母体組織へ供給される血液量が減少し、子宮動脈の血流が低下することが知られている<sup>101)</sup>。母体から胎盤への血流減少や母体血に含まれる酸素量低下が起こると、胎児は少ない供給酸素で生存するため適応反応を起こす<sup>101)</sup>。この現象は胎児が末梢組織への血流を低下させ脳への血流を優先する、いわゆる **brain sparing** と呼ばれる代償である<sup>102)</sup>。このような胎児側の代償により、胎児における酸素消費量は通常時よりも減少し<sup>101)</sup>、胎児の静脈血の酸素飽和度低下はある程度抑制される。同様に、低酸素血症において、母体組織内でも酸素消費量が減少することは第2章ですでに述べた。迷路部では、母体血と胎仔血が混在している状態であり、このような低酸素血症における母体側と胎仔側の代償反応の両者が起こる。他部位に比較して小さな低下幅であったことは、この両者の代償を反映した結果であり、超音響技術により胎仔血の変化を捉えていることを示唆している。迷路部における **Step5** 後半の急激な血液酸素飽和度の低下は胎仔心拍の低下とほぼ同じタイミングであり、胎仔徐脈に影響を受けたものかもしれない。このように、超音響技術による組織内血液酸素飽和度計測は、胎児の生理学的な変化をより詳細に分析できる手法として大きな意義を持つと言える。

本研究においては従来ヒト胎児低酸素血症の検索手法として広く用いられてきた胎児心拍数波形診断を併用した。ウサギにおける正常心拍数図や徐脈などの定義について標準化された指標が存在しないため、①基線変更 ②一過性徐脈の有無

③一過性徐脈の種類 ④高度徐脈の有無、の4点について簡易的に評価を行なうよう、レベル評価方法を設定した。

図21に示した7羽平均では、他2手法での組織内血液酸素飽和度の低下に遅れて上昇をする傾向が見られ、回復相の最後になって初めてレベル3を超えた。図22に示した胎仔では、他2手法で組織内血液酸素飽和度の低下がないにも関わらず正常相でレベル3となった。このことは胎児心拍数波形診断における胎児低酸素血症診断の「疑陽性」の例と考えられる。さらに他2手法による計測値の低下傾向があるにも関わらず、胎仔心拍には大きな変化はなく、回復相に入って初めて上昇した。これは胎児心拍数波形診断における、胎児低酸素血症の感度の低さを示した例と考えられる。胎児心拍数波形診断では軽度から中等度の低酸素血症を検出することは困難な場合があり、判定に一定時間を要するためリアルタイムに胎児の低酸素血症を反映できるとは言いがたい。胎児心拍数波形診断における限界を示唆する結果であった。胎児心拍数は、胎児の自律神経系や心筋抑制などの複雑な要因が組み合わさったアウトプットであり<sup>13)</sup>、胎児や母体における低酸素血症に対する代償により、胎児心拍数への変化が出にくい可能性が考えられる。胎盤や胎児、もしくは臍帯などの血液酸素飽和度の詳細な計測と胎児心拍数との比較により、これら胎児心拍数にかかわる生理的要因の動態を明らかにすることも期待できる。

#### 4. 5 小 括

光音響技術を用い、ウサギを用いて母体及び胎盤内の血液酸素飽和度計測を行った。NIRS および胎仔心拍数波形判定を併用し、3手法による胎仔低酸素血症の検

出能を評価した。光音響技術による胎盤内血液酸素飽和度計測により胎盤内の低酸素血症を正確に検出でき、胎仔血を含む部位の変化を抽出できることが示された。

## 第5章 総括と今後の課題

### 5.1 総括

胎児低酸素血症の新しい診断方法の開発のため、光音響技術を用いた一連の動物実験を行った。第2章でウサギを用いた可逆的な低酸素血症モデルを確立した。第3章では、光音響技術による高精度な血液酸素飽和度計測を目的とした。ウサギ低酸素血症モデルにおいて、適切な検量方法を用いることで高い精度の血液酸素飽和度計測を実現した。第4章では、第2章で確立した低酸素血症モデルを妊娠ウサギに応用し、胎仔心拍数波形によるレベル判定、NIRSによる組織内血液酸素飽和度の変化、光音響技術による組織内血液酸素飽和度の計測の3手法を同時に用い、胎仔低酸素血症の検出能の比較を行った。結果、光音響技術は、他2手法に比較し、胎仔血の状態を正確に反映した計測手法であることが示された。

### 5.2 本研究の限界

本研究の限界として3点挙げる。1点目は、光音響による血液酸素飽和度の精度証明範囲が比較的狭いことである。本研究で血液酸素飽和度対照値の計測に用いた血液ガス分析機器は可搬式血液ガス分析機i-STATであり、酸素飽和度計測の至適基準であるCOオキシメーターを用いることはできなかった。i-STATは低酸素飽和度領域での値の精度が低下すること<sup>103)</sup>が指摘されているため、光音響技術による血液酸素飽和度計測の精度証明を比較的高い酸素飽和度領域に限った。胎児血液は成

人血液よりも低酸素飽和度であり、胎児・胎盤内の血液酸素飽和度を計測する場合、低い酸素飽和度領域計測における光音響技術の信頼性を追求することが重要である。

2点目は、胎児ヘモグロビンと成人ヘモグロビンの光音響信号特性の評価が不完全であることである。第3章に記述したように、胎児ヘモグロビンと成人ヘモグロビンの光学特性はほぼ一致しており、ヘモグロビンの光吸収には有意な差はないものと考えられる。しかし、光を吸収したのちに起こる熱膨張において2つのヘモグロビンで有意な差がないかどうか、今後計測精度を追求する際に評価が必要と考えられる。

また、第4章の研究で対照手法として用いた胎児心拍数波形であるが、ウサギの正常胎仔心拍数波形の定義は存在せず、ここではヒトの胎児心拍数波形の判定方法を改変し使用した。そのため、徐脈の分類はヒトの胎児心拍数波形よりも少ない評価となり、現在日本産科婦人科学会が最も重視する基線細変動についてもヒト胎児と同様な評価が不可能であった。実際のヒトにおける胎児心拍数波形が胎盤内血液酸素飽和度とどのように関連するのか、その分析は胎児の低酸素血症がどのように胎児心拍に反映されるかという根源的な胎児生理の解明を含むものであり、今後の課題である。

### 5. 3 今後の課題と展望

本研究はヒトへの臨床応用を将来的な視野に入れたものであるが、光音響技術をヒトに応用するにあたって考慮すべきことが3点挙げられる。光に関する胎児への安全性の確保、計測限界深度の壁、そして画像解像度の追求である。

本研究で用いているナノ秒パルス光は、最も熱や圧力による傷害が発生しにくい照射方法であり<sup>104)</sup>、照射エネルギーはAmerican National Standard Instituteにより規定されている、生体照射の安全限界<sup>73)</sup>未満の強さであった。光照射により起こりうる生体損傷は光化学作用、光熱作用、光音響作用によるものに大別されるが<sup>105)</sup>、本研究で用いた波長、光エネルギーの範囲で最も考慮すべきは光熱作用である。

532 nmのNd-YAG Q-switch パルスレーザーをウサギ大動脈の外側から 60 mJ/cm<sup>2</sup> 照射した前後の血管壁及び内部の温度変化を観察した研究<sup>104)</sup>では、レーザー照射終了後 0.1 msec で血管壁の温度は最大で 1.1 °C上昇し、熱拡散により 20 msec で照射前の値に戻り、血管内部は温度変化をほとんど認めなかったことを報告している。

細胞レベルにおいても 40~45 °Cの低温の光熱作用は細胞内酵素の失活を起こすが回復可能であるとされており<sup>105)</sup>、安全限界未満の強さのパルス光によるごく一時的な光熱作用が生体組織に不可逆な損傷を起こす可能性はほとんど考えられない。さらに、母体に光熱障害を及ぼさない強さの光を、母体表面から子宮へ照射した場合、子宮内に届く光エネルギーは母体表面の光エネルギーよりもはるかに小さい。したがって、妊娠後期の胎盤のように、成熟した子宮内組織に一時的に光を照射することについての安全性はほぼ確実と考えられる。しかし、胎児のように在胎週数によって性質が変化する組織を持つ対象については、この光熱作用に関する安全性が不十分な可能性も考えられ、特に網膜への影響は無視できない。すでに光音響技術により早産児の脳静脈洞血液酸素飽和度の計測を行った報告もあるが<sup>106)</sup>、光を胎児へ照射することを想定する場合、動物における安全確認実験を通じ、新生児、分



娩直前の胎児、などの順で徐々に適用を拡大し、安全性を確保することが重要と考えられる。

光音響技術による物質濃度の計測は、組織内で起こる光の減衰と、光音響信号自体が微弱な超音波であるため、現在のところ深度2 cm程度までの計測限界が存在する。これをヒトに応用する場合、感度を上昇させる計測技術の向上と同時に、計測対象を計測限界以内に「位置させる」臨床上的努力が必要となる。胎児や胎児付属物の計測に用いる場合、産科領域での診療で日常的に用いられる経膣アプローチにより、対象への距離を大幅に短縮することができ、光を減衰させる最大の散乱体である皮膚を経由する必要がなくなる。内子宮口に近い位置にある胎盤や臍帯血管はもとより、胎児が頭位の場合、頭蓋骨の隙間である大泉門を介し胎児脳静脈洞などが計測範囲に入ることが想定できる。経膣アプローチは分娩進行中にも使用できる手法であり、現時点の計測限界深度であっても胎児心拍数波形判定の補助的診断ツールとしての役割は十分に果たせることが期待できる。

すでに、光音響技術を用いた微小血管像の臨床応用が進んでいる<sup>107)</sup>。現時点では総ヘモグロビン量を示す画像による微小血管の描出にとどまっているが、ここに血液酸素飽和度の情報を追加することにより、さらなる質的評価・量的評価が可能となる。本研究で用いた光音響信号計測系は画像解像度が比較的 low、動きのある生体を詳細に観察するにはいまだ困難がある。光音響画像の解像度やリアルタイム性をさらに上昇させ臨床応用に耐えうる質を追求することも今後の課題である。

本研究では、光音響技術を用い、ウサギ胎盤内血液酸素飽和度の経時的計測における基礎的技術を確立した。今後、安全確認実験や画像解像度の改善など、さらなる追究を重ね、ヒトへの臨床応用へとつなげていきたい。

## 第6章 結 論

- 1 ウサギを用い、呼吸回数を変更することで可逆的かつ安定した低酸素血症モデルを確立した。
- 2 低酸素血症モデルの露出血管において光音響技術による血液酸素飽和度計測を行った。適切な検量方法の選択により高精度な計測手法を確立した。
- 3 同モデルを用いて光音響技術、近赤外分光分析法、胎仔心拍数監視の3手法による胎仔低酸素血症の評価を行った。光音響技術により胎盤内低酸素血症を感度良く検出することができ、高い空間分解能により、他手法に比較し胎仔由来のデータを抽出することが可能であった。

## 研究業績

### 論文

Sei K, Fujita M, Hirasawa T, Okawa S, Kushibiki S, Sasa H, Furuya K, Ishihara M.

Appropriate timing of blood sampling for blood gas analysis in the ventilated rabbit. *J Surg Research*, 206(2):325-36.

Okawa S, Sei K, Hirasawa T, Irisawa K, Hirota K, Kushibiki T, Furuya K, Ishihara M.

In vivo photoacoustic imaging of uterine cervical lesion and its image processing based on light propagation in biological medium. *Proc. SPIE 10064, Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2017*.

### 学会発表 \*は発表者

\* 精きぐな、平沢壮、大川晋平、辻田和弘、櫛引俊宏、藤田真敬、古谷健一、石原美弥

光音響技術を用いた胎盤内血液酸素飽和度計測～胎児超音波診断における新しい定量的指標の可能性～

第40回母体胎児医学会学術集会（高松） 2017.08

\* 精きぐな、大川晋平、鈴木亜矢子、笹秀典、野口雅史、入澤覚、和田隆亜、古谷健一、石原美弥

子宮頸部前癌病変における光音響技術の臨床応用

第90回日本超音波医学会（宇都宮）, 2017.05

超音波医学2017.04; S728

\* 大川晋平、精きぐな、新地祐介、中村亜希子、平沢壮、津田均、和田隆亜、堀口明男、櫛引俊宏、笹秀典、古谷健一、浅野友彦、石原美弥

Noninvasive photoacoustic imaging using microconvex probe.

第94回日本生理学会大会（浜松） 2017.03

The Journal of Physiological Sciences (Proceedings of the 94<sup>th</sup> Annual Meeting March 28-30, 2017 Hamamatsu, Japan), 67(1):S37, 2017.03

\* Sei K, Sasa H, Suzuki A, Yoshikawa T, Aoyama T, Miyamoto M, Takano M, Furuya K.

Clinical application of photoacoustic imaging for uterine cervical lesion: a preliminary report.

第69回日本産科婦人科学会学術講演会（広島）, 2017.04

日本産科婦人科学会雑誌 2016.02; 68(2):745

\*Sei K, Sasa H, Ishihara M, Okawa S, Hirasawa T, Nakamura A, Irisawa K, Wada T,

Furuya K.

Clinical application of photoacoustic imaging for uterine cervical cancer screening: Report of preliminary study. 15<sup>th</sup> Japan-Korea Joint Meeting for Diagnostic Cytopathology, Jeju, Korea,

2016.10

精きぐな、平沢壮、藤田真敬、古谷健一、\* 石原美弥

血液酸素飽和度の光音響測定精度管理のための実験モデル

日本超音波医学会平成27年度第4回光超音波画像研究会, 2016.03

日本超音波学会平成27年度第4回光超音波画像研究会プログラム・抄録集：5-6

## 謝 辞

一連の研究の機会をお与えいただき、貴重なご指導をいただきました、防衛医科大学校医用工学講座 平沢壮 助教、大川晋平 学内講師、櫛引俊宏 准教授、石原美弥 教授、防衛医科大学校防衛医学研究センター 異常環境衛生研究部門 藤田真敬 一等空佐・教授、防衛医科大学校循環器内科講座 足立健 教授、防衛医科大学校産科婦人科講座 古谷健一 教授に、心より御礼申し上げます。

また、研究期間を通じ、あたたかいご支援をいただきました、防衛医科大学校産科婦人科講座 牧村紀子 講師、鈴木亜矢子 助教 ほか防衛医科大学校各所の方々に篤く御礼申し上げます。

最後に、研究者としての先達である両親に感謝の意を表し、謝辞といたします。

## 引用文献

- 1) Schneider H. Oxygenation of the placental–fetal unit in humans. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2011;178(1):51-8.
- 2) Stanek J. Hypoxic patterns of placental injury: a review. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2013;137(5):706-20.
- 3) Signore C, Freeman RK, Spong CY. Antenatal testing—a reevaluation: executive summary of a Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Obstetrics and gynecology*. 2009;113(3):687-701.
- 4) Derrick M, Luo NL, Bregman JC, Jilling T, Ji X, Fisher K, et al. Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: a model for human cerebral palsy? *Journal of Neuroscience*. 2004;24(1):24-34.
- 5) Kennedy E. *Observations on Obstetric Auscultation: With an Analysis of the Evidences of Pregnancy, and an Inquiry Into the Proofs of the Life and Death of the Foetus in Utero*: J. & HG Langley, 57 Chatham St.; 1833.
- 6) Hon EH. A fetal electrocardiographic electrode. *The Yale journal of biology and medicine*. 1966;39(1):54.
- 7) Caldeyro-Barcia R, Mendez-Bauer C, Poseiro J, Escarcena L, Pose S, Bieniarz J, et al. Control of human fetal heart rate during labor. *The heart and circulation in the newborn and infant*. 1966:7-36.
- 8) Hammacher K. The diagnosis of fetal distress with an electronic fetal heart monitor. *Intrauterine dangers to the fetus Amsterdam, Excerpta Medic*. 1967.
- 9) Kubli F, Hon EH, Khazin A, Takemura H. Observations on heart rate and pH in the human fetus during labor. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1969;104(8):1190-206.
- 10) 日本産婦人科学会 . 産科診療ガイドライン 2014(CQ411). 2014.
- 11) East CE, Leader LR, Sheehan P, Henshall NE, Colditz PB, Lau R. Intrapartum fetal scalp lactate sampling for fetal assessment in the presence of a non-reassuring fetal heart rate trace. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;5.
- 12) Nelson KB, Dambrosia JM, Ting TY, Grether JK. Uncertain value of electronic fetal

- monitoring in predicting cerebral palsy. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(10):613-9.
- 13) Martin C, De Haan J, Van der Wildt B, Jongsma H, Dieleman A, Arts T. Mechanisms of late decelerations in the fetal heart rate: a study with autonomic blocking agents in fetal lambs. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 1979;9(6):361-73.
- 14) 濱田真一, 土田充, 村田雄二. 胎児心拍数モニタリング発展の歴史. *臨床婦人科産科*. 2016;70(7):570-7.
- 15) Graham EM, Adami RR, McKenney SL, Jennings JM, Burd I, Witter FR. Diagnostic accuracy of fetal heart rate monitoring in the identification of neonatal encephalopathy. *Obstetrics and gynecology*. 2014;124(3):507-13.
- 16) Aoyagi T. Pulse oximetry. *Kokyu*. 1992;11:560-7.
- 17) Severinghaus JW. Takuo Aoyagi: discovery of pulse oximetry. *Anesthesia & Analgesia*. 2007;105(6):S1-S4.
- 18) Kakogawa J, Kanayama N. Application of near-infrared spectroscopy for the evaluation of placental oxygenation. *Open Medical Devices Journal*. 2012;4:22-7.
- 19) Macnab A, Shadgan B, Janssen P, Rurak D, editors. Fetal oxygenation measurement using wireless near infrared spectroscopy. *SPIE BiOS; 2012: International Society for Optics and Photonics*.
- 20) Arthuis CJ, Novell A, Raes F, Escoffre J-M, Lerondel S, Le Pape A, et al. Real-Time Monitoring of Placental Oxygenation during Maternal Hypoxia and Hyperoxygenation Using Photoacoustic Imaging. *PloS one*. 2017;12(1):e0169850.
- 21) Bell AG. *Upon the production of sound by radiant energy*: Gibson Brothers, printers; 1881.
- 22) Beard P. Biomedical photoacoustic imaging. *Interface focus*. 2011;1(4):602-31.
- 23) Feiner JR, Rollins MD, Sall J, Eilers H, Au P, Bickler PE. Accuracy of carboxyhemoglobin detection by pulse CO-oximetry during hypoxemia. *Anesthesia and analgesia*. 2013;117(4):847.



- 24) Laufer J, Elwell C, Delpy D, Beard P. In vitro measurements of absolute blood oxygen saturation using pulsed near-infrared photoacoustic spectroscopy: accuracy and resolution. *Physics in medicine and biology*. 2005;50(18):4409-28.
- 25) Zhang HF, Maslov K, Sivaramakrishnan M, Stoica G, Wang LV. Imaging of hemoglobin oxygen saturation variations in single vessels in vivo using photoacoustic microscopy. *Applied physics letters*. 2007;90(5):053901.
- 26) Hussain A, Petersen W, Staley J, Hondebrink E, Steenbergen W. Quantitative blood oxygen saturation imaging using combined photoacoustics and acousto-optics. *Optics letters*. 2016;41(8):1720-3.
- 27) Lakshman M, Needles A. Screening and quantification of the tumor microenvironment with micro-ultrasound and photoacoustic imaging. *Nature Methods*. 2015;12(4).
- 28) Petri M, Stoffels I, Jose J, Leyh J, Schulz A, Dissemond J, et al. Photoacoustic imaging of real-time oxygen changes in chronic leg ulcers after topical application of a haemoglobin spray: a pilot study. *Journal of wound care*. 2016;25(2):87-91.
- 29) Tzoumas S NA, Olefir I, Stangl S, Symvoulidis P, et al. Eigenspectra optoacoustic tomography achieves quantitative blood oxygenation imaging deep in tissues. *Nature Communications*. 2016;7(12121).
- 30) Petrov I, Petrov Y, Prough D, Deyo D, Cicenaitis I, Esenaliev R. Optoacoustic monitoring of cerebral venous blood oxygenation through extracerebral blood. *Biomedical optics express*. 2012;3(1):125-36.
- 31) Needles A, Heinmiller A, Sun J, Theodoropoulos C, Bates D, Hirson D, et al. Development and initial application of a fully integrated photoacoustic micro-ultrasound system. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*. 2013;60(5):888-97.
- 32) Fischer B, Chavatte-Palmer P, Viebahn C, Santos AN, Duranthon V. Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction*. 2012;144(1):1-10.
- 33) Wenger S. Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *Journal of exotic pet medicine*. 2012;21(1):7-16.

- 34) Lee RC. The rectal temperature of the normal rabbit. *American Journal of Physiology--Legacy Content*. 1939;125(3):521-9.
- 35) Kim KS, Shim JC, Jun JH, Lee KH, Chung CW. Rabbits treated with chronic isepamicin are resistant to mivacurium and rocuronium. *Anesthesia & Analgesia*. 1999;88(3):654-8.
- 36) Terakawa Y, Ichinohe T, Kaneko Y. Rocuronium and vecuronium do not affect mandibular bone marrow and masseter muscular blood flow in rabbits. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2010;68(1):15-20.
- 37) Drorbaugh JE. Pulmonary function in different animals. *Journal of applied physiology*. 1960;15(6):1069-72.
- 38) Stahl WR. Scaling of respiratory variables in mammals. *J appl Physiol*. 1967;22(3):453-60.
- 39) Lowry DW, Mirakhur RK, McCarthy GJ, Carroll MT, McCourt KC. Neuromuscular effects of rocuronium during sevoflurane, isoflurane, and intravenous anesthesia. *Anesthesia & Analgesia*. 1998;87(4):936-40.
- 40) Aeschbacher G, Webb A. Propofol in rabbits. 2. Long-term anesthesia. *Laboratory animal science*. 1993;43(4):328-35.
- 41) Chiu HM, Hirsh J, Yung WL, Regoeczi E, Gent M. Relationship between the anticoagulant and antithrombotic effects of heparin in experimental venous thrombosis. *Blood*. 1977;49(2):171-84.
- 42) Shah PS, Shah VS. Continuous heparin infusion to prevent thrombosis and catheter occlusion in neonates with peripherally placed percutaneous central venous catheters. *The Cochrane Library*. 2008.
- 43) Zotti A, Banzato T, Cozzi B. Cross-sectional anatomy of the rabbit neck and trunk: comparison of computed tomography and cadaver anatomy. *Research in veterinary science*. 2009;87(2):171-6.
- 44) McGuill MW, Rowan AN. Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. *ILAR Journal*. 1989;31(4):5-20.
- 45) Dimeski G. Blood Gas and pH Analysis and Related Measurements; Approved Guideline.

Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2009.

- 46) Sasse SA, Jaffe MB, Chen PA, Voelker KG, Mahutte CK. Arterial oxygenation time after an FIO<sub>2</sub> increase in mechanically ventilated patients. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1995;152(1):148-52.
- 47) Cakar N, Tuđrul M, Demirarslan A, Nahum A, Adams A, Akýncý Ö, et al. Time required for partial pressure of arterial oxygen equilibration during mechanical ventilation after a step change in fractional inspired oxygen concentration. *Intensive care medicine*. 2001;27(4):655-9.
- 48) Roughton F. Transport of oxygen and carbon dioxide. *Handbook of physiology*. 1964;1:767-825.
- 49) Edwards A, Korner P, Thorburn G. The cardiac output of the unanaesthetized rabbit, and the effects of preliminary anaesthesia, environmental temperature and carotid occlusion. *Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences*. 1959;44(3):309-21.
- 50) Vegfords M, Sjöberg F, Lindberg LG, Gustafsson U, Lennmarken C. Basic studies of pulse oximetry in a rabbit model. *Acta anaesthesiologica scandinavica*. 1991;35(7):596-9.
- 51) Vegfors M, Lindberg L, Öberg P, Lennmarken C. The accuracy of pulse oximetry at two haematocrit levels. *Acta anaesthesiologica scandinavica*. 1992;36(5):454-9.
- 52) Yang Y, Xie B, Zhou Z, Liu J, Xue Y, Lv G. Computer analysis system of blood oxygen saturation in an animal hypoxia model. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 1998;36(3):355-8.
- 53) Ivanov S, Nunn J. Influence of duration of hyperventilation on rise time of Pco<sub>2</sub>, after step reduction of ventilation. *Respiration physiology*. 1968;5(2):243-9.
- 54) Slonim NB, Hamilton LH. *Respiratory physiology*: Mosby Inc; 1987.
- 55) Korner P, Edwards A. The immediate-effects of acute hypoxia on the heart rate, arterial pressure, cardiac output and ventilatio of the unanæsthetized rabbit. *Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences*. 1960;45(2):113-22.
- 56) Calbet JA, Boushel R, Rådegran G, Søndergaard H, Wagner PD, Saltin B. Determinants

- of maximal oxygen uptake in severe acute hypoxia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2003;284(2):R291-R303.
- 57) Mortola JP, Rezzonico R, Lanthier C. Ventilation and oxygen consumption during acute hypoxia in newborn mammals: a comparative analysis. *Respiration physiology*. 1989;78(1):31-43.
- 58) Kiening KL, Unterberg AW, Bardt TF, Schneider G-H, Lanksch WR. Monitoring of cerebral oxygenation in patients with severe head injuries: brain tissue PO<sub>2</sub> versus jugular vein oxygen saturation. *Journal of neurosurgery*. 1996;85(5):751-7.
- 59) Agusti A, Roca J, Barbera J, Casademont J, Rodriguez-Roisin R, Wagner P. Effect of sampling site on femoral venous blood gas values. *Journal of Applied Physiology*. 1994;77(4):2018-22.
- 60) Prah S. Optical absorption of hemoglobin. Oregon Medical Laser Center, <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/index.html>. 1999;15.
- 61) Song W, Wei Q, Liu W, Liu T, Yi J, Sheibani N, et al. A combined method to quantify the retinal metabolic rate of oxygen using photoacoustic ophthalmoscopy and optical coherence tomography. *Scientific reports*. 2014;4:6525.
- 62) Wang Y, Hu S, Maslov K, Zhang Y, Xia Y, Wang LV. In vivo integrated photoacoustic and confocal microscopy of hemoglobin oxygen saturation and oxygen partial pressure. *Optics letters*. 2011;36(7):1029-31.
- 63) Li W, Chen X. Gold nanoparticles for photoacoustic imaging. *Nanomedicine*. 2015;10(2):299-320.
- 64) Jiang Y, Forbrich A, Harrison T, Zemp RJ. Blood oxygen flux estimation with a combined photoacoustic and high-frequency ultrasound microscopy system: a phantom study. *Journal of biomedical optics*. 2012;17(3):0360121-8.
- 65) Organization WH. Recommended methodology for using WHO International Reference Preparations for Thromboplastin. 1983.
- 66) Wong LC, Langille BL. Developmental remodeling of the internal elastic lamina of rabbit arteries effect of blood flow. *Circulation research*. 1996;78(5):799-805.

- 67) Vandegriff K, Olson J. The kinetics of O<sub>2</sub> release by human red blood cells in the presence of external sodium dithionite. *Journal of Biological Chemistry*. 1984;259(20):12609-18.
- 68) Ishihara M, Sato M, Kaneshiro N, Mitani G, Sato S, Mochida J, et al. Development of a diagnostic system for osteoarthritis using a photoacoustic measurement method. *Lasers in surgery and medicine*. 2006;38(3):249-55.
- 69) Bland JM, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*. 1986;327(8476):307-10.
- 70) Myles P, Cui J. I. Using the Bland–Altman method to measure agreement with repeated measures. *British journal of anaesthesia*. 2007;99(3):309-11.
- 71) American National Standards Institute I. Laser Institute of America, American National Standard for Safe Use of Lasers ANSI Z136.1-2014; 2014.
- 72) Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of tumor recurrence and therapy monitoring using ultrasound-guided photoacoustic imaging. *Theranostics*. 2015;5(3):289-301.
- 73) Kocsis L, Herman P, Eke A. The modified Beer–Lambert law revisited. *Physics in medicine and biology*. 2006;51(5):N91-N98.
- 74) Hammer M, Schweitzer D, Michel B, Thamm E, Kolb A. Single scattering by red blood cells. *Applied Optics*. 1998;37(31):7410-8.
- 75) Sakota D, Takatani S. Photon-cell interactive Monte Carlo model based on the geometric optics theory for photon migration in blood by incorporating both extra-and intracellular pathways. *Journal of biomedical optics*. 2010;15(6):065001-14.
- 76) Esenaliev RO, Larina IV, Larin KV, Deyo DJ, Motamedi M, Prough DS. Optoacoustic technique for noninvasive monitoring of blood oxygenation: a feasibility study. *Applied Optics*. 2002;41(22):4722-31.
- 77) Laufer J, Delpy D, Elwell C, Beard P. Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy: application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration. *Physics in medicine*

- and biology. 2006;52(1):141-168.
- 78) Friebel M, Do K, Hahn A, Mu G. Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400–2500 nm. *Journal of biomedical optics*. 1999;4(1):36-46.
- 79) Egbor M, Ansari T, Morris N, Green C, Sibbons P. Maternal medicine: Morphometric placental villous and vascular abnormalities in early-and late-onset pre-eclampsia with and without fetal growth restriction. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2006;113(5):580-9.
- 80) Lister T, Wright PA, Chappell PH. Optical properties of human skin. *Journal of biomedical optics*. 2012;17(9):0909011-09090115.
- 81) Reynolds KJ, Palayiwa E, Moyle JT, Sykes MK, Hahn CE. The effect of dyshemoglobins on pulse oximetry: Part I, Theoretical approach and Part II, Experimental results using an in vitro test system. *Journal of clinical monitoring*. 1993;9(2):81-90.
- 82) Harris AP, Sendak MJ, Donham RT, Thomas M, Duncan D. Absorption characteristics of human fetal hemoglobin at wavelengths used in pulse oximetry. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*. 1987;4(3):175-7.
- 83) Hasegawa J, Nakamura M, Matsuoka R, Mimura T, Ichizuka K, Sekizawa A, et al. Evaluation of placental function using near infrared spectroscopy during fetal growth restriction. *Journal of perinatal medicine*. 2010;38(1):29-32.
- 84) Duncan SL. The partition of uterine blood flow in the pregnant rabbit. *The Journal of physiology*. 1969;204(2):421-433.
- 85) Raffe M, Carpenter R. *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 2007.
- 86) Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Spong CY, Dashe J. *Williams Obstetrics, 24e*: McGraw-Hill; 2014.
- 87) Ngamprasertwong P, Habli M, Boat A, Lim FY, Esslinger H, Ding L, et al. Maternal hypotension during fetoscopic surgery: incidence and its impact on fetal survival outcomes. *The Scientific World Journal*. 2013;2013:709059.
- 88) Donker AJ, Min I, Venuto RC. The conscious instrumented rabbit: a model for the study of mechanisms of blood pressure regulation during pregnancy. *Hypertension*.

- 1983;5(4):514-20.
- 89) Degoute C-S. Controlled hypotension. *Drugs*. 2007;67(7):1053-76.
- 90) Frizelle HP, Duranteau J, Samii K. A comparison of propofol with a propofol-ketamine combination for sedation during spinal anesthesia. *Anesthesia & Analgesia*. 1997;84(6):1318-22.
- 91) Barzago M, Bortolotti A, Omarini D, Aramayona J, Bonati M. Monitoring of blood gas parameters and acid-base balance of pregnant and non-pregnant rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in routine experimental conditions. *Laboratory animals*. 1992;26(2):73-9.
- 92) Jacques SL. Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in medicine and biology*. 2013;58(11):R37-R61.
- 93) Van Staveren HJ, Moes CJ, van Marie J, Prahl SA, Van Gemert MJ. Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm. *Applied optics*. 1991;30(31):4507-14.
- 94) Prystowsky H. FETAL BLOOD STUDIES VII. The oxygen pressure gradient between the maternal and fetal bloods of the human normal and abnormal pregnancy. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 1957;12(6):833-6.
- 95) Fujikura T, Yoshida J. Blood gas analysis of placental and uterine blood during cesarean delivery. *Obstetrics & Gynecology*. 1996;87(1):133-6.
- 96) Enders A, Carter AM. What can comparative studies of placental structure tell us?—A review. *Placenta*. 2004;25:S3-S9.
- 97) Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R. *Pathology of the human placenta*. 2000. New York: Springer.
- 98) Carter A, Göthlin J, Olin T. An angiographic study of the structure and function of the uterine and maternal placental vasculature in the rabbit. *Journal of reproduction and fertility*. 1971;25(2):201-10.
- 99) Ogoh S, Sato K, Okazaki K, Miyamoto T, Secher F, Sørensen H, et al. A decrease in spatially resolved near-infrared spectroscopy-determined frontal lobe tissue oxygenation by phenylephrine reflects reduced skin blood flow. *Anesthesia & Analgesia*.

- 2014;118(4):823-9.
- 100) Re R, Contini D, Zucchelli L, Torricelli A, Spinelli L. Effect of a thin superficial layer on the estimate of hemodynamic changes in a two-layer medium by time domain NIRS. *Biomedical optics express*. 2016;7(2):264-78.
- 101) Wilkening RB, Meschia G. Fetal oxygen uptake, oxygenation, and acid-base balance as a function of uterine blood flow. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1983;244(6):H749-H55.
- 102) Donofrio M, Bremer Y, Schieken R, Gennings C, Morton L, Eidem BW, et al. Autoregulation of cerebral blood flow in fetuses with congenital heart disease: the brain sparing effect. *Pediatric cardiology*. 2003;24(5):436-43.
- 103) Verwaerde P, Malet C, Lagente M, De La Farge F, Braun J. The accuracy of the i-STAT portable analyser for measuring blood gases and pH in whole-blood samples from dogs. *Research in veterinary science*. 2002;73(1):71-5.
- 104) Sethuraman S, Aglyamov SR, Smalling RW, Emelianov SY. Remote temperature estimation in intravascular photoacoustic imaging. *Ultrasound in medicine & biology*. 2008;34(2):299-308.
- 105) Thomsen S. Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interactions. *Photochemistry and photobiology*. 1991;53(6):825-35.
- 106) Petrov IY, Fonseca RA, Richardson CJ, Petrov Y, Prough DS, Petrov A, et al., editors. Monitoring cerebral venous blood oxygenation in neonates with a medical-grade optoacoustic system. SPIE BiOS; 2015: International Society for Optics and Photonics.
- 107) Horiguchi A, Tsujita K, Irisawa K, Kasamatsu T, Hirota K, Kawaguchi M, et al. A pilot study of photoacoustic imaging system for improved real - time visualization of neurovascular bundle during radical prostatectomy. *The Prostate*. 2016;76(3):307-15.



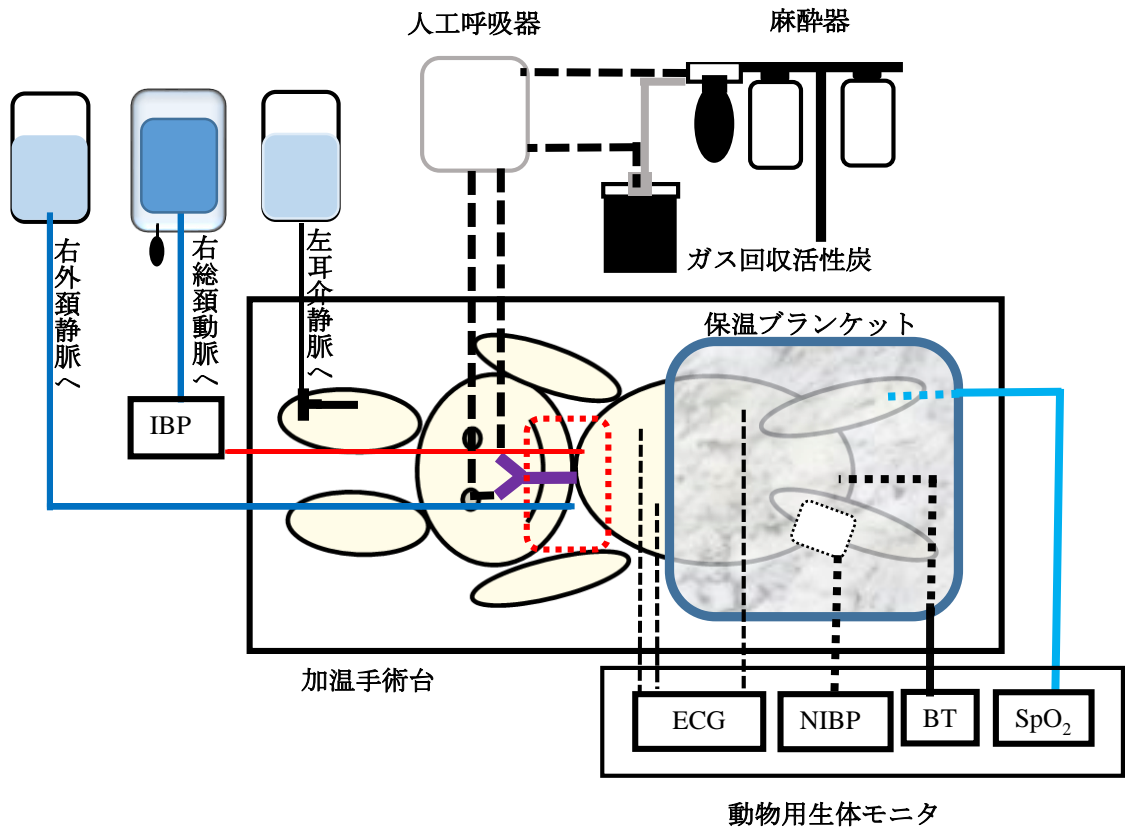


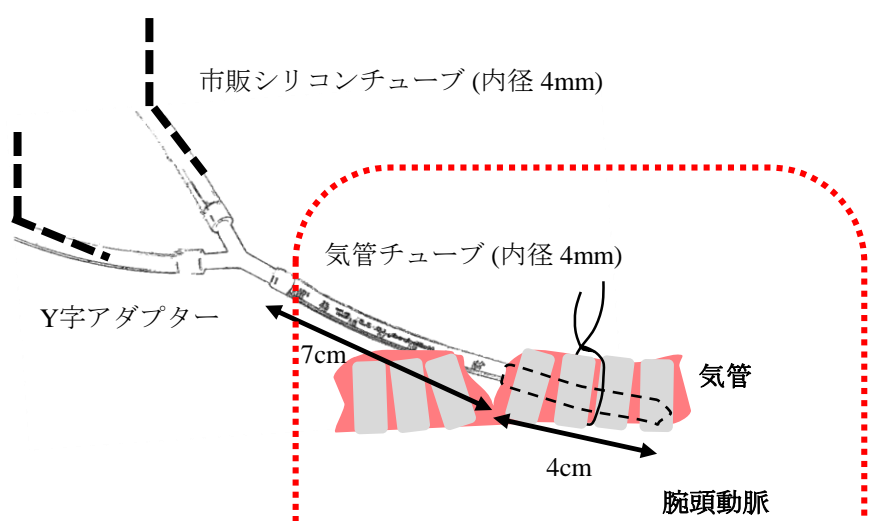
図1 実験機器の配置と麻酔回路

赤破線の四角部分での外科処置は図2に詳細を示す。

ECG:心電図、NIBP:非観血的血圧、BT:体温（直腸温）、

SpO<sub>2</sub> : 経皮的動脈酸素飽和度、IBP : 観血的血圧

A



B

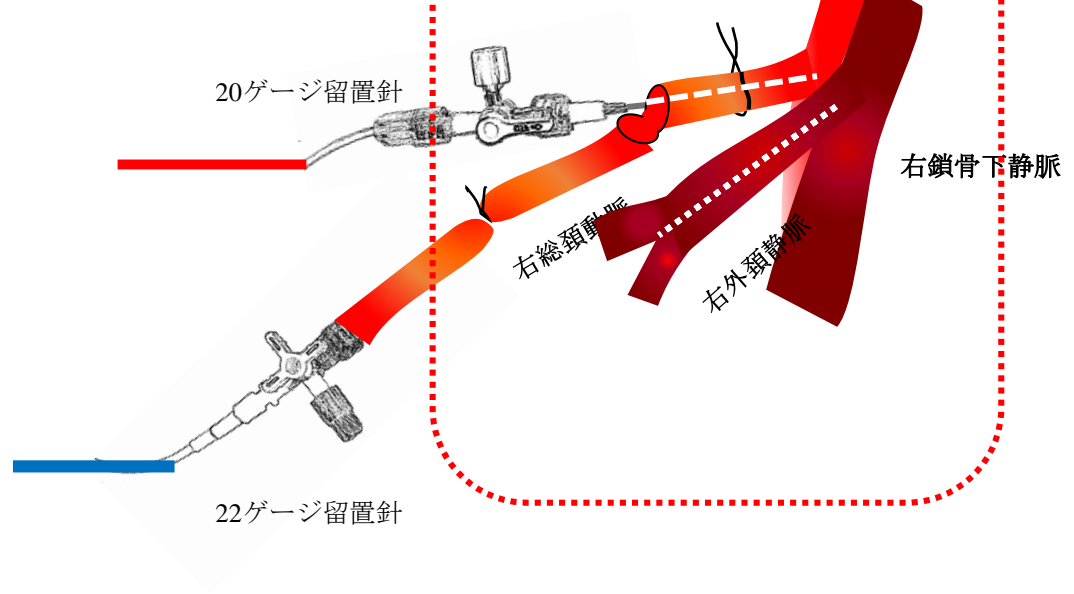
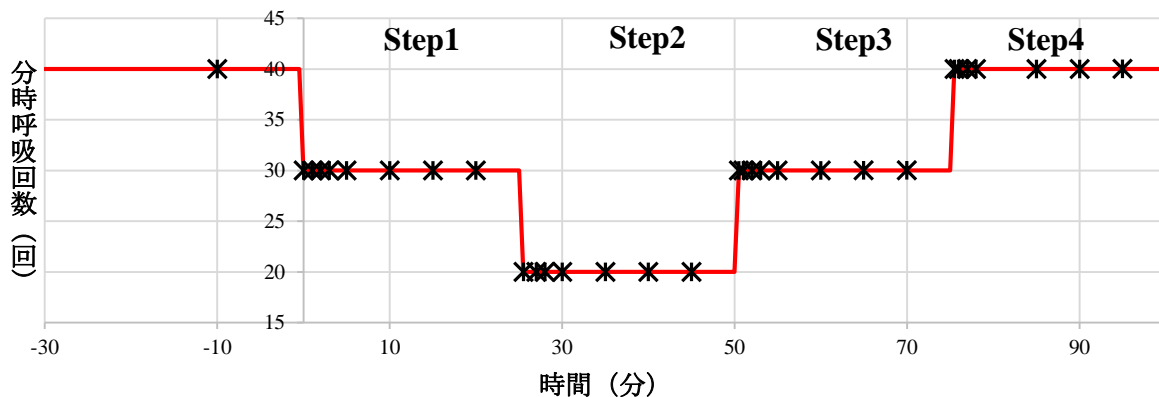


図2 A. 気管挿管の図  
B. 動静脈カテーテル留置

A. 実験1 動脈血血液ガス分析値の検討



B. 実験2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値の検討

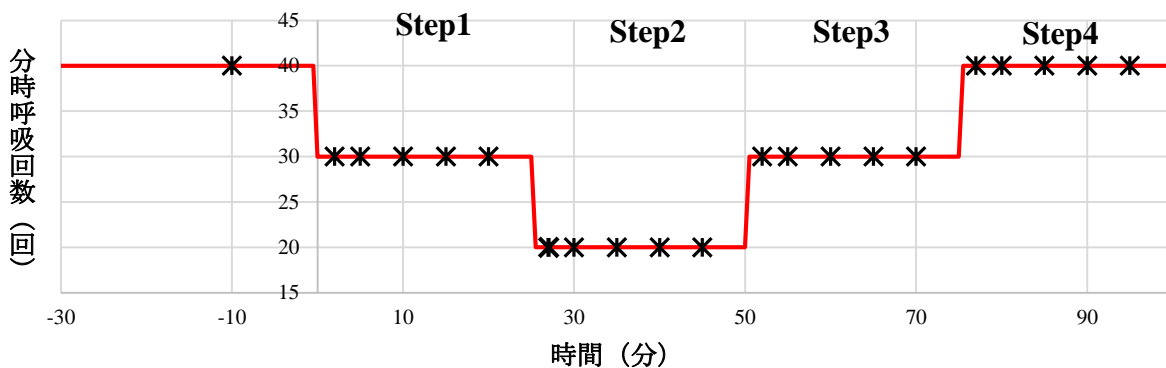


図3 第2章で行ったウサギ低酸素血症モデル作成における呼吸回数変更および採血タイミング。図中の\*は各ステップにおける採血タイミングを示す。

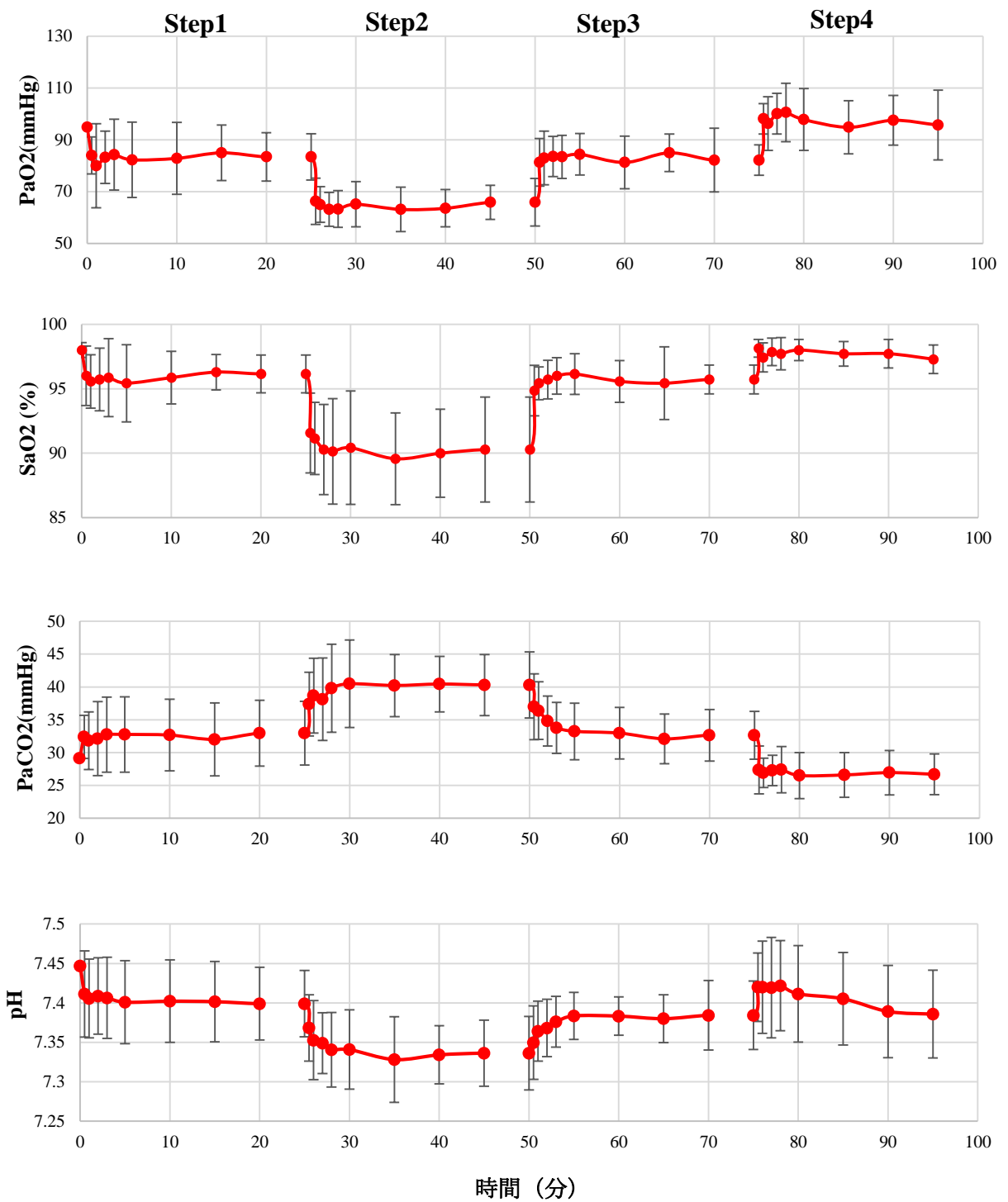


図4 実験 1 動脈血血液ガス分析値の検討

呼吸回数変更後0,0.5,1,2,5,10,15,20分後動脈血血液ガス分析を施行。

酸素分圧 (PaO<sub>2</sub>)、二酸化炭素分圧 (PaCO<sub>2</sub>)、pH、酸素飽和度 (SaO<sub>2</sub>) の推移を示す。

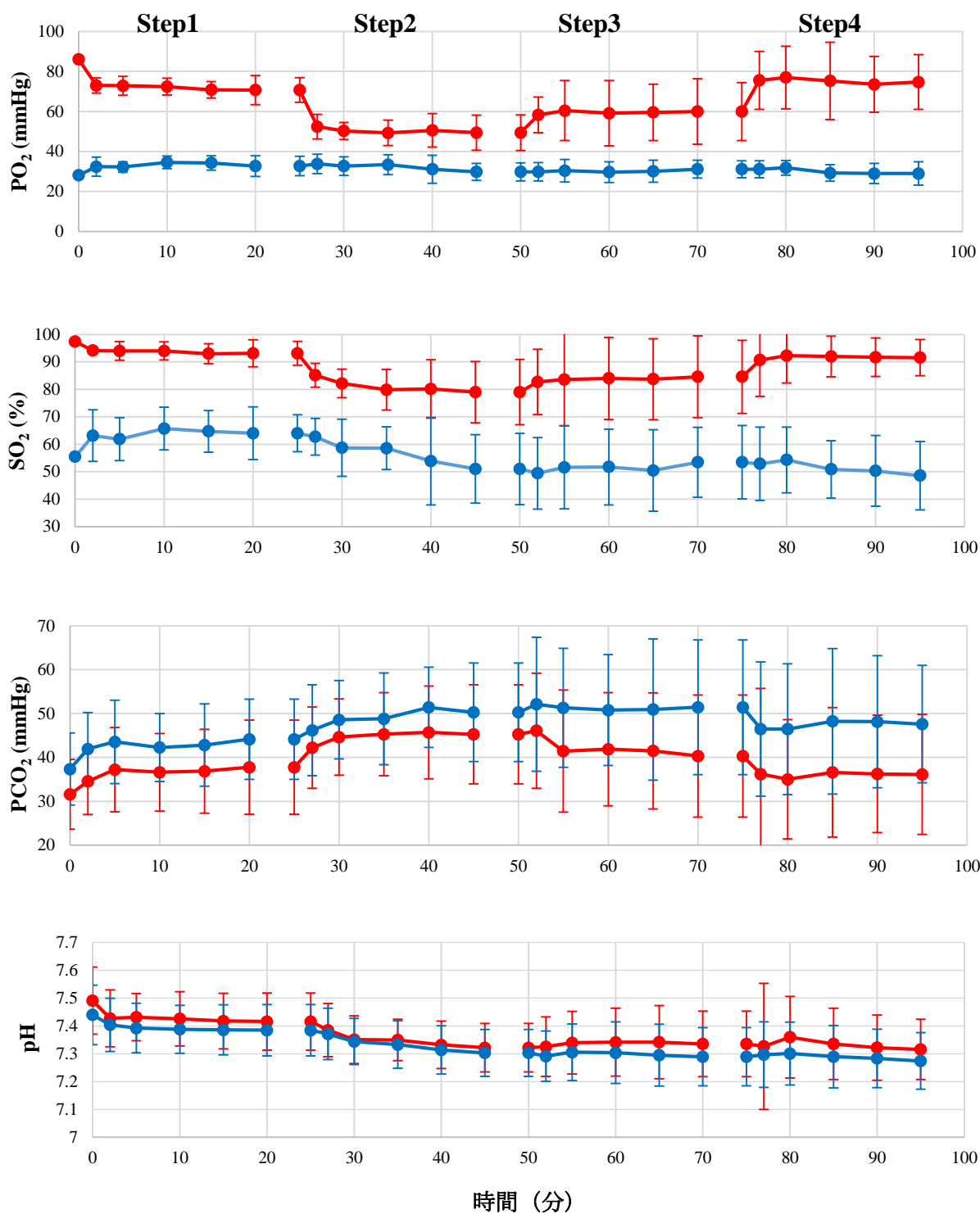


図5 実験2 同時採血の動静脈血血液ガス分析値の検討

呼吸回数変更後0, 2, 5, 10, 15, 20分後の動脈（赤）および静脈（青）血血液ガス分析を施行。酸素分圧（ $PO_2$ ）、酸素飽和度（ $SO_2$ ）、二酸化炭素分圧（ $PCO_2$ ）、pHの推移を示す。

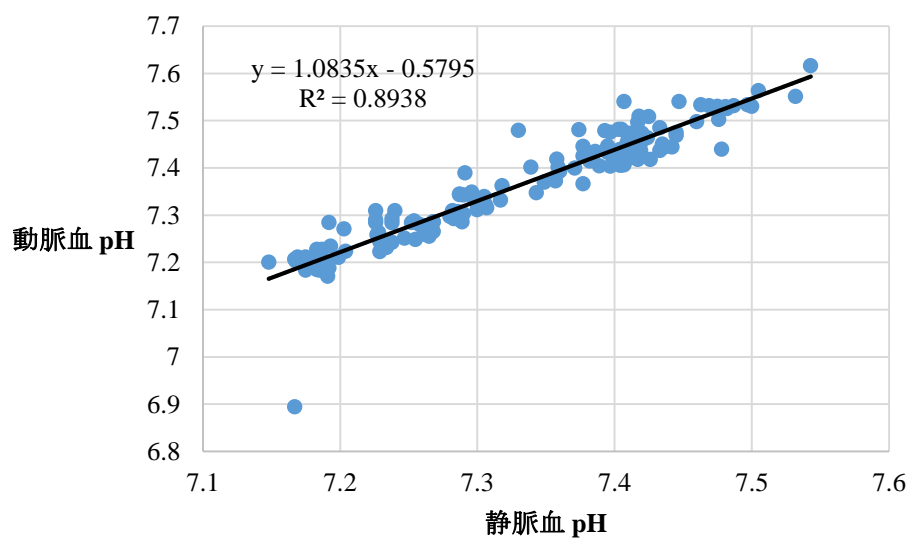
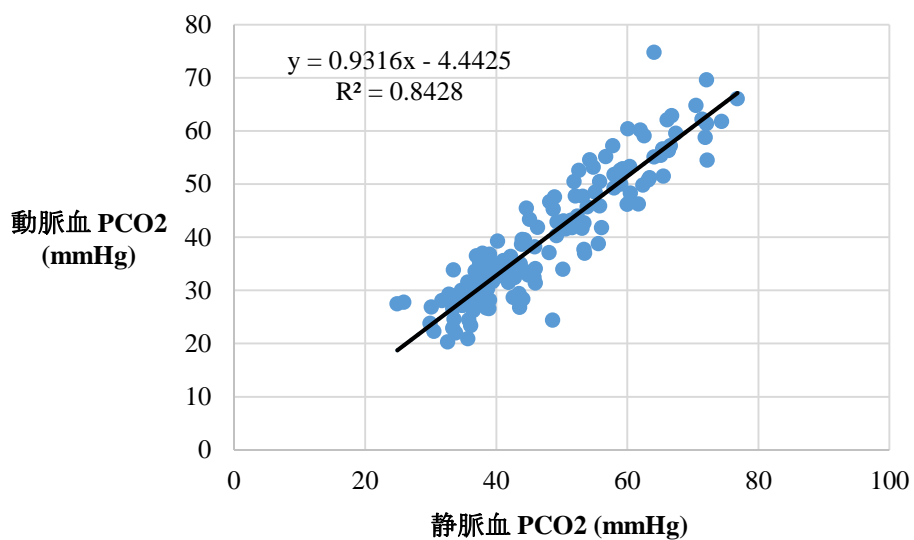


図6 静脈血と動脈血血液ガス分析の相関を示す散布図  
 PCO<sub>2</sub> (上図) とpH (下図)

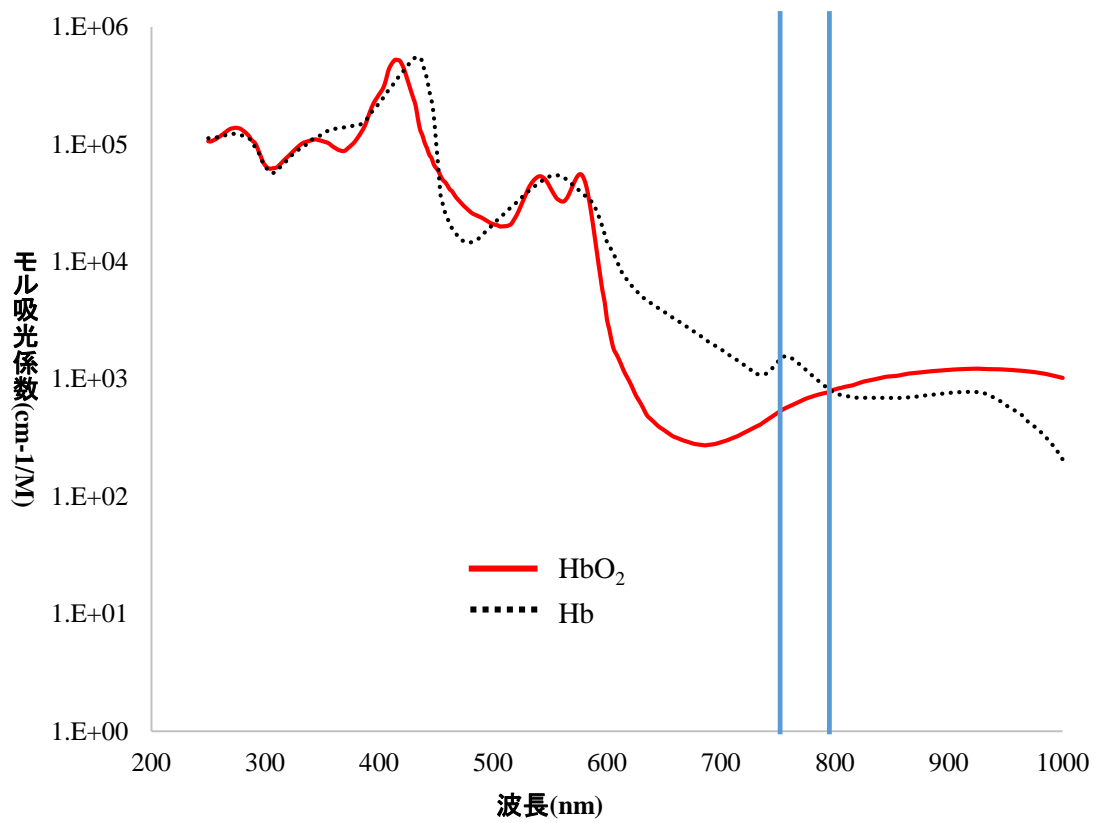


図7 酸素化ヘモグロビンHbO<sub>2</sub>と脱酸素化ヘモグロビンHbのモル吸光係数 Oregon Medical Laser Center公表のデータベース（文献59）をもとにグラフを作成。使用した波長750 nmと800 nmを青線で示した。

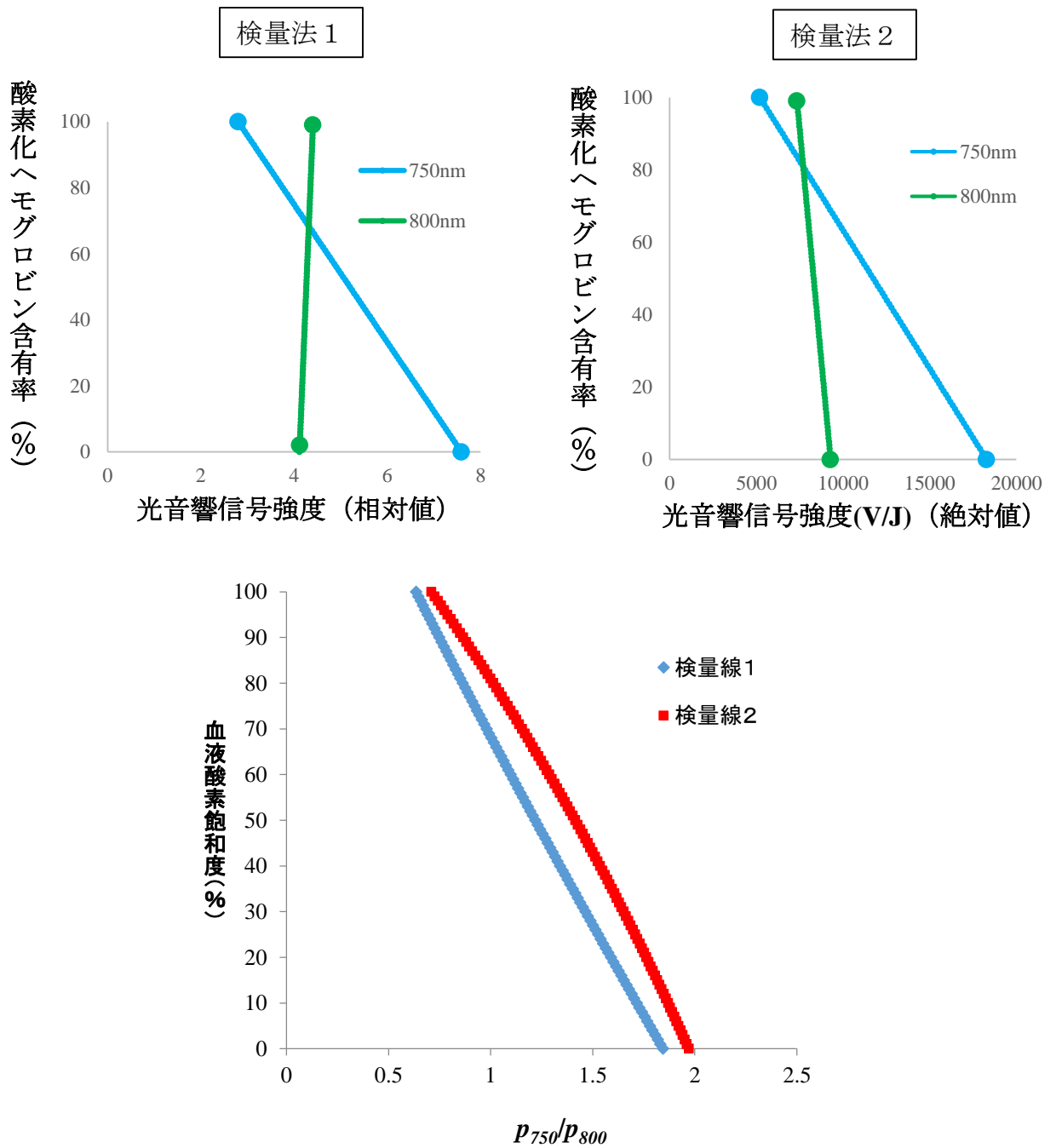


図8

上図：総ヘモグロビン濃度を15 g/dLと仮定したときに式3-(3) (左図)、式3-(5) (右図) で得られる光音響信号強度

下図：光音響信号から酸素飽和度を算出するにあたり用いた検量線 1 (青)と検量線 2 (赤)



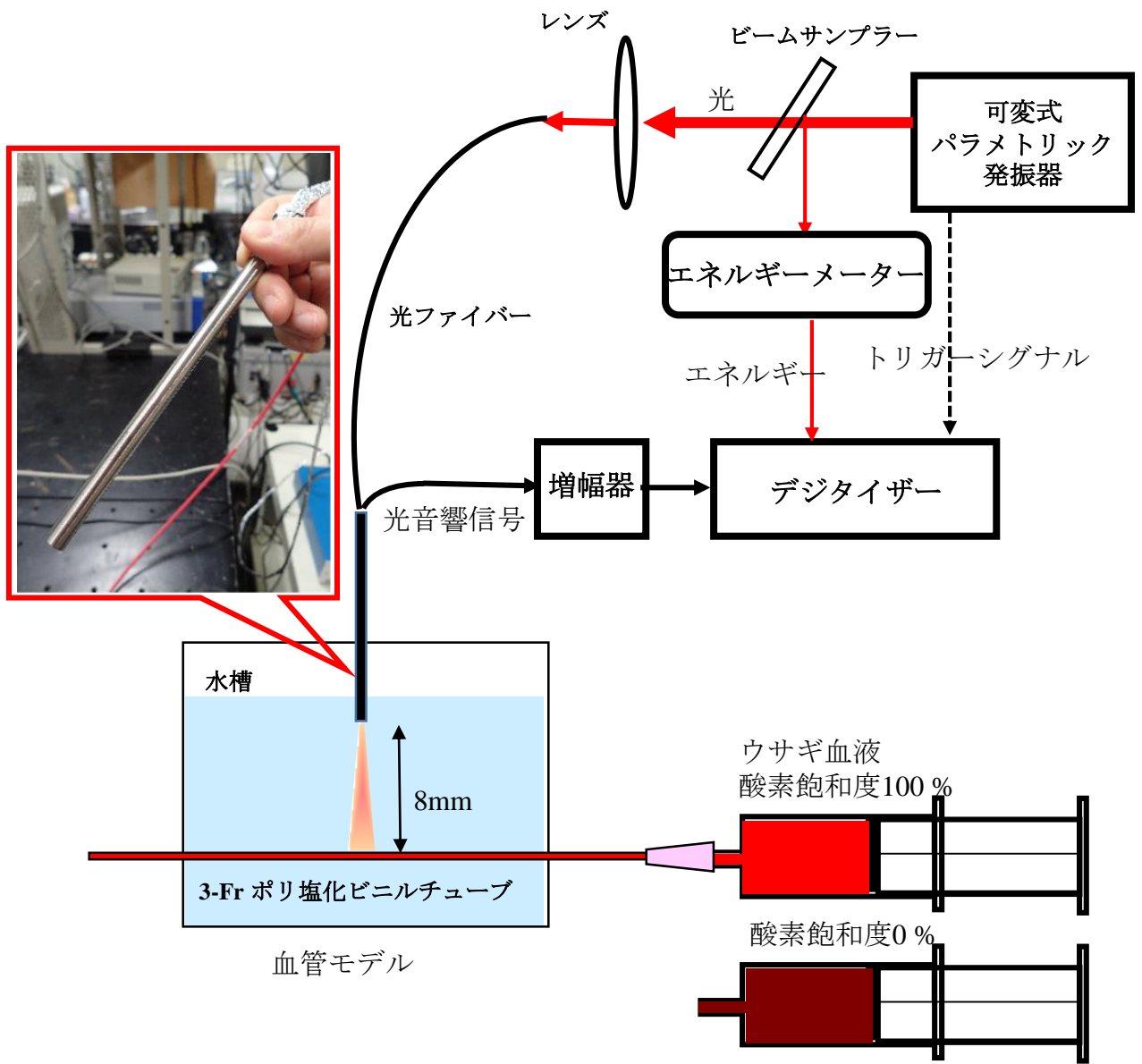


図9 検量法2（外部標準法）で用いた血管モデルと光音響信号計測系  
 写真は用いた単素子プローブ

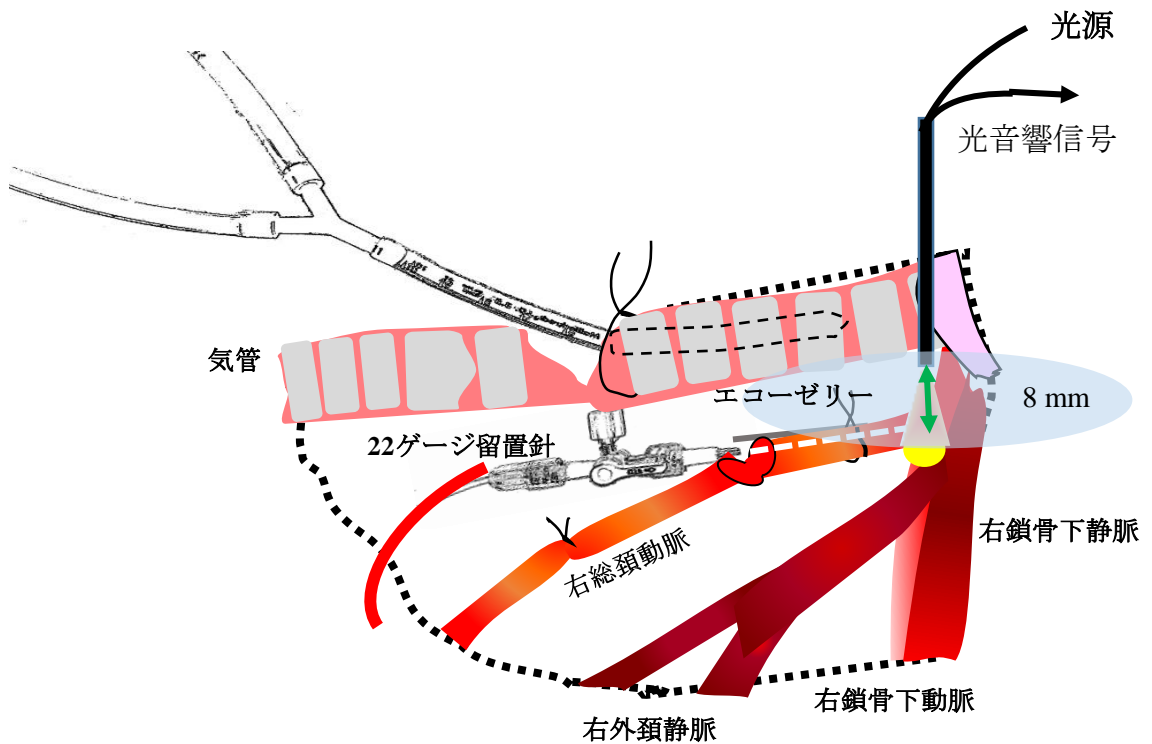


図10 頸部露出部位と光音響信号計測。図中右鎖骨下動脈起始部に黄色の円で示した箇所が光音響信号取得部位。右総頸動脈に挿入したカテーテル先に当たらず、かつ可及的に近い部位にレーザー光を照射し光音響信号を計測した。

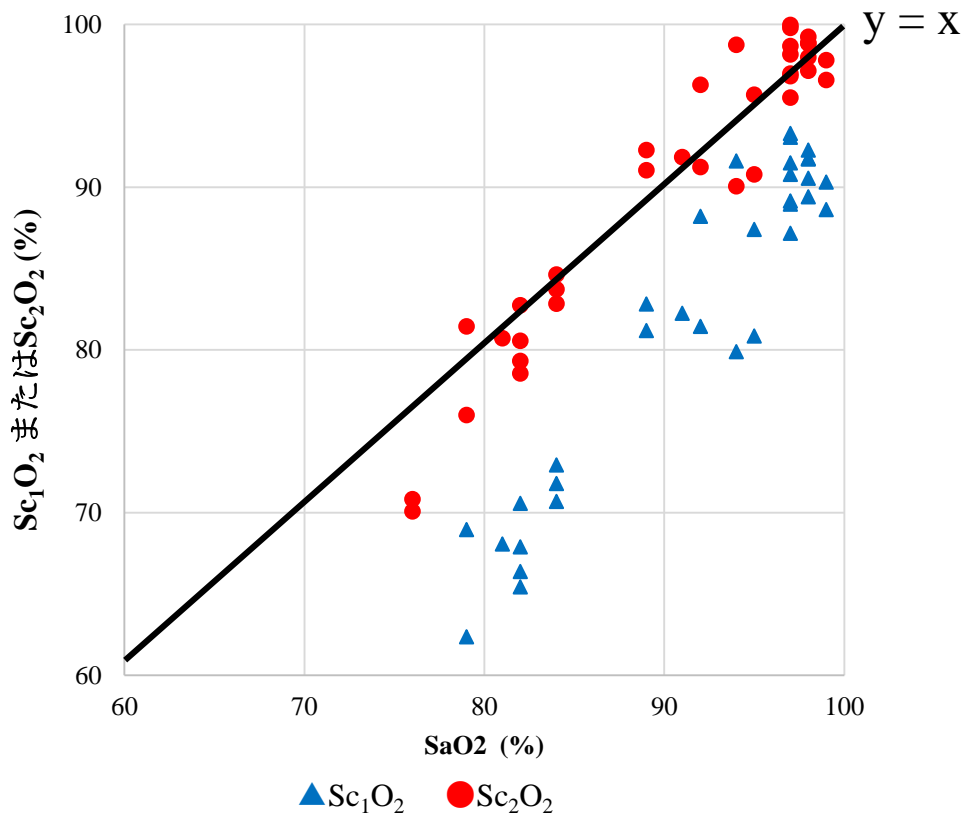


図11 ウサギ総頸動脈から得られた光音響信号を検量線1および2にあてはめ算出した血液酸素飽和度 ( $Sc_1O_2$ 、 $Sc_2O_2$ ) と、i-STATによる酸素飽和度の相関を示す散布図。

図中の直線 (黒) は $y = x$ を示す。

▲は検量法1で算出した血液酸素飽和度、●は検量法2で算出した血液酸素飽和度を示す。

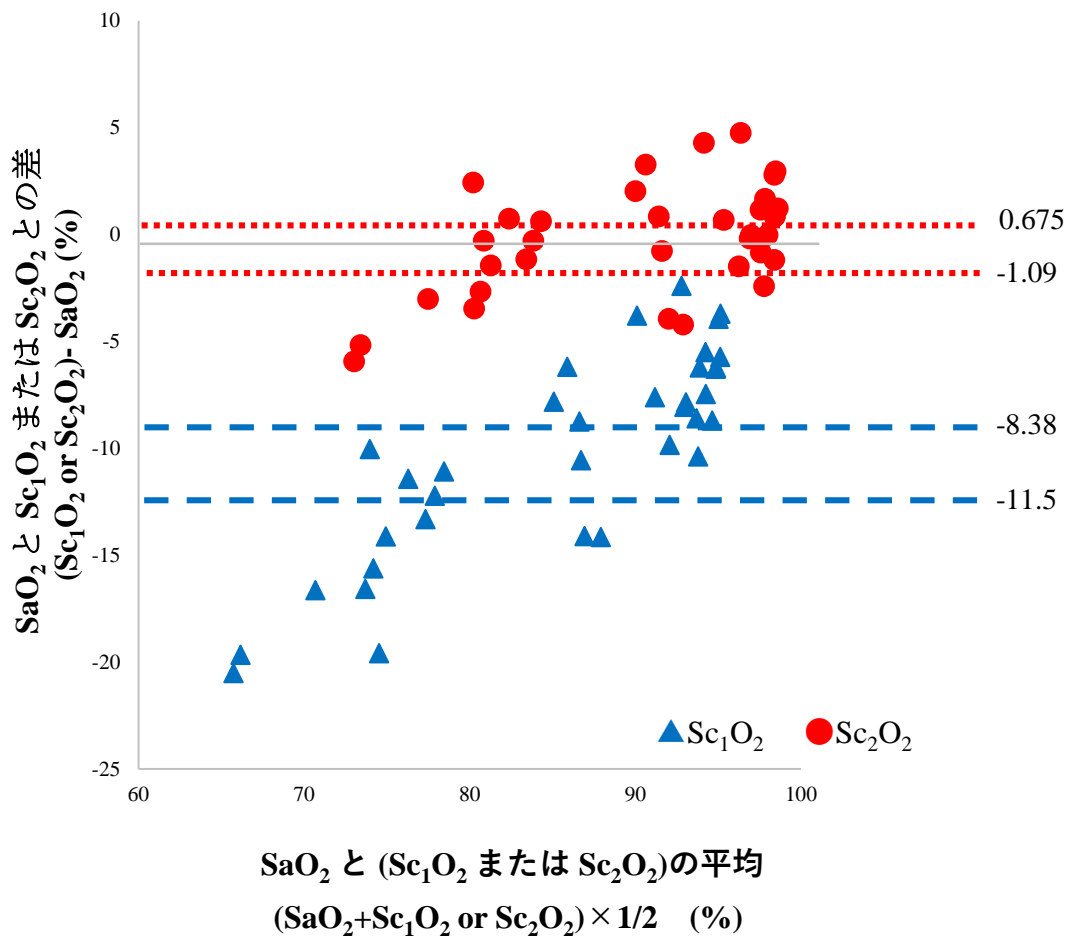


図12 ウサギ総頸動脈から得られた光音響信号を検量線1および2にあてはめ算出した血液酸素飽和度 ( $Sc_1O_2$ 、 $Sc_2O_2$ ) と、i-STATによる酸素飽和度を比較した Bland- Altman plot。

- ▲は検量法1で算出した血液酸素飽和度、青破線は上下の95%許容範囲を示す。
- は検量法2で算出した血液酸素飽和度、赤点線は上下の95%許容範囲を示す。

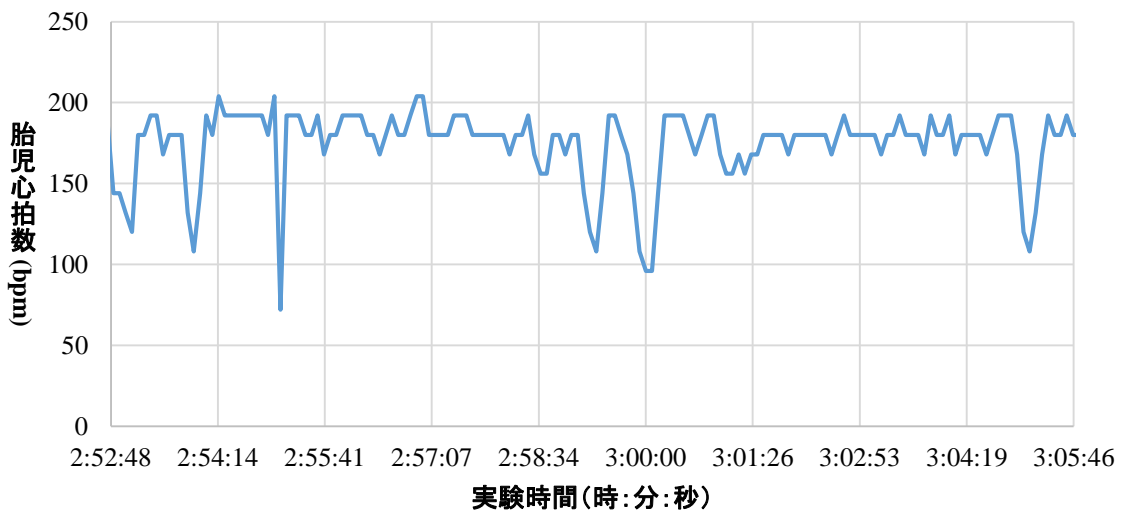
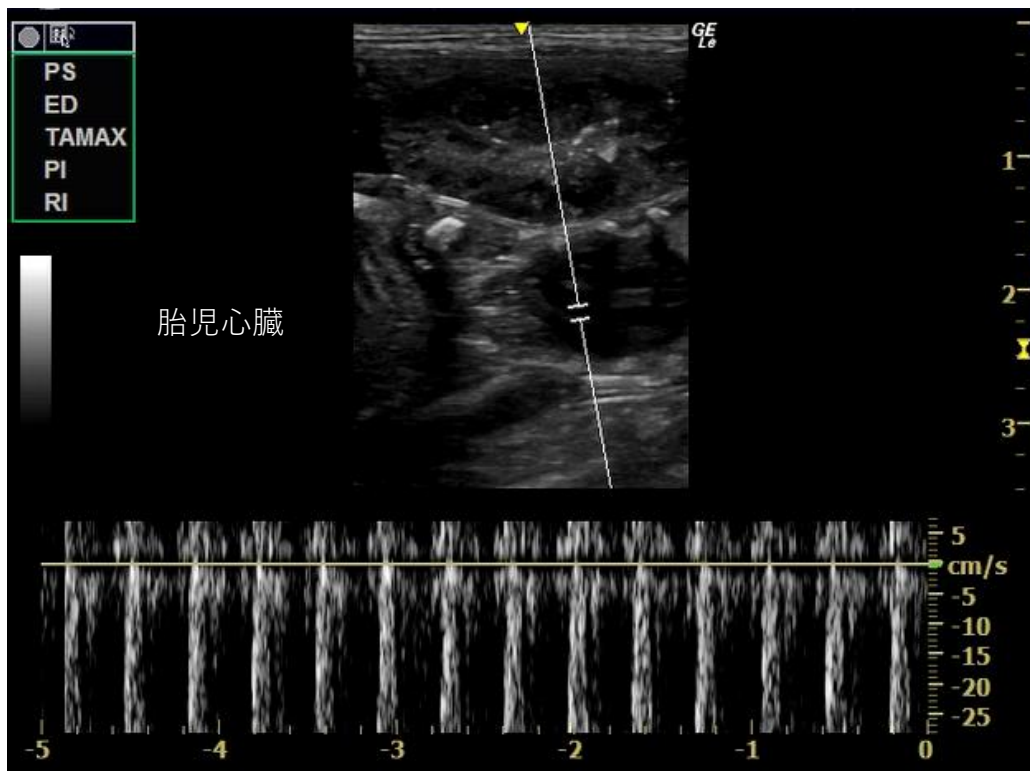


図13 汎用超音波画像機器で記録した胎児心拍と胎児心拍数波形図(抜粋)の1例。パルスドプラを用い、心拍出波形を観察した(上図)。5秒間に1回更新されるため、5秒間の心拍数(ここでは14回)を1分あたりの心拍数に換算し(ここでは168 beat per minute: bpm)胎児心拍図波形(下図)を作成した。

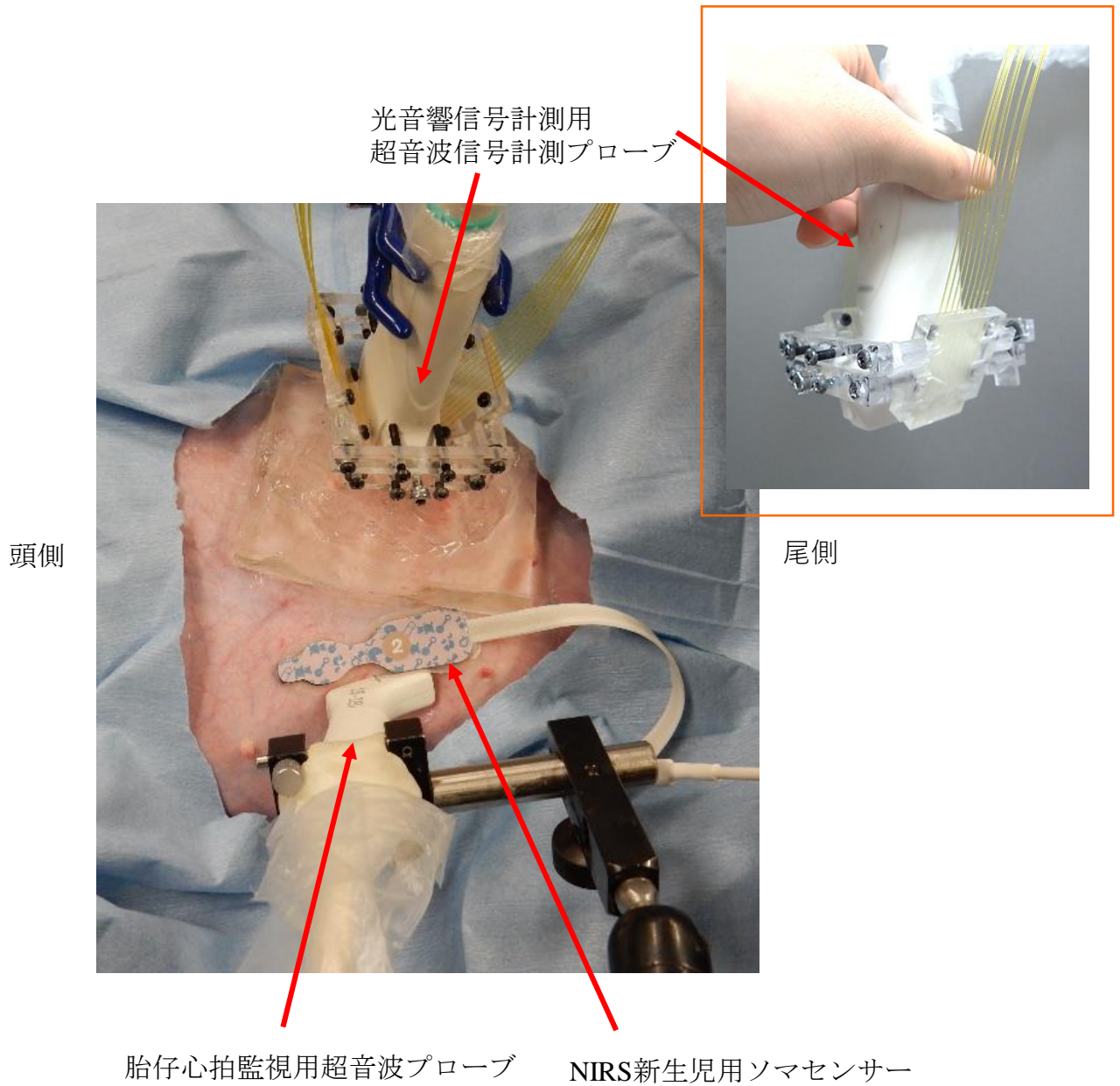


図14 母体腹部での光音響信号計測用超音波信号計測プローブ、NIRS新生児用ソマセンサーと胎仔心拍監視の超音波プローブ配置

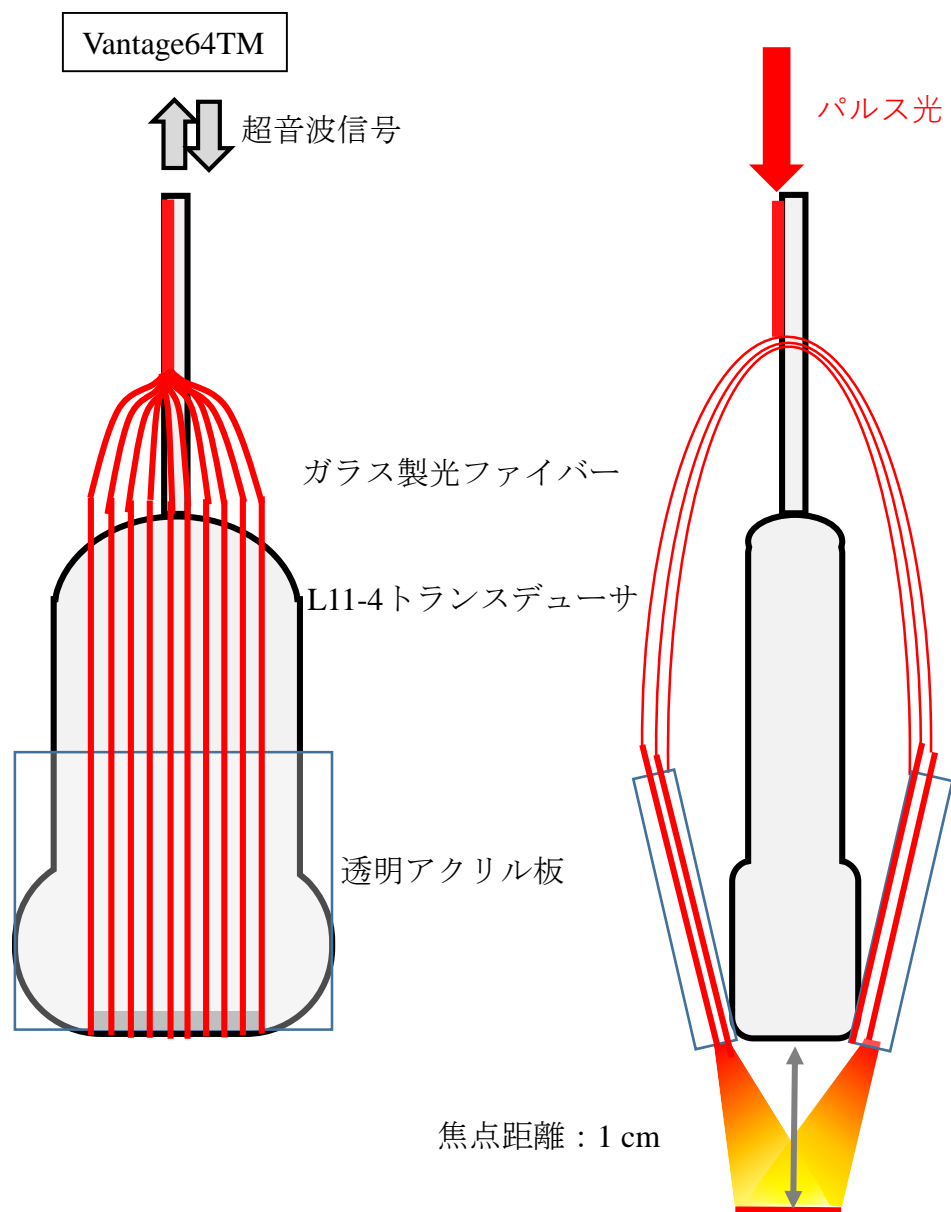


図15 胎盤の血液酸素飽和度計測に用いたトランスデューサと光ファイバー

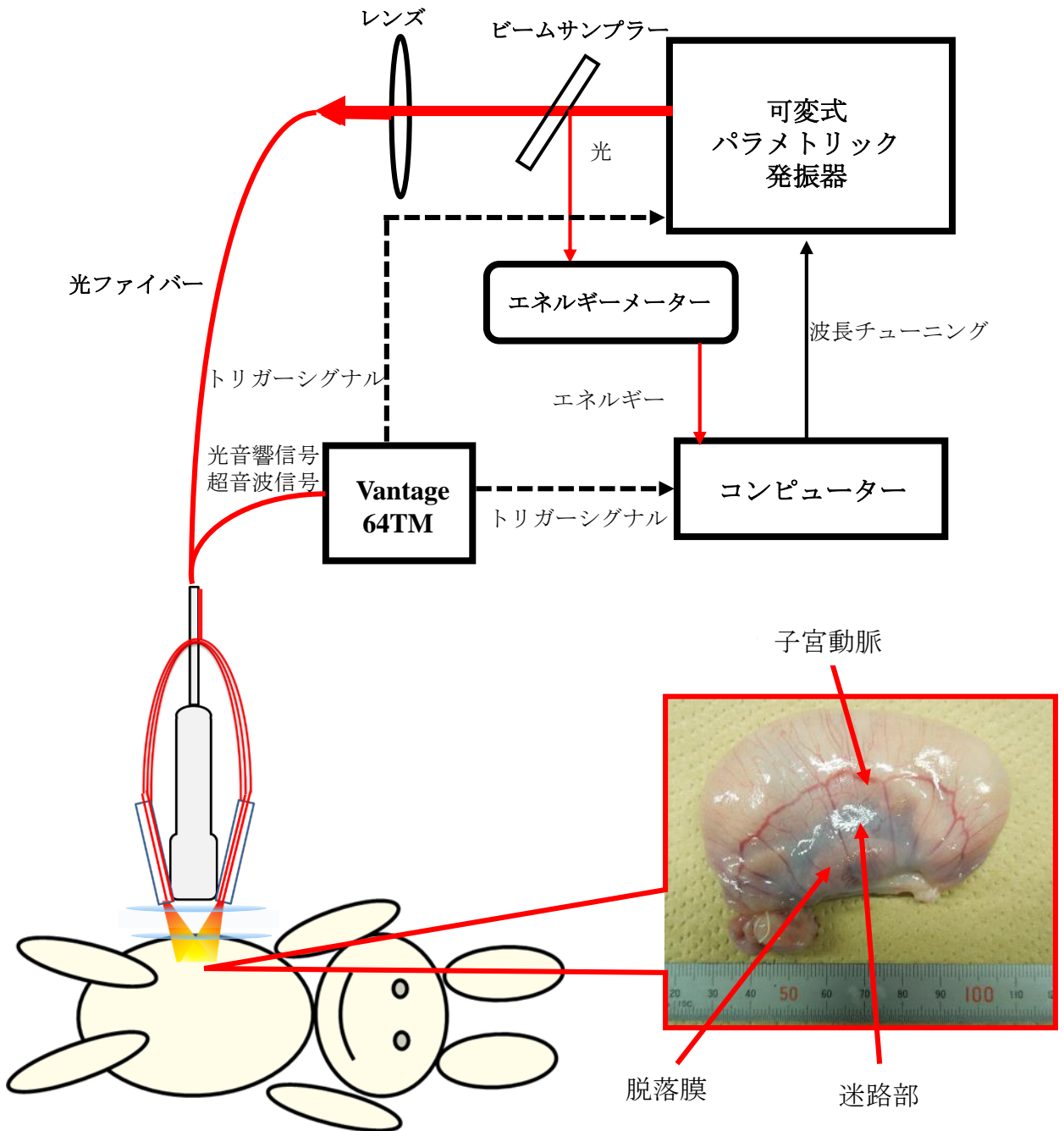
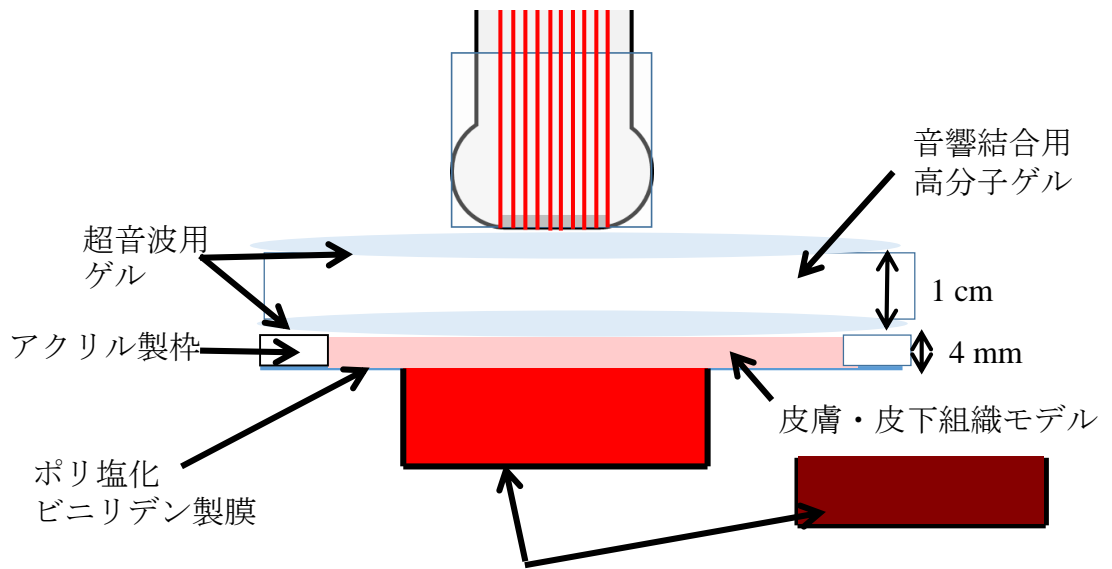


図16 胎盤の血液酸素飽和度計測に用いた光音響計測系。ウサギ腹部に超音波用ゲル、厚さ10 mmの音響結合用高分子ゲル、超音波用ゲルの3層を介し、光音響信号計測用プローブを設置した。右下写真は実際に光音響信号を観測した胎児を含む胎嚢を子宮壁ごと摘出したもの。子宮壁は非常に薄く、内容が透見できる。





アクリル製ディッシュを希釈血液で満たす  
 希釈血液は酸素飽和度100%と0%のものを準備

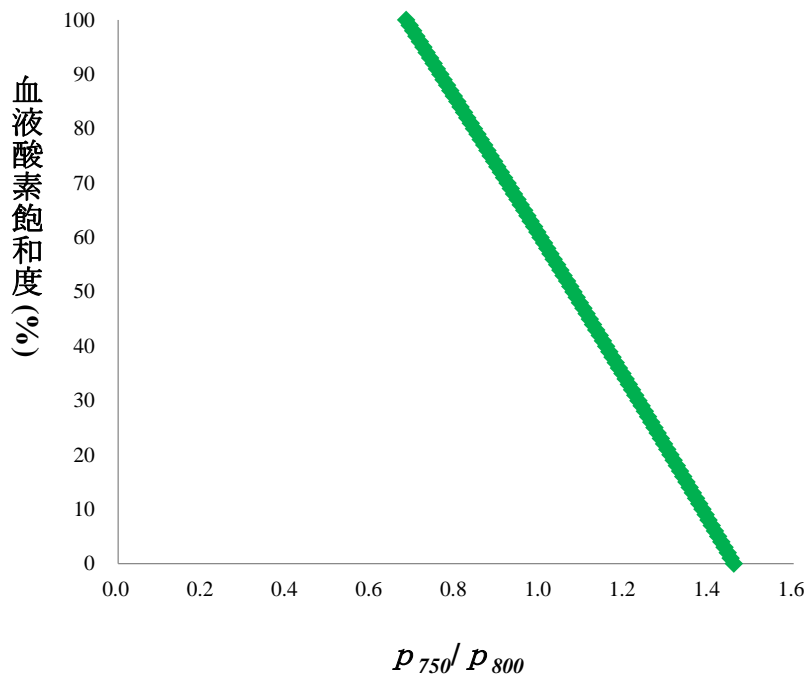
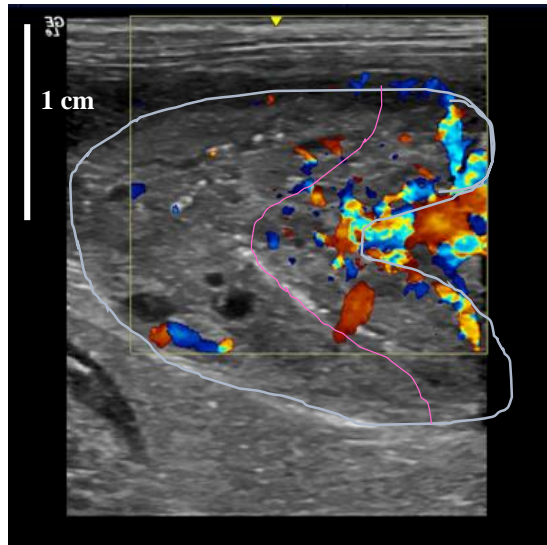


図17 光音響技術による血液酸素飽和度算出に用いたファントムと、ファントムから得られた検量線。

### LOGIQeによる胎盤超音波画像



### Vantage 64TMによる胎盤超音波画像

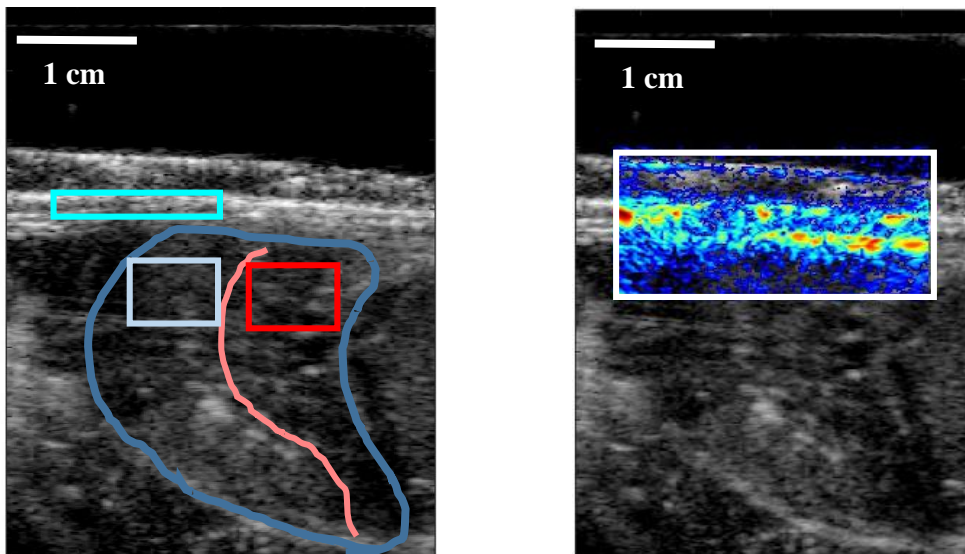


図18 汎用超音波画像機器LOGIQeにより得られた胎盤超音波画像とVantage 64TMで得られた同部位の画像（右：超音波画像、左：光音響信号重畳画像）を示す。水色実線で囲まれた部位は胎盤で、ピンク実線は迷路部と脱落膜の境界に相当する。右図内の長方形は酸素飽和度算出のために設定したRegion of interest (ROI)を示す。青：母体皮膚、水色：脱落膜、赤：迷路部

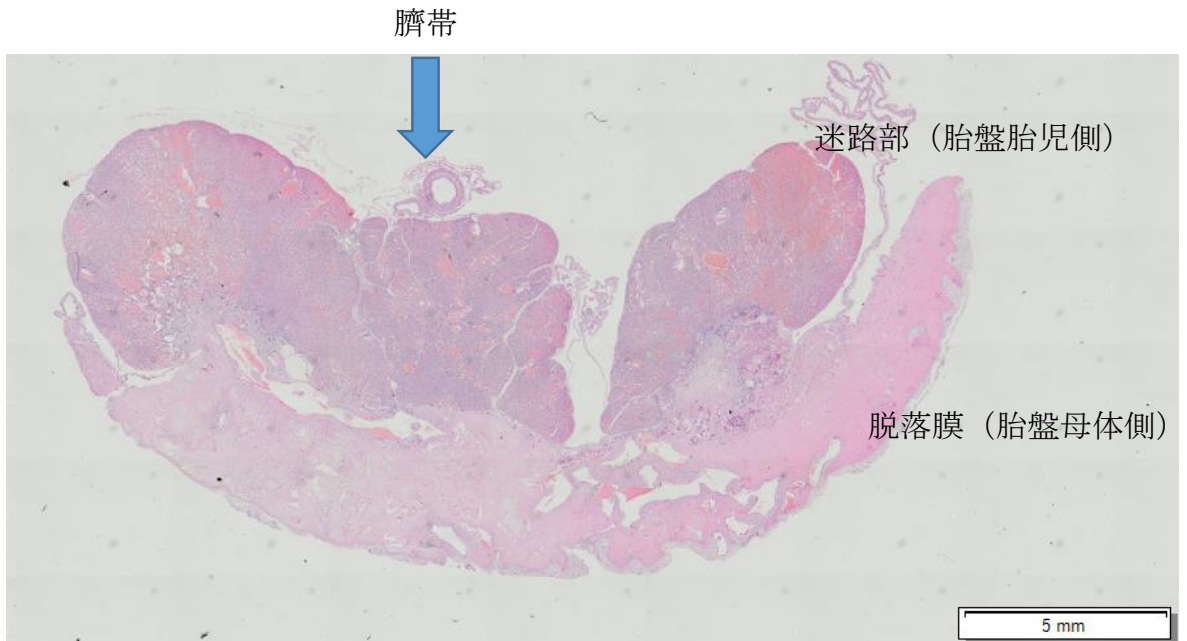


図19 ウサギ胎盤組織標本 (ヘマトキシリン・エオジン染色)

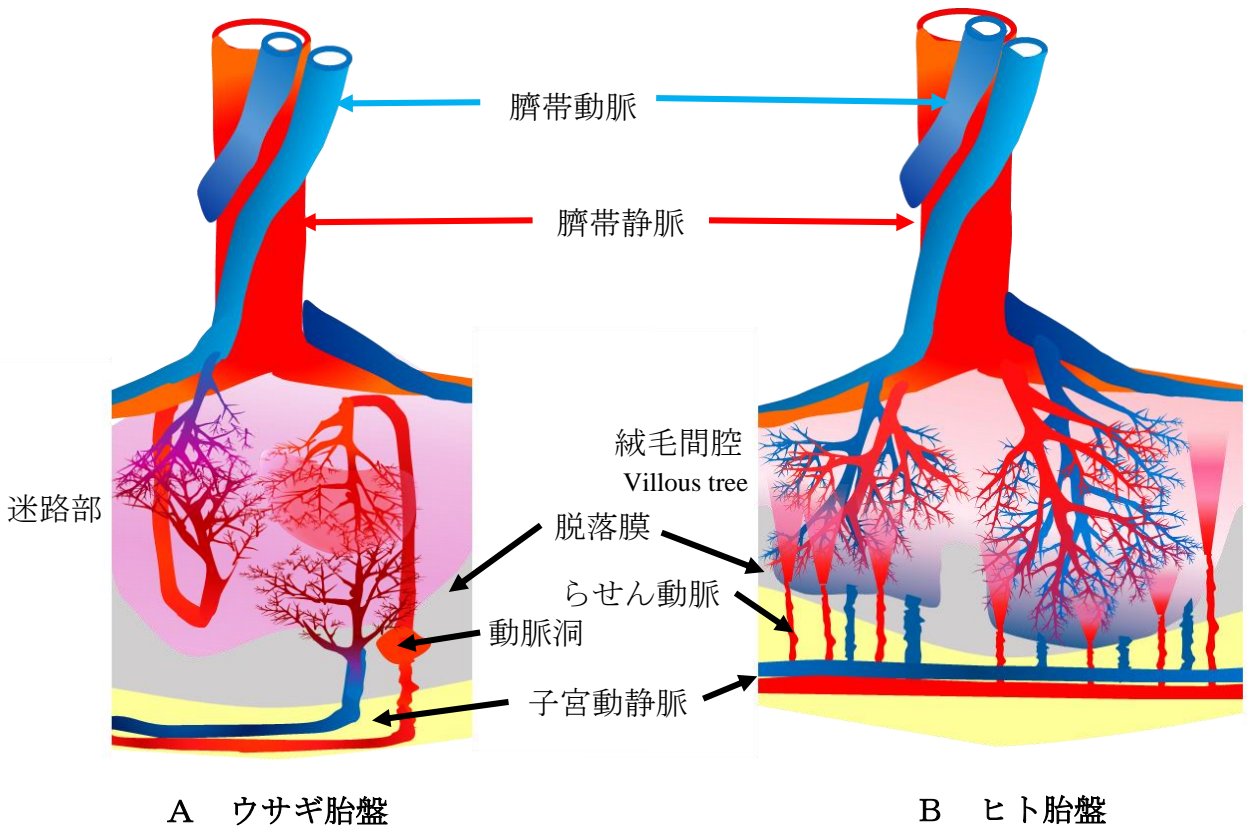


図20 ウサギ胎盤の血管構造とヒト胎盤の血管構造

ウサギ胎盤ではヒトにおける絨毛間腔は迷路部に相当し、進入してくる母体血管と胎仔血管が近接して位置する。母体血管は末端で血管壁を失い、2層の trophoblast を隔て胎仔血管と母体血が迷路部内で接触する構造である。ヒト胎盤は胎児血管が絨毛を形成し、絨毛間腔で1層の trophoblast を隔て母体血と接触し物質交換を行う。

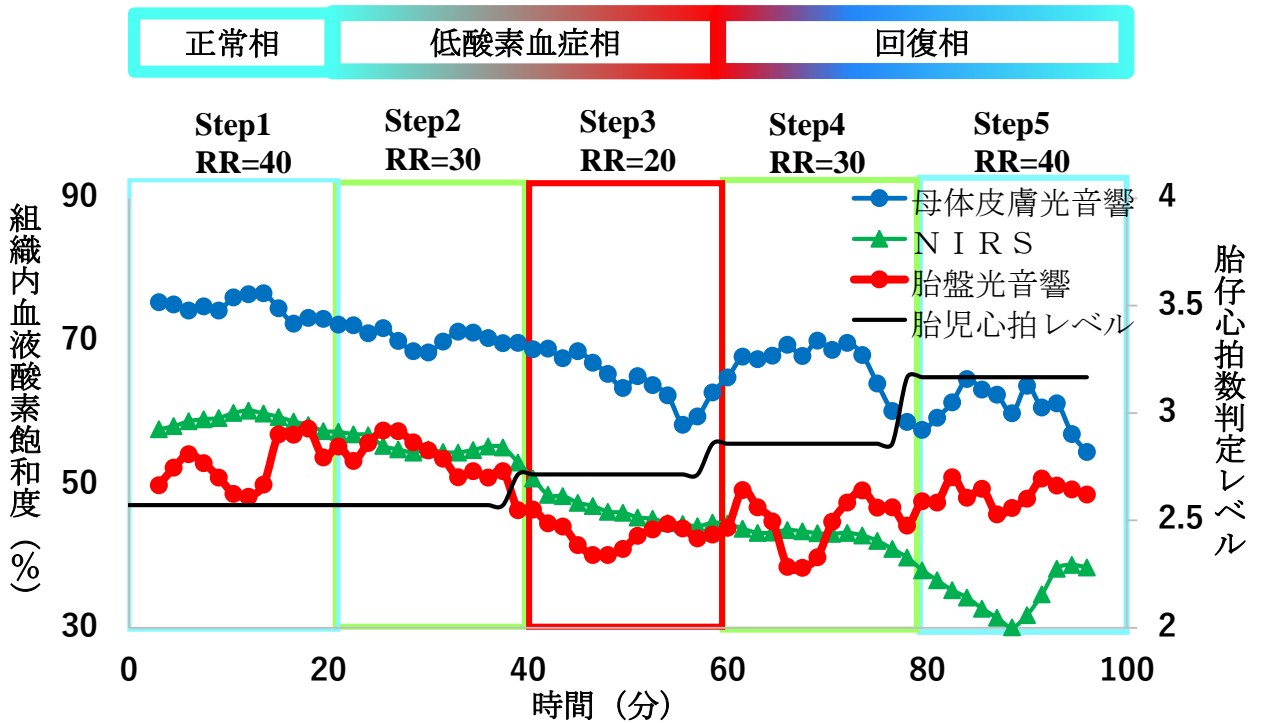


図21 7羽の計測結果の平均。光音響技術による胎盤および母体皮膚の組織内血液酸素飽和度と、NIRSによる組織内血液酸素飽和度の変化量の7羽移動平均を示す（3区間移動平均）。胎児心拍数判定レベルは1ステップにつき1回の判定で7羽の平均を示した。

RR: Respiration rate（分時呼吸回数）

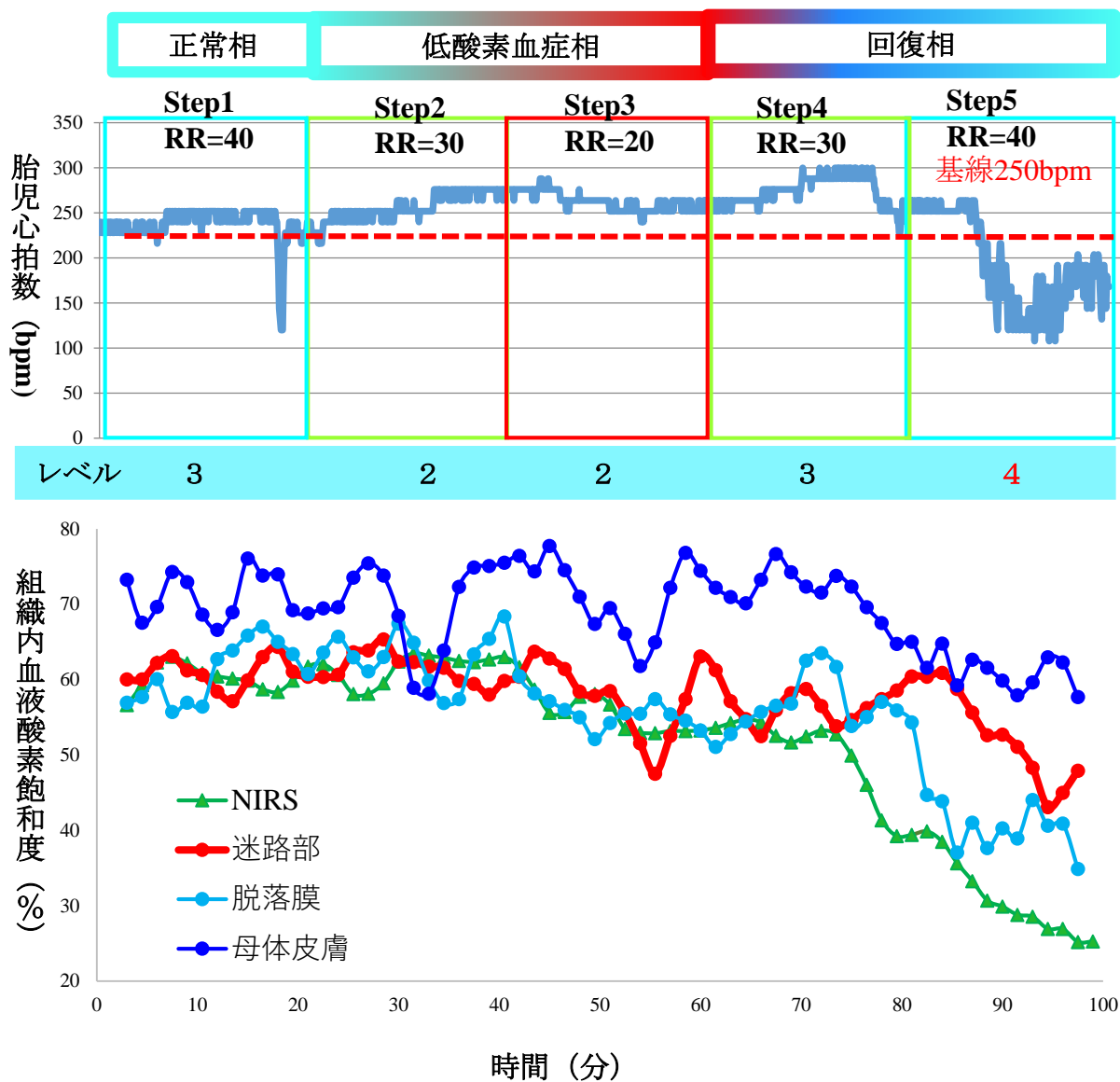


図22 胎児心拍図波形とNIRSによる組織内血液酸素飽和度変化量、光音響技術による組織内血液酸素飽和度計測結果（迷路部、脱落膜、母体皮膚）の一例。ここではデータを3区間移動平均で示した。

表1 胎児心拍数波形レベル分類と推奨される対応

レベル	波形	推奨される対応
1	正常波形	経過観察
2	亜正常波形	経過観察 または監視強化、保存的処置の施行及び原因検索
3	異常波形 (軽度)	監視強化、保存的処置の施行及び原因検索 または保存的処置の施行及び原因検索、急速遂娩の準備
4	異常波形 (中等度)	保存的処置の施行及び原因検索、急速遂娩の準備 または急速遂娩の実行、新生児蘇生の準備
5	異常波形 (高度)	急速遂娩の実行、新生児蘇生の準備

引用文献10 日本産科婦人科学会診療ガイドライン産科編2014CQ411

「胎児心拍数陣痛図の評価法とその対応は？」より

表「胎児心拍数波形のレベル分類」および表「胎児心拍数波形に基づく対応と処置（主に32週以降症例に関して）」を編集。

表2 様々なfetal oxygenation 評価手法

	原理	パラメータ	長所	短所	発展性/課題	
従来法	心拍数波形 (超音波)	胎児心臓の拍動によって生じる超音波の周波数変化を測定	胎児心拍数	装置が簡便	1. 判定に時間がかかる 2. 低酸素血症が反映されにくい 3. 母体や胎児の姿勢の変動により計測が不安定化する	装置をテレメータにすることで、遠隔モニタリングを試行
	胎児心電図	胎児心臓の電気信号を測定、P波を抽出し心拍を算出	胎児心電図	1. 装置が簡便 2. 胎児の姿勢によらず計測が可能	1. 心電図シールによる皮膚症状 2. 低酸素血症が反映されにくい	心電図波形の分析により胎児の病態把握につながる可能性
	胎児採血	低酸素血症によるアシドーシスを診断	胎児血 pH 乳酸濃度	直接胎児の指標を得ることができる	1. 侵襲が高い 2. 分娩開始前では困難 3. 低酸素血症の正診率は不明	胎児心拍数波形診断の補助的ツールとして使用可能
競合技術	パルスオキシメトリ	複数波長の光を照射し、透過光から脈動成分の振幅比を測定	酸素化・脱酸素化ヘモグロビン濃度比率	装置が簡便	1. 動脈の拍動が不可欠であるため動脈のみの計測 2. 母体表面から胎児の動脈拍動を検出することが困難	胎児に直接センサを接触する方法はあるが分娩時しか使用できず母体の不快感が強い
	近赤外分光分析法 (NIRS)	生体内を拡散的に伝播し皮膚表面で再放射される光強度の変化を測定	酸素化・脱酸素化ヘモグロビン濃度変化量	1. 比較的深部の情報を反映したデータが得られる 2. 装置が簡便	1. 空間分解能が低い	胎児頭部に直接センサを接触する方法はあるが娩出直前しか使用できない
	磁気共鳴画像法	脱酸素化ヘモグロビンの磁性によるT2信号変化	脱酸素化ヘモグロビンの相対的濃度変化	1. 深度限界がない 2. 高い空間分解能 3. リアルタイムに変化を計測可能	1. 装置自体が高価 2. ベッドサイドモニタには不適 3. 比較的長時間母体の動きを制限する必要がある	胎児臓器の酸素分布を網羅的に計測することにより胎児生理の解明に寄与する可能性
本研究	光音響	光吸収によっておこる熱膨張に伴い発生する音響信号を測定	酸素化・脱酸素化ヘモグロビン濃度分布	1. 音響発生源を高空間分解能で弁別可能 2. 超音波画像に重畳が可能	装置が比較的複雑	測定方法の変更（経腹→経膈）により計測対象が拡大する可能性



表3 実験1および実験2に使用したウサギ14羽における実験開始時の  
動脈血血液ガス分析結果

<b>PaO<sub>2</sub></b> (mmHg)	<b>PaCO<sub>2</sub></b> (mmHg)	<b>pH</b>	<b>SaO<sub>2</sub></b> (%)	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b> (mmol/L)	<b>BE<sub>ecf</sub></b> (mmol/L)
90.5 ± 7.12	30.36 ± 5.97	7.47 ± 0.093	97.7 ± 0.73	22.3 ± 4.06	-1.57 ± 4.26

表4 (上) 実験1 動脈血血液ガス分析結果から算出した定常時間 (単位:分)  
 (下) 実験2 同時採血の動静脈血血液ガス分析結果から算出した静脈血血液ガス分析値の定常時間 (単位:分)

定常状態の定義を満たさなかった場合、unstableと表した。

呼吸回数 (回/分) (Step)	40→30 (Step1)	30→20 (Step2)	20→30 (Step3)	30→40 (Step4)
PaO <sub>2</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5
PaCO <sub>2</sub>	1	1	3	0.5
pH	1	3	1	unstable
SaO <sub>2</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5

呼吸回数 (回/分) (Step)	40→30 (Step1)	30→20 (Step2)	20→30 (Step3)	30→40 (Step4)
PvO <sub>2</sub>	unstable	unstable	unstable	unstable
PvCO <sub>2</sub>	2	15	unstable	unstable
pH	5	unstable	unstable	unstable
SvO <sub>2</sub>	unstable	15	unstable	unstable

表5 ウサギ心拍数図の胎児低酸素血症判定に用いた基準

(引用文献10 日本産科婦人科学会 診療ガイドライン産科編2014CQ411「胎児心拍数陣痛図の評価法とその対応は？」より表「胎児心拍数波形のレベル分類 表II-1基線細動正常例」を改変) 1～4のレベル分類は表1参照。

基線	一過性徐脈	変動		遷延	
	なし	軽度	高度	軽度	高度
正常	1	2	3	3	4
頻脈	2	3	3	3	4
徐脈	3	3	4	4	4
開始時基線の1/2未満の徐脈	4		4		

付記 別表 実験に使用した物品の一覧

製品名	商品名 商品コード	製造者	製造者所在地
ケタミン	ケタラルル	第一三共製薬	東京都
キシラジン	セデラック	日本全薬工業	福島県
加温手術台	KN303-B	夏目製作所	東京都
動物用生体モニタ	Life Scope BSM-5192	日本光電	埼玉県
直腸温モニタ付き 保温ブランケット	Homeothermic Monitor K020917	Harvard Apparatus	Holliston, MA. USA
24ゲージ留置針	サーフロー SR-OT2419C	テルモ	東京都
生理食塩水	大塚生食注TN	大塚製薬	徳島県
気管内チューブ	RUSCH Safety Clear	Teleflex Medical OEM	Gurnee, IL. USA
人工呼吸器	Volume Control 155-7058	Harvard Apparatus	Holliston, MA. USA
Y字アダプタ	Y-Luer 73-4121	Harvard Apparatus	Holliston, MA. USA
臭化ロクロニウム	エスラックス 50mg/5.0mL	MSD製薬	東京都
セボフルラン	セボフレン	丸石製薬	大阪府
22ゲージ留置針	サーフロー SR-OT2232C	テルモ	東京都
三方活栓	R1-L	トップ	東京都
耐圧チューブ	S50	八光	長野県
観血的動脈圧計測 トランスデューサ	MP333N	Edward Lifesciences	Irvine, CA. USA
加圧バッグ	Mediquick Plus ME-ACS-223	テルモ	東京都
20ゲージ留置針	サーフロー SR-OT2032C	テルモ	東京都

製品名	商品名 商品コード	製造者	製造者所在地
可搬式血液ガス 分析機器	i-STAT	Abbott Point of Care	Princeton, NJ. USA
i-STAT カートリッジ	CG4+	Abbott Point of Care	Princeton, NJ. USA
ポリ塩化 ビニルチューブ	Atom Indwelling Feeding Tube for Infant 43003	アトム メディカル	埼玉県
ジチオン酸 ナトリウム	ハイドロサル ファイトナトリ ウムtechnical grade, 85%	Sigma Aldrich	St. Louis, MO, USA
Nd:YAGレーザー	Quanta-Ray Pro-190-THDA- FE	Spectra-Physics	Santa Clara, CA. USA
可変式光 パラメトリック 発振器	Versascan MBI-FE	Spectra-Physics	Santa Clara, CA. USA
ビームサンプラー	BSF-A	Thorlabs	Newton, NJ. USA
エネルギー メーター	PE25-C	Ophir Optics	Jerusalem, Israel
P(VDF-TrFE)膜	KF piezo-film	クレハ	東京都
超低雑音増幅器	SA-220F5	NF Electronic Instruments	神奈川県
デジタイザ	M9210A	Agilent Technologies	Santa Clara, CA. USA
オシロスコープ	M9036A	Agilent Technologies	Santa Clara, CA. USA
汎用超音波 画像化装置	LOGIQe	GE Healthcare	Chicago, IL. USA
NIRS装置	INVOS5100C	Covidien	Dublin, Ireland
新生児用 ソマセンサー	H587C	Covidien	Dublin, Ireland
超音波信号 計測システム	Vantage64TM	Verasonics	Kirkland, WA. USA

製品名	商品名 商品コード	製造者	製造者所在地
リニアアレイ トランスデューサ	L11-4v	Verasonics	Kirkland, WA. USA
音響結合用 高分子ゲル	ソナゲル	タキロン	大阪府
超音波用ゲル	F JELLY PLUS HARD	富士フイルム メディカル	東京都
アガロース	イナアガーL	伊那食品	長野県
静注用脂肪乳剤	輸液用イントラリ ピッド 20%100mL	フレゼニウス カービジャパン	東京都
ポリエチレン製 ディッシュ	組織培養用ディッ シュ 3000-035	AGC テクノグラス	静岡県