

1. 研究課題名：

ベータカメラによる脳酸素クリアランスの測定

2. 研究機関：

秋田県立脳血管研究センター

3. 研究者名と所属：

関千江（科学技術振興事業団秋田研究室）

4. 研究協力者名と所属：

松浦哲也（科学技術振興事業団秋田研究室）

柏倉健一（科学技術振興事業団秋田研究室）

藤田英明（科学技術振興事業団秋田研究室）

山本誠一（神戸市立工業高等専門学校）

菅野巖（秋田県立脳血管研究センター）

5. 研究期間：1996年 2000年

6. 要約

脳賦括に伴う二次信号（脳血流量や酸素消費量）の解明が行われている。今までは脳における血管外脳組織での酸素は非常に低く、脳細胞に供給される酸素はすべて血管内から賄われると考えられてきた¹。このことは陽電子断層撮影法（positron emission tomography；PET）による、局所脳酸素代謝率（rCMRO₂）の定量でも前提とされてきた²。ところが近年血管外の酸素の存在が無視できないという報告もされている³。この研究では、ポジトロントレーサーである O-15 で標識された赤血球をラットの頸動脈に瞬時注入し、脳表をベータカメラで測定することによって、標識された O-15 放射能濃度の動態を調べた。脳血管外の酸素分圧が非常に低く血管内から脳組織に取りこまれた標識酸素が瞬時に代謝され、標識された代謝水となって、脳組織から血管へ移行すると考えられているため、O-15 で標識された水でも同様の計測を行い両者のクリアランスを比較した。その結果、O-15 標識血液注入時のクリアランスの方が O-15 標識水よりも有意に速かった。このことは、脳血管外脳組織内の溶解酸素がある程度存在している可能性を示唆している。

7. 研究目的

脳細胞の活動に伴う二次的な変化、つまり局所的な脳血流量と酸素消費量の変化を定量する必要がある。その方法の一つとして、ポジトロン核種である O-15 をトレーサーとして PET 計測による方法があり臨床でも用いられている。これは、酸素そのものおよびそれが代謝された代謝水を直接計測できることが利点である。この時用いられるトレーサー動態モデルでは、血管外の脳組織内の酸素濃度は無視できるとして、酸素は必要量だけ動脈血から組織へ取りこまれ、それらはすべて瞬時に代謝されて水と

なり血流で洗い出されると仮定されてきた。このことは PET だけでなく、他の血中ヘモグロビンの酸化、還元を指標とした計測法でも同様である。しかし、最近、脳組織内や脳毛細管の酸素分圧を直接測定出来るようになり、脳賦括に伴って一時的に脳組織内あるいは脳毛細管の酸素濃度が下がることが観測され、脳組織内酸素の有意な存在を示唆する報告もある。このことは従来の酸素消費測定法で無視してきた脳内酸素溶存量が無視できず、その量の推定が必要であることを意味する。

この研究では血管外脳組織の溶存酸素の存在の可能性を調べるために、短寿命のポジトロン核種 ^{15}O を血中ヘモグロビンに結合させた ^{15}O 酸化ヘモグロビン (Hb^{15}O_2) をラットの頸動脈から瞬時注入し、その脳表での動態を直接ベータカメラで計測し、そのクリアランスを同じ生理的条件下で ^{15}O 標識の水 (H_2^{15}O) を頸動脈から瞬時注入した場合と比較した。もし、従来考えられていたように血管外組織の酸素分圧が極めて低く血中から供給された酸素が瞬時に代謝され代謝水となれば、 Hb^{15}O_2 の動態は H_2^{15}O の場合とトレーサの血管外への取りこみ以外は同等となるはずである。2種類のトレーサのクリアランスを比較することにより、血管外脳組織の溶存酸素の可能性を検証した。

8. 材料と方法

従来 PET 定量測定で応用されている Kety-Schmidt のモデル^{4,5}によれば、トレーサ瞬時注入時の Hb^{15}O_2 の脳表での経時変化 $C_t(t)$ はトレーサ取りこみ後のクリアランスで、 f を脳血流量、 V_d をトレーサの distribution volume として、

$$C_t(t) = C_{0\text{oxy}} \exp\{-(f/V_d) t\}$$

H_2^{15}O の場合は p を水の脳血液分配係数として、

$$C_t(t) = C_{0\text{w}} \exp\{-(f/p) t\}$$

で表される。従来の酸素の場合、モデルでは酸素取りこみ後は瞬時に水に変換されクリアランスされるため、 $V_d = p$ 、すなわち Hb^{15}O_2 と H_2^{15}O のクリアランス率は同等になるはずである。

また、通常血流量では水の脳組織への初回通過取りこみはほぼ 100% であるが、酸素は低いことが知られているので血管内のみを通過するトレーサも計測されることが考えられるので、 Hb^{15}O_2 と H_2^{15}O のクリアランスを比較する際に血管内トレーサ通過時間を除く必要があるため、ヘモグロビンと非常に強く結合し脳組織には拡散しない一酸化炭素を用いて赤血球を標識し、血管内トレーサ通過時間を調べた。

^{15}O 標識トレーサは、動物実験用に開発されたベータカメラ⁶を脳表に接触させ、直接ベータ線を計測した。ベータカメラは深さ方向へ脳表約 2 mm までのトレーサを捕らえることができる。半値幅は約 2 ミリである。

16 匹のオスの Sprague-Dawley rat (体重 $366 \pm 43\text{g}$) を人工呼吸、持続静注クロラロス麻酔下で内頸動脈にカテーテルを挿入した。ラットをステレオスタットに固定し左頭頂部の頭蓋骨を露出しさらにその一部 ($3 \times 5\text{mm}$) を半分ほどの厚さに

削って測定用ウインドウを作った。直径 1 c m のベータカメラをウインドウ部に接するように固定した。ラットの PaCO₂ は人工呼吸器の換気量を調節することによりほぼ 40mmHg に保った。

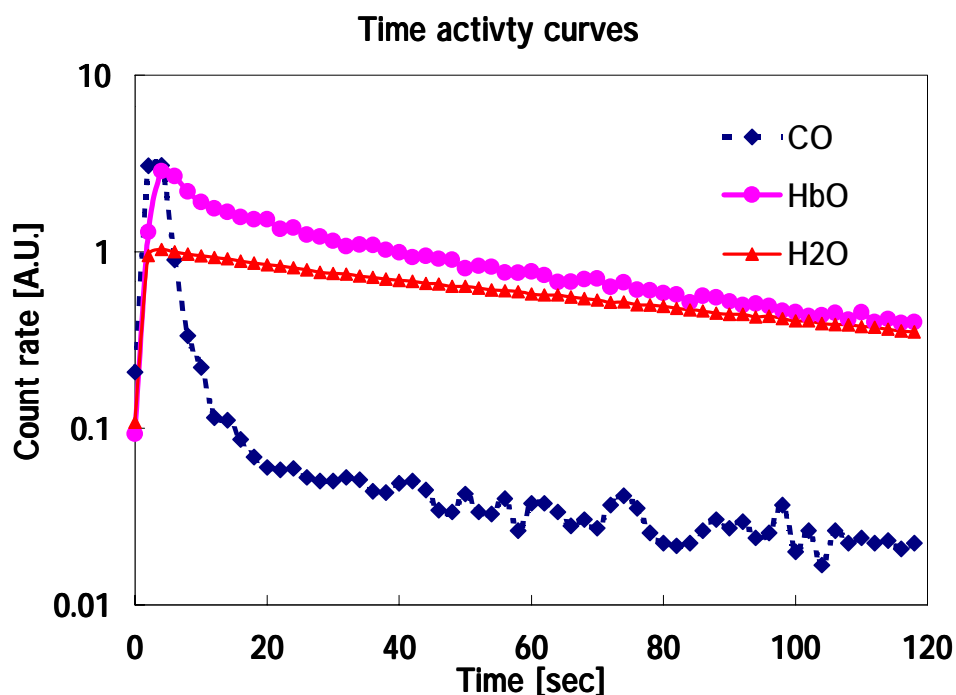
ヘモグロビンへの酸素、一酸化炭素標識は計測用とは別ラットから取った血液に標識した酸素または一酸化炭素をバブリングすることによって行った。

計測はトレーサを頸動脈カテーテルに 20 μ l 瞬時注入し、同時に開始し 1 フレーム 2 秒で 120 秒までデータ収集を行った。各トレーサ測定は ¹⁵O の物理的減衰 (半減期 123 秒) を考慮して、15 分以上間隔をおいて行った。16 匹のラットの内最初の 3 匹はトレーサごとの経時変化や血管内トレーサ通過時間を調べるために、HbC¹⁵O、Hb¹⁵O₂、H₂¹⁵O の 3 種類のトレーサをそれぞれのラットに注入して計測を行った。残りの 13 匹のラットは Hb¹⁵O₂ と H₂¹⁵O のクリアランスを比較する計測を行った。計測結果はすべて、ベータカメラの高計数率補正、¹⁵O の物理減衰を補正した後解析を行った。

9 . 結果

1) トレーサ経時変化

3 種類のトレーサの頸動脈瞬時注入後の経時変化の代表例を図に示す。



HbC¹⁵O は血管内を通過するため、ピークのみであるのに対し、H₂¹⁵O はピークは無くほぼすべてのトレーサがいったん血管外組織に移行した後血流によって徐々に流れ出す。それに対し、Hb¹⁵O₂ はある程度のトレーサは組織に取りこまれず血管内を通過することを示すピークが見られ、取り込まれたトレーサは徐々に流れ出している。

HbC¹⁵O 計測から血管内トレーサ通過時間は約 30 秒以内であることが判ったので、Hb¹⁵O₂、H₂¹⁵O のクリアランス率の算出は 60 120 秒間のデータから行った。

2) Hb¹⁵O₂ と H₂¹⁵O のクリアランス率の比較

13 匹のラット Hb¹⁵O₂ と H₂¹⁵O 計測のうち PaCO₂ が 40mmHg 前後で生理的条件下のよいものを 1 対ずつ選び、60 120 秒間のクリアランス率で one-way t-test を行った。その結果、PaCO₂ = 40.3 ± 3.3mmHg、Hb¹⁵O₂ のクリアランス率は 0.494 ± 0.071min⁻¹、H₂¹⁵O のクリアランス率は 0.406 ± 0.037min⁻¹ で、t = 4.8、p = 0.0004 であり、同程度の PaCO₂ 下で有意にクリアランス率が異なることが判明した。

10 . 考察

同じ PaCO₂ レベルでは脳血流量は一定なので、従来の PET による酸素代謝量定量モデルでは血管外脳組織への酸素は無いと考えられるため、トレーサを瞬時注入した時の Hb¹⁵O₂ と H₂¹⁵O の違いは組織への取りこみのみで、その後は Hb¹⁵O₂ も代謝水に変換されるため、クリアランスは H₂¹⁵O の時と同じになるはずである。しかし、今回の実験結果では Hb¹⁵O₂ のクリアランスのしかたが H₂¹⁵O より速かった。このことは、Hb¹⁵O₂ の動態が従来の定量モデルに一致しないことを示唆するものである。その一つの可能性として、血管外脳組織の酸素の存在がある。その場合にはいったん血管外に移行した酸素が代謝されず、バッファーとしての酸素空間への移行を経た後再び血流によって血管内へ戻っていくと考えられる。このことは、「結果」に示された Hb¹⁵O₂ の曲線に H₂¹⁵O より速い成分があることから考えられる。また、血管外組織に溶存酸素があると、従来の PET による酸素代謝量定量モデルでは酸素代謝率を過剰評価することが考えられる。

11 . 今後の展開

今回の実験では、Hb¹⁵O₂ と H₂¹⁵O のクリアランスを比較するのみにとどまったが、血管外脳組織内の酸素にある程度存在することへの裏付けが出来た。この酸素自身をトレーサとした計測法では、瞬時注入によるクリアランスの評価だけではなく、動脈血採血（入力関数測定）を併用してさらにトレーサ通過時間からの distribution volume の推定などができる。このためには採血が伴うため、ラットより大きな動物が必要となる。大きな動物では外科的処置もしやすく、より侵襲が少なく済む。非侵襲という点では頭蓋骨にウインドウをつけなくてもよい PET 計測も挙げられる。時間分解能ではベータカメラより劣るが PET では、単位体積あたりのトレーサ濃度が計測できるため、入力関数測定と合わせてコンパートメントモデル解析による、定量測定も可能である。

12 . 参考文献

- [1] Kassissia IG, Goresky CA, Rose CP, Schwab AJ, Simard A, Huet PM, Bach GG. Tracer oxygen distribution is barrier-limited in the cerebral microcirculation. *Circ Res* 77: 1201-1211 (1995)
- [2] Ter-Pogossian MM, Eiching JO, Davis DO, Welch MJ. The measure in vivo of regional oxygen utilization by means of oxyhemoglobin labeled with radioactive oxygen-15. *J Clin Invest* 49: 381-391
- [3] Vanzetta I and Grinvald. Increased cortical oxidative metabolism due to sensory stimulation: Implications for functional brain imaging. *Science* 1999 vol. 286, No.19, 1555-1558.
- [4] Raichle ME, Martin WR, Herscovitch P, Mintun MA, Markham J. Brain blood flow measured with intravenous H²¹⁵O . II. Implementation and validation. *J Nucl Med* 24: 782-789, 1983
- [5] Kety SS, Schmidt CE. The nitrous oxide method for the quantitative determination of cerebral blood flow in man: theory, procedure and normal values. *J Clin Invest* 27: 476-483. 1948
- [6] Yamamoto S, Seki C, Kashikura K, Fujita H, Matsuda T, Ban R, Kanno I. Development of high resolution beta camera for direct measurement of positron distribution on brain surface. *IEEE Trans Nucl Sci* 44: 1538-1542, 1997.

13 . 研究業績

13-1 . 原著論文

- [1] Seki C, Tousaint PJ, Matsuura T, Kashikura K, Fujita H, Kanno I. Comparison of clearance slopes of intracarotidly injected O-15 labeled red blood cell and water measured by beta-ray radioactivity. (in preparation)

13-2 . 総説など : なし

13-3 . 国際学会発表

- [1] I. Kanno, C. Seki, K. Kashikura, T. Matsuura, H. Fujita: Clearance after intracarotid bolus injection of O-15 oxyhemoglobin was faster than that of O-15 water: Observation using beta-camera in rat. HBM98, Fourth International Conference on Functional Mapping of the Human Brain, Montreal, Canada. Jun 7-12 (1998)

13-4 . 国内学会発表

- [1] 菅野巖、関千江、柏倉健一、藤田英明、松浦哲也：ベータカメラによる小動物脳表の¹⁵Oトレーサによる脳循環代謝測定法、第36回日本核医学会総会、1996年9月30日～10月2日、京都
- [2] Seiichi Yamamoto, Ryoichi Ban, Hideaki Fujita, Kenichi Kashikura, Chie Seki, Iwao Kanno: Development of a high resolution beta camera, 第36回日本核医学会総会、1996年9月30日～10月2日、京都
- [3] 菅野巖、関千江、柏倉健一、藤田英明、松浦哲也、高橋和弘：¹⁵O標識水内頸動脈瞬時注入クリアランス法によるラット脳表血流量測定、第37回日本核医学会総会、1997年11月19日～21日、大宮市
- [4] 関千江、菅野巖、柏倉健一、松浦哲也、藤田英明、高橋和弘：ベータカメラによるラット脳表の血流、酸素代謝測定法の検討、第37回日本核医学会総会、1997年11月19日～21日、大宮市

14 . Evaluation of interstitial oxygen concentration in the brain estimated by beta-camera and intra-carotid bolus injections of O-15 labeled water and O-15 labeled red-blood-cells.

15 . Akita Research Institute of Brain and Blood Vessels

16 . Chie Seki (JST Akita)

17 . Tetsuya Matsuura, Akita-Laboratory (JST Akita)

Kenichi Kashiura, Akita Laboratory (JST Akita)

Hideaki Fujita, Akita Laboratory (JST Akita)

Seiichi Yamamoto (Kobe City College of Technology)

Iwao Kanno (Akita Research Institute of Brain and Blood Vessels)

18 . 1996 - 2000

19 . Abstract

The mechanism and the sequence of the second signal (vascular response and oxygen consumption) of neuronal activation have been investigated. So far it has been believed that oxygen tension in extravascular space is very low and oxygen is supplied mostly from blood (oxyhemoglobin). This is generally assumed in quantification of regional cerebral metabolic rate of oxygen (rCMRO₂) with positron emission tomography (PET). Recently, a few reports suggested the possibility of significant oxygen content in extravascular space. In this study, intra-carotid bolus injection of O-15 oxygen, a positron tracer, and beta camera were used to observe the kinetics of labeled oxygen of surface of cortex in rats. Clearance rate was estimated and compared with the case of O-15 water. Clearance of tracer oxygen is metabolic water and should be the same manner of

water if all extracted oxygen is immediately metabolized. Comparison of clearance curves between O-15 oxygen and O-15 water revealed that faster clearance rate of oxygen than that of water. It intimates certain oxygen buffer (pool) in extravascular space.