

## 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	齊藤 仁十
<p>学位論文題目</p> <p>Quantitative Blood Flow Assessment by Multiparameter Analysis of Indocyanine Green Video Angiography  (インドシアニンググリーンビデオ血管造影における、多パラメータを用いた定量的血流解析)</p> <p>共著者名  嵯峨健広, 林 英昭, 野呂昇平, 和田 始, 鎌田恭輔</p> <p>World Neurosurgery. 2018 Aug;116:e187-e193.  doi: 10.1016/j.wneu.2018.04.148. Epub 2018 May 3.  平成30年</p> <p>研究目的</p> <p>インドシアニンググリーン(以下, ICG)はこれまで30年以上にわたり肝機能評価や眼底造影などで使われてきた。ICGは体内のリポ蛋白と結合下で約800nm励起光を照射すると約830nmの近赤外蛍光を発する。この手法を用いた血管造影はICGビデオ血管造影(ICG video angiography, ; ICG-VAG)と呼称され2003年にRaabeらより初の臨床応用が報告された。</p> <p>脳動脈瘤のクリッピング術や脳血管バイパス手術での術中評価に用いられてきたが、定性的評価にとどまり流量とICG-VAG所見についての定量的報告は乏しい。</p> <p>そこで、われわれは血管血流量とICG-VAGにおける輝度変化から各種パラメータの関係を定量することを目的とした。</p>			

(1)

※用紙の大きさは、A4判とし23×17cmの枠内におさめ、パソコン等で印字すること。

※用紙は、各自で作成すること。

材 料 ・ 方 法

1) ICG-VAGモデル実験

ICG単独の状態では800nmの励起光を照射しても蛍光を発しない。我々は細胞培養用の胎児ウシ血清(fetal bovine serum, 以下;FBS)とICGの混合物が励起光により近赤外蛍光を発することを発見したので、この混合物をモデル実験の色素に用いた。

回転ポンプ(150ml/分)に接続した流路に25mlの希釈、混和用チャンバーを設け、その後に流路を2分割した。一方の流路に観察用シリコンチューブ(2-3mm)を設けた。各流路の遠位に無段階クレンメを設け、観察点の流量を0から150ml/分に連続的に変化させ(図1)、各流路の実流量は1分間に流れた流液の質量を実測した。ICG色素はICG原液(2.5mg/ml)とFBSを1:3で混和し0.5mlをポンプ上流に注入した(図1)。ICG-VAGは、外科手術用顕微鏡(ライカ社, OH4, キセノン灯300W, 拡大率 2倍、焦点距離 206mm)を用い外科手術と同条件で撮影した。

2) 手術時のICG-VAG撮影と流量計測

ICG(0.04mg/ml, 0.1mg/kg)は確保した静脈路から急速静注し生理食塩水で後押しした。ICG-VAG撮影には、外科手術用顕微鏡(ライカ社, OH4, キセノン灯300W)を用い、拡大率 2倍、焦点距離 206mmと同条件とした。観察対象は開頭術中の中大脳動脈、浅側頭動脈バイパスグラフト、頸動脈内膜剥離術(CEA)中のシャントチューブとした。流量計測には血管径に合致した超音波トランジットタイム血流計(VeriQ, 1.5-5mm)を用いた(図2)。

3) ICG-VAG解析

ICG-VAGの解析には、解析プログラムの FlowInsight を用いた。FlowInsightは、ICGビデオ動画を自動的に解析し、各画素(ピクセル)の経時的輝度変化をグラフ化(時間-輝度曲線)し、各種パラメータを自動解析する。各画素が持つパラメータは以下の通りである。AT(arrival time)はICG投与から画素の輝度がピークの5%に達する時間で色素の到達時間を示す。TTP(time to peak)は画素の輝度が最高となる時間である。Grad(Gradient)はATから画素の輝度が最高となる点までの傾きで示される。BVは時間-輝度曲線のカーブ下面積、で示され、MTT(mean transit time)は、ATからBVの面積重心までの時間で、MFV(mean flow velocity)は  $BV / MTT$  で表される。チューブや血管上に関心領域(ROI)を設定し、同ROIでの各パラメータ値を出力し、実流量との相関を検討した。

4) 統計解析

統計解析にはExcel 2007(Microsoft社)、とR ver 2.8.1(R foundation)を用いた。相関はR2乗値で0.50以上、p値 0.05未満を有意とした。

## 成 績

### 1) ICG-VAGモデル実験

分析パラメータの Grad は、2-3mmのシリコンチューブにおいて、明らかな指数関数的相関を認めた。R2乗値は 0.90 ( $p < 0.001$ ) だった(図3 A)。このように我々は Grad が 5から150ml/分の範囲において実流量を正確に反映することを発見した。MFVもこれらのチューブ、流量において実流量と指数関数的な挿管を認めた (R2乗値 0.65,  $P < 0.001$ )。

ATやTTPは実験者のICG注入タイミングに多大の影響を受けるため、流量を反映することは難しい。このICG-VAGの基礎研究により、臨床研究に移行した。

### 2) 手術時のICG-VAG撮影と流量計測

我々は17手術症例、19観察点で計測を行った。対象は動脈13例15か所とCEA(頸動脈内膜剥離術)中のシャントチューブ(Prruit - Inahara shunt tube, USA)4例4か所だった。10例はEC-IC(外頸-内頸動脈)バイパス手術中のグラフト血管で、5か所は未破裂脳動脈瘤クリッピング手術中の中大脳動脈分枝だった。

実血流の計測には超音波トランジットタイム血流計を用いた。その計測値はEC-ICバイパスグラフトで 11-40ml/分(平均 22.3ml/分), 中大脳動脈分枝で18-48ml/分(平均 32.8ml/分), CEAの内シャントチューブで45-141ml/分(平均 100.3ml/分)だった。

Gradと超音波トランジットタイム血流計で計測した実血流は、指数関数的相関を示しR2乗値は 0.82,  $P < 0.001$  だった(図3 B)。またMFVと実血流とMFVの間にも正の指数関数的相関を認め(R2乗値 0.36,  $p=0.04$ )、今後の指標となりうると考えられた。

## 考 案

我々は Grad が実血流量を反映する最も良い指標であり、MFVが次いで良好な指標であると示した。この測定手法により血管の循環動態の正常と異常状態を術中に評価できると考える。FlowInsightを用いた術中血流量評価により、例えばSTA-MCA(浅側頭動脈-中大脳動脈)バイパス手術などで血流方向や血管狭窄、術後の過灌流症候群の可視化が可能になる。また、術中に血流状態の情報が得られることにより手術操作の追加など術中判断の材料とでき、広く使用できる。

これまでのブタ (swine) で放射性同位元素を用いた血流定量とICG投与後の経皮近赤外スペクトル変化について検討した報告では"blood flow index"(本報告での Grad に相当)が線形相関を示すと報告している。またGradが血流量を反映し過灌流症候群の予測因子であるとの報告もある。ただこれまでICG-VAGを実験モデルで検討した報告はなかった。我々の作成した実験モデルの時間輝度曲線は、臨床のものと類似した明確なピークとその後のなだらかな低下を示しており、流量に応じてGradやMFV、BV、ピーク値など各指標が変化していた。我々の実験モデルと臨床計測からはGradとMFVが血流を反映する指標だと考える。

考 案(続き)

臨床例(図4)ではSTA-MCAバイパス手術前後で脳表のGradに極端な上昇を認めたため、嚴重に術後の血圧管理を行い臨床的な過灌注症候群を避けることができた。

ICG-VAGは投与するICGの量やポンプの流量、光源の強さ、撮影する際のレンズと観察点の距離・拡大倍率、カメラの感度など様々な要素に影響を受ける。このため我々はこれら条件を統一・固定して撮影を行い、実流量が20-40ml/分の時、Gradは10-20と相関した。既報では、線形相関と報告されていたが、われわれは血流計測範囲を広げるため、CEA中のシャントチューブも計測したことで5-150ml/分の間での指数関数的相関を示せたと考える。Yamamotoらの冠動脈バイパス術での報告では術中の低Gradと術後のバイパスグラフト閉塞との関連を報告している。

本報告は渉猟した範囲でICG-VAGでモデル実験と臨床計測の双方を行った初めての報告である。GradとMFVの間にも正の相関が認められており、MFVも今後有用な指標の一つと考えられる。

結 論

ICG-VAGは脳血流定量の有用な方法であり、手術中の方針判断にも有用な情報を与えると考える。我々の手法にはさらなる症例の積み重ねが必要だが、傾向輝度変化のパラメータの一つであるGradが実血流を反映するという発見は有用であると考えられる。

引 用 文 献

1. Raabe A, Nakaji P, Beck J, Kim LJ, Hsu FP, Kamerman JD, et al. Prospective evaluation of surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery. *J Neurosurg.* 2005;103:982-989.
2. Kuebler WM, Sckell A, Habler O, Kleen M, Kuhnle GE, Welte M, et al. Noninvasive measurement of regional cerebral blood flow by nearinfrared spectroscopy and indocyanine green. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18:445-456.
3. Yamamoto M, Nishimori H, Handa T, Fukutomi T, Kihara K, Tashiro M, et al. Quantitative assessment technique of HyperEye medical system angiography for coronary artery bypass grafting. *Surg Today.* 2017;47:210-217.
4. Kamada K, Ogawa H, Saito M, Tamura Y, Anei R, Kapeller C, et al. Novel techniques of real-time blood flow and functional mapping: technical note. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2014;54:775-785.

参 考 論 文

1. 齊藤仁十, 白井和歌子, 徳光直樹, 佐古和廣. 治療に難渋したCEA(carotid endarterectomy)後頸部リンパ液貯留の1例. *脳神経外科ジャーナル* 20(9), 692-696, 2011 (平成23年)
2. Wada H, Saito M, Kamada K. Evaluation of changes of intracranial blood flow after carotid artery stenting using digital subtraction angiography flow assessment. *World J Radiol.* 2015 Feb 28;7(2):45-51.

平成31年 2月 4日

大学院博士課程委員会委員長 殿

審査委員長 東 徳良 

学位論文審査結果の報告について

斎藤 仁十 氏提出の学位論文審査及び学力の確認を終了しましたので、  
下記により提出します。

記

1. 学位論文の要旨 (3, 000字以内)
2. 学位論文の審査結果の要旨 (800字以内) 1部
3. 学力確認の結果

審査委員長 東 徳良  適  否 

審査委員 沖崎 登琢  適  否 

審査委員 岡田 良  適  否 

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	齊藤 仁十
審査委員長 東 信良 			
審査委員 沖崎 貴琢 			
審査委員 國澤 卓之 			
学 位 論 文 題 目			
<b>Quantitative Blood Flow Assessment by Multiparameter Analysis of Indocyanine Green Video Angiography</b> (インドシアニングリーンビデオ血管造影における、多パラメーターを用いた定量的血流解析) 掲載雑誌：			
インドシアニンググリーン (ICG) を用いたビデオ血管造影 (以下 ICG-VAG) は、脳血管外科領域において約 30 年前から臨床で用いられてきたが、これまでは血流の定性評価にとどまるものであった。そこで論文提出者は、この ICG-VAG から流量の定量的評価を可能にすることを目的に、研究を行った。 論文提出者は、ICG がウシ胎児血清と結合して蛍光を発することを発見し、ウシ胎児血清溶液をチューブに流す実験ファントムを作成し、手術顕微鏡を用いて ICG-VAG を撮影し、血流解析を行った。ICG-VAG 動画の各要素の時間一輝度曲線をソフトウェアで自動解析した。解析の結果、ファントム実験では、輝度の 5% 上昇点からピークまでの傾き” Gradient (Grad)”が実チューブ流量と指数関数的に良好に相関することを見出した。次いで、脳神経外科で実際に血行再建手術をおこなった臨床例について、ICG-VAG での測定を行って解析したところ、Grad はファントム実験と同様に血流計測定値と良好な指数関数的相関を示した。 これらの結果より、Grad を指標とすることで、ICG-VAG から局所血管の流量を計測可能であることが示唆された。なお、本報告は、ICG-VAG のファントムを作成し、実手術例と対比して流量との相関を検討した初めての報告である。 論文提出者に対する論文内容及び関連領域に対する諮問や論文発表会での質疑に対する応答において、適切かつ明解な回答が得られ、研究領域における高い資質を有することが確認された。 以上より、当審査委員会は、本論文が博士 (医学) の学位に値すると判定した。			