

学位論文題名

Tissue oxygenation changes in the irradiated mandibular bone: A near infrared spectroscopy study.

(放射線照射を受けた下顎骨における酸素濃度変化の測定：
近赤外分光法による計測)

学位論文内容の要旨

【緒言】

放射線性骨壊死は骨細胞における酸素代謝活性の低下、および局所の循環障害により骨組織に慢性的な低酸素環境が生じるために引き起こされると考えられている。そのため放射線性骨壊死に対する治療として高気圧酸素療法がおこなわれるようになってきた。

以上のことは、骨内の酸素濃度を計測することができれば、骨壊死の程度あるいは治療による回復状態を把握するための有用な情報が得られる可能性を示唆している。

近赤外分光法は組織を通過した近赤外光の強度がヘモグロビンなどの酸素化-脱酸素化に対応して変化することを応用したものであり、組織内の酸素濃度変化をリアルタイムに、しかも非侵襲的に知ることができる。現在までに、脳内や筋肉内の計測を行った報告は多数あるが、硬組織内の計測に関する報告はほとんどない。

そこで今回、下顎骨内における酸素濃度変化を近赤外分光法によって計測することが可能であることを確認した後、放射線照射による骨障害の程度を組織酸素代謝の観点から把握することが可能であるかを検討する目的で、放射線照射後の顎骨内酸素濃度の経時的变化を近赤外分光法により計測した。

【材料と方法】

1) 実験動物および照射方法

実験動物として体重約3.0kgの健常な雄の成熟家兎20羽を用いた。これを非照射群と照射群に分け、照射群では左側下顎骨体部に⁶⁰Co- γ 線80Gyで1回外照射を行った。

2) 計測方法

近赤外光の計測にはユニソク社製4波長生体分光計測装置を用いた。計測波長として700nm, 730nmおよび750nmを用い、酸素化ヘモグロビン量、以下

[oxy-Hb], 脱酸素化ヘモグロビン量, 以下[deoxy-Hb], および全ヘモグロビン量, 以下[t-Hb]を計測した。Hb, HbおよびT-Hbの算出には以下の演算式を用いた。

$$\Delta[\text{oxy-Hb}] = -0.254 \times \Delta\text{OD}700 - 1.590 \times \Delta\text{OD}730 + 1.845 \times \Delta\text{OD}750$$

$$\Delta[\text{deoxy-Hb}] = 0.763 \times \Delta\text{OD}700 - 1.479 \times \Delta\text{OD}730 + 0.716 \times \Delta\text{OD}750$$

$$\Delta[\text{t-Hb}] = 0.509 \times \Delta\text{OD}700 - 3.069 \times \Delta\text{OD}730 + 2.560 \times \Delta\text{OD}750$$

近赤外光の送光および受光プローブには, 自作した直径約2.5mmの光ファイバーを使用した。プローブは直接骨膜上に接するようにした。また, プローブの固定には常温重合レジンにより予め作成しておいたアダプターを用い, 送光プローブと受光プローブの距離を約2mmとなるようにした。

本測定法では光路長が不明であると, 算出される値は相対的な変化としてあらわされことになるが, 今回の実験では全ての実験動物に同一のアダプターを用いることで両プローブ間の距離を一定に保つように配慮したので, 本実験に関する限りは, 各実験動物の間での比較が可能となっている。

すべての家兎は, 塩酸ケタミンと塩酸メドミジンの混合液を耳介静脈内に持続投与して全身麻酔を施し, 鼻マスクから吸入気酸素濃度 (以下 FiO_2) 21%の酸素を吸入させ, 自発呼吸下で管理した。その後以下に示すプロトコールに従って [oxy-Hb], [deoxy-Hb] および [t-Hb] の変化を計測した。

(プロトコール1)

一時的に血流を遮断したときの変化をみるためのもので, FiO_2 を21%で60秒間安静を保った後, 予め露出しておいた両側総頸動脈を120秒間閉塞し, その後直ちに開放した。

(プロトコール2)

血液中の酸素濃度を低下させたときの変化をみるためのもので, FiO_2 を21%で60秒間安静を保った後, 100%窒素ガスを90秒間吸入させ, その後再び FiO_2 21%で吸入させた。

計測は実験開始後1, 5, 9, 12ヶ月目に行った。

【結果と考察】

A)非照射群における変化

1)両側総頸動脈を閉塞したときの変化。

[oxy-Hb] は, 総頸動脈の閉塞と同時に減少し始め, 閉塞後約50秒でほぼ一定の値となり, 閉塞解除とともに増加し, 基線を越えて正の方向に増加した後に基線に収束した。

[deoxy-Hb] は閉塞後, 緩やかに増加し, 閉塞解除とともに速やかに減少し, 基線を越えて負の方向へ減少した後に基線に収束した。

[t-Hb] は, 閉塞と同時に減少し, 閉塞後約40秒で最低値に達し, 閉塞解除後は急激に増加して基線を越えて正の方向にやや増加した後, 徐々に基線に収束した。

2) FiO_2 を変化させたときの変化。

[oxy-Hb] は, 無酸素状態にしてから約20秒後より徐々に減少する傾向が認めら

れた。この減少傾向はFiO₂を21%に戻した後も約40秒間継続して最低値に達し、その後は徐々に増加して基線に収束した。

[deoxy-Hb]は、無酸素にしてから約20秒後より徐々に増加する傾向を示した。この増加傾向はFiO₂を21%に戻した後も約40秒間継続し、最高値に達した後に徐々に減少傾向を示して基線に収束した。

なお、[t-Hb]については変化は認められなかった。

これら非照射群の計測結果は、これまでに報告されている筋肉内や脳内の酸素濃度変化を計測した結果と同様であることから、顎骨内においても計測が可能であることが確認された。

B)非照射群および照射群の変化

1)両側総頸動脈を閉塞させたときの变化.

照射群における[oxy-Hb]は、基本的には非照射群と同様の変化を示したが、その変化量は照射後の時間経過とともに減少する傾向が認められ、特に照射5ヶ月以降での減少が著明であった。

[deoxy-Hb]についても基本的には非照射群と同様の変化を示したが、その変化量は照射後の時間経過とともに僅かに減少する傾向が認められた。

[t-Hb]においても、照射後の時間経過とともに変化量が減少する傾向が認められ、特に9ヶ月群、12ヶ月群における変化量の減少が著明であった。

2)FiO₂を変化させたときの变化.

照射群における[oxy-Hb]ならびに[deoxy-Hb]の変化量は照射後の時間経過とともに徐々に減少する傾向が認められた。

また、[t-Hb]はいずれの照射群においても非照射群と同様に変化は見られなかった。

血流を遮断したときの变化は組織内における血流量を反映しており、特に[t-Hb]は全血液量の変化を反映することから、照射後9ヶ月および12ヶ月群では顎骨内の全血液量が明らかに減少していると考えられた。

無酸素状態にした時の[oxy-Hb]と[deoxy-Hb]の変化は、組織における酸素代謝を反映することから、照射群においては顎骨内酸素代謝が照射後の時間経過に従って徐々に低下してゆくと考えられた。

以上から、顎骨内においても近赤外分光法を用いて酸素濃度変化の計測が可能であるのがわかった。また顎骨内酸素濃度を計測することにより、放射線照射後の顎骨における障害程度の判定あるいは治療による回復状態を把握するための有用な情報が得られる可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 塚 靖 則
副 査 教 授 吉 田 重 光
副 査 教 授 中 村 太 保
副 査 教 授 田 村 守

学 位 論 文 題 名

Tissue oxygenation changes in the irradiated mandibular bone:A near infrared spectroscopy study.

(放射線照射を受けた下顎骨における酸素濃度変化の測定：
近赤外分光法による計測)

審査は、審査員全員出席の下に、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭試問により行われた。審査論文の概要は、以下の通りである。

本研究は、放射線照射による骨障害の程度を組織酸素代謝の観点から把握することが可能であるか否かを検討する目的で、放射線照射後の顎骨内酸素濃度の経時的変化を近赤外分光法により計測したものである。

実験動物として成熟雄家兎20羽を用い、これを非照射群4羽と照射群16羽とに分け、照射群では左側下顎骨体部に ^{60}Co - γ 線を80Gy1回外照射した。近赤外光の計測にはユニソク社製4波長生体分光計測装置を用いた。計測波長として700nm、730nmおよび750nmを用い、酸素化ヘモグロビン量(以下HbO₂)、脱酸素化ヘモグロビン量(以下Hb)、および全ヘモグロビン量(以下T-Hb)を計測した。近赤外光の送光・受光プローブには自作の光ファイバーを使用し、プローブが直接骨膜上に接するようにした。また実験動物間での測定値の比較を可能とするため、送光プローブと受光プローブの距離が約2mmとなるように設定し、自作のアダプターで固定した。

測定時には、全身麻酔を施し、鼻マスクから吸入気酸素濃度(以下FiO₂)21%の酸素を吸入させ、自発呼吸下で管理した。その後以下に示すプロトコルに従ってHbO₂、HbおよびT-Hbの変化を計測した。

プロトコル1：FiO₂21%で60秒間安静を保った後、予め露出しておいた両側総頸動脈を120秒間閉塞し、その後直ちに開放。

プロトコル2：FiO₂21%で60秒間安静を保った後、100%窒素ガスを90秒間吸入させ、その後再びFiO₂21%で吸入。

計測は実験開始後1、5、9、12ヶ月目に行い、計測後直ちに10%ホルマリンで灌流固定を行い、5%ゼラチン加墨汁を両側総頸動脈より注入し、通法に従って250 μm のセロイジン切片を作成して顎骨内血管分布を光学顕微鏡で観察した。

非照射群においては、HbO₂は両側の総頸動脈閉塞と同時に減少し始め、約50秒後にほぼ一定の値となり、閉塞解除とともに増加し、基線を越えて正の方向に増加後、基線に収束した。Hbは閉塞後緩やかに増加し、解除とともに速やかに減少

し、その後同様に基線に収束した。T-Hbは閉塞と同時に減少して約40秒後に最低値に達し、解除後は急激に増加し、その後同様に基線に収束した。また、100%窒素ガス吸入時には、HbO₂は約30秒後より徐々に減少し始め、FiO₂を21%に戻した後も約30秒間継続して最低値に達したのち、徐々に増加して基線に収束した。

Hbは、約30秒後より徐々に増加し、FiO₂を21%に戻した後も約30秒間継続し、最高値に達した後に徐々に減少して基線に収束した。T-Hbについては変化は認められなかった。これらの計測結果は、これまでに報告されている筋肉内や脳内の酸素濃度変化を計測した結果と同様で、顎骨内においても計測可能であることが確認された。

一方、照射群における変化をみると、総頸動脈閉塞時のHbO₂の変化は基本的には非照射群と同様であったが、その変化量は照射後の時間経過とともに減少する傾向が認められ、特に照射5ヶ月以降で減少が著明であった。Hbについても基本的には非照射群と同様であったが、その変化量は照射後の時間経過とともに僅かに減少する傾向がみられた。T-Hbにおいても、照射後の時間経過とともに変化量が減少する傾向が認められ、特に9ヶ月群、12ヶ月群において著明であった。また、100%窒素ガス吸入時には、HbO₂ならびにHbでは照射後の時間経過とともに変化量が徐々に減少する傾向がみられたが、T-Hbには変化は見られなかった。血流を遮断したときの変化は組織内における血流量を反映しており、特にT-Hbは全血液量の変化を反映することから、これらの結果は照射後9ヶ月および12ヶ月群では顎骨内の全血液量は著明に減少していることを示しているものと考えられた。一方、無酸素状態にした時のHbO₂とHbの変化は、組織における酸素代謝を反映することから、照射群においては顎骨内酸素代謝が照射後の時間経過に従って徐々に低下してゆくことを示唆しているものと思われる。さらに、照射群においては非照射群にみられるリバウンドが認められないことから、本測定法により照射後の血管障害を早期に把握しうる可能性も示唆された。

論文の審査にあたって、論文申請者による研究の要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について質問が行われた。いずれの質問についても、論文申請者から明快な回答が得られ、また将来の研究の方向性についても具体的に示された。本研究は、顎骨においても近赤外分光法を用いて酸素濃度変化の計測が可能であることを示し、さらに顎骨内酸素濃度を計測することにより、放射線照射後の顎骨における障害の程度ならびに治療による回復状態を把握するための有用な情報が得られる可能性を示唆したことが高く評価された。本研究の業績は、口腔外科の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。