

## 筋循環・代謝研究における近赤外線分光法の有用性と限界

浜岡 隆文

**要 旨**：近赤外線分光法(NIRS)は、筋やその他の組織の酸素動態を*in vivo*で非侵襲的に測定する方法として、Jöbsisにより1977年に報告された。ヒトの筋における代謝の測定には、非侵襲性と実時間での測定が不可欠であることから、NIRSは本分野の有用な手段として発展してきた。しかし一方、理想的な物理モデルを想定した酸素化レベルの計算式は、時としてヒトの測定データと合致しないこともある。本稿では、これらの測定上の限界について述べる。

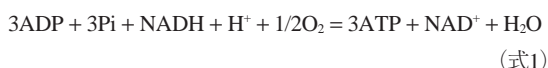
(J Jpn Coll Angiol, 2009, 49: 159-162)

**Key words**: near-infrared spectroscopy, exercise, muscle oxygenation, oxidative metabolism, subcutaneous fat

## はじめに

近赤外線分光法(near-infrared spectroscopy: NIRS)は近年、骨格筋代謝研究に多用されるようになってきている。その理由として、骨格筋のエネルギー代謝が酸化的リン酸化反応に大きく依存することが挙げられる。

骨格筋における酸化的リン酸化の経路は以下の式により示される<sup>1)</sup>。



ADPはアデノシン2リン酸、Piは無機リン酸、NADHは還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、ATPはアデノシン3リン酸、NAD<sup>+</sup>はニコチンアミドアデニンジヌクレオチドを示す。

一般に、運動時には、骨格筋は酸素消費を50倍以上、酸素供給を10倍以上に増加させることができる。したがって、循環系疾患をはじめとする病態においては、有酸素代謝と酸素供給が制限を受け、その結果として運動機能の低下が起こる。

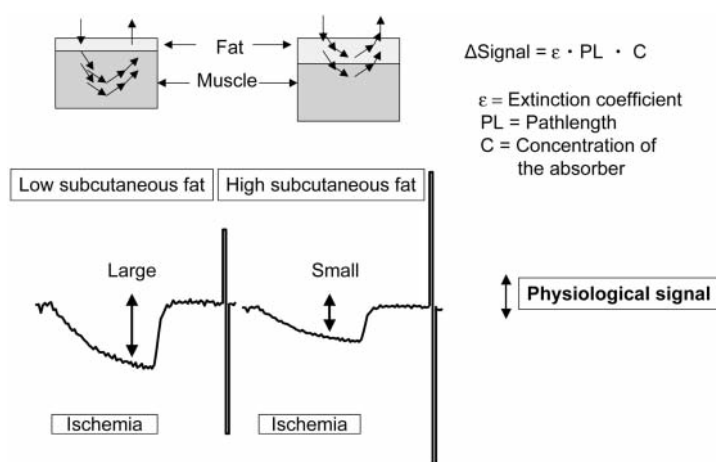
光を用いた酸素測定の初期には、Chance, Jöbsisらが種々の臓器のエネルギー代謝を研究してきた。特に、2006年逝去された本分野のバイオニアであるJöbsisは、Duke大学時代には、酸素と還元基質の供給がミトコン

ドリア呼吸に重要な役割を果たしている(式1)ことを、生化学および生理学手法の両面から明らかにした。その後、Jöbsisらの精力的な研究によって、近赤外線分光法が開発され、各種臓器の代謝研究が*in vivo*で可能となった。特に1977年にScienceに発表されたJöbsisの論文<sup>2)</sup>は、本分野のマイルストーン的役割を果たした。Jöbsisは近赤外光の組織への進達度の高さを発見し、その性質を研究に応用するに至った経緯について、次のように述べている<sup>3)</sup>。「1976年12月28日に家族と夕食を楽しんでいた。そこで、厚さ3~4mmの子牛の鎖骨を指でつまみ、明かりにかざしたところ、鎖骨を通して指の陰影が赤い散乱光の中にくっきり浮かび上がった。Jöbsisは、可視光(赤)よりも波長の長い近赤外光であれば、さらに組織への透過度が高いので、体外からでも生体内の状態を観察できるに違いないと考えた」。Jöbsisは、このような経緯から近赤外光を用いた脳内酸素代謝の研究を開始し、その後、骨格筋代謝の研究も行われるようになった。

本論文では、これまで行われてきた近赤外線分光法を用いた骨格筋酸素動態と代謝の研究の測定上の特徴を述べ、その問題点についても触れる。

## 近赤外線分光法の測定原理とその特徴

これまでにいくつかの種類の近赤外線分光装置が開発



**Figure 1** A qualitative description of reduced NIRS signal intensity by a larger adipose tissue thickness.

されており、これらは大きく3種に分類できる。連続光分光法(NIR continuous wave spectroscopy: NIR-CWS)、時間分解分光法(NIR time resolved spectroscopy: NIR-TRS)<sup>4-6)</sup>、位相差分分光法(NIR phase modulated spectroscopy: NIR-PMS)<sup>7,8)</sup>である。一般に、近赤外光は700~3,000nmの波長領域を指すが、生体での水による光吸収の関係から、すべての分光装置で700~900nmの波長が用いられている。NIR-CWSは、一般には、2波長または3波長以上の近赤外光を用いて、組織内の酸素化ヘモグロビン・ミオグロビン濃度(Hb・Mb)、脱酸素化Hb・Mb、総Hb(総Mb濃度は変化しないので)の相対的变化を0.5秒程度の間隔で連続的に測定することが可能であり、活動中の骨格筋の酸素動態の測定に利用されている。測定対象は毛細血管および細動脈と細静脈内のHb、細胞内のMbとされており、現在のところ近赤外線分光法のみでは、これらの情報を区別することは困難である。本稿では便宜的にHb・MbをHbと表記する。

NIR-CWSにより測定されるHbO<sub>2</sub>の変化はBeer-Lambert則を基に計算される。

$$I = I_0 \cdot \exp(-\epsilon \cdot C \cdot L)$$

$$\log(I_0/I) = \epsilon \cdot C \cdot L$$

$$C = \text{OD}/(\epsilon \cdot L) \quad (\text{式2})$$

I: 透過光, I<sub>0</sub>: 入射光,  $\epsilon$ : 吸光係数, C: 物質濃度, L: 光路長, OD: 吸光度をそれぞれ示す。

NIR-CWS測定の場合、吸光係数は一定であり、光路長は不明であるがほぼ一定であると仮定し、吸光度が変化すると物質濃度が変化したと評価する。しかし、NIR-

CWSは組織の酸素動態の相対的变化を測定できるものの、生体内での光路長の測定が困難であることから、原理的に関心物質の絶対値を求めることができない欠点がある。生体が光学的(吸収係数、散乱係数等)に様な性質を有し、介在組織(皮膚、皮下脂肪、筋)の厚みも同一であれば、光路長を考慮することなく、被験者間および測定部位間の測定値の比較が可能であるが、生体は上記条件を厳密には満たしていない。しかしながら、NIR-TRSに比べ安価であり、小型・軽量の装置も開発されており、最も普及している。NIRが透過する深さは送光部と受光部との距離によって決定され、送受光間距離のおよそ1/2の深さまで透過する<sup>9)</sup>。送受光間距離が長くなるとS/N比が悪くなるため、骨格筋の測定では一般には送受光間距離3~4cmが用いられている。

### 近赤外線分光法測定の問題点

NIR-CWSにおける定量的測定の最大の障害は、皮下脂肪厚の個体差および測定部位差である。したがって、ヒトの骨格筋内の血液・酸素動態の測定において、皮下脂肪厚の違いによるNIR-CWSシグナル減衰の違いを補正しなければならない<sup>10,11)</sup>。その方法として、生理学的キャリブレーション<sup>12)</sup>と皮下脂肪厚を考慮したNIR-CWSシグナル感度の補正<sup>10)</sup>が用いられている。前者は、安静時のHbO<sub>2</sub>レベルもしくは運動後の最大値を100%、動脈血流遮断時の最低値を0%として異なる個人間あるいは実験間での比較を試みるものである<sup>12)</sup>。後者は、測定したoxy-Hb, deoxy-Hb, およびt-Hb濃度を、皮下脂肪厚(h)を考慮

した測定感度( $S$ )で除することで求めることができる<sup>10)</sup>。

$$S = \exp \{ -(h/A_1)^2 \} - A_2 G(a, b) \quad (\text{式3})$$

ただし、 $G(a, b)$ はガンマー分布、 $A_1, A_2, a, b$ は送受光間距離によって決まる定数である。

たとえば、送受光間距離が30~40mmの場合、皮下脂肪厚が5mmの測定部位は、皮下脂肪厚0mmに比較して受光する信号強度が2割程度低下し、送受光間距離が15~20mmの場合には、信号強度が3~6割程度低下する。定性的には、皮下脂肪厚の大きい測定部位では、小さい部位に比較して信号強度が低下することが示されている<sup>11)</sup>(Fig. 1)。また、測定機器や指標の演算方法による違いも指摘されている<sup>13)</sup>ので、NIR-CWSを用いた測定の際、またはデータ解析の際には、皮下脂肪厚の違いに十分留意する必要がある。

さらに、NIR-CWS測定においては、安静時、筋収縮時、運動後血流増加時等の負荷介入時に光路長が変化しないことを前提に測定値を表示している(式2)。これまで、この点について検討した研究は少ないが、前腕動脈血流遮断時には光路長の変動は、780nmでは-2~-8%、830nmでは-2~+1%とされている<sup>6)</sup>。また、最大随意収縮時の光路長の変動は10%以下であるとの報告もある<sup>5)</sup>。しかし一方、自転車最大運動時の大腿部のDPF(differential pathlength factor)は、減少量は小さい(690nmでは-7%、830nmでは-5%)ものの有意に変化すると報告もある<sup>14)</sup>。したがって、動脈血流遮断時、運動時、運動後回復時などの光路長の変化量については、今後のNIR-CWS定量的測定のために、幅広く検討することが求められる。

また、筋を対象とした測定の際には、NIRS測定のみでは原理的にHbとMbのシグナルが分離できないことが指摘されている。H-NMR(nuclear magnetic resonance: 核磁気共鳴)とNIRSを用いた測定等の結果から一般的には、少なくともNIRSにより測定したシグナルの80%以上がHbであるとされている<sup>15)</sup>。しかし一方で、Mbシグナルの関与の方が圧倒的に大きいとする研究<sup>16)</sup>もあり、この点についても今後さらに検討する必要があると考えられている。

### おわりに

近赤外線分光法による組織代謝研究は、1977年にJöbsisが書いた一本の論文から盛んとなり、その妥当性および有用性はさまざまな分野で確かめられている<sup>6, 7, 12, 17)</sup>。

筋代謝研究においては、生理学的研究に加え、種々の筋を対象としてさまざまな対象者の運動時の測定が行われている。近赤外線分光法の最大の利点は、非侵襲的かつリアルタイムに、これまでになく代謝情報を測定できる点にあり、この利点は今後とも揺るぎないものであろう。しかし、生体における測定深度、測定対象物質の血管内および細胞内の割合(血管のどの部分からの割合が多いか、またMbの割合等)、多層性モデル(皮膚層、皮下脂肪層、筋層)の問題等、未だに解決されていない問題も数多い。したがって、今後ともこれらの問題点については、検討する必要があると考えられる。

なお、筋代謝測定における近赤外線分光法研究のレビューについては、すでに出版されている最近の論文<sup>15, 18)</sup>を参照いただきたい。

### 謝 辞

本研究の一部は、科研費の助成(基盤研究B: 課題番号17300221)によって行われたことを明記し、深謝する。

### 文 献

- 1) Chance B, Leigh JS Jr, Kent J et al: Multiple controls of oxidative metabolism in living tissues as studied by phosphorus magnetic resonance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986, **83**: 9458-9462.
- 2) Jöbsis FF: Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science*, 1977, **198**: 1264-1267.
- 3) Jöbsis FF: Discovery of the near-infrared window into the body and the early development of near-infrared spectroscopy. *J Biomed Opt*, 1999, **4**: 392-396.
- 4) Chance B, Nioka S, Kent J et al: Time-resolved spectroscopy of hemoglobin and myoglobin in resting and ischemic muscle. *Anal Biochem*, 1988, **174**: 698-707.
- 5) Ferrari M, Wei Q, Carraresi L et al: Time-resolved spectroscopy of the human forearm. *J Photochem Photobiol B*, 1992, **16**: 141-153.
- 6) Hamaoka T, Katsumura T, Murase N et al: Quantification of ischemic muscle deoxygenation by near infrared time-resolved spectroscopy. *J Biomed Opt*, 2000, **5**: 102-105.
- 7) Franceschini MA, Boas DA, Zourabian A et al: Near-infrared spirometry: noninvasive measurements of venous saturation in piglets and human subjects. *J Appl Physiol*, 2002, **92**: 372-384.
- 8) Duncan A, Meek JH, Clemence M et al: Optical pathlength measurements on adult head, calf and forearm and the head

- of the newborn infant using phase resolved optical spectroscopy. *Phys Med Biol*, 1995, **40**: 295–304.
- 9) Chance B, Dait MT, Zhang C et al: Recovery from exercise-induced desaturation in the quadriceps muscles of elite competitive rowers. *Am J Physiol*, 1992, **262**: C766–775.
  - 10) Niwayama M, Yamamoto K, Kohata D et al: A 200-channel imaging system of muscle oxygenation using CW near-infrared spectroscopy (special issue on measurements and visualization technology of biological information). *IEICE transactions on information and systems*, 2002, **E85-D**: 115–123.
  - 11) McCully KK, Hamaoka T: Near-infrared spectroscopy: what can it tell us about oxygen saturation in skeletal muscle? *Exerc Sport Sci Rev*, 2000, **28**: 123–127.
  - 12) Hamaoka T, Iwane H, Shimomitsu T et al: Noninvasive measures of oxidative metabolism on working human muscles by near-infrared spectroscopy. *J Appl Physiol*, 1996, **81**: 1410–1417.
  - 13) Komiyama T, Quaresima V, Shigematsu H et al: Comparison of two spatially resolved near-infrared photometers in the detection of tissue oxygen saturation: poor reliability at very low oxygen saturation. *Clin Sci (Lond)*, 2001, **101**: 715–718.
  - 14) Ferreira LF, Hueber DM, Barstow TJ: Effects of assuming constant optical scattering on measurements of muscle oxygenation by near-infrared spectroscopy during exercise. *J Appl Physiol*, 2007, **102**: 358–367.
  - 15) Ferrari M, Mottola L, Quaresima V: Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Can J Appl Physiol*, 2004, **29**: 463–487.
  - 16) Tran TK, Sailasuta N, Kreutzer U et al: Comparative analysis of NMR and NIRS measurements of intracellular PO<sub>2</sub> in human skeletal muscle. *Am J Physiol*, 1999, **276**: R1682–1690.
  - 17) Sako T, Hamaoka T, Higuchi H et al: Validity of NIR spectroscopy for quantitatively measuring muscle oxidative metabolic rate in exercise. *J Appl Physiol*, 2001, **90**: 338–344.
  - 18) Hamaoka T, McCully KK, Quaresima V et al: Near-infrared spectroscopy/imaging for monitoring muscle oxygenation and oxidative metabolism in healthy and diseased humans. *J Biomed Opt*, 2007, **12**: 62105–62120.

## Usefulness and Limitation of Near-infrared Spectroscopy in the Study of Muscle Oxygenation and Metabolism

Takafumi Hamaoka

Department of Sports Medicine and Science, National Institute of Fitness and Sports in Kanoya, Kagoshima, Japan

**Key words:** near-infrared spectroscopy, exercise, muscle oxygenation, oxidative metabolism, subcutaneous fat

Near-infrared spectroscopy (NIRS) was initiated in 1977 by Jöbsis as a noninvasive method for measuring oxygenation in muscle and other tissues *in vivo*. There is an increasing need to develop non-invasive and “real-time” methods for evaluating skeletal muscle oxidative metabolism in humans. There has been extensive research that focused on the validity and reliability of the NIRS measurements. It is argued that quantitative testing approaches are needed to allow for greater ease of comparison between studies. In addition, basic research is still needed such as investigating the origin of the NIR signal, the NIR penetration depth or measurement area in tissue with varying source-detector orientation in the multi-layer model including the effect of non-muscular tissue, changes in optical properties during the wide range of tissue oxygenation status, varying subjects, and exercise modality.

(*J Jpn Coll Angiol*, 2009, **49**: 159–162)