

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21年 5月 30日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18591366

研究課題名（和文） ラマン分光を用いた胆嚢、胆道系腫瘍診断のための基礎的研究

研究課題名（英文） Efficacy of Raman spectroscopy to diagnose gall bladder and bile duct tumor

研究代表者

甲田英一 (KOHTA EHIICHI)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：80101989

研究成果の概要：ホルマリン固定された正常肝部、胆管炎、胆管癌、原発性肝癌、転移性肝癌（原発大腸癌）を研究対象とした。測定は 1064 nm の近赤外線励起レーザーを、ファイバースコープを介して対象に照射し、分光解析を行った。測定関心領域は、850-1700 cm^{-1} とした。正常肝部と癌病巣の鑑別では、全例で 1051、1130、1443 Raman Shift/ cm^{-1} において、正常部は癌部より高いピークを有していた。原発性肝癌と転移性肝癌における対比では、解析可能であった全例において、1447 Raman Shift/ cm^{-1} のラマン強度が転移性肝癌において高値を呈した。胆管癌病巣における計測は不能であった。以上の結果から、ラマン分光法を用いて、正常肝と癌部の鑑別は 1051、1130 Raman Shift/ cm^{-1} の計測を行うことで可能で、病巣部の鑑別においては、原発性肝癌と転移性肝癌との鑑別は 1447 Raman Shift/ cm^{-1} の強度計測を行うことで可能であった。胆管癌においては、胆汁が付着した状態では計測が不可能であった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	400,000	120,000	520,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	1,800,000	270,000	2,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：分析化学、癌、分光学、Raman

1. 研究開始当初の背景

1) ラマン分光は1928年にC.V. Ramanによって発見された分光法で、基本原理はレーザーを物質に照射するとその分子構造に特有な散乱線が発生するというものである。この発見でRamanは1930年にノーベル賞を受賞している。分子構造に対する特異性からこの分光法はFinger printing for molecular structureと称されている。本法はこの分子特異性の他に、測定にあたって対象とする物質を固定したり液体に浸す等の前処置を必要としないこと、物質の構成成分が限定されていると、ナノ秒という短時間で計測が可能で、顕微鏡を使用することが可能で、ごく小さなものでも計測できること、ファイバーを用いて人体内部計測が理論上可能なこと、等の利点がある。

2) これらの利点を用いて今まで数多くの研究がなされてきたが、理工学系では分子振動計測を極限化することでナノメートルの空間分解能を可能にし、薬剤と相互作用している核酸部位を空間分解同定することや溶液中の分子の動的分極と溶媒和構造の研究が、生物学系では複合分子組織体の構造と機能、特に分子会合体における分子間相互作用と超高速エネルギー移動、分子複合体における超高速解離・再結合ダイナミクス、細胞分裂周期における細胞オルガネラの生成機構、形態形成の非線形理論構築に対しての研究が注目されている。

3) 医学への応用は未だ発展段階で、臨床には供用されていない。これは感度の高い検出器がなかったこと、人体ではレーザー照射に伴ってノイズとなる蛍光が発生することが主な理由であった。我々は近赤外線を用いる

ことで人体から発生する蛍光が抑えられることに着目し、この領域における感度の高い検出器を東京大学大学院理学系研究科濱口宏夫研究室、浜松ホトニクスと共同開発してきた。その結果、人体肺組織のラマン分光を世界で始めて計測することに成功している。

2. 研究の目的

本研究の目的は摘出胆嚢、胆管、肝腫瘍に組織損傷を起こさない低エネルギー近赤外線レーザーを照射し、そこから得られたラマン分光を解析することで、腫瘍の分子構造に基づく正確な組織診断を行なえるようにすることである。そのためには、1) 近赤外線レーザーを照射し、ラマン散乱線を安定して得られるようにする、2) 癌部と非癌部でのラマン散乱光の波長、ピーク値の差を明確化することで両者の鑑別が可能であることを実証する。

3. 研究の方法

対象：ホルマリン固定された正常肝部、胆管炎、胆管癌、原発性肝癌、転移性肝癌（原発大腸癌）を対象とした。

方法：ラマン分光測定に使用した励起レーザーは1064 nmの近赤外線、レーザーパワー48-53mW、5-20分間の励起を行った。レーザー照射は本研究で開発したファイバースコープを介して行った。測定関心領域は、本研究の基礎研究成果をもとに、最終的に850-1700 cm^{-1} とした。ラマン分光解析は、F/2.5 collimating lensおよびHolographic notch filterを通過させた後、512チャンネルのInP/InGaAsP Multichannel polychromator (Hamamatsu Photonics製)で測定した。そのスペクトラム分解能は10 cm^{-1} でBack scattering geometryを用いた。測定は各検体に対して各2-5回施行した。分

光波形の評価は3名で行った。

図1 照射方法模式図

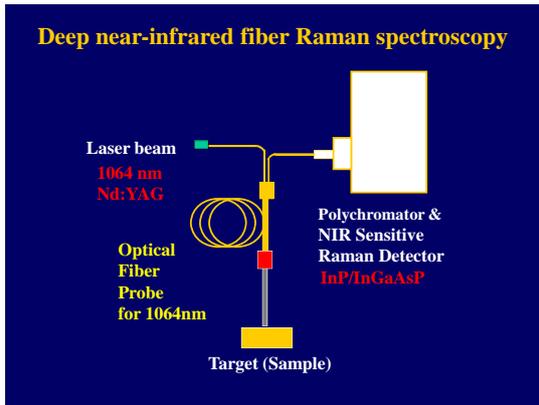
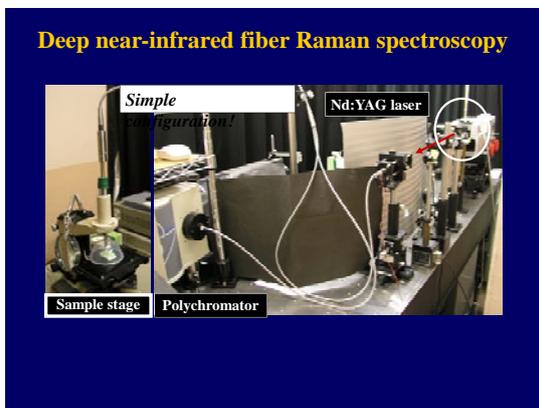


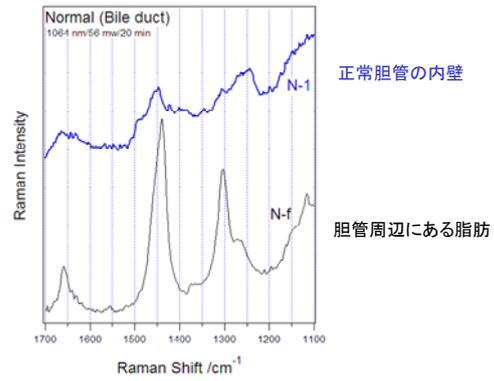
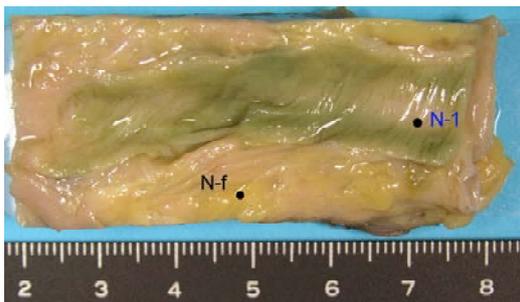
図2 開発した照射装置



4. 研究成果

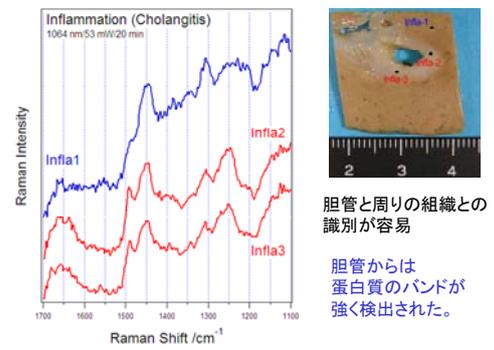
1) 正常胆管のラマンスペクトラム

正常胆管



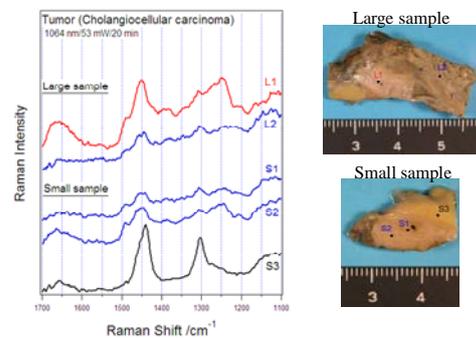
2) 胆管炎のラマンスペクトラム

炎症 (062412)

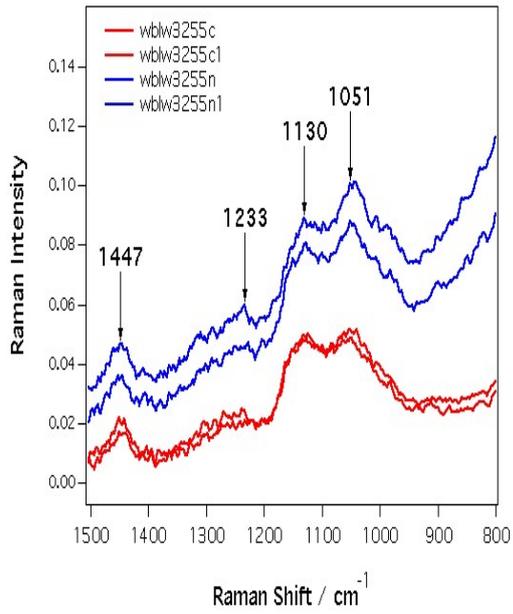


3) 胆管癌のラマンスペクトラム

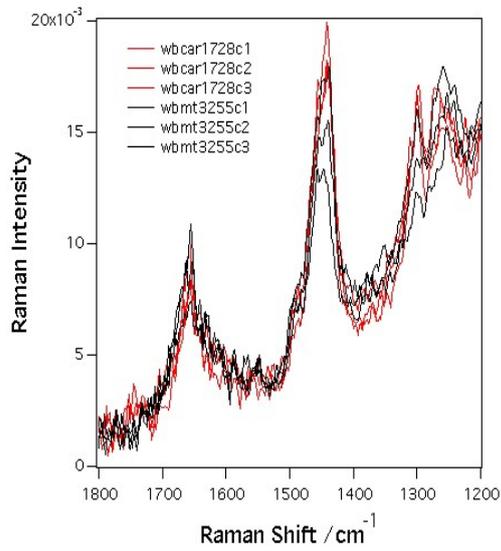
Tumor (051917)



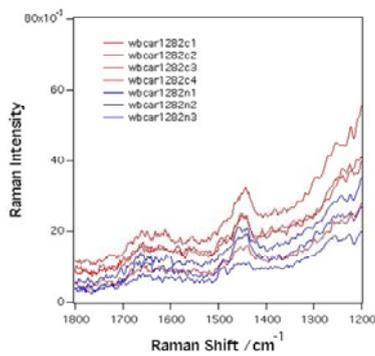
4) 正常肝と癌組織のラマンスペクトラムの差異 (赤が癌、青が正常肝のそれを示す)



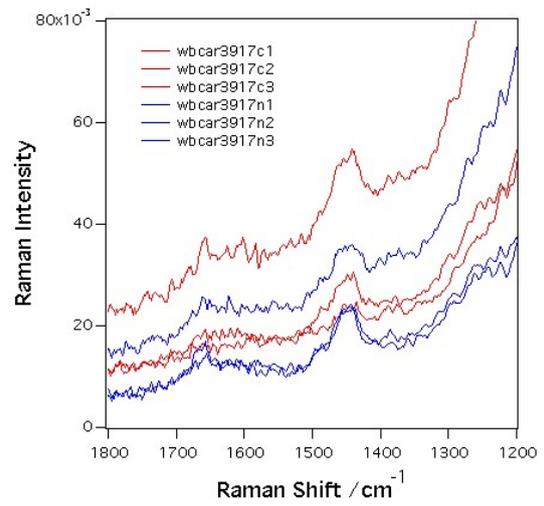
5) 肝細胞癌のラマンスペクトラム



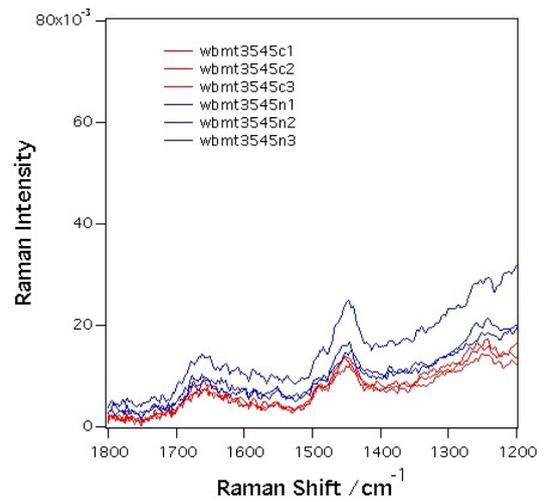
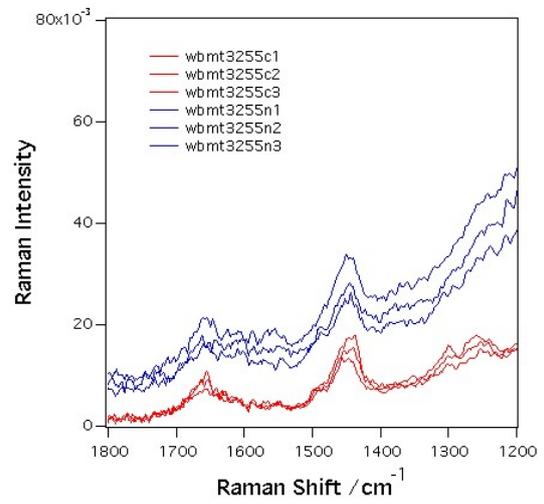
肝細胞癌出血部

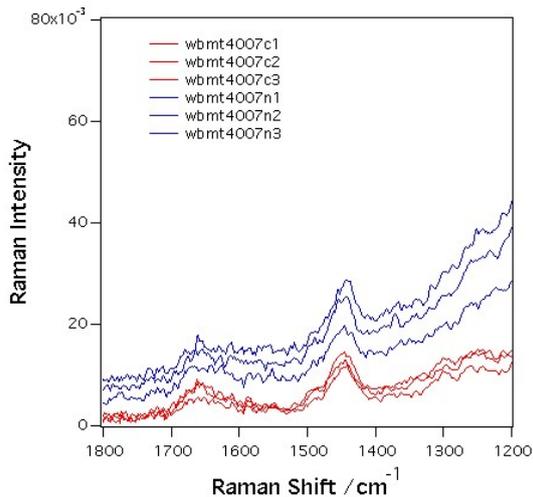


肝細胞癌非出血部



6) 大腸肝転移ラマンスペクトラム



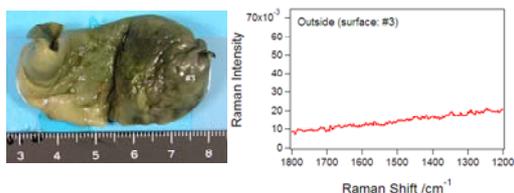


以上まとめると 1) 正常肝部と癌病巣における近赤外ラマンスペクトラムを対比すると、全例で 1051、1130、1443 Raman Shift/cm⁻¹において、正常部は癌部より高いピークを有していた。2) 原発性肝癌と転移性肝癌における近赤外ラマンスペクトラムの対比では、両者のスペクトラムの差分結果を検討した。解析可能であった全例において、1447 Raman Shift/cm⁻¹のラマン強度が転移性肝癌において高値を呈した。

以上の結果から、ラマン分光法を用いて、正常肝と癌部の鑑別は 1051、1130 Raman Shift/cm⁻¹の計測を行うことで可能であった。病巣部の鑑別においては、原発性肝癌と転移性肝癌との鑑別は 1447 Raman Shift/cm⁻¹の強度計測を行うことで可能であった。

7) 今後の問題点

Gall bladder



測定条件: laser power 30mW, exposure time 5 min
測定結果: 底部は、胆汁による青色が濃くて、殆ど蛍光のみの信号が検出された。

胆汁が測定部位にあると良好なラマンスペクトラムが測定できない。今後ディテクターの感度をさらに上げる必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

①Min YK, Yamamoto T, Kohta E, Hamaguchi H: Development of 1064 nm Raman probe toward in vivo clinical diagnosis of human lung cancer. International Conference on Laser Application in Life Science Syllabus: 73, 2008

(査読無)

[学会発表] (計 2 件)

①山崎裕哉、甲田英一、他: 近赤外ラマン分光システムによる癌の診断: 研究成果と今後の課題、第 6 回医用分光学研究、2009 年 2 月 6 日、川崎

②甲田英一、がんの低侵襲治療に向けた医工連携の課題と展望、第 3 回東工大統合研究院・ソリューション研究国際シンポジウム、2008 年 3 月 21 日、東京

[図書] (計 1 件)

①Min YK, Naitou S, Yamazaki H, Kohta E, Hamaguchi H., Wiley, Raman Spectroscopy, 2009 269-290

6. 研究組織

(1) 研究代表者

甲田 英一 (KOHTA EHIICHI)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号: 80101989

(2)研究分担者

渡辺 学(WATANABE MANABU)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：30297709

長基 雅司(NAGAMOTO MASASHI)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：10172561

(3)連携研究者

なし