

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K12121

研究課題名（和文）呼吸器外科におけるビタミンB2に特化した蛍光ナビゲーションシステムの開発・検証

研究課題名（英文）Development and validation of a vitamin B2-specific fluorescent navigation system in chest surgery.

研究代表者

早稲田 龍一（Waseda, Ryuichi）

福岡大学・医学部・准教授

研究者番号：20579651

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：外科手術の技術の進歩とともに精密化しており、様々なナビゲーションが必須の技術となってきた。呼吸器外科領域の手術においても様々なナビゲーションが開発・臨床使用されている。特に、ICG蛍光を使用したナビゲーションは確立され広く使用されている状況にあるが、ICG蛍光には専用の蛍光観察装置が必要であったり、ICGにアレルギーがある患者では使用できないといった欠点がある。筆者らはそのような欠点を克服するビタミンB2を利用した蛍光法についてこれまで取り組んでおり、今回、そのビタミンB2蛍光法の利点をさらに活かすことのできる専用システムを様々な基礎実験および動物実験を通じて考案しその要点を特許出願した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

開発した新しいビタミンB2専用の蛍光装置により、十分な強度の可視蛍光がえられることで、観察装置の必要のない蛍光ナビゲーションを可能にする。その結果、現在普及しているICG蛍光と比較し、簡便かつ安価な術中蛍光ナビゲーションが可能となる。加えて、ビタミンB2のアレルギーや中毒のない安全性はより多くの患者さんに役立てられると考える。

研究成果の概要（英文）：As surgical techniques are becoming more precise, intraoperative navigation has become indispensable technologies. Various navigation systems have been developed and clinically used in respiratory surgery. In particular, ICG fluorescence navigation is well established and widely used, but ICG fluorescence has some drawbacks, such as the need for a dedicated observation device and the inability to use it in patients allergic to ICG. The authors have been working on a fluorescence method using vitamin B2 to overcome such drawbacks, and have now devised a dedicated system that can further utilize the advantages of the vitamin B2 fluorescence method through various basic experiments and animal experiments, and have applied for a patent for the key points of this system.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：呼吸器外科手術ナビゲーション 新規蛍光装置 新規医療機器

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、多くの外科領域で手術の低侵襲化・精密化が進んでいる。呼吸器外科領域においても同様に、創部縮小を目指した胸腔鏡下手術・ロボット手術で、小型肺病変に対する縮小肺切除、具体的には選択的な肺区域切除・部分切除を行うことが挙げられる。そのような精密な手術を実施するために、手術中のナビゲーションは必須の手術技術となっている。中でも、ICG を利用した蛍光法が広く普及している現状があるが、ICG にはいくつかの欠点がある。1つは、ICG は不可視蛍光のため専用の観察装置が必要であること、もう1点は、ICG はヨードアレルギー患者に使用できないことである。そのため、筆者らは、アレルギーがなく、可視蛍光である利点をもった新しい蛍光物質としてビタミン B2 に着目し、これまで科研費の支援を受け、ビタミン B2 を利用した蛍光法による呼吸器外科領域の新しい手術ナビゲーション (肺区域同定や肺マーキング) のプラットフォームを構築し、その有用性・安全性を証明してきた。

2. 研究の目的

しかしながら、これまでの研究で使用してきた既存の蛍光装置・観察装置を使ったナビゲーションでは、新しい蛍光法の利点を活かすには限界があると感じられていた。そのため、今回の研究では、ビタミン B2 蛍光法の利点を最大限に活かせるビタミン B2 専用のシステムを構築し、その有用性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

ビタミン B2 蛍光法の特性分析

1) 主要なビタミン B2 製剤 (注射用製剤) の至適励起波長分析

ビタミン B2 (別名リボフラビン) として国内で使用されているものには錠剤・粉末の内服用製剤と注射用製剤がある。本研究における使用方法、すなわち水溶液として静脈内や気道内に投与することを想定した場合には、注射用製剤を使用することが妥当と考えられる。そのため、市販薬品間での差異 (最終的な成分は同様であるが製造工程や添加物などが異なる) の可能性を考慮し、後発医薬品を含め現在国内で入手可能な注射用ビタミン B2 製剤の分析を施行した。また市販されている注射用製剤ではないが、添加物を含まない研究用試薬リボフラビン末の水溶液も分析対象に加えた。

分析を行った注射用ビタミン B2 製剤は以下：フラビタン®注射液 (フラビンアデニンジヌクレオチド) (トーアエイヨー/アステラス)、ビスラーゼ®注射液 (リボフラビンリン酸エステルナトリウム) (トーアエイヨー/アステラス)、ホスフラン®注 (リボフラビンリン酸エステルナトリウム) (扶桑薬品工業)、FAD 注「わかもと」 (フラビンアデニンジヌクレオチド) (わかもと製薬)、リボフラビン注射液「日医工」 (リボフラビンリン酸エステルナトリウム) (日医工)。

これらに加え、研究用試薬リボフラビン末の水溶液も分析対象とした。

分析方法：分光蛍光光度計 (日本分光 FP-8300、図 8) を使用 (協力：薬学部 薬品分析学 坂口洋平助教・能田均教授)。

ビタミン B2 の蛍光波長は 540nm に設定し、220-520nm の波長を 1nm 毎に分析した。また、薬剤間の蛍光強度を相対的に比較するために、濃度は生理食塩液での 10 倍希釈とし、測定条件も統一した。

2) 主要なビタミン B2 製剤 (注射用製剤) の至適濃度分析

通常、蛍光物質には濃度消光現象があるため、各ビタミン B2 (リボフラビン) 製剤で至適濃度をすべく分析を行った。

分析方法：分光蛍光光度計 (日本分光 FP-8300、図 8) を使用 (協力：薬学部 薬品分析学 坂口洋平助教・能田均教授)。

前項で選択したフラビタン®注射液 (20mg/2ml)、ビスラーゼ®注射液 (20mg/2ml)、リボフラビン末水溶液において、同じく前項で測定した各薬剤の至適励起波長を設定し、濃度設定を行う。濃度調整はアレルギーや中毒の可能性が極めて低いビタミン B2 の特性を失わせないために生理食塩液のみで行うこととした。また、薬剤間の蛍光強度を相対的に比較するために、測定条件は統一した。

ビタミン B2 専用の蛍光システムの作成

当初の計画では、1つの試作機を作製し既存の方法 (本研究では PDD 内視鏡システム) との比較を動物実験で行い、その有用性と安全性を証明する予定であったが、本研究の目的であるビタミン B2 による蛍光ナビゲーションを他のナビゲーションより優れたものにするための蛍光シ

ステム（励起光照射・蛍光観察装置）の構築を達成するには、求められる内容・解決すべき課題が多いと考えられた。

そのため、前項の分析結果を研究者間で共有した後、どのような蛍光システムを作成していくかについて十分に討議を行い目標の再設定を行った。

- ・使用する可能性のあるビタミン B2 製剤の至適励起波長にあわせて、励起光発生装置における励起波長の候補は 270nm 付近、310nm 付近、370nm 付近、440nm 付近とする。しかし、時間と費用の節約を考慮し、すべてを同時に開発作製するのではなく、実現可能性や有効性が高そうなものより優先順位をつけて行う。すなわち 310nm 付近 370nm 付近 270nm 付近 440nm 付近の順で行う。

- ・蛍光強度、照射可能範囲の設定、蛍光の種類（拡散光・平行光）などの励起光照射に関わる詳細な設定は、試作と動物実験による評価を繰り返しつつ改良を加えていく。

- ・積極的に蛍光装置や機器開発の専門家と連携し、効率的なシステム構築を目指す。市販品で代用できる様な場合は積極的にその使用も行う。

- ・本蛍光法の利点はビタミン B2 の蛍光が可視蛍光のため肉眼で観察可能である。まずは励起光発生装置の開発を優先し、観察装置の作製は追って行う。

- ・直視下・鏡視下（ロボット手術を含む）様々な状況で使用できることが最終的な目標であるが、肉眼観察の利点を生かせる直視下手術、すなわち開胸手術の設定で動物実験を行い、作製した蛍光システムの評価を行う。

- ・最終的には簡便で広く普及につながる様なシステム構築・開発が目標であるが、そのためにはなんらかの特許を取得し、企業の協力を得やすい状況にする必要がある。

- ・励起光の大部分は紫外域となるため安全性の評価を行う必要がある。とくに短波長紫外線（320nm 未満）を使用する場合、目や皮膚の障害、DNA 障害の可能性を考慮する必要がある。ひとまずは動物実験時に安全性評価も盛り込む。

以上の目標を設定し、試作機の作製を開始した。

作製した試作機は逐次、適した動物実験を設定し評価、その結果に基づき改良等を進め開発すべき蛍光システムを定めていくこととした。

4. 研究成果

上記の研究結果から得られた成果は以下：

- ・ビタミン B2 の経静脈法を行う場合は、励起波長を 270nm もしくは 365nm で励起光を設定する必要があり、経気道法であれば 310nm の励起光を設定すべきである。

- ・経静脈法での至適励起光を考えた場合には、励起光ノイズが弱くと蛍光強度が強い点からは 270nm の方が理想的であるが、短波長の紫外線には特有の取り扱いが難しい点、すなわち、容易に減衰しやすく物質透過性が低い点・紫外線そのものとして細胞・DNA 障害性が高い点などの短所を克服する必要がある。

- ・現在、励起光装置の光源として通常光源（キセノン・ハロゲンなど）・LED 光源の両者を使用しており、各光源に利点・欠点はあるが、動物実験を通して励起光発生装置としては小型で携帯可能なタイプの使いやすさが痛感された。そのような携帯型光源を目標とした場合、LED 光源を主体に考えるほうが良いと思われる。LED であれば特定の波長帯の LED を使用することが可能なため、通常光源のように波長を抽出する必要がないため装置の縮小化が得やすい利点がある。さらに、特に通常光源から短波長の励起光を得ようとする場合にはかなりの高出力光源が必要となる。一方、LED では、もちろん個々の LED の性能によるが個数や配置による調整が可能である。

- ・携帯型 LED 光源を想定する場合には、まだ短波長（300nm 未満）の LED 自体が普及していないため、270nm の LED 光源作製は難易度は高いが、技術的な新規性は非常に高いものとなる。しかしながら、365nmLED はもっとも普及の進んだ紫外光 LED であり、装置を構築する際の選択肢が豊富にあるといった利点がある。そのため、270nm 付近・365nm 付近の両方の LED 光源を作製していくべき励起光装置と考えたい。

- ・今回の安全性の評価では、5cm の近接距離で 10 分間の連続照射という実臨床で使用する場合よりはるかに障害の強い状況を想定したが、全ての照射機（CCS part1 の強度最大・照射範囲最小とした設定を除く）で肉眼的・病理学的な異常所見は認めなかった。現在構想している励起光装置での手術中のナビゲーションにおいては安全性は大きな問題とならない可能性が高い。

- ・ビタミン B2 の可視蛍光の利点を最大限に生かすためには励起光装置のみによるシステム構成が最良であり、その場合には呼吸器外科領域にとどまらない拡張性も期待できる。

以上の内容を含めた医療用蛍光装置の特許出願（特願 2020 - 162613）をし、現在審査中にある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 医療用蛍光装置 (FU-390)	発明者 早稲田龍一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-162613	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森山 茂章 (Moriyama Shigeaki) (00299538)	福岡大学・工学部・教授 (37111)	
研究分担者	齋藤 大輔 (Saito Daisuke) (50722055)	金沢大学・附属病院・助教 (13301)	
研究分担者	松本 勲 (Mastumoto Isao) (80361989)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------