

平成 22 年 6 月 18 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007～2009
課題番号：	19591709
研究課題名(和文)	脳腫瘍の光線力学診断・治療法の最適化：高効率光源の開発と光感受性物質の分布解明
研究課題名(英文)	Improvement of photodynamic diagnosis and therapy of brain tumors: Development of high power illumination system and sensing of distribution of photosensitizer
研究代表者	
	梶本 宜永 (Kajimoto Yoshinaga)
	大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：	30224413

研究成果の概要(和文)：

脳腫瘍の光線力学診断・治療法の最適化：高効率光源の開発と光感受性物質の分布解明

研究成果の概要(英文)：

Improvement of photodynamic diagnosis and therapy of brain tumors: Development of high power illumination system and sensing of distribution of photosensitizer

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：光線力学診断・脳腫瘍・グリオーマ・スペクトル解析・アミノレブリン酸

1. 研究開始当初の背景

5-アミノレブリン酸を投与することで悪性腫瘍に選択的にポルフィリンが蓄積される。この現象を利用して、励起光を照射することで、腫瘍部分が赤いポルフィリン蛍光で標識される。悪性脳腫瘍の手術では、この腫瘍蛍光をガイドにすることで切除精度が著しく向上する。また、ポルフィリンからは、蛍光と同時に活性酸素も発生するので腫瘍細胞を殺す、光線力学治療に発展できる可能性も秘めている。

しかし、腫瘍境界や深部の腫瘍では、蛍光は弱く視認性に問題がある。また、ポルフィ

リンの分布を術中に定量的に評価する方法も存在しない。

また、腫瘍特異性に関しても問題があり、どのような腫瘍、病態においてポルフィリン標識されるのかに対する知見も不足している。

2. 研究の目的

腫瘍境界や深部の腫瘍における弱い蛍光の視認性を上げるための、高出力の補助光源を開発するのが、第一の目的である。

また、ポルフィリンの分布を術中に定量的に評価する方法を確立するのが第二の目的である。

第三の目的としては、ポルフィリン標識される病態についてその知見を集積することである。すなわち、どのような腫瘍が蛍光をどのような割合で発するのかがである。

3. 研究の方法

(1) 高出力補助光源の開発

小型で安全性が高く、高出力であることを兼ね備えた高出力 LED 光源を開発し、その光量を定量し、従来の光源の出力と比較する。更に、臨床で用いてその有用性を検証する。

(2) ポルフィリン分布の定量的評価

組織蛍光の定量的な評価方法としては、分光放射輝度 ($W/sr \cdot \text{sum} \cdot \text{nm}$) として測定する方法を確立した。また、予備的に臨床試料での測定を行った。

(3) ポルフィリン蓄積病態知見の蓄積

術中蛍光標識を従来の適応である悪性神経膠腫から、髄膜腫、放射線壊死、転移性脳腫瘍に広げポルフィリン蛍光の状態を観察した。

4. 研究成果

(1) 高出力補助光源の開発

術中使用できる様な種々の仕様（軽量、コンパクト、優れた放熱特性、滅菌可能）を兼ね備えた高輝度 LED 装置の開発を完了した（図 1）。



図 1 高出力 LED 補助光源

励起光の光量は、 $30\text{--}90\text{mW/cm}^2$ に達し、通常の蛍光顕微鏡光源 (Pentero blue400) の励起光の光量 (10mW/cm^2) に比較して高出力が得られた。

高効率 LED 光源を実際の手術に応用したところ、腫瘍蛍光の著しい視認性の改善を認めた（図 2）。特に、深部の腫瘍、腫瘍周囲の淡い蛍光領域の視認に有用であった。

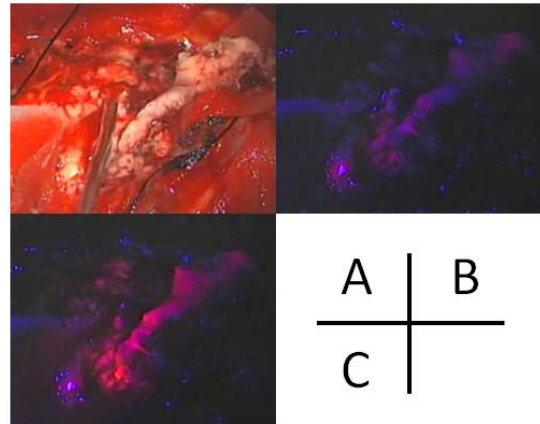


図 2 LED 光源による視認性の改善 (A: 白色光、B: LED 未使用。C: LED 使用)

(2) ポルフィリン分布の定量的評価

光感受性物質（ポルフィリン）の分布の解明に関しては、分光輝度計を用いて各スペクトル成分における蛍光強度の絶対値を測定するシステムの開発に成功した。このシステムにより蛍光強度の絶対値 $W/(sr \cdot \text{sqm} \cdot \text{nm})$ で定量することが可能である（図 2）。

従来では、蛍光強度は主観的な尺度（強い、弱い、なし）でしか評価できなかった。この装置を用いることで、生体における正確なポルフィリンの分布を評価できる。今後は、この手法を用いて、絶対的な蛍光強度と各種組織学的指標（細胞密度、MIB-1 index、血管密度、HIF-1、CPOX など）、組織中のポルフィリン量、組織の光学的特性（分光吸光度、分光拡散定数など）との関連を定量的に検討することが可能である。

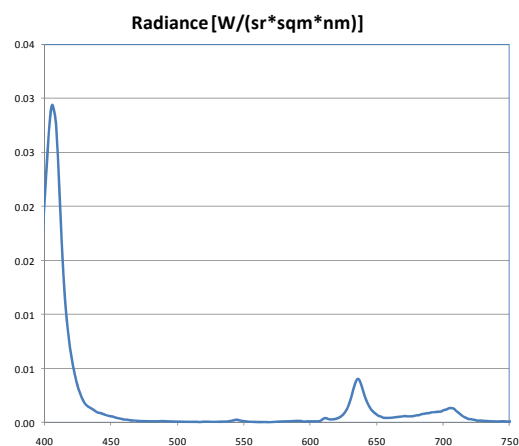


図 2 分光放射輝度計の測定例

(3) ポルフィリン蓄積病態知見の蓄積

① 髄膜腫

髄膜腫のポルフィリン蛍光の特徴は、びまん性で強い蛍光である。また、85%の症例で蛍光が陽性であった。髄膜腫の悪性度と蛍光

との間には、相関は無かった。一方、微小な残存腫瘍でも強い蛍光を発することから、微小な取り残しを検出するのに有用であった。例えば、周囲の硬膜への浸潤、頭蓋底の骨への浸潤、周囲脳の微小な取り残しなどである(図3)。これらの知見に対しては、文献1に掲載した。

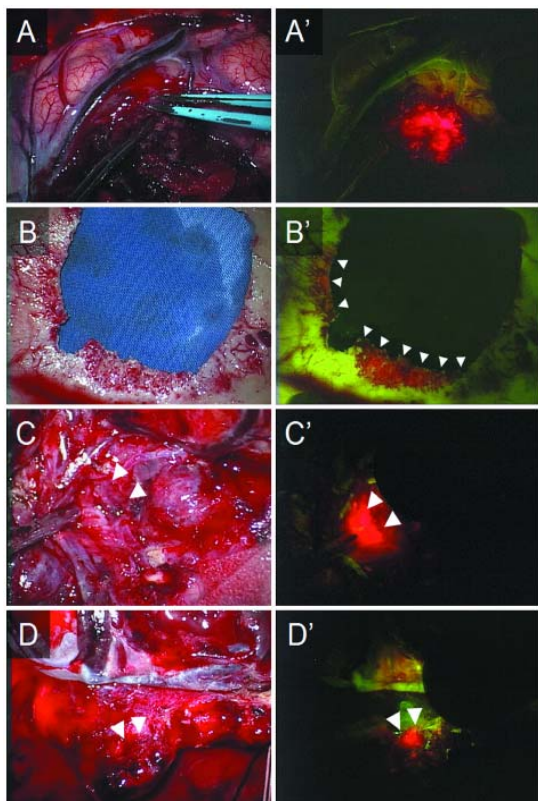


図3 微小残存腫瘍の蛍光描出
A:腫瘍本体、B:骨浸潤、C:脳での残存腫瘍、D, 硬膜への残存腫瘍

②放射線壊死

高線量の放射線照射後に生じる放射線壊死のコントロールは、患者のQOLを著しく損なうためにその治療は困難を極める。我々は、放射線壊死部分がほぼ100%ポルフィリン蛍光を来すことを確認した(図4)。また、ポルフィリン蛍光を指標に切除することで、過不足なく壊死部分の切除が可能であった。また、壊死部分の外科的切除により、壊死の周囲への進展を阻止し、周囲脳の浮腫を著しく軽減することを見出した。これらの知見に関しては、文献2に掲載した。

③転移性脳腫瘍

転移性脳腫瘍の2/3の症例では、腫瘍蛍光は全く陰性であった。また、びまん性に蛍光が陽性の症例は、10%と非常に少数であった。一方、90%の症例で周囲脳に淡い蛍光を認めた。

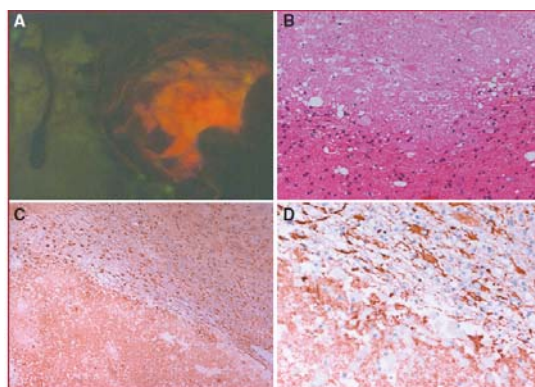


図4 放射線壊死の蛍光と病理組織

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 2 件)

- ① Kajimoto Y, Kuroiwa T, Miyatake S, Ichioka T, Miyashita M, Tanaka H, Tsuji M. Use of 5-aminolevulinic acid in fluorescence-guided resection of meningioma with high risk of recurrence. Case report. J Neurosurg 査読有、vol.106、No. 6、2007、pp.1070-1074
- ② Miyatake S, Kuroiwa T, Kajimoto Y, Miyashita M, Tanaka H, Tsuji M. Fluorescence of non-neoplastic, magnetic resonance imaging-enhancing tissue by 5-aminolevulinic acid: case report. Neurosurgery、査読有、Vol. 65、No. 5、2007、1101-1104

[学会発表] (計 25 件)

- ① 梶本宜永、5-ALA 蛍光ガイド法は、転移性脳腫瘍では有用か、第27回日本脳腫瘍学、2009/11/8 りんくう国際会議場(大阪)
- ② 高橋賢吉、池田直廉、梶本宜永、宮武伸一、黒岩敏彦、アミノレブリン酸(5-ALA)による脳腫瘍の蛍光機序について、第68回日本脳神経外科学会総会、2009/10/14 京王プラザホテル(東京)
- ③ 高橋賢吉、池田直廉、梶本宜永、宮武伸一、黒岩敏彦、アミノレブリン酸(5-ALA)による脳腫瘍の蛍光機序について、第68回日本脳神経外科学会総会、2009/10/14 京王プラザホテル(東京)
- ④ 孫 偉、梶本宜永、宮武伸一、黒岩敏彦、Gefitinibによる細胞内PpIXの細胞外輸送の阻害効果、第68回日本脳神経外科学会総会、2009/10/14 京王プラザホテル(東京)
- ⑤ 梶本宜永、鱒淵誉宏、宮下 実、田中秀一、青木 淳、田村陽史、宮武伸一、黒岩敏彦、転移性脳腫瘍における5-ALA 蛍光ガイド手術

第 26 回 日本脳腫瘍病理学会、2008/5/23
タワーホール船堀（東京）

⑥宮武伸一、梶本宜永、宮下 実、田中秀一、
鱒淵蒼宏、黒岩敏彦、非腫瘍性病変も PpIX の
蛍光を発する、第 26 回 日本脳腫瘍病理学
会、2008/5/23 タワーホール船堀（東京）

⑦梶本宜永、転移性脳腫瘍における 5-ALA 蛍
光ガイド手術、第 4 回 日本脳神経外科光線
力学研究会、2008/3/1 AOSSA（福井）

⑧梶本宜永、5-ALA 蛍光ガイド下脳腫瘍切除
の進歩、第 7 回 日本脳神経外科術中画像研
究会、2007/11/23 名古屋マリオットアソ
シアホテル（愛知）

⑨梶本宜永、鱒淵蒼宏、青木 淳、田村陽史、
宮武伸一、黒岩敏彦、次世代の 5-ALA 蛍光ガ
イドシステムー高出力 LED 光源とインテリジ
ェント超音波メス、第 66 回 日本脳神経外
科学会総会、2007/10/3 グランドプリンス
ホテル新高輪（東京）

⑩黒岩敏彦、梶本宜永、宮武伸一、蛍光診断
とグリオーマ手術、第 27 回 日本脳神経外
科コンgres 総会、2007/5/18 仙台サンプ
ラザ（宮城）

〔図書〕（計 4 件）

①梶本宜永、医学書院、イラストレイテッド
脳腫瘍外科学、2010、印刷中

②梶本宜永、シュプリンガー・ジャパン、脳
神経外科臨床マニュアル 改訂第 4 版、
2010、印刷中

③梶本宜永、金芳堂、脳 21 グリオーマの手
術、2009、91-96

④梶本宜永、Medical View 社、NS-NOW 5 グ
リオーマ 「その最新知見」、2009、112-
115

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶本 宜永 (Kajimoto Yoshinaga)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：30224413

(2) 研究分担者

黒岩 敏彦 (Kuroiwa Toshihiko)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30178115