

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09228

研究課題名（和文）1064nm近赤外ラマン分光法を用いた骨盤自律神経の温存と術後機能の向上

研究課題名（英文）Preservation of Pelvic Autonomic Nerve and Improvement of Postoperative Function Using 1064nm Near-Infrared Raman Spectroscopy

研究代表者

佐藤 純人（Sato, Sumito）

昭和大学・医学部・兼任講師

研究者番号：80769315

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）：本研究は、骨盤内に複雑に分布する自律神経を、ラマン分光法の技術を用いて正確にかつ客観的に認識する技術を確立することにある。本研究では非侵襲的に物質を迅速に同定することができるラマン分光法を用いて、手術検体より採取した自律神経組織、周囲臓器（がん組織、大腸、膀胱、前立腺、子宮、卵巣、尿管）の新鮮組織サンプルを用いて検証し、自律神経組織のラマンスペクトルでは、1309 cm<sup>-1</sup>、1442 cm<sup>-1</sup>、および1658 cm<sup>-1</sup>に特異的なスペクトルを検出したこと、また主成分分析を用いて、それぞれの組織のスペクトルから抽出した主成分を比較することで、神経組織を他臓器から判別することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術の際に損傷するリスクがあり、骨盤内に複雑に分布したために、悪性腫瘍等の手術において確実に温存することが難しい自律神経は、個々により複雑に分布し、視認のみで把握は困難で神経染色などの試みが報告されるも臨床応用には至っていない。ラマン分光法を用いて骨盤内神経を迅速かつ非侵襲的に認識することができれば、臨床的に強力な手術支援ツールになり、その結果手術後に起こりうる術後の排尿障害、性機能障害のリスクを軽減できると考えている。

研究成果の概要（英文）：The objective of this research is to establish a technique to accurately and objectively recognize autonomic nerves, which are intricately distributed in the pelvic region, using Raman spectroscopy techniques. In this study, Raman spectroscopy, which can noninvasively and rapidly identify substances, was validated using fresh tissue samples of autonomic tissue and surrounding organs (cancer tissue, colon, bladder, prostate, uterus, ovary, and ureter) collected from surgical specimens, and the Raman spectra of autonomic tissue at 1309 cm<sup>-1</sup>, 1442 cm<sup>-1</sup>, and 1658 cm<sup>-1</sup>, and by using principal component analysis to compare the principal components extracted from the spectra of each tissue, we successfully discriminated the nerve tissue from the other organs.

研究分野：外科

キーワード：ラマン分光法 大腸癌 術後機能

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1．研究開始当初の背景

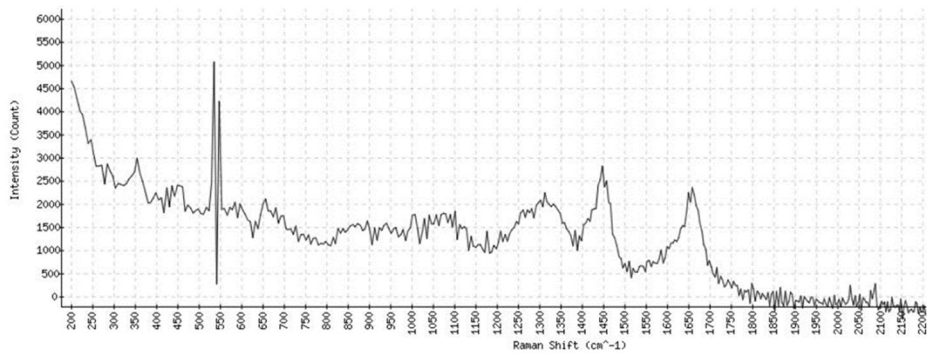
骨盤内には直腸、膀胱、生殖器、さらに複数の筋や脂肪組織などが境界不明瞭に存在し、排便、排尿、性機能を司る自律神経（上下腹神経叢、下腹神経、骨盤内蔵神経、骨盤神経叢）は、それらの組織に密接しながら走行する。骨盤内自律神経が障害される悪性腫瘍は、直腸癌、前立腺癌、膀胱癌、子宮癌等、多岐にわたる。骨盤内の自律神経の分布を正確かつ客観的に把握する手法が必要である。ラマン分光法は、物質に励起光を照射した際に生じる散乱光の一種（ラマン散乱光）を解析する手法である。測定されたラマンスペクトルは、物質を構成する分子の振動と分子構造を反映しているため、スペクトルを解析することで、物質を迅速かつ客観的に同定できる。試料の損傷を抑える 1064nm 近赤外線は、ラマン分光法を生命科学の分野に応用することを可能にした。

2．研究の目的

骨盤内の複雑な自律神経を、ラマン分光法を用いて正確かつ客観的に把握し、術後の排尿、排便、性機能を改善することを目的とした。

3．研究の方法

自律神経組織、大腸癌組織、周囲臓器（正常大腸、膀胱、前立腺、子宮、卵巣、尿管）の 181 の組織サンプルを採取し、ラマン分光器を用いて 1064nm 励起光を直接組織サンプルに照射することで各サンプルのラマンスペクトルを収集した。下記のような波形を各サンプルから作成し、さらにラマンスペクトルを採取するために用いた組織は病理学的検査に提出し、臓器の整合性を確認した。これらのラマンスペクトル結果を用いて、自律神経同定するための特異的なスペクトルの検索と、自律神経と他組織とスペクトルの比較をした。

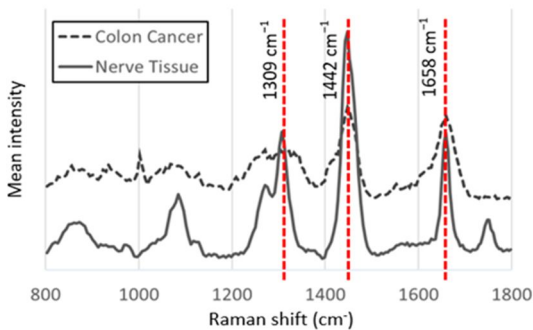


大腸組織のラマンスペクトルの一例

4．研究成果

特異的なスペクトルの検索と自律神経と他組織のスペクトルと比較

当初にわれわれは、大腸癌組織と、神経組織の対比を行うことで、神経組織を鑑別できないか検討した。大腸癌組織のラマンスペクトル、神経組織のラマンスペクトルとの波形を比較すると、下図の神経組織からスペクトルでは、波数 1309 波数 1442 波数 1658 に強度の強いスペクトルを検出し、これらのスペクトル強度の違いから、神経組織を大腸癌組織から鑑別できないか検討したところ、正診率は 57～75%と、このスペクトルの違いだけでは確実な判別をするには不十分であった。

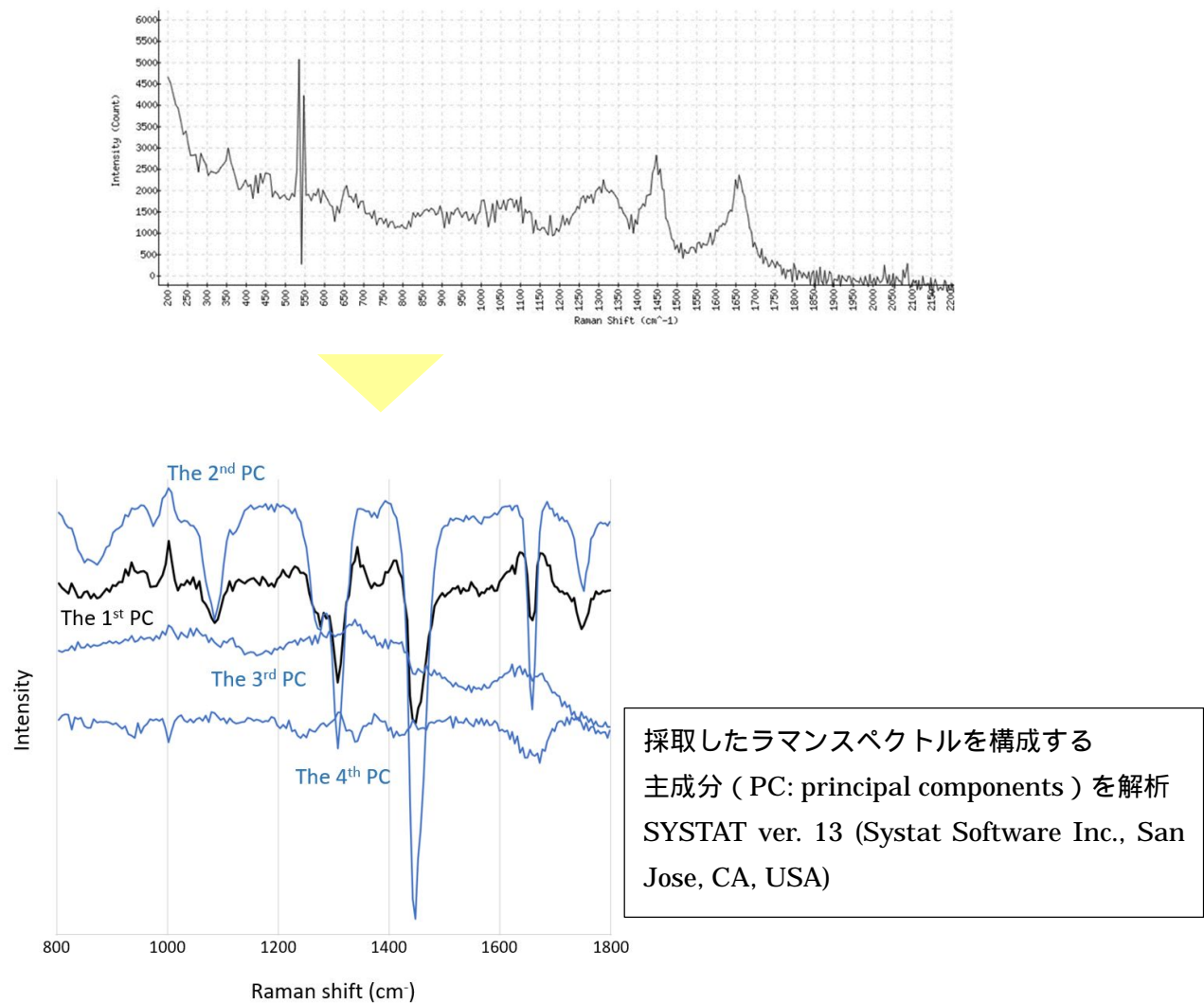


Characteristic Raman shifts that differed between nervous tissue and colon cancer tissue

Raman shift	P value	AUC	95% CI	Sensitivity	Specificity	Accuracy
1309 cm <sup>-1</sup>	P = 0.15	0.544	0.388–0.692	53%	60%	57%
1442 cm <sup>-1</sup>	P < 0.01	0.589	0.495–0.674	56%	87%	75%
1658 cm <sup>-1</sup>	P = 0.12	0.618	0.468–0.748	56%	58%	57%

主成分分析による判別

主成分分析とは、それぞれの波形に共通する主成分となる波形を抽出し、その主成分の構成割合にて、サンプルを判別する方法で、われわれは、得られたラマンスペクトルから、この下図のように、サンプルのスペクトルを構成する 4 つの主成分 PC: (principal components) の波形を SYSTAT ver. 13 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA)を用いて抽出し、これらの主成分を用いて各臓器のラマンスペクトルでの構成割合を分析し、その比率をもってサンプルを判別できないか検証した。



神経組織と大腸癌組織の鑑別では、われわれは、神経組織 32 サンプルと大腸癌組織 52 サンプルを比較して、ラマン分光法は主成分分析を用いて、32 サンプル中 32 サンプルを神経組織、52 サンプル中 52 サンプルを大腸癌組織とすべて確実に判別することができた。

Raman Diagnosis	Nervous tissue	Non-nervous tissue	Total
Nervous tissue	32	0	32
Colon cancer tissue	0	52	52
Sensitivity 100%, specificity 100%, accuracy 100%			
Nervous tissue	32	0	32
Normal colon tissue	2	47	49
Sensitivity 100%, specificity 96%, accuracy 98%			

大腸癌組織以外にも、大腸の正常組織、膀胱、前立腺、子宮、卵巣、尿管とも判別可能が検証し、主成分分析でその比率の違いから正診率 88 - 100%で、神経組織と各臓器を判別することができた。

Raman Diagnosis	Nervous tissue	Non-nervous tissue	Total
Nervous tissue	27	5	32
Bladder	0	9	9
Sensitivity 84%, specificity 100%, accuracy 88%			
Nervous tissue	28	4	32
Prostate	0	10	10
Sensitivity 88%, specificity 100%, accuracy 90%			
Nervous tissue	31	1	32
Uterus	0	12	12
Sensitivity 97%, specificity 100%, accuracy 98%			
Nervous tissue	28	4	32
Ovary	0	9	9
Sensitivity 88%, specificity 100%, accuracy 90%			
Nervous tissue	29	3	32
Ureter	1	7	8
Sensitivity 91%, specificity 88%, accuracy 90%			

われわれはラマン分光法を用いて神経組織を非侵襲的に判別することができた。自律神経は個々により複雑に分布し、視認のみで把握は困難で神経染色などの試みが報告されるも臨床応用には至っていない。今後は判別精度を改善し客観的に神経組織を把握することで、術後の排尿障害、性機能障害のリスクを軽減できる支援デバイスの開発を目指したい

## 5. 主な発表論文等

ラマン分光法を用いた直腸周囲の自律神経同定と 新しい術後機能温存への試み

佐藤純人 籠島宏匡 塩澤学 額田卓 井口健太 三箇山洋 大賀純一 白畑敦 沼田正勝 玉川洋 利野靖 田中邦哉 2021 年 第 76 回 日本大腸肛門病学会学術集会

Automated non-invasive identification of pelvic autonomic nerves with a handheld Raman spectrometer and potential application to nerve-sparing colorectal surgery2021

Sumito Sato, Hirotada Kagoshima, Manabu Shiozawa, Suguru Nukada, Kenta Iguchi, Yo Mikayama, Takashi Oshima, Masakatsu Numata, Hiroshi Tamagawa, Yasushi Rino, Munetaka Masuda, Kuniya Tanaka APDW 2021

Automated non-invasive identification of pelvic autonomic nerves with a handheld Raman spectrometer and potential application to nerve-sparing colorectal surgery: a preliminary study in surgical specimens2021

Sato Sumito, Kagoshima Hirotada, Shiozawa Manabu, Nukada Suguru, Iguchi Kenta, Mikayama Yo, Oshima Takashi, Numata Masakatsu, Tamagawa Hiroshi, Rino Yasushi, Masuda Munetaka, Tanaka Kuniya Translational Cancer Research 2021

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Sumito, Oga Junichi, Shirahata Atsushi, Ishida Yasuo	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical impact of a new method using a clear proctoscope to evaluate the therapeutic effect of sclerotherapy with aluminum potassium sulfate and tannic acid (ALTA) for internal hemorrhoids: a prospective cohort study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Quantitative Imaging in Medicine and Surgery	6. 最初と最後の頁 441 ~ 448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/qims-22-471	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sato Sumito, Kagoshima Hirotada, Shiozawa Manabu, Nukada Suguru, Iguchi Kenta, Mikayama Yo, Oshima Takashi, Numata Masakatsu, Tamagawa Hiroshi, Rino Yasushi, Masuda Munetaka, Tanaka Kuniya	4. 巻 10
2. 論文標題 Automated non-invasive identification of pelvic autonomic nerves with a handheld Raman spectrometer and potential application to nerve-sparing colorectal surgery: a preliminary study in surgical specimens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3921 ~ 3929
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/tcr-21-587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 SATO SUMITO, SHIOZAWA MANABU, NUKADA SUGURU, IGUCHI KENTA, KAZAMA KEISUKE, ATSUMI YOSUKE, NUMATA MASAKATSU, TAMAGAWA HIROSHI, TANAKA KUNIYA, OSHIMA TAKASHI, RINO YASUSHI	4. 巻 41
2. 論文標題 Preoperative Pre-albumin Concentration as a Predictor of Short-term Outcomes in Elderly Patients With Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 5195 ~ 5202
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticanres.15338	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 S Sato, N Sugano, M Shiozawa, M Uchiyama, K Kazama, A Kato, T Oshima, Y Rino, M Masuda	4. 巻 25(2)
2. 論文標題 Application and outcomes of a standardized lymphadenectomy in laparoscopic right hemicolectomy requiring ligation of the middle colic artery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tech Coloproctol	6. 最初と最後の頁 223-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10151-020-02388-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 佐藤純人 籠島宏匡 塩澤学 額田卓 井口健太 三箇山洋 大賀純一 白畑敦 沼田正勝 玉川洋 利野靖 田中邦哉
2. 発表標題 ラマン分光法を用いた直腸周囲の自律神経同定と 新しい術後機能温存への試み
3. 学会等名 第76回 日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sumito Sato, Hirotada Kagoshima, Manabu Shiozawa, Suguru Nukada, Kenta Iguchi, Yo Mikayama, Takashi Oshima, Masakatsu Numata, Hiroshi Tamagawa, Yasushi Rino, Munetaka Masuda, Kuniya Tanaka
2. 発表標題 Automated non-invasive identification of pelvic autonomic nerves with a handheld Raman spectrometer and potential application to nerve-sparing colorectal surgery
3. 学会等名 APDW 2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------