

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18206

研究課題名（和文）ブタモデルにおけるビタミンB2ワンショット肺マーキング法の確立

研究課題名（英文）Vitamin B2 lung-marking method using black light irradiation

研究代表者

齋藤 大輔（Saito, Daisuke）

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：50722055

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：高解像度CTの普及により発見されるようになった小型肺癌は、触知が困難で視認も難しく、必要最小限の範囲で肺切除術を行うためには術前肺マーキングが必要である。今回、簡便な手技でより安全な肺マーキング法の確立を目指し、体表から肺臓側胸膜下に自家蛍光物質であるビタミンB2水溶液を注入し、ブラックライトを励起光として可視化する新たな肺マーキング法を考案した。豚モデルを用いた動物実験で本法が既存の針マーキング法の代替法となり得るか評価した。本法は、手技が比較的簡便であり、マーキング部は120分以上継続して視認でき、範囲もほぼ同じ部位に保たれた。既存の針マーキング法の代替法として、ヒトへの応用を期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌手術におけるCTガイド下マーキング法は前述のように様々な物質での研究が行われているが、ビタミンB2を蛍光物質として使用している研究は当教室以外では見られない。近年、ICGと赤外線胸腔鏡を用いた報告が多い。しかしICGはヨードアレルギー患者には使えず、リビオドールも造影剤アレルギー患者には使用できない。ビタミンB2経皮的肺マーキング法はこれまでにない安全かつ簡便で画期的なマーキング方法であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Various approaches and markers for marking the lungs prior to lung tumor resection have been reported. In clinical practice, the hook wire localization method is often used owing to the simplicity of the technique. However, although rare, this method is associated with air embolism, which can be lethal. Because vitamin B2 is harmless to the body and fluorescent, it was applied to various methods for thoracic surgery. Using a pig model, we aimed to examine whether a lung-marking method involving the injection of vitamin B2 to peripheral small lung lesions and observing them under black light irradiation could replace the hook wire localization method. Vitamin B2 lung-marking was performed safely and accurately using the pig model, providing good visibility of the marked area. This approach may replace the hook wire localization method. In the near future, we plan to conduct clinical trials to evaluate the applicability of this method in humans.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：ビタミンB2 肺マーキング法 ブラックライト

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ビタミン B2 (Flavin Adenine Dinucleotide) は、450nm 付近の励起光で極めて強い蛍光を認め、加えてアレルギー・中毒が原則存在しない安全性を有し、さらに安価であり優れた蛍光物質である。当教室ではこれまでにビタミン B2 水溶液を用いて経気管支的肺区域同定法や経気管支的肺マーキング法などの研究を行ってきた。

そこで今回、ビタミン B2 を用いた蛍光法により肺癌手術における経皮的 CT ガイド下マーキング法の確立と臨床応用に向けた基礎的研究を計画するに至った。本法はビタミン B2 を用いるため副作用の可能性が極めて低く、安価で取り扱いも容易である。本法による肺マーキング法は経皮的であり経気道的投与と違い術前に簡便に行える点、従来の針マーカーより細い針で注入することが可能なため、出血(血胸・血痰)や気胸などの合併症が生じるリスクが小さくなる点が理想的である。また、重篤な合併症として挙げられる空気塞栓の発症機序としては穿刺針を通じて大気と肺静脈が交通することで空気が流入する機序と、穿刺・針マーカー留置によって気道と肺静脈の交通が生じ、咳嗽など気道内圧の上昇や不十分な呼吸停止が加わり、肺静脈へ空気が流入する機序が考えられている。マーカー針を留置しない本法では空気塞栓のリスクがほぼなくなると考える。

当教室ではビタミン B2 を励起するための光源として光線力学診断用内視鏡システムを利用してきた。本システムは、フィルター交換により通常光、自家蛍光、外因性蛍光をとらえることが可能であり、外因性蛍光として 375~445nm の励起光で 480~800nm の波長を観察可能である。ただビタミン B2 に特化した励起光でないため、コントラストは鮮明であるが視認性が弱いのが欠点である。またフィルターを通したモニター視が必要で、術野で直視することは不可能である。今回ビタミン B2 が紫外線を発するブラックライト(図2)でも蛍光を発する性質を利用して上記研究をさらに簡便に行うこととした。実際ビタミン B2 を用いた肺区域同定法においても区域間をブラックライトで認識可能であった。安全性においては、人体に悪影響を及ぼすといわれる紫外線は 320nm 以下の短い波長側(UV-B,C)である。ブラックライトの紫外線はほとんどが UV-A であり、エネルギーのピークが波長 365nm 付近にあるため、300nm~400nm の範囲全域の紫外線を発生している太陽光線に比べても短波長成分が少ないのでより安全な光源である。

本研究を行うにあたり、使用する機器および動物(臓器、生体)は速やかに手配できる状況にあり、また研究を行う施設は自由に使用できる環境にあるため、本研究開始に際し問題はないと考える。動物実験施設の設備は充実しており、多数の動物実験を行ってきた実績がある。

### 2. 研究の目的

近年、高解像度 CT の普及によって小型肺癌が多く発見されるようになった。肺癌を疑う小型病変に対して肺切除術を行う場合、病変の触知は困難であり視認も難しく、内視鏡手術の場合には病変位置の確認はさらに困難である。このため、小型病変に対して必要最小限の範囲で肺切除術を行うために、病変の局在の視覚化を目的とした肺切除術前の肺マーキングが必要である。現在、臨床では手技が比較的簡便な針マーキング法が多く使用されているが、血胸や空気塞栓症などの重篤な合併症のリスクを伴うため、様々な肺マーキング法が研究されている。今回、簡便な手技でより安全な肺マーキング法の確立を目指し、体表から肺臓側胸膜下にビタミン B2 水溶液を注入し、ブラックライトを用いて可視化する新たな肺マーキング法を考案した。ビタミン B2 は自家蛍光物質であり、ブラックライトが発する不可視光線で励起することによって、肉眼で視認が可能となる。また水溶性生理活性物質でもあるため人体には無害であり、肺マーキングの際にはビタミン B2 水溶液をマーカーとして用いることで塞栓症などの重篤な合併症も回避できる。このビタミン B2 肺マーキング法をヒト臨床へ応用することを念頭に置き、豚モデルを用いた動物実験によって本法が既存の針マーキング法の代替法となり得るか評価した。

### 3. 研究の方法

豚モデルを用いて X 線透視下に Guiding-Marker System (GMS) を用いた経皮的な肺針マーキング法を施行した。同時に GMS の挿入針から針マーキングと同じ部位の臓側胸膜下肺実質にビタミン B2 水溶液 1ml を注入した(図1)。この際、あらかじめ挿入針の内腔にはビタミン B2 水溶液を充満させ、穿刺時に空気が流入しないようにした。注入後に穿刺部の肋間を開胸して、マーキング針に接続されたナイロン糸を目印にビタミン B2 マーキング部位を確認し、同部位にブラックライトを照射して可視化した。ビタミン B2 マーキング部位の長径と蛍光輝度を測定し、ビタミン B2 と針の両マーキング部位が一致するかどうか評価した。測定は開胸直後(0分)、開胸後 60 分、開胸後 120 分に行った。長径は直接測定した。蛍光輝度は、ブラックライトが照射されたマーキング部位と、ビタミン B2 水溶液の注入を行っていない正常肺(非マーキング部位)を撮影した画像を用いて、解析ソフトによって RGB 値の加重平均に基づいて決定された値をそ

れぞれ数値化した。

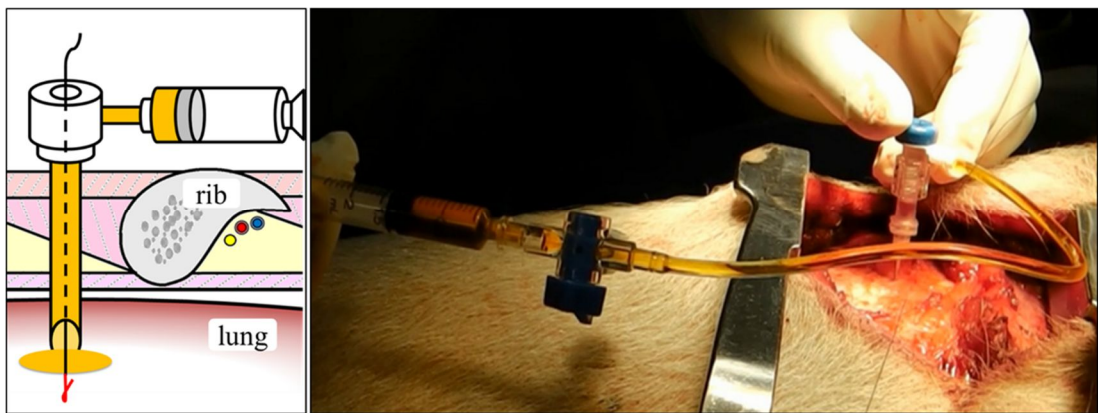


図 1 ビタミンの注入方法

4. 研究成果

成豚 5 頭で肺マーキングを行い、平均  $12 \pm 3$  分で開胸して観察を行った。全例でマーキング針は肺内へ留置され、血胸や空気塞栓症などの重篤な合併症は無かった。肺臓側胸膜下のビタミン B2 マーキングは、全例でブラックライト照射を用いた肉眼での観察が可能 (図 2) で、肺外へのビタミン B2 水溶液の漏出も無く、ビタミン B2 と針の両マーキング部位は合致していた。ビタミン B2 マーキング部位の長径は、 $1.3 \pm 0.3$ cm(0 分)、 $1.2 \pm 0.3$ cm(60 分)、 $1.1 \pm 0.3$ cm(120 分) で、開胸直後から 120 分以上は長径の変化はなかった ( $p=0.21$ ) (図 3)。また蛍光輝度は、マーキング部位で  $162.8 \pm 55.1$ (0 分)、 $157.2 \pm 63.1$ (60 分)、 $165.2 \pm 62.2$ (120 分)、非マーキング部位で  $34.4 \pm 26.1$ (0 分)、 $22.6 \pm 21.6$ (60 分)、 $30.6 \pm 22.1$ (120 分) であり、いずれもマーキング部位のほうが有意に高輝度であった ( $p=0.01/0.01/0.01$ , 0 分/60 分/120 分)。マーキング部位の輝度は開胸直後から 120 分以上減弱しなかった ( $p=0.96$ )。

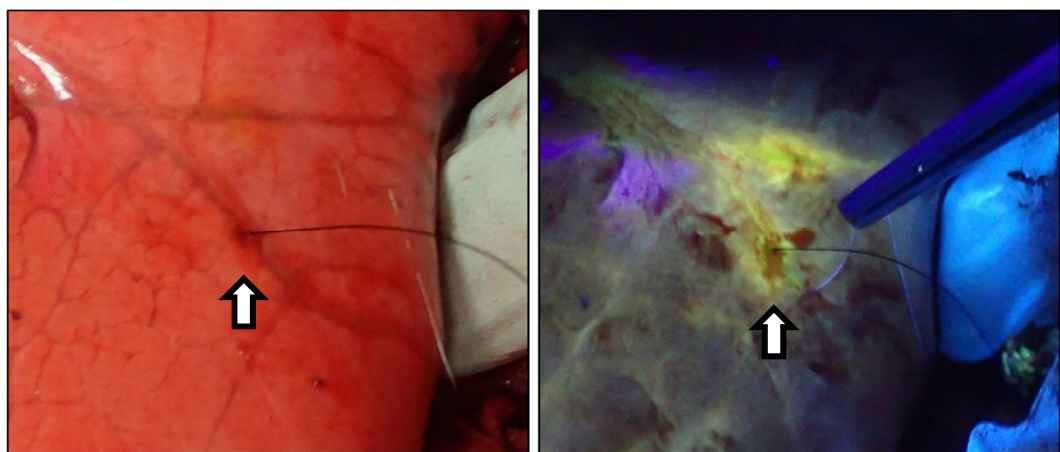


図 2 ビタミンおよびフックワイヤー留置後 (右:通常光観察, 左: ブラックライト下)

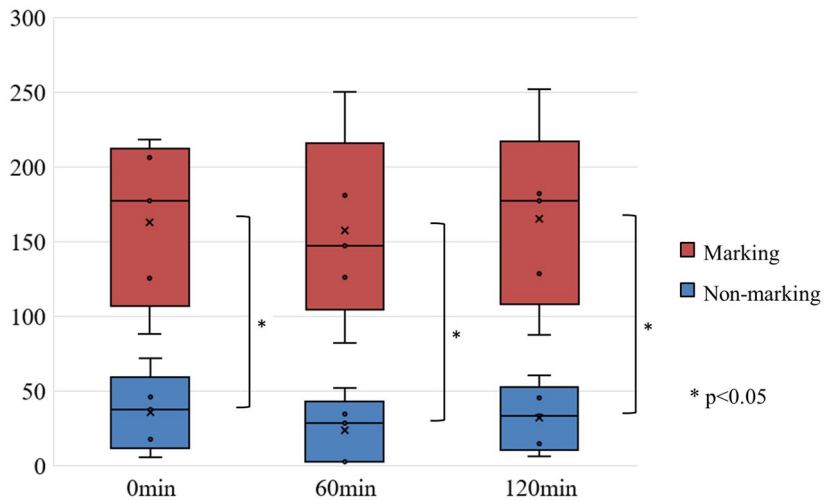


図 3 光度の経時的変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanaka Y, Matsumoto I, Takata M, Saito D, Yoshida S, Tamura M, Koda W, Waseda R, Takemura H.	4. 巻 12(3)
2. 論文標題 Vitamin B2 lung-marking method using black light irradiation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Thorac Dis.	6. 最初と最後の頁 651-658
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/jtd.2020.01.06.	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高田宗尚, 松本 勲, 田中 雄亮, 齋藤 大輔, 吉田 周平, 鈴木 光隆, 田村 昌也, 竹村 博文
2. 発表標題 肺切除術前におけるOne shotによる経皮的ビタミンB2肺マーキング法の研究
3. 学会等名 第42回日本呼吸器内視鏡学会学術集会
4. 発表年 2019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
---------	---------