

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2008 ～ 2010
課題番号：	20591729
研究課題名（和文）	5-ALAと自家蛍光の二重蛍光スペクトル解析による高精度脳腫瘍同定方法の開発
研究課題名（英文）	Quantitative spectral analysis of 5-ALA derived porphyrin fluorescence and auto-fluorescence for improving PDD
研究代表者	
黒岩 敏彦	(Kuroiwa Toshihiko)
大阪医科大学・医学部・教授	
研究者番号：	30178115

研究成果の概要（和文）：

5-ALAによる蛍光ガイドでは、腫瘍由来のポルフィリン蛍光により腫瘍の局在が判定できる。しかし、その判定が肉眼による主観的なものであるために、診断精度に限界があった。本研究では、蛍光診断の精度を著しく高めるために、定量的な蛍光スペクトル解析の開発を行った。これにより臨床データと蛍光強度との定量的な対比が世界で初めて可能となった。また、この方法では、自家蛍光領域の評価も同時に可能である。

研究成果の概要（英文）：

As for the photodynamic diagnosis using 5-ALA, the judgments of fluorescence intensity is not quantitative but subjective by naked eyes. Therefore, the precision of diagnosis is still limited. In this study, we newly developed the quantitative spectral analysis method for fluorescence derived from 5-ALA induced porphyrin and brain tissue using spectroradiometer. We applied this methods for clinical samples and could quantitatively measure fluorescence as spectral radiance, which SI unit is $W \cdot sr^{-1} \cdot m^{-2} \cdot nm^{-1}$. We confirmed the relationship between fluorescence radiance and clinical properties, such as ordinal judgment of fluorescent intensity and enzyme level of porphyrin synthesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010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：脳神経外科学

科研費の分科・細目：脳腫瘍学

キーワード：光線力学診断、脳腫瘍、グリオマ、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

悪性神経膠腫の治療の第一歩は、外科的全摘出であり、全摘出により生存期間が延長する。その脳腫瘍の切除率上げる手法として、5-ALAによる蛍光ガイドが有用である。しかし、腫瘍蛍光の判断は肉眼による主観的なものであり、定量性に欠ける。

この定量性に欠ける指標しか持ち得ないことは、診断精度に限界をもたらすのみならず、光線力学診断の基礎研究においても大きな制限であった。

例えば、腫瘍本体部分では、蛍光の強さは、腫瘍の悪性度（MIB-1 index, 血管密度、細胞密度）に比例すると言われているが、その定量的関係は不明である(Stummer ら、Surg Neurol 2003)。また、定量的な蛍光強度や蛍光スペクトルの特徴が、病理組織的に何を意味するのかは未解明である。もし、定量的なスペクトル解析が可能となれば、これらの問題点は解決し、5-ALA 光線力学診断の精度の向上と基礎研究の飛躍が期待できる。

2. 研究の目的

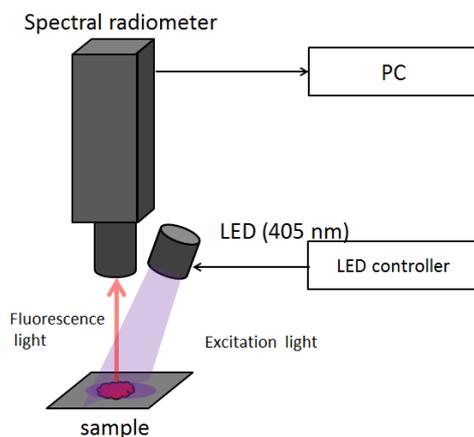
第一の目的は、定量的なスペクト解析手法を確立することである。

第二の目的は、定量的なスペクト解析手法を応用して、従来の蛍光診断法や組織学的所見（遺伝子発現、ポルフィリン代謝を含む）との定量的関係を解明することである。

3. 研究の方法

(1) 定量的蛍光輝度計測システムの開発

5-ALAのみならず、すべての光線力学診断において蛍光輝度を測定することは行われてこなかった。そこで、分光輝度計を用いて定量的蛍光輝度計測システムを開発した。

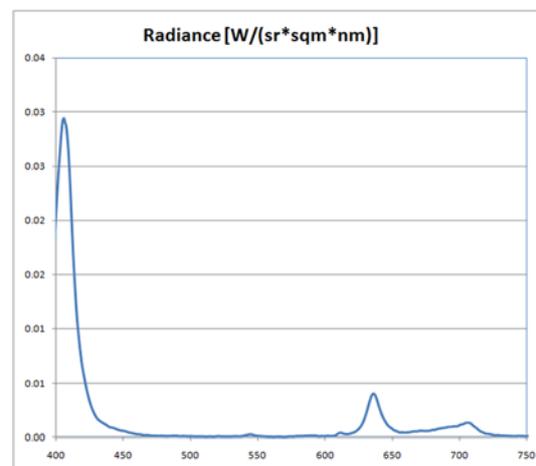


(2) 蛍光輝度スペクトルと脳腫瘍組織との関係の解明

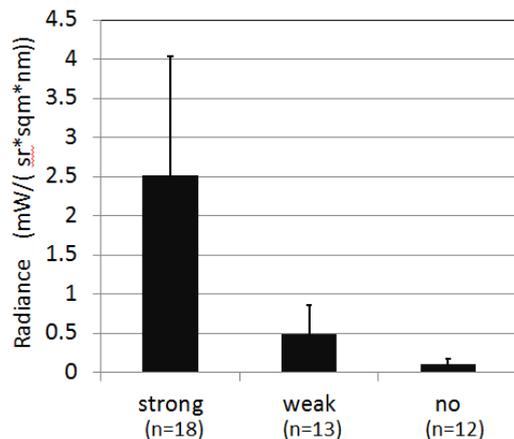
脳腫瘍の組織で、分光蛍光輝度 (spectral radiance) を計測した。まず、蛍光輝度と従来の肉眼による蛍光判定（強、弱、無）を比較した。次に、ポルフィリン代謝に関連する酵素であるコプロポルフィリノーゲン酸化酵素 (CPOX) の mRNA 発現レベルを比較した。

4. 研究成果

(1) 定量的な分光蛍光輝度計測システムにより SI 単位で、 $W \cdot sr^{-1} \cdot m^{-2} \cdot nm^{-1}$ の単位で蛍光をスペクトル成分ごとに定量するこのが可能となった。



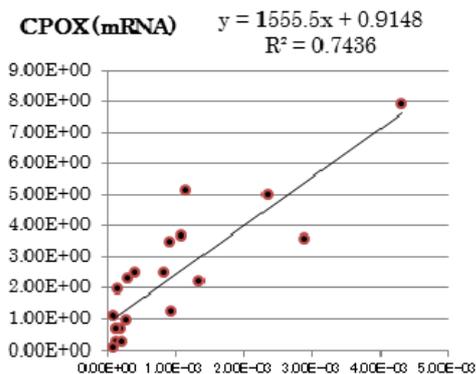
(2)従来の肉眼による蛍光判定が、蛍光輝度ではどの様に定義できるのかが明らかになった。すなわち、強蛍光は、 $1 \sim 4 \text{ mW} \cdot \text{sr}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ 、弱蛍光は、 $0.1 \sim 1 \text{ mW} \cdot \text{sr}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ 無蛍光は、 $0.1 \text{ mW} \cdot \text{sr}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ 以下であった。



(3)悪性神経膠腫において、蛍光輝度とCPOXの発現レベルとの間に強い相関関係をみとめた。(R²=0.74)このことは、腫瘍特異的にポルフィリンが蓄積する機序に、CPOXが密接に関連していることを意味する。

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 3 件)

① Ishikawa T, Nakagawa H, Hagiya Y, Nonoguchi N, Miyatake S, Kuroiwa T, Key role of human ABC transporter ABCG2 in photodynamic therapy and photodynamic diagnosis, Adv. Pharm. Sci., 査読有、vol.

10、2010、2255Epub、1-13

② Miyatake S, Kajimoto Y, Kuroiwa, Intraoperative photo-dynamic diagnosis of brain tumors. 査読有、vol. 61, 2009, 835-842

③ 梶本宜永、孫 偉、高橋賢吉、池田直廉、野々口直助、宮武伸一、黒岩敏彦、蛍光診断と外科的併用手術またはPDT併用治療での利点と問題点5-ALAによる光線力学診断における特異性、非特異性とメカニズム、日本レーザー医学会誌、査読なし、vol. 30、2009、335

④ 梶本宜永、黒岩敏彦、蛍光ガイド下手術、NS NOW、査読なし、vol. 5、2009、112-115

[学会発表] (計 9 件)

① 梶本宜永、腫瘍組織におけるポルフィリン蛍光の分光蛍光輝度計測法、第1回ポルフィリンALA学会 2011年5月7日

② 梶本宜永、ABCG2発現とその制御が5-ALA PDTに及ぼす影響、第6回日本脳神経外科光線力学研究会 2010年6月12日、福井市

③ 高橋賢吉、アミノレブリン酸による脳腫瘍の蛍光機序について、第6回日本脳神経外科光線力学研究会 2010年6月12日、福井市

[図書] (計 3 件)

① 梶本宜永、黒岩敏彦、シュプリンガー・フェアラーク東京、蛍光ガイド下手術。脳神経外科臨床マニュアル(改訂4版)、2010、1070-1079

② 梶本宜永、黒岩敏彦、日本臨牀社、術中蛍光診断。新時代の脳腫瘍学—診断・治療の最前線—、2010、375-382

③ 梶本宜永、シーエムシー出版、脳神経外科のレーザーなどの光診断と治療。次世代光医療—光技術の臨床への橋渡し—、2010、123-133

[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

<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/neu/kowakunai/chiryu.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒岩 敏彦 (Kuroiwa Toshihiko)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30178115

(2) 研究分担者

梶本 宜永 (Kajimoto Yoshinaga)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：30224413