

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12730

研究課題名（和文）食道がん予後改善のためのラマン分光分析に基づく反回神経術中同定法の開発

研究課題名（英文）Development of an intraoperative identification of the recurrent nerve based on Raman spectroscopy to improve the prognosis of esophageal cancer

研究代表者

柴田 智隆（SHIBATA, TOMOTAKA）

大分大学・医学部・講師

研究者番号：20566905

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：臨床実用化に向けた装置の性能評価および診断精度の検証を行った。方法として、大動物（ブタ）を用いて、ラマン分光法のファイバー型デバイスでの腸管およびリンパ節のラマンスペクトル測定を行った。実装したファイバー型デバイスでもスペクトル測定が可能であることがわかり、実際の腹腔鏡手術への応用が可能であることが示唆された。本研究での成果は、実際に手術室でのラマン分光器測定を行うことができた点である。通常のラマン分光器は備え付け型であり持ち運びは想定されていない。しかし、ラマン分光器を小型化することにより手術室に持ち運ぶことができ、さらには組織の測定を行うことができたのは大きな成果である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食道癌に対する標準治療はStage0期の早期食道癌とStageIVの進行食道癌を除き手術による根治切除である。その術後合併症である反回神経麻痺は、患者のQOL低下と死亡率に関連する重大な合併症でありながら術後高率に発症する。しかし未だ発生予防方法は確立されておらず新しい反回神経麻痺予防方法の開発は急務である。本研究では次世代の術中光診断技術として昨今世界的に注目が高まっている「ラマン分光法」を応用し、反回神経に触らずして手術を行うことで反回神経麻痺を予防するための画期的な手術方法“Non touch neural isolation method (NOTON)”の開発に寄与する。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the performance of the device and verified its diagnostic accuracy for clinical application. As a method, Raman spectra of the intestinal tract and lymph nodes were measured with a fiber-type device of Raman spectroscopy using a large animal (pig). It was found that spectral measurements were possible with the implemented fiber-type device, suggesting that it can be applied to actual laparoscopic surgery. The achievement of this study is that we were able to perform Raman spectrometer measurements in an actual operating room. Ordinary Raman spectrometers are not designed to be portable, as they are installed in the operating room. However, by miniaturizing the Raman spectrometer, it was possible to carry it to the operating room and measure tissues, which is a great achievement.

研究分野：消化器外科、食道外科

キーワード：食道癌 ラマン分光法 反回神経麻痺

1. 研究開始当初の背景

食道癌手術を行う我々外科医が臨床の場で常に直面し患者の QOL、死亡率に大きく関わる反回神経麻痺をなんとか予防できないかと日々考える中で、反回神経に触らずしてこれを同定できる手段として、生体組織にとって比較的侵襲性が少ない可視光線～近赤外光線を利用した方法を検討した結果、食道癌をはじめ、胃癌、大腸癌などの消化器癌の診断に利用されているラマン分光法に着目した。

ラマン分光法は、ICG やフルオレセインなど臨床で用いられる蛍光標識法と比較すると、検出感度の面では多くの課題が残されている一方で、**標識が困難な神経組織などを無染色で同定できる能力を秘めている。**

そこで本研究では、ラマン効果を利用して術中に神経を可視化する技術を開発し、反回神経に触らずして手術を行う画期的な手術方法、"**Non touch neural isolation method (NOTON)**"を開発するという構想に至った。

2. 研究の目的

ラマン分光法を利用して、反回神経に触らずして手術を行う画期的な手術方法、"**Non touch neural isolation method (NOTON)**"を開発すること。

これまでラマン分光計を用いた術中神経同定の報告はなく、我々独自のものであり、またこれが実現すれば反回神経麻痺予防のための画期的な手法となる。さらに、本法が確立されれば、神経温存を必要とする多くの外科手術での応用が期待できる。

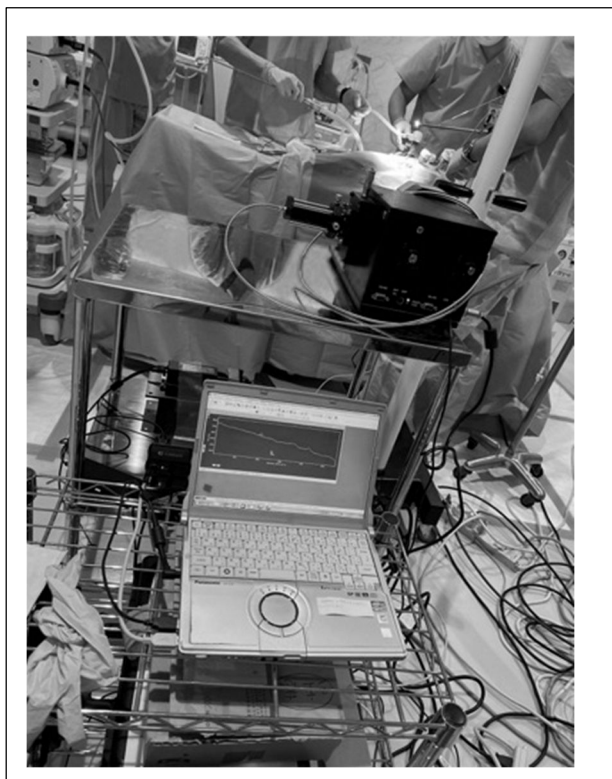
3. 研究の方法

【研究実施項目 1】ラマン分光法による神経組織同定のための基礎的検討

食道癌摘出手術症例で得られた標本をホルマリン固定後、OCT コンパウンドに包埋し凍結保存し、凍結切片をやや厚め（厚さ 10～20 ミクロン程度）に切り出し、既存の高感度ラマン顕微鏡を用いて切片のラマンスペクトルを網羅的に計測する。薄切標本における組織分布を、粘膜上皮・筋層および漿膜に大別し、各部位のラマンスペクトル測定を平均 5～10 スペクトル計測する。細胞が密集する粘膜上皮の表層・筋層と上皮の間質（主に脂質・膠原繊維）、および筋線維の各スペクトルをデータベース化し、組織部位ごとに平均スペクトルを比較しながら神経線維のラマンスペクトルを同定する。ラマンスペクトル計測後に、当該切片および連続切片の HE 染色を行い、食道組織周辺の神経叢の位置を同定する。また、食道組織中に混在している微弱な神経のラマンスペクトルの検出方法についても、多変量解析（主成分分析 PCA、線形判別分析 LDA 等）を適用し検討する。

【研究実施項目 2】臨床試験のためのポータブルラマン分光器の製作

高感度ラマン顕微鏡を用いて、神経組織のラマンスペクトルが食道組織のラマンスペクトルと完全に差別化できることが明らかになった時点で、術中にラマンスペクトルを同定することを想定して、富山大学工学部と共同で小型卓上ラマン分光器を製作する。具体的には、レーザー強度を 5 倍以上、CCD 検出器感度を 2 倍以上として、術中に 1 計測あたり 1 分以内で可能なファイバ型デバイスをレーザー照射部に装着する。研究分担者らの所属する富山大学工学部で独自に開発したラマン散乱光の伝送に特化した中空ファイバの採用により、ハイスループット化が実現する。将来的にファイババンドル化によるラマンイメージの取得も可能である。大型動物実験（ブタ等）にて検証を行う。



4. 研究成果

臨床実用化に向けた装置の性能評価および診断精度の検証を行った。方法として、大動物（ブタ）を用いて、ラマン分光法のファイバ型デバイスでの腸管およびリンパ節のラマンスペクトル測定を行った。実装したファイバ型デバイスでもスペクトル測定が可能であることがわか

り、実際の腹腔鏡手術への応用が可能であることが示唆された。

本研究での成果は、実際に手術室でのラマン分光器測定を行うことができた点である。通常のラマン分光器は備え付け型であり持ち運びは想定されていない。しかし、ラマン分光器を小型化することにより手術室に持ち運ぶことができ、さらには組織の測定を行うことができたのは大きな成果である。

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

〔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
研究分担者	衛藤 剛 (Etoh Tsuyoshi) (00404369)	大分大学・医学部・准教授 (17501)	
研究分担者	大嶋 佑介 (Oshima Yusuke) (10586639)	富山大学・学術研究部工学系・准教授 (13201)	
研究分担者	小川 雄大 (Ogawa Katsuhiro) (40733621)	大分大学・医学部・病院特任助教 (17501)	

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