

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 年度 ～ 2012 年度

課題番号：22591514

研究課題名（和文）肝胆膵鏡視下手術における Auto-Fluorescence Imaging の応用

研究課題名（英文） Application of Auto-Fluorescence Imaging for Laparoscopic Hepato-biliary-pancreatic Surgery

研究代表者

皆川 昌広（MINAGAWA MASAHIRO）

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：10464009

研究成果の概要（和文）：

Auto-Fluorescence Imaging (AFI) は表層型の腫瘍描出に有効であることがわかった。特に血流の多い肝臓に関してはよいコントラストが得られることより、肝硬変など表面凹凸の強く腫瘍の触知が難しい臓器に対する鏡視下手術において有用な技術であることを確認できた。また、fluorescein sodium と呼ばれる蛍光剤を使うと、肝胆膵における細径の脈管部を強く蛍光させることが可能であり、このシステムを使った術中ナビゲーションの可能性を示唆できた。

研究成果の概要（英文）：

We found that Auto-fluorescence Imaging (AFI) is particularly useful for detection of superficial tumors. Especially in laparoscopic surgery, this technique enabled to visualize tumors well in cirrhotic liver with rough surface without drug administration nor manipulation. In addition, it was demonstrated in an animal model that fluorescein sodium injected into hepato-biliary-pancreatic vessels could provide strong fluorescence with AFI. This indicates that AFI can help recognizing anatomical location of vessels during laparoscopic surgery.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：膵臓外科学，内視鏡下手術

1. 研究開始当初の背景

近年、内視鏡下手術技術の発展により腹腔臓器の中で難しいとされた肝臓および膵臓領域における鏡視下手術も行われるようになってきている。我々の施設では先駆的に2000年よりすでに腹腔鏡下肝切除術を導入し、現在、高度先進医療認定施設として登録されており、肝臓さらには膵臓領域における腹腔鏡下手術を積極的に行っている。我々はAuto-Fluorescence Imaging (以下 AFI と略す、オリンパスメディカルシステムズ社製, Japan) と呼ばれる蛍光内視鏡ビデオシステムを我々の鏡視下肝切除術に応用をはじめた。視覚を中心とした探索しかできない鏡視下手術において、肝硬変を背景にした表在性肝細胞癌において術前 CT にて局在はわかるものの、エコーでも描出されにくかった肝腫瘍の対処法を解決できたことは、非常に大きな前進である。AFI は、青色光の照射によって消化管の粘膜からでる蛍光反射光をリアルタイムにデジタル画像解析・処理し、腫瘍(マゼンダ色)と粘膜下毛細血管(緑色)とのコントラスト画像を得ることにより、上部消化管の表在性早期癌を描出するために開発されたシステムである。我々が行った鏡視下肝臓手術での AFI による肝表面観察では、血流の豊富な背景肝と間質の多い腫瘍が存在することによってコントラストよく描出できると予測された。我々は、この蛍光内視鏡システムを他の腫瘍にも応用すべく、膵臓および胆道系の悪性腫瘍手術において観察を試みている際に、浸潤性・転移の可能性のある悪性腫瘍の間質周囲組織および腫大したリンパ節の蛍光パターンが正常のものと違うことに気がついた。AFI は表面に近い間質組成・毛細血管密度の変化を見分けることができるため、浸潤性や転移性の強い癌の進展範囲をより詳細に観察できる可能性があることに着目した。また、AFI は蛍光剤なしに表在性腫瘍を観察できるという利点をもっているが、それにあえて蛍光物質を用いることで、さらに癌の進展範囲を明瞭に可視化できるのではないかと思いついた。リンパ節転移を含めた癌の進展は肉眼で判断することが難しく、これまでその判断には迅速病理診断が必要であったが、本研究によって AFI の応用が成功し、リアルタイムに腫瘍進展を観察できるようになれば内視鏡手術だけでなく、通常の癌手術治療における大きな進歩にもつながると考えられた。

2. 研究の目的

肝・胆道・膵臓腫瘍手術において AFI による

腫瘍進展の観察を行い、その限界および精度を再評価する。蛍光物質を実験動物に対して投与、腹腔内を AFI にて観察することにより、リンパ管・リンパ節、血管、さらに臓器の蛍光変化パターンを確認し、AFI 技術のさらなる可能性を見出す。臨床的に新しい蛍光剤を使用し、AFI との組み合わせによって臨床的に治療につながるような応用力を確認する。

2. 研究の方法

(1) AFI 腹腔内観察による腫瘍細胞の局在診断の限界と精度の確認

肝・胆道・膵臓腫瘍手術(内視鏡手術および開腹手術)において、AFI を使用し蛍光物質投与なしにどの程度まで、肉眼ではわからない腫瘍の位置を同定できるかどうかを確認し、その症例数を重ね、データの蓄積を行った。膵臓においては特に内分泌腫瘍の場合など、腹腔鏡下手術でも腫瘍局在がわかりにくいことが多く、超音波探索以外の視覚的探索法として AFI が確立できないかを検討した。腫瘍原発臓器、腫瘍タイプ、腫瘍同定が可能な深さ、サイズ、進展度などを検討し、統計的解析にその有効性を再評価する。腫瘍の種類によっても蛍光パターンが変わるのかを観察し、AFI 腹腔内観察のデータ蓄積した。患者に対する AFI 使用に当たっては、患者への研究目的の説明と同意を得てから行った。

(2) 蛍光物質の投与による腫瘍および周辺組織・リンパ組織の観察

ブタに対して、市販されている腫瘍集積性をもつ Fluorescein sodium を静脈投与し、AFI による観察によって臓器蛍光パターンやリンパ管走行を観察できるかを確認する。AFI が検出する標的の深度は深くないが、手術中に表面に近いリンパ組織を観察することで、転移リンパ節を可視化できるかを確認する。同様にリンパ周囲にも投与し腫瘍進展のあるリンパ節・リンパ管の確認が AFI によって可能かどうかを検討する。また、蛍光物質による効果時間を測定し、その限界と持続性を決定した。

鏡視下手術において脈管走行の確認は非常に重要であり、本研究のもうひとつの試みとして、胆管および膵管内に Fluorescein sodium を投与し、脈管の走行を観察できないか確認した。

(3) 新しい蛍光薬を使用した臨床的応用

進行胆道癌・膵癌の患者において 5-ALA (術前 4 時間前に 15~20mg/kg を内服) を投与し、リンパ管および腫瘍の同定が可能であることを確認した。患者への蛍光物質投与による腫瘍組織輪郭の明確化、腫瘍進展のあるリンパ組織の確認ができるかどうかを確認し、AFI 観察との併用により腫瘍の局在、腹膜播種が内視鏡的に確認できるかを検討した。

5-ALA 投与は、新潟大学医歯学総合病院倫理委員会、IRB の承諾を得てから患者への投与を計画した。

4. 研究成果

(1) AFI による腫瘍描出の精度について

我々は本技術での肝臓での腫瘍描出を初めて世界で報告した。さらに症例数を重ねることによって肝腫瘍に関しては表面より 10mm 未満であれば腫瘍の描出が可能であることを確認することができた。ただし、腫瘍サイズが 10mm 以下になると、周囲とのコントラストがとりづらく、判別が難しいこともわかった。また、近年応用されている Indocyanin green (ICG) による赤外線観察法との対比も行った。ICG による赤外線観察は解像度がよいものの、胆汁鬱滞部に集積していることから肝硬変等の炎症を伴っているような肝臓においては非特異的に蛍光する部位が多かった。この観察に AFI を併用することにより、腫瘍の局在においてはより精度の高い腫瘍の場所を視覚化することが可能になった。このように他の視覚化方法との組み合わせによって腫瘍の質的診断や悪性度がわかるようになれば腹腔鏡手術の精度が高くなると思われた。今後は、複数の蛍光法を組み合わせ、さらに画像を合成することが可能であれば腫瘍をより精密に視覚化・診断していくと考えられた。このような画像技術は日本が世界でリードしていると思われ、企業の横断的な協力によって臨床的に十分応用可能な視覚化装置の開発がすすんでいくことが期待できる。

(2) AFI によるナビゲーション手術の可能性について

動物実験において複雑な胆道系・膵管・リンパ管の描出が蛍光剤である Fluorescein sodium によって可能であることを確認した。持続時間は最低 2 時間であり、術中に十分脈管の走向を確認することが可能であり、脈管すべてが腹腔鏡下の AFI 観察による描出可能であることがわかった。AFI による蛍光描出

によって視覚のみに頼る腹腔鏡下手術でもナビゲーションが可能であることを示唆することができた。ただし、自家蛍光のみによる観察では、表面血管の走向はわかるものの、深部主膵管・胆管は観察することは難しいことがわかった。

(3) 新しい腫瘍蛍光薬を使った応用効果について

腫瘍を特異的に蛍光させる薬剤として 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) の投与を行い周術期における安全性を確認するとともに、胆道癌、膵癌に自己蛍光をもたせることが可能であることがわかった。5-ALA 投与された腫瘍も青波長により励起。蛍光することが知られており、胆道癌、膵臓癌患者において AFI と 5-ALA 蛍光による多面的観察が可能であることを確認した。ただし、5-ALA 投与による蛍光は弱く腫瘍が深部になると腫瘍局在がわかりにくくなることが判明した。このことから深部微小病変の発見が現時点では難しいと思われる。しかしながら、胆管癌症例の胆管観察で腫瘍の表層進展の一部が視覚化できた症例があり、今後のさらなる研究によって新しい知見が得られることが期待できた。また逆に蛍光を呈さない症例もあり、腫瘍悪性度と蛍光性との関連を研究することが本技術の確立には必要であることがわかった。

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 1 件)

1. Minagawa M, Kurosaki I, Ogawa H, Hatakeyama K. Navigation surgery with autofluorescence imaging for small hepatocellular carcinomas invisible to ultrasonography. *Surgery* 2011;149(6): 848-850 (査読あり)

[学会発表] (計 7 件)

1. Minagawa M, Kurosaki I, Takano K, Takizawa K, Morimoto Y, Nakano T. Density Fluctuation of Preoperative MDCT image predicts postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. IASGO Dec 5, 2012. Bangkok.

2. 皆川昌広、黒崎功、佐藤大輔、高野可赴、森本悠太、仲野哲矢. 体尾部膵癌に対する Radical antegrade distal pancreatectomy.

日本肝胆膵外科学会, 2012/6/2, 大阪.

3. 皆川昌広, 黒崎 功, 高野可赴, 滝沢一泰, 森本悠太, 畠山勝義. Mechanical Slow Flattering による術後膵液瘻軽減の試み. 日本内視鏡外科学会. 2011/12/8. 大阪.

4. Minagawa M, Kurosaki I, Takano K, Hatakeyama K. Laparoscopic partial resection of pancreatic tumors using low power CUSA. IASGO 2011. Nov 12, 2011. Tokyo.

5. Minagawa M, Kurosaki I, Kitami C, Takano K, Hatakeyama K. Auto-fluorescence imaging for detecting superficial liver tumors in laparoscopic surgery. ISW 2011, Aug 28, 2011. Yokohama.

6. 皆川昌広, 黒崎 功, 北見智恵, 高野可赴, 佐藤大輔, 滝沢一泰, 畠山勝義. 肝硬変患者に対する低侵襲手術としての鏡視下肝切除. 日本内視鏡外科学会. 2010/10/19. 横浜.

7. 皆川昌広, 黒崎功, 北見智恵, 黒崎亮, 高野可赴, 佐藤大輔, 畠山勝義. 膵実質 CT 値計測による膵液瘻リスク予測とその組織的背景の関係. 日本消化器外科学会総会. 2010/7/14. 山口.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

皆川 昌広 (MINAGAWA MASAHIRO)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号：10464009

(2) 研究分担者

黒崎 功 (KUROSAKI ISAO)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号：50293220