

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861184

研究課題名(和文)胃癌における5-アミノレブリン酸を用いた光力学的診断の有用性に関する研究

研究課題名(英文) Photodynamic diagnosis mediated 5-ALA for peritoneal metastasis due to advanced gastric cancer

研究代表者

高橋 剛 (Takahashi, Tuyoshi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50452389

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)：進行胃癌に対する審査腹腔鏡検査において、通常光観察では検出不能である腹膜播種の微小病変検出のため、5-ALAを用いた光線力学診断(ALA-PDD)の有用性ならびにその安全性の検討を行った。術前CT画像上腹膜播種が疑われる進行胃癌患者15例に対してALA-PDDを施行した。通常光観察で7例の腹膜播種が同定され、ALA-PDDの施行で1例の上乗せ効果が認められた。消化器症状(嘔気 2例 Grade1)を認めたが、Grade2以上の有害事象は認めなかった。ALA-PDDは胃癌腹膜播種の新たな診断モダリティとして有用かつ安全に施行が可能であった。

研究成果の概要(英文)：In advanced gastric cancer, the diagnosis of peritoneal metastasis is mandatory prior to the decision of therapy. Photodynamic diagnosis (PDD) by 5-aminolevulinic acid (ALA) has been proposed for peritoneal metastasis in staging laparoscopy and showed higher sensitivity than that of conventional examination. The aim of this study was to evaluate the effectiveness and safety of ALA-PDD for the diagnosis of the peritoneal disseminations. Fifteen advanced gastric cancer patients who had the signs of peritoneal metastasis pointed out by CT scan were included. We evaluate the additional detection rate compared to the conventional examination and safety. The additional detection rate was 6.7 % (1/15) and the incidence of adverse effect was 13.4 % (nausea, Grade 1). The ALA-PDD was effective and safe examination for the peritoneal metastasis of gastric cancer. And, we are now going to conduct the new investigator initiated trial.

研究分野：消化器外科

キーワード：5-ALA PDD photodynamic diagnosis 5-aminolevulinic acid

1. 研究開始当初の背景

胃癌は、本邦における死亡数は約 50,000 人と悪性新生物による死因の第 2 位を占めている難治性疾患である。近年、胃癌における治療成績は早期胃癌の相対的増加に伴って飛躍的に向上し、全体では 70% 近い治癒率を達成している。しかし漿膜下あるいは漿膜への浸潤を認める症例となると、遠隔転移がない場合でもその予後は比較的不良である。その再発形式の多くは腹膜転移再発であり、腹膜播種転移、すなわち腹腔内遊離癌細胞および腹膜表面の微小転移の早期発見・制御が、胃癌の治療成績向上に不可欠と考えられる。一方腹膜播種は胃癌の転移・再発形式として最も多いものであるが、高度にならない限り CT での診断は困難である。そのため、腹膜播種の有無を肉眼的に判断でき同時に腹腔洗浄細胞診検査を行うことができる審査腹腔鏡検査は重要な位置づけとなっている。腹腔鏡検査は、低侵襲である一方、触覚を使用できない欠点があり微小な播種病巣の評価が不完全となるケースがあり問題となっている。

5-アミノレブリン酸 (以下 5-ALA) は生体内に存在する天然アミノ酸で、ミトコンドリア内でスクシニール CoA とグリシンから ALA 合成酵素により合成されるアミノ酸であり、それ自体に発光性はない。ALA は ALA hydrogenase により prophobilinogen (PBG) が作成され、その後いくつか代謝過程を経て、protoporphyrin IX (PPIX) となり、ferrochelatase の働きで heme が合成される。正常細胞では内因性の 5-ALA と同様に経口投与された 5-ALA は heme まで合成されるが、porphobilinogen deaminase (PBGD) が律速段階となっており過剰な heme への合成には至らない。一方、腫瘍細胞では PBGD 活性が相対的に高くこれが律速段階にならないこと、ferrochelatase の活性が弱いことから、経口投与された 5-ALA は PPIX まで速やかに代謝されたところで代謝が律速段階となり、PPIX として蓄積する。PPIX は青色励起光を照射することで赤色蛍光を発光することを利用し、PPIX が蓄積した腫瘍細胞のみが赤く発色し、腫瘍細胞領域を認識できる。

この原理を利用し、脳神経外科領域、泌尿器科領域では悪性腫瘍の範囲診断としての有用性が報告されており、現在高度医療として、医師主導治験という形で進行中である。

本研究では、(1) 漿膜浸潤を有する胃癌術時に、通常可視光による審査腹腔鏡と 5-ALA を用いた審査腹腔鏡を比較検討し、腹膜播種診断における有用性を明らかにすることを目的とした。感度ならびに特異度を病理学的に検討することとする。さらには、(2) 胃癌の切除標本に対して青色光を照射

することで、癌の範囲診断を行い、切除標本の病理検査結果と対比しその正確度を判定する。胃癌の組織型には多くの種類があり、実際組織型別の正診率を検討する。また、(3) 術前内視鏡時に、検査前に 5-ALA を内服させた後に、特殊青色光を用いることで、腫瘍の進展の評価を行う。術後の病理検査結果と対比させその正診率を明らかにする。

2. 研究の目的

(1) 胃癌腹膜播種病変における 5-ALA を用いた光線力学診断の有用性の検討
漿膜浸潤胃癌を対象として、審査腹腔鏡検査時の腹膜播種病変の有用性を検討する。腹膜播種病変の診断目的に行われる審査腹腔鏡検査時において、検査前に 5-ALA の内服をさせ、術時の観察において、通常光での観察 + 青色光を用いた観察を行う。前述の如く、癌細胞においては 5-ALA の代謝産物である PP の蓄積により赤色蛍光を発することが予測される。通常光観察で腹膜播種と診断される病変ならびに赤色蛍光発する病変については、生検を行い、一致率、5-ALA 診断の感度・特異度を明らかにする。また、引き続き切除を行う場合では、触診による腹腔内検査を行い比較検討する。

(2) 病変の範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討
術前に 5-ALA の投与を行い、癌組織に代謝産物である PP を蓄積させ、切除後に青色光を当て赤色経口を発する部位をマーキングする。病理組織検査における範囲診断との一致率を確認する。その際、組織型、肉眼的病型等による差の有り無しについても検討を行うこととする。

(3) 内視鏡的病範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討

(2) による研究結果を踏まえ、術前の範囲診断における内視鏡を用いた有用性の検討を行う。検査前に 5-ALA の投与を行い、癌組織に代謝産物である PP を蓄積させ、青色光レーザー光により赤色蛍光を発する範囲の同定を行う。クリップ等によるマーキングを行い術後の病理検査結果と比較検討を行いその確からしさを確認する。青色光レーザー光源を搭載された次世代型内視鏡システムである FujiFilm 社製の Lasereo を用いるが、2011 年 9 月に導入され使用可能である。Lasereo は、モノの表層を見るのに適した波長の短い青色レーザー光を照射することが可能で、従来の白色光源に比べ粘膜表層の血管を詳細に観察することを可能とし、癌の診断目的に開発された。この青色光を用いて、ALA の PDD が可能であることも先行研究で確認されている。

胃癌に対する、5-ALA の有効性の評価を腹膜播種診断、主病巣の拡がり診断の点から行うこととする。同時に投与の安全性の再確認を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 胃癌腹膜播種病変における 5-ALA を用いた光線力学診断の有用性の検討
術前診断で漿膜浸潤を有する胃癌を対象とする審査腹腔鏡検査を対象とする。

5-ALA (薬事未承認、院内製剤)を 5%ブドウ糖溶液 50ml で溶解し、0.22 μm フィルターで濾過し、5-ALA 溶解液を作成する。

蛍光腹腔鏡検査施行前 180 ~ 240 分前に 5-ALA 溶解液 50ml を、経口投与する。

通常光による審査腹腔鏡検査の後に、蛍光フィルター装備された蛍光腹腔鏡 (HOPKINSII Straight Forward Telescope 0°, 30°)、スイッチで白色キセノン光源と青色励起光源に切り替え可能な光源装置 (D-Light AF System)、専用ビデオカメラシステム (Endovision TELECAM SL/IPM-PPD System) を用いて、腹腔内における赤色蛍光を観察する。赤色蛍光を発光した部分を陽性と判断する。(蛍光波長は減弱するため観察時間は 15 分程度とする。) その後、それぞれの観察により陽性と判断された組織を採取、病理組織検査を行い確認を行う。感度、特異度について検討する。

内服に伴う安全性の評価を同時に行うこととする。

(2) 病変の範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討

切除組織標本を用いた腫瘍の拡がりの評価を行う。本研究の目的は、術中迅速診断の補完的診断となりうるか否かについて評価を行うことにある。

5-ALA (薬事未承認、院内製剤)を 5%ブドウ糖溶液 50ml で溶解し、0.22 μm フィルターで濾過し、5-ALA 溶解液を作成する。

術開始時に胃管より注入を行う。

標本摘出直後、摘出した胃標本を開き、青色励起光を照射して光力学診断を行う。水平方向のみならず、切離端の切断した剖面(粘膜下層)において評価する。赤色の蛍光発光した部分を病変陽性とし、この部分の組織を採取する(陽性部組織)。また、病変陽性とされない部分の組織を 2 か所以上採取する(陰性部組織)。さらには、全割切片を作成し、マッピングを行い、病理学的検討を行うこととする。

術前後に、内服に伴う安全性の評価を同時に行うこととする。

(3) 内視鏡的病変範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討

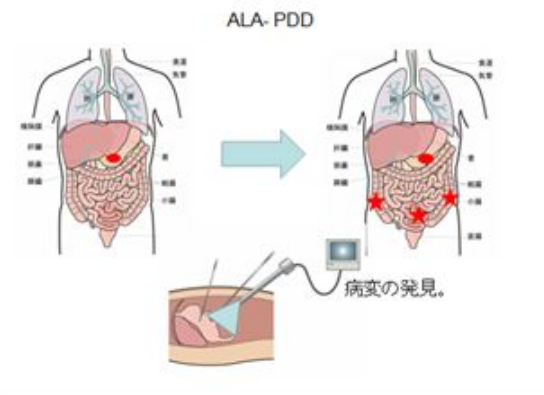
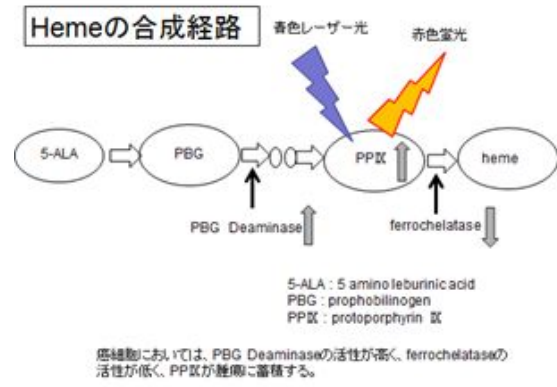
術前胃癌を対象とする術前内視鏡検査を対象とする。

5-ALA (薬事未承認、院内製剤)を 5%ブドウ糖溶液 50ml で溶解し、0.22 μm フィルターで濾過し、5-ALA 溶解液を作成する。

内視鏡検査施行前 180 ~ 240 分前に 5-ALA

溶解液 50ml を、経口投与する。

通常光による審査腹腔鏡検査の後に、青色レーザー光源を搭載された次世代型内視鏡システム(FujiFilm社製のLasereo)を用い、赤色蛍光の範囲を同定クリップによるマーキングを行う。術後切除標本において、病理組織検査を行いマーキング確認を行う。感度、特異度について検討する。組織型と蛍光の発色の関連を検討することとする。



4. 研究成果

(1) 胃癌腹膜播種病変における 5-ALA を用いた光線力学診断の有用性の検討

患者の性別は男:女=9:6(人)、年齢の中央値が 67 歳(範囲:39-79)あった。通常光観察で 7 例の腹膜播種が同定され、ALA-PDD の施行で 1 例の上乗せ認められた。検査後、消化器症状(嘔気 2 例 Grade1)を認めたが、Grade2 以上の有害事象は認めなかった。

症例	通常光観察(結節)	ALA	症例		
			迅速診	CY	術式
①	-	-	施行せず	0	胃全摘術
②	-	-	施行せず	0	胃全摘術
③	+	+	陽性	1	Staging lap
④	+	+	陽性	1	バイパス
⑤	-	+	陽性	1	IPポート留置
⑥	+	+	陽性	0	IPポート留置
⑦	+	+	施行せず	0	Staging lap
⑧	-	-	施行せず	1	IPポート留置
⑨	+	+	施行せず	0	Staging lap
⑩	-	+	陰性	0	胃全摘術

症例

症例	通常光 観察(結節)	ALA	迅速診	CY	術式
①	-	+	施行せず	0	胃全摘術
②	+	+	陽性	0	IPポト留置
③	+	+	施行せず(P3)	1	Staging lap
④	-	+	施行せず	0	胃全摘術
⑤	+	+	施行せず	±	IPポト留置

	病理検査 陽性	病理検査 陰性
ALA-PDD (+)	8	2
ALA-PDD (-)	0	5

感度 100% 特異度 71.4%
 陽性的中率 80%
 陰性的中率 100%
 有害事象発症症例 1例
 (嘔気, Grade1)
 現在 15例集積

Osaka University, Department of gastroenterological surgery

診断精度として、感度 100%、特異度 71.4%、陽性的中率 80%、陰性的中率 100%であった。また、CTCAE grade1 の有害事象を 2 例のみ認めるだけで安全性が確認された。

本研究成果をもとに、本研究内容の有用性を確認できたと判断し、5-アミノレブリン酸の胃癌に対する光線力学診断としての薬事承認にむけ当科にて医師主導治験を企画し進行中である。本研究は、その原点となるデータとして、医薬品医療機器総合機構（PMDA）に提出され審議された。

(2) 病変の範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討

(3) 内視鏡的病変範囲診断における 5-ALA 診断の有用性の検討

本薬剤を内服後、3 症例にて、青色光レーザー光源を搭載された次世代型内視鏡システム（FujiFilm 社製の Lasereo）を用いけんさをおこなったものの現在の光量では、検出困難であることが分かった。現在、本検査を可能とする光源システムの開発を行う方針である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

高橋剛、原尚志、中塚梨絵他 光力学的診断併用審査腹腔鏡検査における共焦点顕微内視鏡を用いた新たな迅速診断法の試み、第 22 回日本消化器関連学会集会 2014 年 10 月 23 - 26 日、神戸市

高橋剛 胃癌手術の新たな試み-早期/進行胃癌に対する Fluorescence Imaging の可能性-、第 27 回日本内視鏡外科学会総会、2014 年 10 月 2-4 日、盛岡市

原尚志、高橋剛、広田将司他 胃癌腹膜播種病変に対する、共焦点顕微内視鏡(pCLE)

を用いた realtime optical biopsy の有用性の検討第 22 回日本消化器関連学会集会 2014 年 10 月 23 - 26 日、神戸市

原尚志、高橋剛、宮崎安弘他 胃癌の腹膜播種に対する 5-ALA 用いた光力学的診断の有用性と新たな課題 第 4 回ポルフィリン ALA 学会、2014 年 4 月 26 日、神戸市

原尚志、高橋剛、宮崎安弘他 アミノレブリン酸による光力学的診断を用いた審査腹検査の経験から見てきた課題、第 52 回日本癌治療学会、2014 年 8 月 28 - 30 日、横浜市

Hara H, Takahashi T, Nishigaki T, et al PDD mediated 5-ALA for peritoneal metastasis due to advanced gastric cancer and our attempt to conduct new Investigator initiated trial in Japan, 2nd International ALA and Porphyrin Symposium, 2014/11/15-16, Tokyo

〔図書〕(計 0 件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 剛 (TAKAHASHI Tsuyoshi)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：50452389

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：