

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462194

研究課題名(和文)次世代の5-ALA光線力学診断および治療機器の開発

研究課題名(英文)Development of equipment for next generation 5-ALA photodynamic diagnosis and treatment

研究代表者

梶本 宜永(Kajimoto, Yoshinaga)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30224413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：5-ALA蛍光ガイド法により、悪性神経膠腫の切除率は向上し、患者の予後は改善した。しかし、診断法としての未解決の問題点も存在する。例えば、励起光量不足による偽陰性の問題、肉眼的な主観的判断による診断の曖昧さの問題などがある。これらの欠点を克服するためには、安全な補助光源の開発、定量的な蛍光診断装置の開発が望まれる。

本研究では、これらの欠点を克服する機器群(診断用LED光源装置、分光蛍光輝度定量システム、蛍光センサー駆動の超音波メス)の開発をおこない、臨床に応用し、有用性について検証した。

研究成果の概要(英文)：The 5-ALA fluorescence guided excision method improves the resection rate of malignant glioma and improves the patient's prognosis. However, there are unresolved problems as a diagnostic method. For example, there are problems of false negatives due to lack of excitation light intensity, and ambiguity of diagnosis due to macroscopic subjective judgment. In order to overcome these drawbacks, development of a safe auxiliary light source and development of quantitative fluorescence diagnostic apparatus are desired.

In this study, we developed devices (ultrasound scalpel driven by fluorescence sensor, fluorescence sensor driven LED light source device for diagnosis, LED light source device for diagnosis) that overcome these drawbacks, and applied it clinically and verified its usefulness.

研究分野：脳神経外科

キーワード：光線力学診断 光線力学療法 5-アミノレブリン酸 ポルフィリン 手術ロボット 悪性神経膠腫 脳腫瘍

1. 研究開始当初の背景

5-ALA 蛍光ガイド法により、悪性神経膠腫の切除率は向上し、患者の予後は改善する。しかし、診断法としての未解決の問題点も存在する。例えば、励起光量不足による偽陰性の問題、肉眼的な主観的判断による診断の曖昧さの問題などがある。これらの欠点を克服するためには、安全な補助光源の開発、定量的な蛍光診断装置の開発が望まれる。

2. 研究の目的

5-ALA 蛍光診断の欠点を克服するための、種々の機器の開発を行い、臨床応用するのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究では、3種類の異なる機器の開発を行った。

(1) 実用性の高い診断用 LED 光源の開発。

高輝度 LED 素子の開発とともに、従来では4素子必要であった補助光源が1素子のみで十分な励起光量を得ることが可能となった。従来の4素子の従来型の場合には光源の大きさが大きく、手術野の妨げとなる場合もあった。本研究では、CCS 株式会社(京都)と共同で、省スペースの励起光源を開発し、その有用性について検証した。

(2) 腫瘍蛍光の絶対蛍光輝度の定量システムの開発。

従来の蛍光強度の評価は、主観的評価や計測次元の伴わない半定量的な指標のみであった。このために異なるサンプル間での比較検証に問題があった。本研究では、分光蛍光器時計を用いることにより、 $W/sr/m^2/nm$ という次元を有する絶対的な蛍光輝度計測が可能となった。多くの腫瘍での蛍光輝度計測を臨床的にを行い、その有用性について検証を行った。

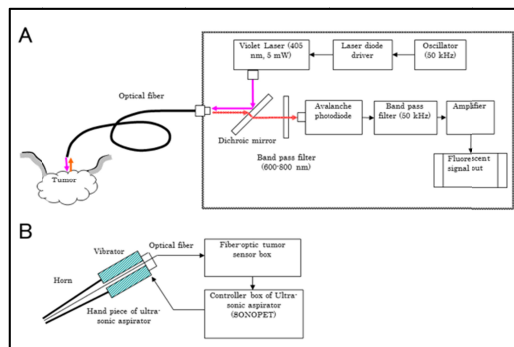
プロトポルフィリン IX の第一ピーク波長である 635nm における蛍光輝度を分光蛍光輝度計(JETI 社製、spectrabos 1201)を用いて測定した。各種脳腫瘍(悪性神経膠腫、星細胞腫、髄膜腫、悪性リンパ腫、下垂体腺腫、聴神経腫瘍、血管芽細胞腫)の腫瘍切除サンプルを用いて、405nm の blue LED 光源にて 10 mW/cm^2 の励起光度で励起した際の 635nm における蛍光輝度を測定した。

(3) 蛍光センシング駆動の超音波メスの開発と検証。

5-アミノレブリン酸は、多くの種類の悪性新生物において、蛍光プロトポルフィリン IX に選択的に変換される。この現象を応用し、新生物特異的切除のための光ファイバー腫瘍センサーと外科用メスの高速制御システムを開発した。

材料と方法：励起レーザー光(405nm、50kHzで変調された)を光ファイバーに導き、手術

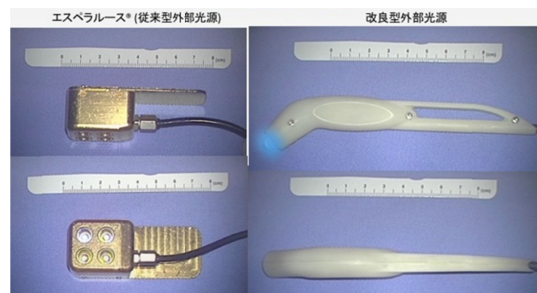
野に照射した。同じ光ファイバーを介して光検出器にも蛍光を照射した。蛍光信号は、照明光の干渉を避けるために、光学的(650nm)および電氣的(50kHz)のバンドパスフィルターと組み合わせて分離され、次いで蛍光強度に比例した超音波吸引器(SONOPET)の出力を制御した(下図 A)。光ファイバーは、ハンドピースの先端に同軸に組み込まれていた(下図 B)。



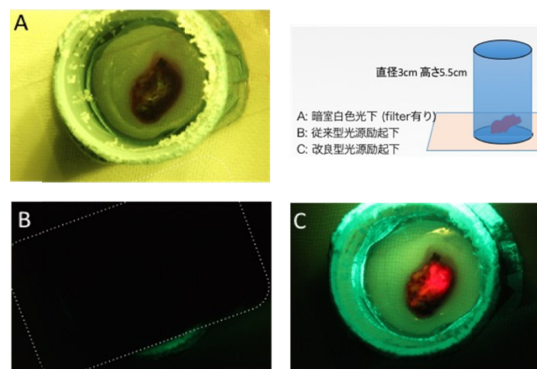
我々は、腫瘍試料の蛍光強度と検知結果のレベルとを比較することにより、センサモジュールの感度を試験した。このシステムを膠芽細胞腫の2例の手術に適用した。

4. 研究成果

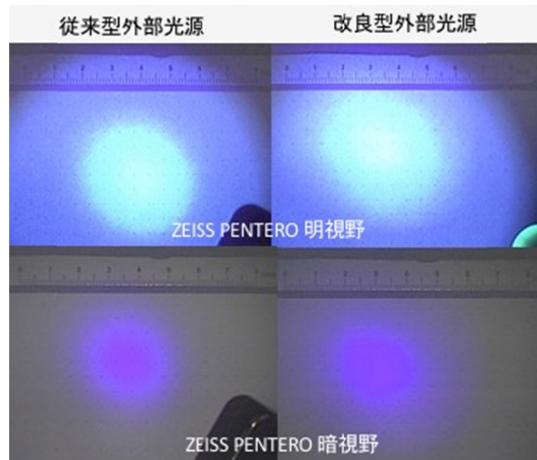
(1) 実用性の高い診断用 LED 光源の開発。
LED 光源ヘッドの大きさが従来のものが $3\text{ cm} \times 2.5\text{ cm}$ であったものが 1.2 cm と約 $1/3$ の大きさとなった。



また深い術野を模擬した環境下(直径 3cm、深さ 5cm)で検証を行った(下図 A)。通常の光源では深い術野の底に励起光が到達するように LED 光源を配置すると、LED 光源により顕微鏡観察ができなくなった(下図 B)。

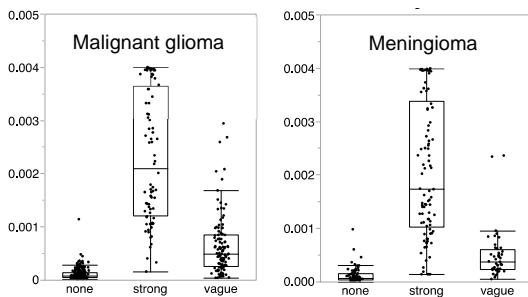


励起光量や波長特性は同じであり、補助光源としてのパワーは同等である（下図）。

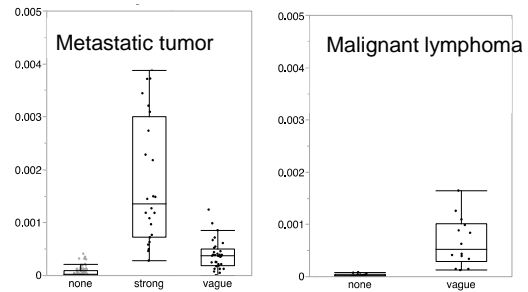


(2) 腫瘍蛍光の絶対蛍光輝度の定量システムの開発。

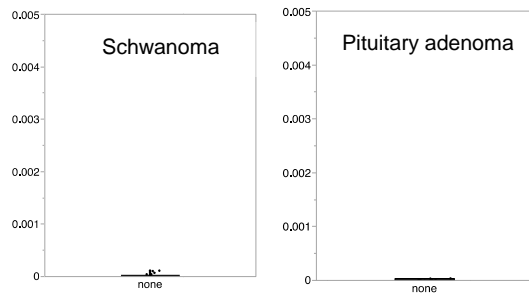
腫瘍切除サンプルを用いて、各種脳腫瘍（悪性神経膠腫、星細胞腫、髄膜腫、悪性リンパ腫、下垂体腺腫、聴神経腫瘍、血管芽細胞腫）のプロトポルフィリン IX の第一ピーク波長である 635nm における蛍光輝度を分光蛍光輝度計(JETI 社製、spectrabos 1201)を用いて測定した。悪性神経膠腫においては、血管面積、血管周囲径、血管密度との間に相関があり、腫瘍における血管新生との関連が示唆された。また、腫瘍の細胞密度や MIB-1 インデックスとの間にも相関があり、腫瘍自体の viability との関連も有していると考えられる。髄膜腫に関しては、悪性神経膠腫とほぼ同等の蛍光輝度を有していた（下図）。



近年、発生頻度が増加傾向にある悪性リンパ腫は、50%の確率で腫瘍蛍光を有していたが、その蛍光輝度は悪性神経膠腫に比べて約半分であり、淡い蛍光を呈していることが判明した。このことから、悪性リンパ腫では、偽陰性に注意が必要である（下図）。



下垂体腺腫、血管芽細胞腫、聴神経腫瘍は、いずれもプロトポルフィリン IX の僅かな蛍光の痕跡も認めることは無く、腫瘍蛍光が陰性の腫瘍であることが判明した（下図）。



(3) 蛍光センシング駆動の超音波メスの開発と検証。

このシステムの反応時間（10 ミリ秒）はヒトの反応時間（190 ミリ秒）よりも速かった。検出限界は、蛍光顕微鏡の通常の蛍光観察システムの限界に相当する $0.46 \text{ mW/sr/m}^2/\text{n}$ の蛍光であった。スマート外科用メスは、顕微鏡の強力な照明光のもとでも選択的に腫瘍を吸引した。スマート外科用メスは蛍光腫瘍を選択的に除去し、周囲の脳を保存した。高速制御システムは、安全かつ効率的な新生物切除手術に貢献する可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)
論文投稿中。

〔学会発表〕(計 4 件)

梶本宜永. 5-アミノレブリン酸を用いた脳腫瘍の光線力学診断. 第 36 回 日本レーザー医学会総会 2015 年 10 月 24 日 栃木県総合文化センター 栃木県宇都宮市

池田直廉、梶本宜永、野々口直助、川端信司、市川 晶、菅野哲生、黒岩敏彦. 5-アミノレブリン酸による蛍光ガイド下脳腫瘍摘出術における摘出率および安全性の更なる向上を目指して 光源からのアプローチ 日本脳神経光線力学学会 第 11 回日本脳神経光線力学学会 2015 年 7 月 10 日 京王プラザ

ホテル 東京都新宿区

木村誠吾、梶本宜永、藤城高広、大村直己、野々口直助、石川智久、小倉俊一郎、黒岩敏彦．5-ALA PDT による正常脳での脳血液関門の破綻と組織傷害．第4回ポルフィリン-ALA学会年会 2014年4月26日 ニチイ学館神戸ポートアイランドセンター 兵庫県神戸市

黒岩敏彦、梶本宜永．脳腫瘍に対する光線力学診断．(PDD)と光線力学治療(PDT)．第23回脳神経外科手術と機器学会(CNTT) 2014年4月18日 ヒルトン福岡シーホーク福岡県福岡市

〔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

梶本 宜永 (KAJIMOTO Yoshinaga)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：30224413

(2)研究分担者

黒岩 敏彦 (KUROIWA Toshihiko)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：30178115

(3)研究協力者

石川 智久 (ISHIKAWA Toshihisa)
研究者番号：60193281