

平成30年6月16日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15694

研究課題名(和文)膀胱上皮内癌に対する光力学的治療を目的とした複合型光ファイバーの開発

研究課題名(英文) The development of confocal laser endomicroscopy for treatment of bladder carcinoma in situ

研究代表者

大石 正勝(Oishi, Masakatsu)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・客員講師

研究者番号：90405316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：膀胱内のCISをより正確に同定できるようにするため、複合ファイバーに内包するレーザーの候補の1つである、probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE)の基礎研究、臨床研究を行い、通常白色光では識別できなかった膀胱CISも同定可能であることを示した。しかしながら、ダイオードレーザーの素材の探索が難航しており、pCLEを内包する方向で検討中であるが、既存のレーザーファイバーを内包することになると複合レーザーファイバーの大型化が避けられない状況であり、pCLEの小型化についても検討が必要であり今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：We did basic and clinical research about probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) with acrinol, and observed the nuclei of urothelial carcinoma cells in situ that were not visible with cystoscopy under white light using pCLE with acrinol. However, the detection of material for diode laser did not go smoothly. Therefore, we are going to use pCLE and need to downsize pCLE.

研究分野：膀胱癌

キーワード：膀胱上皮内癌 光力学的診断 複合型光ファイバー

1. 研究開始当初の背景

膀胱上皮内癌 (CIS) に対する BCG 膀胱内注入療法の奏効率は約 70-80%と高率であるが、萎縮膀胱や結核発症など重症合併症の危険性を伴い、無効例も存在する。CIS は正常に見える尿路上皮粘膜内に腫瘍細胞が広がっており、通常の白色光による観察では病変部位の同定が困難である。膀胱 CIS に対するより安全で確実な治療法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

膀胱鏡時に光学的診断 (PDD) を用いて同定した CIS 病変に複合型光ファイバーを用いて確実にレーザー光を照射し手術療法が困難である CIS の新しい治療法を開発すること

3. 研究の方法

軟性膀胱尿道ファイバーに対応可能な可塑性に優れた複合型レーザーファイバーの開発  
水中でのレーザー照射となる点が従来の肺癌などの治療と異なるため、ダイオードレーザーの出力、波長など、抗腫瘍効果が最大限になるに条件を検討する

4. 研究成果

膀胱内の CIS をより正確に同定できるようにするため、複合ファイバーに内包するレーザーの候補の 1 つである、probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) の基礎研究を行った。ex vivo で蛍光造影剤 0.01% エタクリジンを用いて膀胱癌、腎細胞がんの摘出組織にかけて、1 分後に生理食塩水で洗浄し、レーザー顕微内視鏡で組織を観察することで、従来のフルオロサイトでは観察できなかった腫瘍細胞の核を観察できることを確認した。特に膀胱尿路上皮がんでは悪性度の低い腫瘍では核内にとりこまれず、黒色の核が観察され、悪性度の高い腫瘍では取り込まれ白色に観察された。いずれの場合も核は明瞭に認識されたが、正常組織では核は観察できなかった。この研究につき学会発表を行うとともに、論文としても発表した。

次にこの pCLE の臨床応用として、倫理委員会で承認後、文書で同意を得られた 6 例の膀胱がん患者において、経尿道的膀胱腫瘍切除術の術中にアクリノールを用いた傾向造影剤 0.1% エタクリジン 50ml を患者の膀胱

内に注入し、5 分後に生理食塩水で膀胱洗浄後に、膀胱鏡下にマウナケア社製セルビジオ ウロフレックスを用いて膀胱内を観察、全例悪性度の高い腫瘍であったため、膀胱腫瘍細胞の核にエタクリジンは取り込まれ、核は白色に確認でき、癌の病変部位の同定が可能であった。また、通常の白色光で識別できなかった上皮内癌も同定可能であった。正常粘膜では血管構造が容易に観察されたが、核は染まらなかった。切除後の筋層組織では筋の繊維構造が容易に観察でき、残存細胞の有無の確認が可能であった。この研究について学会で発表し、上皮内癌の症例を論文として発表した。

しかしながら、ダイオードレーザーの素材の探索が難航しており、pCLE を内包する方向で検討中であるが、既存のレーザーファイバーを内包することになると複合レーザーファイバーの大型化が避けられない状況であり、pCLE の小型化についても検討が必要であり今後の課題である。

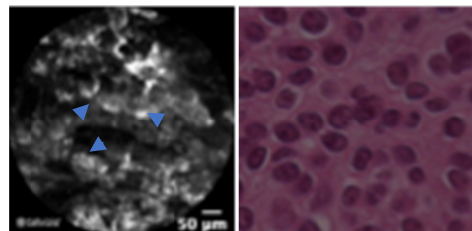


図1  
摘出標本でのエタクリジンを用いた pCLE。白色に染まる核と同部位の HE 染色

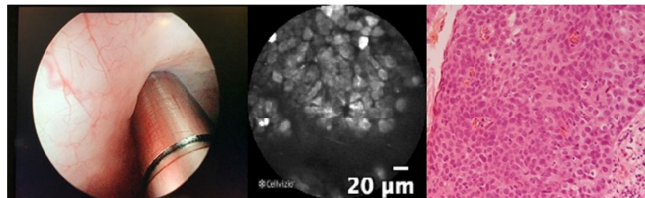


図2  
エタクリジンを用いた pCLE を併用した TURBt。白色光では病変ははっきりしないが pCLE で白色に染まる癌細胞を確認、組織診断で同部位から上皮内癌を検出した。

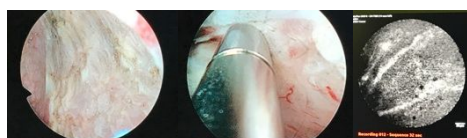


図3 TURBtで露出した膀胱筋層のpCLE所見。膀胱平滑筋の筋繊維が明瞭に描出されるが、癌細胞の残存は認めない。

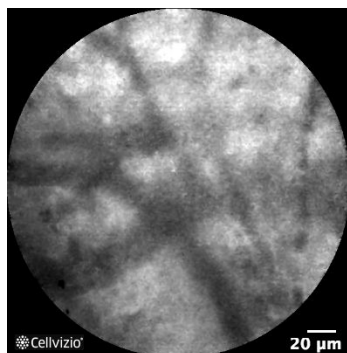


図4 膀胱正常粘膜の核は描出されず、血管構築および血管内の赤血球が確認できる



図5 マウナケア社製セルビジオ (pCLEの本体)

#### 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2件)

1) Naya Y, Takaha N, Okubo T, Shiota K, Hayashi I, Mori M, Date S, Miki T, Ukimura O J Endourol Case Rep. 2018; 25-27

Probe-based confocal laser

endomicroscopy using acrinol as a novel dye can be used to visualize cancer nuclei of bladder carcinoma in situ

2) Naya Y, Konishi E, Takaha N, Oishi M, Ueda T, Hongo F, Miki T, Ukimura O JSM Clin Oncol Res 2017; 1051-1053

Imaging of urological cancer morphology by using probe-based confocal laser endomicroscopy with new contrast agent-preliminary study for new TURBT technique.

(学会発表)(計4件)

1) 納谷佳男, 高羽夏樹ら 第106回日本泌尿器科学会総会 2018年 Initial experience of probe based confocal laser endomicroscopy using acrinol and urorescein during TURBT -visualising of cancer cell nuclei-

2) Yoshio Naya, Natsuki Takaha, et al. ASCO2018 Annual Meetings 2018年 The preliminary study for safety of acrinol, as a novel dye, which can be used to visualize cancer nuclei of bladder urothelial carcinoma, for probe-based confocal laser endomicroscopy.

3) 納谷佳男 第105回日本泌尿器科学会総会 2017年 尿路上皮癌診断に対する新しい蛍光造影剤を用いた共焦点レーザー顕微内視鏡の有用性についての検討-摘出組織での検討-

4) 納谷佳男, 高羽夏樹ら, 第31回日本泌尿器内視鏡学会総会 2017年 共焦点レーザー顕微内視鏡を併用したTURisBtの初期経験

(図書)(計0件)

(産業財産権)

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:

出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

大石 正勝(OISHI, Masakatsu)  
京都府立医科大学・医学研究科・客員  
講師  
研究者番号: 90405316

### (2)研究分担者

上田 崇(UEDA, Takashi)  
京都府立医科大学・医学研究科・客員  
講師  
研究者番号: 50601598

### 研究分担者

浮村 理(UKIMURA, Osamu)  
京都府立医科大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 70275220

### 研究分担者

岡 潔(OKA, Kiyoshi)  
国立研究開発法人量子科学技術研究  
開発機構・関西光科学研究所 量子  
生命科学研究部・上席研究員  
研究者番号: 80354661

### 研究分担者

納谷 佳男(NAYA, Yoshio)  
明治国際医療大学・医学教育研究セ  
ンター・客員教授  
研究者番号: 80639881

### 研究分担者

高羽 夏樹(TAKAHA, Natsuki)  
明治国際医療大学・医学教育研究セ  
ンター・准教授  
研究者番号: 80294081

### 研究分担者

本郷 文弥(HONGO, Fumiya)  
京都府立医科大学・医学研究科・准教  
授  
研究者番号: 80291798

### 研究分担者

牛嶋 壮(USHIJIMA, So)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 10398373

### 研究分担者

藤原 敦子(FUJIHARA, Atsuko)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 20457980