

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09071

研究課題名（和文）胆道悪性腫瘍に対するアミノレブリン酸の有用性実証のための探索的研究

研究課題名（英文）Exploratory study to demonstrate the usefulness of 5-aminolevulinic acid for biliary malignancy

研究代表者

田中 公貴（Tanaka, Kimitaka）

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：10758642

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：胆道癌および膵癌の7症例に対して5-アミノレブリン酸（5-ALA）を用いた光線力学的診断を実施した。主腫瘍に関する評価において、膵癌は5-ALAによる発光が認められ、肉眼では検出が困難な蛍光に対して機器のスペクトル波形解析が非常に有用であった。一方、胆道癌は胆汁中に分泌された5-ALAのため胆道粘膜面が全面的に発光したため、肉眼では癌の検出が困難であった。しかし、機器を用いて蛍光強度の違いを評価することで、一部の症例で癌と正常粘膜の鑑別が可能であった。機器を用いた術中検査では、腹膜播種転移、リンパ節転移、切除断端の癌遺残が今回の対象症例ではなく、蛍光による検出は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胆道癌や膵癌に対して、5-ALAを用いた腫瘍の存在診断することが可能であった。一方で、課題として、胆道癌の腫瘍進展範囲を診断するために、胆汁中に分泌される5-ALAに由来する自家蛍光をどのように除外するかが重要である。また、この事象から十二指腸より肛門側の消化管原発腫瘍に対する診断が困難であることが判明した。

5-ALAを用いた光線力学的診断においては、別用途の光線力学的診断に用いられるインドシアニングリーンと比較して発光強度が低いため、肉眼による腫瘍存在診断が困難な場合があった。そのため、機器を用いた定量的なスペクトル波形と発光強度の測定が、客観的な診断を行う上で重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Photodynamic diagnosis using 5-aminolevulinic acid (5-ALA) was performed in seven cases of biliary tract and pancreatic cancer. In the evaluation of the main tumor, luminescence due to 5-ALA was observed in pancreatic cancer and spectral waveform analysis of “device I” was very useful for fluorescence, which was difficult to detect visually. On the other hand, in biliary tract cancer, it was difficult to visually detect the cancer, because the entire surface of the biliary mucosa emitted light due to 5-ALA secreted into the bile juice. However, by assessing differences in fluorescence intensity using “device I”, it was possible to differentiate between cancer and normal mucosa in some cases.

Intraoperative examination using “device II” showed that there were no peritoneal dissemination metastases, lymph node metastases, or remnants of cancer at the resection margins in the cases under study and no detection by photodynamic diagnosis was observed.

研究分野：消化器外科学関連

キーワード：胆道悪性腫瘍 腫瘍存在診断 5-アミノレブリン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胆道癌や膵癌の予後不良因子としてリンパ節転移、腹膜播種や肝転移といった遠隔転移がある。また、腫瘍の進展範囲により術式が大きく変わることが胆道癌・膵癌に対する治療の特徴であるが、様々な術前画像検査を組み合わせても、1cm以下の病変の検出は感度が低い。術前画像検査や術中視触診だけによる診断には限界があり、診断精度のさらなる向上のために新たな診断方法の確立が求められる。

小さな転移や正確な腫瘍進展範囲を診断するために、悪性腫瘍組織に対して特異的吸収物質を使用した術中光線力学的診断が期待されている。蛍光作用を有する癌特異的吸収物質である5-アミノレブリン酸塩(5-ALA)を用いた光線力学診断が、脳神経外科領域のグリオーマや泌尿器科領域の膀胱癌で臨床応用されている。5-ALAは、正常細胞では蛍光を認めないへむに速やかに代謝されるが、癌細胞ではporphobilinogendeaminaseの活性が高く、ferrochelataseの活性が低いので、プロトポルフィリンIX(PpIX)が選択的に蓄積される。PpIXは青色光(400nm)によって励起され、660nm(赤色光)を発する蛍光物質であり、これを検出することで癌の存在診断が可能となる。

一般に光線力学的診断の陽陰性の判断は術者の目によって判断されており、腫瘍部位が微細な場合に蛍光量が少なく肉眼で認識困難となる問題がある。Nakaiらは、波長を利用することで、肉眼で確認が難しい細胞レベルでの光線力学的診断を報告している(Nakai et al. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2015;12(2):282-8.)。そこで、共同研究者である李らは、蛍光スペクトルを検出する診断用近赤外線蛍光画像システム(以下蛍光スペクトログラフィと略する)を開発した。

今回、癌特異的吸収物質を使用して、蛍光スペクトログラフィを併用することで胆道癌や膵癌患者の診断の向上を目指す。

2. 研究の目的

蛍光作用を有する癌特異的吸収物質である5-アミノレブリン酸(5-aminolevulinic acid(以下、5-ALA))を用いた光線力学診断により胆道癌・膵癌症例において、主腫瘍の存在診断ならびにリンパ節転移を含めた転移診断の可能性を探索する。

- (1) 胆道および膵悪性腫瘍に対する主腫瘍の存在診断の有用性を探索する。
- (2) 胆道および膵悪性腫瘍の術中肝転移・腹膜播種転移・リンパ節転移検索において5-ALAの有用性を探索する。
- (3) 胆道悪性腫瘍における主病巣の表層拡大進展の範囲診断の有用性を探索する。
- (4) 膵悪性腫瘍における切離断端(膵断端・神経叢断端)の腫瘍存在診断の有用性を探索する。

3. 研究の方法

アミノレブリン酸は胆道癌患者においては、適応外使用であるため特定臨床研究にて実施。「胆膵悪性腫瘍の腫瘍存在診断におけるアミノレブリン酸の有用性実証のための探索的臨床試験」(認定番号:認020-006)

対象:胆道癌ならびに膵癌の手術をうける患者

方法:5-ALA(20mg/kg)を、手術日の麻酔導入前に経口投与。手術中と術後標本に対して光線力学的観察を行う。

試験機器名:蛍光検出器【機器】2色LED光源 Aladuck LS-DLED【機器】

なお、機器は株式会社アドバンテストと共同開発により、5-ALAの赤色蛍光(600nm付近)に対する検出に特化した蛍光スペクトログラフィ計測装置であり、5-ALAを蛍光波長ならびに蛍光強度を測定する事ができる。

手術中の観察事項:機器を使用して測定。術野内で肝転移・腹膜播種転移・リンパ節転移の有無を評価。術中迅速病理診断を提出する際も評価。

摘出標本の観察事項:機器とを使用して測定。摘出標本の腫瘍部・正常組織部、摘出リンパ節の光線力学的評価を行う。

観察項目

- 画像検査結果(腫瘍の進展範囲、リンパ節転移、遠隔転移)
- 術後病理検査結果(腫瘍進展範囲、リンパ節転移、遠隔転移)
- 有害事象(5-ALAに関連すると考えた有害事象)

4. 研究成果

胆道癌・膵癌の7症例に対して実施(遠位胆管癌2例、Vater乳頭部癌2例、膵癌3例)。

目的(1)主腫瘍の光線力学的評価は、膵腫瘍に関しては、5-ALAによる発光を認め、肉眼では見分けが困難な蛍光の検出に機器のスペクトル波形が非常に有用な結果を認めた(図1)。蛍光スペクトログラフィで、636nmの波長にピークを持つ蛍光を検出することが可能であった。正常組織は660nm付近の蛍光を認めることはなかった。

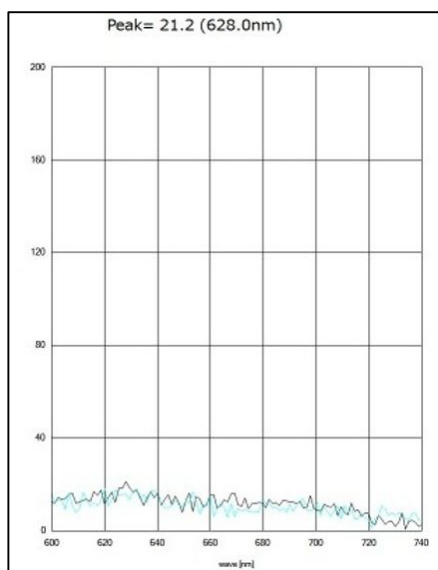


図 1：機器 による正常組織の蛍光波長

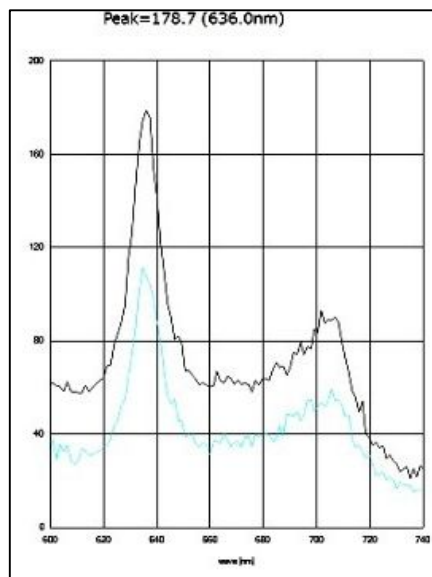


図 1：機器 による腫瘍の蛍光波長

また、胆道腫瘍では、胆汁中に 5-ALA が分泌されることで胆道粘膜面の評価は、すべからく発光するため肉眼的評価では癌の検出が困難であった(図 2)。機器 を用いることで蛍光強度の違いにより、癌と正常粘膜を診断できる症例を認めた。



図 2： Vater 乳頭部癌の症例に対する胆管切開した標本写真；通常光による主腫瘍の観察（左図）、青色光(400nm)下による主腫瘍の観察、赤色光で発光している部位が主腫瘍（右図）、赤線に囲んだ部分が主腫瘍の位置。

- ・ 目的(2)機器 を使用した術中検査において、腹膜播種転移、リンパ節転移、切除断端の癌遺残に関して、蛍光による検出は今回の実施した症例の中には認めなかった。そのため、感度・特異度の検出は困難であった。
- ・ 目的(3)摘出した標本を用いて胆道粘膜面の観察により、主病巣の表層拡大進展の範囲診断を試みたが、5-ALA が胆汁中に高濃度に排泄されるため、肉眼的蛍光観察による腫瘍の進展範囲診断は困難であった。機器 による蛍光強度の違いによる診断は、症例毎に主腫瘍の蛍光強度が大きく違うこと、また正常粘膜面も付着胆汁による蛍光を認めることから肉眼所見を超える光線力学的評価は困難と考える。
- ・ 目的(4)今回の膵癌 3 症例では、切除断端陽性患者を認めなかったため、感度・特異度の検出は困難であった。

対象とした 7 症例において、5-ALA に関連する合併症は認めなかった。

今回の検討で、胆道癌と膵癌は 5-ALA を用いて腫瘍の存在診断をすることが可能であった。

5-ALA を用いた光線力学的診断の問題点として、他の光線力学的診断として用いられる薬剤と比較しても発光強度が低いため、肉眼による陽性・陰性の診断が困難な場面があった。そのため、機器 を用いた定量的なスペクトル波形と発光強度の測定が、客観的な診断を行う上で重要であると考えられる。

また、腫瘍の外側に数 mm の正常組織が覆われている状況でも、漿膜面から光線力学的診断により腫瘍を検出することはできなかった。このことから、腹腔内に直接腫瘍が露出をしていない症例では、術中腹腔内からの観察によって腫瘍の位置を検出することは、現状の機器では困難であった。診断深度がより高い機器を開発することが、5-ALA を用いた術中診断の実用化に向けて必要な要素であることが分かった。

現状において有用な 5-ALA を用いた光線力学的診断は、微少な腹膜播種転移の検出、切除の剥離面の癌遺残の検出が考えられる。または、胆管癌の術前進展範囲を内視鏡下に評価するなどが想定される。しかし、胆道癌の腫瘍進展範囲を診断するために、胆汁中に分泌される 5-ALA に由来する自家蛍光をどのように除外するかが重要である。この事象から十二指腸より肛門側の消化管原発腫瘍に対する診断も 5-ALA では困難であることが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中公貴、海老原裕磨、松井あや、中西喜嗣、浅野賢道、野路武寛、倉島庸、村上壮一、中村透、土川貴裕、七戸俊明、平野聡
2. 発表標題 胆道癌・膵癌に対するアミノレブリン酸を用いた光線学的腫瘍存在診断の探索的研究
3. 学会等名 第41回日本レーザー医学会北海道地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中公貴、海老原裕磨、武内慎太郎、和田雅孝、松井あや、中西喜嗣、浅野賢道、野路武寛、中村透、平野聡
2. 発表標題 胆膵癌に対する5-アミノレブリン酸を用いた光線学的腫瘍存在診断の探索的研究.
3. 学会等名 第42回日本レーザー医学会北海道地方会
4. 発表年 2023年

〔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	野路 武寛 (Noji Takehiro) (10739296)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	
研究分担者	平野 聡 (Hirano Satoshi) (50322813)	北海道大学・医学研究院・教授 (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	海老原 裕磨 (Ebihara Yuma) (50632981)	北海道大学・大学病院・特任教授 (10101)	
研究分担者	岡村 圭祐 (Okamura Keisuke) (90724401)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	

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