

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791271

研究課題名（和文）

近赤外光トポグラフィによる肝鬱血域または肝腫瘍の同定

研究課題名（英文）

Near-infrared topography to detect liver congestion area and tumor location

研究代表者

金子 順一（KANEKO JUNICHI）

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：50328118

研究成果の概要（和文）：

蛍光薬剤（ICG;インドシアニングリーン）を投与すると、近赤外光を照射することによって肝腫瘍が自己蛍光を発することを確認した。蛍光薬剤の投与は、蛍光薬剤をターゲットとした近赤外光トポグラフィによる検出が高感度に可能であることを見出した。一方、マウスにジエチルニトロソアミンを投与した肝腫瘍ICG蛍光実験モデルを構築し肝腫瘍におけるICGと近赤外光の関係を確認した。

研究成果の概要（英文）：

We confirmed an indocyanine green fluorescent of liver tumor after an indocyanine green injection. The fluorescent medical agent facilitated a performance of near-infrared topography to detect liver congestion area and tumor location. Furthermore, we made a fluorescent mouse model using diethylnitrosamine-induced liver tumor. We found correlation between near-infrared light and a fluorescent liver tumor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,700,000 円	810,000 円	3,510,000 円
2010 年度	700,000 円	210,000 円	910,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000 円	1,020,000 円	4,420,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：肝臓外科学、蛍光薬剤、近赤外光、トポグラフィ

1. 研究開始当初の背景

本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、

波長 700 から 900nm 程度の近赤外分光法はエネルギーが低く、生体に対し高い透過性を持つため、侵襲を与えることなく組織の酸素

飽和度を測定するのに臨床や実験で応用される。これは 1977 年に最初に報告された (Jobsis)。肝に対する報告は、近赤外分光法によるラット肝移植後の急性拒絶の診断を試みた報告 (Ohdan, 1994)、近赤外分光法によりブタ肝動脈ないし門脈の遮断したとき

の肝組織の微小循環の変化を測定したとする報告や(El-Desoky, 1999)、ラット脂肪肝における虚血再灌流障害に対する前処置効果を近赤外分光法で観察した報告がなされている(Koti, 2005)。

当科では、2000年より近赤外光を肝臓手術に応用する研究をしている。たとえば、肝静脈閉塞によるうっ血域肝の酸素飽和度低下を、術中近赤外光による測定により証明し肝静脈再建の重要性を示し2002年にAnnals of surgeryに報告した。[Sano K et al. Evaluation of hepatic venous congestion: proposed indication criteria for hepatic vein reconstruction. Ann Surg. 2002 Aug;236(2):241-7.]

私は、研究課題名「移植肝における血流および組織酸素飽和度長期連続モニタリング法の確立」(科学研究費補助金、課題番号17790908、H17-18)による研究で、ブタ肝における流入血の変化を観察するのにあたり、レーザードプラー法または近赤外分光法のどちらが、優れているかを比較検討し、近赤外分光法が肝流入血の変化に感度が高いことを見出した[Kaneko J et al. Comparison of near-infrared spectroscopy and laser Doppler flowmetry for detecting decreased hepatic inflow in the porcine liver The Journal of Investigative Surgery J Invest Surg. 2009 Jul-Aug;22(4):268-74]。この研究結果をもとに、人用体内埋め込み型近赤外光プローブを開発し、東京大学倫理委員会で承認された。現在、肝移植後の血栓症の早期発見のために臨床応用している。開発した体

内埋め込み型近赤外光プローブは特許出願中である(発明の名称 生体内器官または組織表面に留置可能な近赤外光プローブホルダ 2008-136152号 H20.5.26出願)。一方、この従来の方法は、肝組織のある一点で酸素飽和度を測定するため、常に肝の一部分しか評価できない。これには、測定誤差が大きくなることや肝全体の酸素飽和度が結果に反映されない問題を抱えていた。

2. 研究の目的

近年、ピコ秒単位のパルス光源から発光される連続近赤外光を光源とし、多数の送受光ファイバを通して生体表面において多点照射(24カ所から52カ所で測定)において高速に検出する光トポグラフィ法が考案された(Maki 1997)。これは、数ミリ秒の時間分解能で測定した範囲が2次元画像化(マッピング)できるようになり、脳科学領域において応用され発展した。具体的には、脳表面に沿って酸素化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンを検出しマッピングすることで大脳皮質機能を神経活動部位の酸素代謝や血行動態のダイナミックな変化から詳細に検討することが可能になった(株式会社日立メディコ 住所 東京都千代田区外神田四丁目14番1号)。その後、光トポグラフィ法による脳機能イメージングとして、大脳皮質機能を測定する報告がされている。

しかし、肝に応用した報告はない。今回われわれは、この光トポグラフィ法を肝臓に応用することを目的とする。例として、従来的一点における測定の問題点を克服し、肝表面全体の酸素化ヘモグロビンと、還元ヘモグロビ

ンマップを2次元的にリアルタイムに表示し臨床に応用することが可能か探ることを、課題名「近赤外光トポグラフィによる肝鬱血域または肝腫瘍の同定」として着想するに至った。

3. 研究の方法

平成 21 年度

最初にパイロット研究として、約 3 匹のブタにおいて実験を行う。開腹後に肝片葉遮断を行い、解剖学的な肝虚血の境界が光トポグラフィ法により描出できるかどうかを明らかにする (いわゆる demarcation line)。次に、ブタで部分肝移植を約 2 例に行ない、ブタは門脈、下大静脈遮断により血行動態が変化しやすいため、既存のバイオポンプを用いる。ブタドナー肝切除は *ex situ* で行ない、中葉切除により移植肝グラフトとしてレシピエント肝容量おおよそ 50%を確保する。ブタ胆管吻合は胆嚢空腸吻合を行なった。グラフト肝は UW 液で還流し、冷阻血時間をそれぞれ 8、24 時間に設定した後に移植を行い、血流再開直後に、肝表面の変化を光トポグラフィ法により酸素化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンをマッピングし 2 次元画像化し、定量化する。これらにより設定した冷阻血時間による虚血再還流障害による微小循環障害を、従来の一点ではなく肝全体の評価として、捉えられるかを試みる。

平成 22 年度

平成 21 年 11 月、実験過程において、蛍光薬剤 (ICG; インドシアニンググリーン) によって、肝腫瘍が描出されることが発見されたため (Ishizawa T Arch Surg. 2009)、蛍光薬剤

の効果の再評価を優先的に行う必要が生じた。蛍光薬剤と近赤外光トポグラフィの組み合わせについて解明することによって、本研究の成果で診断能が飛躍的に高まると期待された。よって、最初にパイロット研究として、マウスにおいて実験を行った。マウスにジエチルニトロソアミンを、原発性肝癌肺転移マウスモデルを作製する。同マウスに ICG を投与したのち開腹し、肝腫瘍と転移巣が近赤外光により蛍光を発光することを確認する (肝腫瘍細胞の分化度によって発光が弱いことも確認する)。発光を確認後、同マウスの体外から近赤外光トポグラフィ (費用を抑えるため昨年引き続きレンタルする。) によって、検出可能かを試みる。また、同マウスにおいて、近赤外光と肝腫瘍の関係を実験により明らかにすることを考える。

4. 研究成果

平成 21 年 11 月までに、実験過程において、蛍光薬剤 (ICG; インドシアニンググリーン) によって、肝腫瘍が描出されることが発見された。これは ICG によって腫瘍が自己発光するもので、よって蛍光薬剤の効果 (感度と特異度) を再評価する必要が生じた。この、蛍光薬剤と近赤外光トポグラフィの組み合わせは本研究を飛躍的に高めると期待される。それは、蛍光薬剤が発するのは近赤外光のためである。よって、予定していた実験の一部を変更し、蛍光薬剤をターゲットとした近赤外光トポグラフィによる検出を試み、可能であることを見出した。また、実験を一步進め、平成 23 年 2 月までに ICG 投与マウスによる肝腫瘍蛍光発光モデルを構築し完成させた。肝

腫瘍におけるICGと近赤外光の関係を確認した。

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 8 件)

1. Kawaguchi Y, Ishizawa T, Masuda K, Sato S, Kaneko J, Aoki T, Beck Y, Sugawara Y, Hasegawa K, Kokudo N. Hepatobiliary Surgery Guided by a Novel Fluorescent Imaging Technique for Visualizing Hepatic Arteries, Bile Ducts, and Liver Cancers on Color Images. J Am Coll Surg. 査読有, Jun;212(6):e33-9.
2. Ishizawa T, Kaneko J, Inoue Y, Takemura N, Seyama Y, Aoki T, Beck Y, Sugawara Y, Hasegawa K, Harada N, Ijichi M, Kusaka K, Shibasaki M, Bandai Y, Kokudo N. Application of fluorescent cholangiography to single-incision laparoscopic cholecystectomy. Surg Endosc. 査読有, 2011 Mar 18. [Epub ahead of print]
3. Satou S, Sugawara Y, Tamura S, Yamashiki N, Kaneko J, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Makuuchi M, Kokudo N. Discrepancy between estimated and actual weight of partial liver graft from living donors. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 査読有, 2011 Mar 2. [Epub ahead of print]
4. Kaneko J, Sugawara Y, Togashi J, Tamura S, Motoi R, Fukayama M, Kokudo N. Sarcomatous change of hepatocellular

carcinoma in a patient undergoing living donor liver transplantation. Biosci Trends. 査読有, 2010 Oct;4(5):279-82.

5. Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Iida T, Mihara M, Makuuchi M, Koshima I, Kokudo N. Single artery reconstruction in left liver transplantation. Surgery. 査読有, 2011 Jun;149(6):841-5.

6. Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y, Oka S, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, Koike K. Living Donor Liver Transplantations in HIV- and Hepatitis C Virus-Coinfected Hemophiliacs: Experience in a Single Center. Transplantation. 査読有, 2011 Jun 15;91(11):1261-1264.

7. Ishizawa T, Bandai Y, Ijichi M, Kaneko J, Hasegawa K, Kokudo N. Fluorescent cholangiography illuminating the biliary tree during laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg. 査読有, 2010 Sep;97(9):1369-77.

8. 金子順一、石沢武彰、國土典宏 Indocyanine green (ICG) 蛍光観察による肝切除 臨床外科. 査読無, 65, 2010, 642-649

[学会発表] (計 2 件)

1. 金子順一、石沢武彰、清水篤志、脊山泰治、長谷川潔、別宮好文、新田浩幸、若林剛、國土典宏 腹腔鏡下肝切除におけるインドシアニングリーン蛍光硬性鏡の有用性第3回肝臓内視鏡外科研究会 2009年12月3日新宿
2. 金子順一、石沢武彰、増田晃一、宮田陽

一、河口義邦、山下俊、佐藤彰一、有田淳一、
青木琢、別宮好文、菅原寧彦、長谷川潔、國
土典宏 第111回日本外科学会定期学術集会
2011年5月26日日本外科学会雑誌への抄録
掲載(震災のため紙上開催)

〔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

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/transplant/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 順一 (KANEKO JUNICHI)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：50328118

(2) 研究分担者

無し ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

無し ()

研究者番号：