

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791562

研究課題名（和文）

光線力学診断を利用した新しい肺区域同定法の開発

研究課題名（英文）

A novel technique for identification of the pulmonary segment using photodynamic diagnosis

研究代表者

早稲田 龍一 (WASEDA RYUICHI)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・助教

研究者番号：20579651

研究成果の概要（和文）：

光線力学診断(Photodynamic diagnosis)用内視鏡システムおよびビタミンB2水溶液による蛍光法を利用した新しい肺区域同定法の確立を目指し、まず、ブタ心肺摘出ブロックを使用した肺区域切除モデルにおいて本手技の確立および有用性を評価し、有用性を証明した。ついでブタ生体における動物実験にて本法の有用性・安全性を評価し、十分な有用性・安全性を証明した。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this experimental study is to establish a novel technique for identification of the pulmonary segments by using the photodynamic diagnosis endoscope system and vitamin B2. At first, we established this method and proved its feasibility in ex vivo porcine lung. Secondly, we proved the excellent usefulness and safety of this technique in in vivo porcine lung.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：呼吸器外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺癌、外科、内視鏡手術、光線力学診断

1. 研究開始当初の背景

近年、小型肺癌の増加とともに肺区域切除の必要性が高まることが予想される。葉間が原則胸膜によって分かれている肺葉切除と異なり、肺区域切除は区域を同定し切除する必要がある。解剖学的には区域間結合織なるものが存在し、肺区域を分けているが肺表面より区域間結合織を認識することは不可能である。古典的には肺静脈がこの結合織の層に存在するため、区域を同定する目安とされてきたが、variationが多く、また肺区域は立体的構造であるため肺静脈のみを目安とするのでは不十分な場合が多い。そこで、肺

区域の構成要素として、肺動脈および気管支が同様の走行をしており、これらの支配領域を同定することで肺区域同定が可能となる。現在最も一般的な方法は、切除区域の気管支より切除区域を選択的に含気もしくは虚脱させることで含気虚脱ラインを作成し、区域同定を行う方法である。この方法は、空気を区域の識別に用いるため簡便であるが、作成された含気虚脱ラインは肺表面からの同定は良好であるが、区域切除時、肺実質内に切り込んでいく際にはラインの見極めは困難となる。また近年主流となりつつある胸腔鏡下や小切開での手術においては肺を含気さ

せることで術野が失われ、操作性も低下する点も改善が望まれる点である。

理想的な区域同定法は、①肺表面だけでなく肺実質内での正確な見極めが可能、②簡便・安全、③背景肺の影響を受けにくい、これらがバランスよく達成されていることが必要である。

2. 研究の目的

本研究で注目したのは光線力学診断 (Photodynamic diagnosis、以下 PDD) 用内視鏡システムである。本システムは、フィルター交換により通常光、自家蛍光、外因性蛍光をとらえることが可能であり、外因性蛍光として 375~445nm の励起光で 480~800nm の波長を観察可能である。これまで、当教室では本システムを利用した肺のセンチネルリンパ節同定に関する基礎的研究を行ってきた (Vitamin B2 as a Tracer for Intraoperative Pulmonary Sentinel Node Navigation Surgery, Anticancer Research, 2010)。その中で有用な蛍光物質としてビタミン B2 (Flavin Adenine Dinucleotide Sodium) 水溶液を発見した。ビタミン B2 水溶液は、本システム下で他の蛍光物質と比較し、極めて強い蛍光をしめし、加えてアレルギー・中毒が原則存在しない安全性を有し、さらに廉価 (5mg 注射薬 薬価 60 円) であり優れた蛍光物質である。ビタミン B2 を経気道的に注入し、肺区域内に充填し、PDD 用内視鏡の外因性蛍光モードを使用し、肺区域間を認識することが可能となる。本法は、①肺表面だけでなく肺実質内でも強い蛍光により区域間の同定が可能である点、②副作用の可能性が極めて低く、廉価で取り扱いも容易な点、③強い蛍光を有するため炎症による胸膜肥厚や炭粉沈着があっても認識が可能な点を持ち、先述の理想的な区域同定法の要点を満たしている。

本研究では動物実験にて本法による肺区域同定法の有用性・安全性を証明し、臨床導入につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

①ブタ心肺摘出ブロックを使用した PDD 用内視鏡システムおよびビタミン B2 水溶液による蛍光法を利用した新しい肺区域同定法の確立：

本手技の理想的な設定 (水溶液濃度・注入量) や蛍光での区域同定の精度・時間を評価すべく、換気・血流のないブタ心肺摘出ブロックを使用、さらに肺区域切除部位として肺区域同定が容易 (区域同定面が 1 面) な右前葉 cranial segment における区域切除と難易度の高い (区域同定面が 2 面以上) 右後葉 L2 segment における区域切除を設定した。手技は切除予定区域における当該区域気管支を

同定した後、切離、プラスチックカニューラを切除区域側に挿入後、シリンジによる手動的なビタミン B2 水溶液の注入を施行。切除予定区域末梢まで十分に水溶液を注入しつつ、PDD 用内視鏡システムの蛍光観察 (ALA モード) を施行し、対象区域を同定。同定後、区域同定線に沿って区域切除を施行した。手技内容の評価として、水溶液の濃度・各区域切除 (cranial segment および L2 segment) での注入時間・注入量を測定、手技の有用性として蛍光認識の可否、蛍光の強度 (撮影画像の輝度測定ソフトを使用)・持続時間を測定した。さらに、区域同定線の正確性の評価として、切除予定区域以外の気管支・血管の損傷数、区域同定線を含む標本における病理学的所見によって行った。各区域 10 体ずつの評価を行った。

②ブタ生体での本手技の有用性・安全性の評価：

研究①で本手技の確立および有用性が証明されたため (後記、研究成果①に記載)、肺の換気・血流がある状態での有用性評価、また、区域同定線の精度についても切離時出血や切離後の空気漏れで評価可能となる。切除対象区域は右前葉の cranial segment とし、より臨床に近づけるべく、右開胸後に分離肺換気とし手技を施行。また、ビタミン B2 水溶液注入は気管支鏡による注入を選択した。評価は研究①と同様、注入時間・注入量を測定、手技の有用性として蛍光認識の可否、蛍光の強度・持続時間を測定した。区域同定線の正確性の評価として、切除予定区域以外の気管支・血管の損傷数、区域間切離時の出血量、切離後の空気漏れによる評価で行った。本評価を計 6 体のブタ生体で評価した。

さらにビタミン B2 水溶液の経気道投与による安全性の評価として予定注入量以上の注入 (100ml) を行った後、2 週間の経過観察後に開胸、注入部位の肉眼所見・病理学的所見を評価した。本安全性評価は 3 体のブタ生体で行った。

4. 研究成果

①全切除区域 (cranial segment および L2 segment、各区域 10 例ずつ) で本手技による蛍光描出は良好で、隣接区域の血管や気管支損傷のない正確な区域切除が施行可能であった。注入水溶液の濃度は 50 倍希釈液を使用し、その他、手技に伴う各データは表 1 に示した。

また、非蛍光区域と比較し、有意な蛍光強度が 1 時間以上にわたり得られており、区域切除を完遂するに当たり十分な蛍光強度・持続時間と考えられた (図 1)。

さらに、描出区域内外の病理学的所見にて境界に明瞭な区域間結合織をみとめ、区域同定の正確性が示唆された (図 2)。

	Cranial segmentectomy	L2 segmentectomy
Procedures	10	10
Quantity of liquid (ml)	47.3 ± 4.6	77.9 ± 10.3
Identification rate (%)	100	100
Vessel injury	0	0
Bronchial injury	0	0

表 1

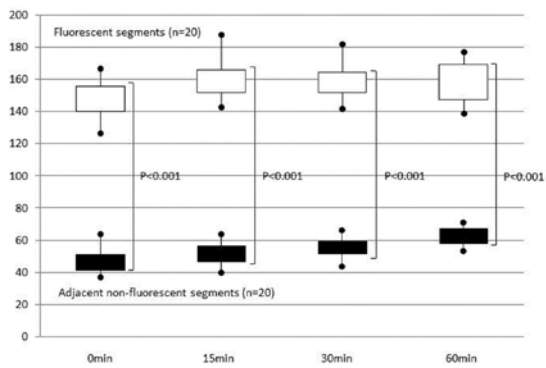


図 1

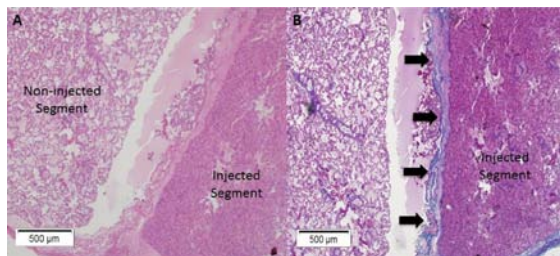


図 2

以上、確立された本手技および有用性についての成果を第 20 回欧州胸部外科学会、第 112 回日本外科学会定期学術集会、第 35 回日本呼吸器内視鏡学会定期学術集会にて発表し、反響を得られた。また、本成果を海外論文 J Thorac Cardiovasc Surg に投稿し、採択された。

②ブタ生体においても本手技による区域間同定および区域切除は全例同定可能で問題なく区域切除施行可能であった。より臨床導入を想定した気管支鏡での水溶液の注入も問題なかった。手技に伴う各データは表 2 に示した。

また、ブタ生体においても得られる蛍光は、摘出肺での結果と同様、十分な蛍光強度・持続時間が得られていた (図 3)。

さらに、生体であるため区域間同定・切離の正確性の指標として出血量および切離後の空気漏れによる評価も追加したが、区域間切離時の予期せぬ合併症や隣接区域の血管・気管支損傷も認めなかった。出血量や空気漏れ

もごく軽度であり、十分に正確な区域間同定であることが示唆された。切離時の各データについては表 3 に示す。

Cranial segmentectomy(n=6)	
Quantity of liquid (mL)	57.2 ± 9.5
Infusion time(s)	313 ± 40.9
Identification rate(%)	100
Complication	0

表 2

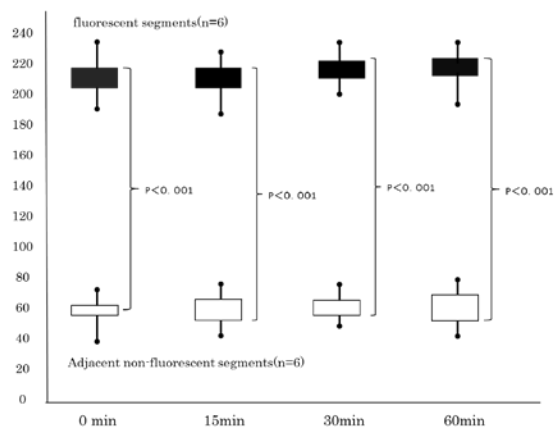


図 3

Cranial Segmentectomy(n=6)	
Time (min)	13.2 ± 1.6
Bleeding (g)	4 ± 1.1
Vessel injury	0
Broncheal injury	0
Airleak	grade0: 5, grade1: 1
Mortality	0

表 3

さらに、ビタミン B2 水溶液経気道投与の安全性評価 (n=3) でも、投与後 2 週間の経過観察で異常所見は認めず、注入部位 (肺) の肉眼所見・病理学的所見いずれにも異常は認めなかった。

以上より生体における本手技の有用性および安全性についての成果を、本年 6 月の第 21 回欧州内視鏡外科学会で発表予定であり、また、現在、論文を作成、海外雑誌に投稿を予定している。

さらに、本研究の成果をもって、本来の目的であるヒト臨床への本手技の導入を進めている。

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1件)

- ① Ryuichi Waseda, Makoto Oda, Isao Matsumoto, Masaya Takizawa, Mitsutaka Suzuki, Masahiro Ohsima and Go Watanabe, J Thorac Cardiovasc Surg, A novel fluorescence technique for identification of the pulmonary segments by using the photodynamic diagnosis endoscope system: An experimental study in ex vivo porcine lung, 査読あり, 2012 in press

[学会発表] (計4件)

- ① Ryuichi Waseda, Makoto Oda, Isao Matsumoto, Masaya Takizawa, Mitsutaka Suzuki, Masahiro Ohsima, Go Watanabe, A NOVEL TECHNIQUE FOR IDENTIFICATION OF THE PULMONARY SEGMENT USING PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS; AN EXPERIMENTAL STUDY
第20回欧州胸部外科学会, 2012. 6. 10-13, MESSE ESSEN (Germany)
- ② Ryuichi Waseda, Makoto Oda, Masahiro Ohsima, Isao Matsumoto, Takahiro Furusawa, Nobuhiro Tanaka, Go Watanabe
A NOVEL FLUOLESCENCE TECHNIQUE FOR IDENTIFICATION OF THE PULMONARY SEGMENTS BY USING THE PHOTODYNAMIC DIAGNOSIS ENDOSCOPE SYSTEM
第21回欧州内視鏡外科学会,
2013. 6. 19-22, Hofburg Imperial Palace (Vienna)
- ③ 早稲田龍一, 小田 誠, 松本 勲, 滝沢昌也, 田中伸佳, 渡邊 剛
光線力学診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) を利用した新しい肺区域同定法
第112回 日本外科学会定期学術集会
2012. 4. 14, 幕張メッセ (千葉)
- ④ 早稲田龍一, 小田 誠, 松本 勲, 滝沢昌也, 鈴木光隆, 上田秀保, 渡邊 剛
光線力学診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) 用内視鏡システムによる新しい肺区域同定法
第35回日本呼吸器内視鏡学会定期学術集会
2012. 5. 30, 京王プラザホテル (東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早稲田 龍一 (WASEDA RYUICHI)
金沢大学・医薬保健学総合研究科・助教
研究者番号: 20579651

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし