

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 和田 秀之

学位論文題名

消化器外科領域における近赤外線蛍光イメージングの応用
(Studies on Novel Application of Near-Infrared Fluorescence Imaging in
Gastrointestinal Surgery)

【背景と目的】CTやMRIを始めとした画像診断機器の進歩により、外科手術領域における術前・術後診断の精度は飛躍的に向上したが、その一方で術中に使用可能なモダリティは限られており、診断や術式決定において外科医の主観的な判断が未だに重要な位置を占める。近赤外線(NIR)蛍光イメージングは放射線を用いず比較的安かつ術中容易に使用することが可能であり、術中診断における有用なモダリティの一つとして注目されている。しかしながら、現在臨床において使用可能な蛍光物質はインドシアニンググリーン(ICG)とメチレンブルー(MB)の2つのみであり、その応用範囲は限られていた。私はその点に着目し、以前より組織・臓器に特異的な新たな蛍光物質の開発に取り組んできた。本研究の目的は、実験1の肝センチネルリンパ節(SLN)と領域リンパ節(RLN)のイメージングおよび実験2の膵特異的イメージングの2つの実験を通し、消化器外科領域におけるNIR蛍光イメージングの新たな可能性を示すことである。

【対象と方法】実験1において、計25頭のメスのヨークシャーブタを用いて実験を行った。NIR蛍光SLNトレーサーとしてMB、ICGに加え、新規蛍光物質であるESNF14、ZW800-3Cを用いて肝被膜下への局所注射によりSLNマッピングを施行し、各蛍光物質における結果を比較した。次いで、ZW800-3Cの経静脈的投与により肝RLNのイメージングを行った。最終的にSLNトレーサーとして最も優れた結果を示したESNF14にZW800-3Cの経静脈投与を併用し、SLNとRLNの同時性デュアルチャンネルイメージングを行った。実験2において、42匹のCD-1マウス、6匹のSprague-Dawleyラット、12頭のメスのヨークシャーブタを用いて実験を行った。MBに加え、新規蛍光物質であるT700-H、T700-Fの静脈投与によりマウス、ラット、ブタにおいて膵イメージングを行い、各蛍光物質における結果を比較した。ラットにおいてはイメージング後に膵組織を採取し、組織学的にも検討を行った。最終的に、膵特異的蛍光物質として最も優れていたT700-Fと、血管、腎臓、リンパ節、副腎といった膵周囲臓器それぞれに特異的な蛍光物質であるZW800-1、ZW800-3C、ESNF31を併用し、膵と周囲臓器の同時性デュアルチャンネルイメージングを行った。

【結果】実験1において、MBを除く全ての蛍光物質によってSLNマッピングを行うことが可能であったが、ICGはシグナルがSLNに集積後すぐに近傍のリンパ節に移動、集積し、ZW800-3CはSLNにおけるシグナルが低値であった。ESNF14は投与後迅速なSLNへの高いシグナル集積と30分以上の停滞を示し、最も優れたSLNトレーサーであることが証明された。また、経静脈的投与されたZW800-3Cは肝RLNを明瞭に描出し、8時間にわたり高シグナルとシグナル-バックグラウンド比(SBR)を示した。次に、ESNF14の肝被膜下局所注射とZW800-3Cの経静脈的同時投与により、700nm、800nmの二つのNIRチャンネルを用いて同時性

に肝 SLN, RLN を明瞭に描出することが可能であった。実験 2 において、初めに CD-1 マウスにおいて MB, T700-H, T700-F による膵イメージングを行い、T700-F が最も優れた膵特異的蛍光物質であることが確認された。MB は投与直後に膵にシグナル集積を示すものの、T700-H, T700-F と比べ低シグナルでかつ非常に停滞時間が短かった。引き続き CD-1 マウスを用いて T700-F による最適なイメージング時間と投与量の確認を行った。T700-F の投与後、膵シグナルは投与後 4 時間で SBR は最大となり、またわずかに 25 nmol で必要十分な SBR を示した。次いでラットにおいて MB と T700-F を用いた膵イメージングが比較され、T700-F がはるかに高い膵シグナルと SBR を示した。その後ラット切除膵を用いて組織学的検討を行い、T700-F は外分泌腺である腺房細胞、内分泌腺であるランゲルハンス島いずれにおいても高シグナルを示した。次にブタにおいて再度 MB と T700-F による膵イメージングの比較を行い、MB は投与後 1 時間以内に投与前のシグナルレベルにまで低下する一方で、T700-F は腎を除き、8 時間に渡り高い SBR を保持することを示した。次いで T700-F と ZW800-1, ZW800-3C, ESNF31 いずれかの同時投与により、700nm, 800nm の二つの NIR チャネルを用いて同時性に膵と血管・腎、膵とリンパ節、膵と副腎が描出され、これらの判別を容易にした。

【考察】近赤外線イメージングの最大の欠点は臨床使用可能な蛍光物質の制限であり。これまでも様々な蛍光物質の開発が行われてきた。現在までに報告されている組織・臓器標的蛍光物質のほとんどは、小分子、ペプチド、あるいは抗体といった標的ドメインと蛍光物質を共有結合させたものであり、その合成には莫大な時間と労力を要し、実用化までに長い時間が必要となる。本研究において用いられたものも含め、我々が開発している組織・臓器特異的蛍光物質は、標的ドメインがその分子構造に内在するため合成が不要なため、実用化までの過程を短縮し得る。また比較的小分子量であるため、標的組織以外からの排泄が促進され、結果として高い SBR を実現する。実験 1 において、適切な蛍光物質を使用することで肝臓においても SLN マッピングが可能であることを示し、また、SLN と RLN のデュアルチャネルイメージングがリンパ節郭清における有用なナビゲーションとなり得ることを示した。将来的には、肝胆道系悪性腫瘍においても、SLN に転移がない場合には困難かつ侵襲的な定型的リンパ節郭清の省略が可能となるかもしれない。本来は内分泌腺特異的蛍光物質として開発された ESNF14 が局所注射後迅速に SLN に移動し、その後長時間停滞する理想的な SLN トレーサーとして働いた理由は完全には明らかになっていないが、過去のスクリーニングの結果より、比較的大分子量かつ高イオン価であること、親水性、親油性の微妙なバランスが保たれていること等との関連性が推測されている。術中膵損傷の主な原因は、膵実質とその周囲臓器、特に脂肪組織とが時に肉眼的に判別困難であることにある。実験 2 において、T700-F は高い膵シグナルと周囲臓器とのコントラストにより、腹部手術における膵損傷回避のガイダンスとしての有用性を示した。膵集積のメカニズムは現在のところ不明であるが、置換されたペンタメチンの物理化学的特性が鍵を握っていると推測される。

【結論】本研究において、我々は新たに開発した組織・臓器特異的蛍光物質と近赤外線イメージングシステムを用いて、消化器外科手術における新たな治療法の開発と、既存の手術治療における安全性の向上を試みた。さらなる新規蛍光物質の開発とイメージングデバイスの進歩により消化器外科領域における近赤外線蛍光イメージングの応用はさらに拡大する可能性がある。