

14 - 18 がんの診断治療用光学機器の開発

主任研究者 静岡県立静岡がんセンター 小野裕之

研究成果の要旨

本研究の成果については、通常の卓上型共焦点顕微鏡と同等の機能を有するユニットを内視鏡の先端に組み込んだ共焦点内視鏡システムの開発により、生体内で 1000 倍に拡大された細胞観察ができ、病理組織学的レベルと同じ画像を得ることを可能にした。自家蛍光内視鏡診断システムを、電子内視鏡に搭載することにより画質と操作性が飛躍的に向上し、消化管癌の質的・範囲診断に有用であることを臨床的に証明した。同時に内視鏡チャンネルを通過可能な細径プローブ型の共焦点レーザー顕微鏡を使用した仮想生検(Virtual biopsy)技術を開発し、より臨床応用に近づいた。内視鏡的粘膜切除術を安全かつ容易に行うために従来の IT ナ이프の改良型を作成し、市販への量産化を進めている一方、絶縁体の付属なしに常に低い電気密度を保ち、従来までの針状メスと同様の操作性がありながら、穿孔を来さないかつ低出力で切開・凝固が可能であるバイポーラー針メスを開発し、臨床応用を開始した。光線力学的療法を施行する際、面順次式電子スコープでの観察は不能であり、特殊フィルタを組み込んだ試作機を作成し、応用にむけて開発中である。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	
小野 裕之	静岡県立静岡がんセンター 部長	内視鏡治療における新しい器具の開発
田尻 久雄	東京慈恵会医科大学 教授	内視鏡画像解説による消化管がんの診断
伊東 進	徳島大学医学部 教授	赤外線蛍光内視鏡を用いた診断システムの確立
上堂 文也	大阪府立成人病センター 診療局長	蛍光を利用した消化管がんの新しい診断法の開発と応用についての研究
荻原 達雄	順天堂大学医学部 助教授	内視鏡による非可視光画像処理を利用したがん診断法の開発
井上 晴洋	昭和大学横浜市北部病院 助教授	エンドマイクロスコープによる仮想生検の研究
林 琢也	自衛隊中央病院 研究検査課長	光硬化性キトサン溶液の粘膜下注入を用いた内視鏡的粘膜切除術の開発及び高酸素負荷条件下の光戦力学的療法の開発
八尾 建史	福岡大学筑紫病院 講師	新しい消化器内視鏡診断体系の確立：早期癌の微小血管構造像
土井 俊彦	国立がんセンター東病院 医師	内視鏡的粘膜切除に関する新たな診断：治療デバイスの開発

総合研究報告書

1 研究目的

本研究の目的は、消化管におけるがんの診断および治療に関する光学機器の開発である。診断は、電子内視鏡およびその画像処理技術の向上により飛躍的に進歩して

きたが、肉眼的に認識されない早期段階のがんや病変範囲を切除前に正確に同定することが困難な症例も少なからず存在する。オプトエレクトロニクス技術の進歩にも

とづき、組織の腫瘍性変化を組織採取せずに画像として実時間に把握できる新たな機能内視鏡の研究開発が望まれている。一方、これらの診断技術の進歩により、早期消化管癌の頻度が増加し、内視鏡的粘膜切除術等の内視鏡治療の占める割合は著明に増大している。癌患者に対して低侵襲かつ良好な quality of life (QOL) を提供することが可能であることから、その適応も拡大しつつあるが、切除の原則である一括切除が可能な施設は一部に限られている。本研究では、新たな診断手法を開発し、消化管癌の早期発見および質的診断の向上を目指す。また、内視鏡治療機器の開発を行い、より普遍的な治療方法の開発と普及を目指すことにより早期消化管癌の治療成績の向上に寄与することを目的とする。

2 研究成果

本年度の成果は、本年の成果は、以下のとおりである。

1) 拡大内視鏡に関する研究

食道癌、胃癌、大腸癌の内視鏡診断において色調変化は重要な診断指標である。しかしながら色調は従来から不整な発赤など主観的表記法で表現され記録されてきた。これを客観的に診断すべく、拡大内視鏡を用い生体の粘膜上皮下の毛細血管をはじめとする消化管粘膜の微小血管像を観察する技術確立し粘膜表層の癌の微小所見の確立を目指した。早期胃癌を対象として拡大内視鏡を用い、粘膜表層の微小血管の密度と構築が内視鏡の色調の成り立ちであることを、生体ではじめて観察し世界に先駆けて報告した。特に分化型早期胃癌の腫瘍血管像である irregular microvascular pattern は、癌固有の像であり、胃癌と他の良性病変との鑑別診断や治療に必要な胃癌の浸潤範囲診断に有用であることが判明した。胃癌で認められた粘膜腫瘍血管の irregular microvascular pattern が胃以外の消化管の早期胃癌すなわち早期大腸癌、早期食道癌、十二指腸癌、小腸癌を対象とした場合、同じ診断指標となりうるか否かの検討を始めた。もし消化管粘膜に共通して同じ診断指標を用い癌の早期診断に有用性が明らかになれば消化管内視鏡領域の新しい癌の診断体系が確立できる。

2) 自家蛍光内視鏡診断システムに関する研究

生体組織はコラーゲンや NADH などの内因性蛍光物質を含むため、青色の励起光を照射すると微弱な自家蛍光を発生する。これを内視鏡下に高感度撮像素子により感知し、疑似カラー表示して画像化するのが自家蛍光内視鏡装置で、本装置を用いると各種病態により変化する生体組織の蛍光特性の違いを内視鏡画像上の色調差としてと

らえることが可能である。

これまでに LIFE-GI (オリンパス-Xillix 社) を用いて、蛍光内視鏡の機器改良と臨床応用の可能性について検討を行い、LIFE-GI による蛍光観察が大腸腫瘍の拾い上げと腫瘍・非腫瘍との鑑別診断に有用であることを報告した。しかし、LIFE-GI はファイバー・スコープを用いた装置であるため、白色光観察での画質は通常の電子内視鏡に比べて明らかに劣り、また、高感度 CCD を内蔵した重いカメラ部をスコープに外付けしているため、挿入時の操作性や観察時の画質などの点で臨床的に汎用するには大きな問題があった。

そこで、オリンパス社と共同で自家蛍光電子内視鏡装置 (AFI) を開発した。これは、汎用機である EVIS-CF240AI の先端に白色光用と蛍光用のふたつの小型 CCD を搭載し、それらを手元のボタンひとつで切り替えることができる。外観や操作性と白色光観察での画質は通常電子内視鏡と全く同等であるため、現在通常行われている大腸内視鏡検査に加えて蛍光観察が行え、自家蛍光画像についてもファイバースコープによる自家蛍光画像に比べ優れた解像度の画像が得られた。AFI の蛍光画像は、励起光 (395-475nm) を照射した際に生じる 490-625nm の帯域の自家蛍光画像に加えて、透過性に優れた 600-620nm の赤色光の反射光画像と、ヘモグロビンに強く吸収される 540-560nm の緑色光の反射光とを面順次方式で合成して疑似カラー表示させていることが特徴である。これにより遠距離での形態描出能が改善し、従来機では鑑別が困難であった腫瘍による蛍光の減弱と血液によるそれとを色調により区別することが可能となった。

機器の臨床応用が可能になったことから、大腸腫瘍性病変に対する AFI の成績を検討した。AFI では大腸ポリープは緑色の正常粘膜の中のマゼンタ色域として明瞭に視認され、血管は青色調に描出された。55 例に対して AFI を用いた大腸内視鏡検査を施行し、発見された 61 個の病変を対象に解析を行った。その中には通常内視鏡では診断が困難とされている平坦陥凹型腫瘍が 2 病変含まれていた。PC に記録されたビットマップ・ファイル上の色調からモニター画面上に表示される色調を算出し、CIE1976UCS 色度図上の背景粘膜と病変部との平均色差 (ΔE^*ab) を求めたところ、腫瘍性病変 (癌、腺腫) は 44.0 で非腫瘍性病変 (過形成性ポリープ、炎症性ポリープ) の 22.5 に比べて有意に大きく ($p=0.000$)、色調差による腫瘍性病変の診断能は感度 100%、特異度 81.3%であった。また、AFI の上部消化管がんに対する診断能を評価するため、既知の表在型食道がん 5 例 5 病巣、早期胃

がん 21 例 22 病巣を対象に、白色光観察 (WL) 自家蛍光観察 (AF) 色素内視鏡 (CE) を行い、切除標本における病理組織所見との対比によりその診断能を比較検討した。各検査法の正診率 (95%信頼区間) は、食道がん 5 病巣で、WL40% (0%, 83%) AF100%、CE100%で、早期胃がん 22 病巣で WL36% (16%, 56%) AF68% (49%, 88%) CE91% (79%, 100%) であった。AFI による AF の追加により、WL では明らかでなかった平坦で色調変化に乏しい病変の広がりに対する診断能が向上した。潰瘍性変化や炎症の併存が AF による正診率低下の原因であった。

AFI は従来の蛍光内視鏡に比べて操作性、画質が向上し、臨床応用への期待が大きく高まった。AFI による蛍光観察は大腸腫瘍の拾い上げと、色調差による消化管癌の腫瘍・非腫瘍のリアルタイムの鑑別診断に有用である可能性が示唆され、今後、臨床例において前向き試験によりその有用性を実証する予定である。

3) 赤外蛍光内視鏡診断と生体への応用

電子内視鏡下で検出可能な物質で病変部を標識し、電子信号をコンピューター処理すれば微小病変の内視鏡診断が可能と考えられる。従来の蛍光標識物質のほとんどは紫外線を励起光として用いるものであり、紫外線の生体への悪影響が懸念される。これまで赤外蛍光標識物質として ICG-sulfo-OSu を開発し、赤外線蛍光内視鏡を試作し、新鮮切除標本における胃癌病巣の赤外蛍光写真の撮影に成功した。さらに高感度な新しい赤外蛍光標識物質である 3-indocyanine-green-acyl-1,3-thiozolidine-2-thione (ICG-ATT) を開発した。また、ムチン抗体は消化管癌に感度が高く、標識ムチン抗体を用いての赤外蛍光観察はがんの診断に有用であると考えられた。

4) 焦点内視鏡システムおよび接触型拡大内視鏡を使用した仮想病理・仮想生検

近年、大腸の腫瘍性疾患はますます増加してきている状況下において、大腸内視鏡検査は大腸癌を含む全ての大腸疾患の診断・治療に非常に重要な役割を持ってきており、腫瘍性疾患においては特に有用である。拡大内視鏡検査は 80~100 倍程度の拡大率で、腫瘍の表面構造を観察するが、その拡大率のために大腸の腺開口部の観察にとどまるものの、現在の診断学においては有効な手段である。しかし、この方法では腫瘍の細胞や細胞からなる構造、すなわち顕微鏡学的レベルでの直接の観察は不可能であり、その集合体である腺開口部の構造物を観察して病変を推定しているに過ぎない。共焦点内視鏡システム (以下、共焦点内視鏡) は、レーザー光と光学技術を

使用し生体組織を細胞レベルで視覚化された、すなわち通常の卓上型共焦点顕微鏡と同等の機能を有するユニットを内視鏡の先端に組み込み、生体内で病理組織学的レベルと同じ画像を得ることができる画像撮影装置である。本研究では、共焦点内視鏡を使用して、通常の検査に引き続いて、正常の大腸粘膜及び大腸粘膜病変を観察し、通常観察像から細胞レベルまでの連続した検討を行い、臨床面でどの程度の利用が可能かを明らかにすることを目的とした。共焦点内視鏡の観察前に蛍光色素を静脈注射 (10% fluorescein sodium 溶液) し、fluorescein を静注数分後より共焦点内視鏡による観察を開始した。観察範囲は粘膜表面から導管 (crypt) の中間層までの観察が可能であり、粘膜面に平行する横断面が連続して得られた。fluorescein の信号はまず腺管を取り囲む capillary に認められ、次第に周囲組織に広がり、最終的には全体に広がるパターンを示した。平衡相に達した正常組織では腺管が back to back で規則正しく並んでいる状態が観察された。細胞レベルでは fluorescein の信号は細胞膜や細胞質では確認できたが、核には認められなかった。腺腫では、腺管の規則性はある程度保たれるものの、正常で認められる正常の straight な腺管構造は失われ、樹枝状の不規則な腺管構造が観察された。癌組織では一見してられる正常の straight な腺管構造は失われ、樹枝状の不規則な腺管構造が観察された。癌組織では一見して造が確認可能であった。本法では正常組織だけでなく病変部においても、共焦点内視鏡画像と病理組織像とに相当な整合性が確認された。

また、内視鏡の生検チャンネルブロープタイプのレーザー共焦点顕微鏡の開発を行った。オリンパス社と共同で、外径 3.4mm のブロープを試作、生体内での正常食道の LCM の像を獲得することに成功した。この手法を「Endomicroscopy (内視顕微鏡)」と名付けた。また、光学レンズ系のみによる接触型拡大内視鏡を全く新たに開発し、この Endo-Cytoscopy system (Prototype, Olympus) によって、生体内で、生きた健常細胞および生きた癌細胞の観察に成功した。本システムは、外径 3.4 mm のカテーテル型の超拡大内視鏡を用いる。500 倍あるいは 1000 倍を越える倍率での観察が可能で、画質、画像獲得の再現性の高さでは極めて優れており、とくに 100 倍の画像は、Gold standard である細胞診の画像に匹敵する。500 倍はピットパターンなどの構造異型を観察するのに適しており、一方、1000 倍は細胞 1 つ 1 つの観察が可能で細胞異型をみることも可能である。したがって、目的に応じた使いわけが可能である。また同じ倍率

であっても、焦点深度を変更した検討もおこなっており、表層の観察とやや深層の細胞の観察の検討をおこなっている。このような工夫により、仮想生検に一步一步近づきつつあると考えている。現在、1500 倍の超拡大内視鏡の作成もおこなっている。

5) 内視鏡治療機器・材料の開発

早期胃癌に対する内視鏡的粘膜切除術(EMR)において、病変を一括切除するために、近年粘膜を切開し、粘膜下層を剥離する切開剥離法が開発された。本研究班にて研究された IT(Insulation-tipped)ナイフ法に始まる粘膜切開剥離法は、ガイドライン適応外の病変に対しても一括完全切除を可能とし根治切除治療を可能にしている。しかし、ITナイフの市販後、多施設が導入したにもかかわらず、従来から指摘されていた手技の困難さ、偶発症の高さによって継続使用されない場合も多い。ITナイフの問題点は、構造的に電氣的に不安定な要素をもつことである。ナイフ金属部と切開部との接触面積の状態が内視鏡操作によって一定しないため電気密度が安定しない。そのため、切開能が安定せず、不用意に深切りや焦げるという現象が起こってしまう。しかし、他のデバイス(フックナイフ、フレックスナイフ)に比し、凝固能(止血効果)は、本来は優れているデバイスであるとも考えられた。特に、ナイフ部での安定した粘膜層への接触が必要であると考えられた。そこで、市販されている IT ナイフの絶縁セラミックポール部分とブレードの接続部に新たに放射状に 3 本の補助ブレードを接続した改良型 IT ナイフを試作し、ブタ切除胃を用いて切開能を検討した結果、切開能が高く、かつ穿孔も見られなかったため、現在院内の審査を経て臨床応用中である。

さらにバイポーラー針状メス(B-knife)の開発に成功した。B-knife は、bipolar の特性上、低出力で安定した切開・凝固能を持つ。針先端は、絶縁体の付属なしに常に低い電気密度を保ち先端絶縁体がなくとも穿孔は起こりえない機構であり、従来までの針状メスと同様の操作性があり、また低出力で切開・凝固が可能である。新たな切開、止血器具として有用と考えられた。現在、申請が終了しており、臨床試験を開始している。

さらに腫瘍親和性光感受性物質を注入し、腫瘍にレーザー光を照射して生じる活性酸素により腫瘍を選択的に死滅させる方法である光線力学的療法(PDT)は、粘膜下層へ浸潤した癌に対して有効であり、EMR と組み合わせることで、局所制御能を上昇させる方法として期待されている。しかし面順次式電子スコープでは観察不能であるため、ファイバースコープで施行されている現状に対

して、特殊フィルターを開発し、電子スコープでの病変観察するための試作器を完成させた。

EMR 時の粘膜下局注液は、通常生理食塩水が用いられているが、切開剥離法の問題点である出血と穿孔の危険性を減少させる局注液が求められている。抗菌、免疫付活、創傷治癒促進等の活性の知られている蟹殻から抽出される複合糖質であるキトサンを原料に可溶性と光硬化性を合わせ持つ光硬化性キトサンゲル剤を調製した。このゲル化素材は 10 秒程度の 300 - 350 nm の UV 照射で不溶性の、軟ゴム状に硬化する。マウスやラット創傷治癒モデルで抗菌、創傷治癒促進活性を持った有効な閉塞性創傷ドレッシング材となることが確認された。内視鏡的粘膜切除(EMR)時に穿孔出血などの合併症なく効果的に行なうために、内視鏡に付けた紫外線照射用光ファイバーを用いてゲル化させ、出血等を伴わないより安全な EMR を施行する方法を考案した。

3 倫理面への配慮

倫理面への配慮については、倫理面への配慮については、薬剤の特性に関する研究および光学機器の開発研究は、invitro あるいは動物実験にて行った。実験は各研究機関の動物委員会の規定に従った。臨床的検討においては患者への説明と同意を得て実施した。得られた検討結果は、患者本人が特定できないようにプライバシーの保護に特に配慮した。

研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Issi K, Tajiri H. The Effectiveness of a New Multibending Scope for Endoscopic Mucosal Resection Endoscopy 36:294-297 2004
2. Sumiyama K, Tajiri H Combined use of a magnifying endoscope with a narrow band imaging system and multibending endoscope for en bloc EMR of early stage gastric cancer. Gastroint Endosc 60:79-84 2004
3. Saito N, Tajiri H The usefulness of magnifying Endoscopy using a narrow-band imaging system for detecting a narrow-band imaging system for detecting Jikeikai Med J 51:55-66 2004
4. Nakayoshi T, Tajiri H Magnifying endoscopy combined with narrowband imaging system for earlygastric cancer: Correlation of vascular pattern with histopathology Endoscopy 36:1080-1084 2004
5. Machida H, Tajiri H Narrow band imaging for difficult

- diagnosis of colorectal mucosal lesions: a pilot study. Endoscopy 36:1094-1098 2004
6. Ohkawa A, Ogihara T Diagnostic performance of light-induced fluorescence endoscopy for gastric neoplasms. Endoscopy 36: 515-521 2004
 7. Namihisa A, Ogihara T Diagnosis of gastric neoplasms by newly developed autofluorescence imaging video endoscopy. Gastrointest Endosc 59: AB154 2004
 8. Hayashi T et. Al Usefulness of photocrosslinkable chitosan for endoscopic cancer treatment in alimentary tract. J Biomed. Mater. Res., 71(B), 367-372, 2004
 9. Yano H, Tatsuta, M, Uedo N, et al., Diagnosis of early gastric cancers by light-induced fluorescence endoscopy. Hepato-Gastroenterology 2004 (in press)
 10. Uedo N, Iishi H, Tatsuta M, et al. A novel videoendoscopy system using autofluorescence and reflectance imaging for diagnosis of esophago-gastric cancers. Gastrointestinal Endosc 2005 (revising)
 12. 仲吉 隆、田尻久雄 狭帯域フィルター内視鏡 (Narrow Band Imaging: NBI) システム. 田尻久雄、田中信治編, 消化管拡大内視鏡診断の実際—観察のコツと診断のポイント—: 60-61 金原出版 2004
 13. 炭山和毅、田尻久雄 拡大機能付 Multi-bending Scope—安全・確実な診断から治療へ—. 田尻久雄、田中信治編, 消化管拡大内視鏡診断の実際—観察のコツと診断のポイント—: 244-249 金原出版 2004

日本語論文

1. 貝瀬 満、田尻久雄 内視鏡的粘膜切除術—手技, knack and pitfall, 偶発症の処置について. 臨消内科 19: 858-866 2004
2. 加藤正之、田尻久 胃隆起型腫瘍性病変に対するEMRの適応—Narrow Band Imaging System (NBI) 併用拡大観察の有用性—消化器医学 2:39-47 2004
3. 貝瀬 満、田尻久雄 拡大機能付き multibending scope と強剛性スネアを用いた内視鏡膜切除術(EMR-MS法)—簡便, 安全, 確実なEMRを目指して—. 癌の臨床50: 699-705 2004
4. 郷田憲一、田尻久雄 Barrett粘膜・食道に対する狭帯域フィルター内視鏡システム併用拡大内視鏡観察の意義. 胃と腸39: 1297-1307 2004
5. 仲吉 隆、田尻久雄 毛細血管像からみた胃癌の特徴—陥凹型早期胃癌を中心に—. 消化器内視鏡16: 1699-1703 2004
6. 田尻久雄 電子内視鏡の新展開—スクリーニングから精密診断まで—. 胃と腸39: 1635-1642 2004
7. 田尻久雄 内視鏡診断の進歩. 日本内科学会誌 94: 43-49 2005
8. 荻原達雄 消化管腫瘍の蛍光診断. 日レ医誌 25: 187 2004
9. 浪久晶弘、荻原達雄 電子スコープを用いた自家蛍光観察装置による上部消化管腫瘍の診断. 日レ医誌 25: 212 2004
10. 林 琢也、他 光硬化性キトサングルの局所薬剤担体および粘膜切除術への応用. 日本レーザー医学会誌、(印刷中) 2005 予定
11. 上堂文也、石原立、飯石浩康他 新しい内視鏡検査・診断の展望---非可視光(赤外線、蛍光)内視鏡による質的診断、胃と腸第 32 巻 12 号 2004