

論文内容の要旨

論文提出者氏名 近藤 裕

論文題目

Fluorescent detection of peritoneal metastasis in human colorectal cancer using 5-aminolevulinic acid

論文内容の要旨

大腸癌診療に於いて、腹膜播種診断は治療方針決定の為に必要不可欠である。しかし、微小な腹膜播種病変の診断は困難であり術中診断に依るところがあるが、術中にも診断不可能な場合がしばしば存在する。故に、適切な大腸癌治療方針決定の為に正確な腹膜播種診断が必要となる。

5-アミノレブリン酸(5-ALA)はヘムの中間代謝産物であり、癌患者に 5-ALA を投与すると腫瘍特異的にプロトポルフィリン IX(PpIX)が蓄積する事が知られている。PpIX は波長 405nm の青色光を照射する事で励起され、波長 635nm にピークを有する赤色蛍光を呈する性質があり、脳神経外科や泌尿器科領域に於いて光線力学診断(PDD)に臨床利用されている。今回の研究で、5-ALA を用いた大腸癌腹膜播種の光線力学診断の有用性につき検討した。

BALB/c nude mouse を用い、EGFP 導入ヒト大腸癌細胞株 HT-29 を腹腔内注射し腹膜播種モデルを作成した。移植 2 週後に 5-ALA hydrochloride 250mg/kgBW を腹腔内投与し、6 時間後に安楽死を行い開腹した。大網内に実体顕微鏡にて観察可能な腹膜播種結節を認めた。腹膜播種と考えられる EGFP 蛍光陽性部と同部位に、405nm 励起にて赤色蛍光を認めた。分光光度計では 635nm にピークを有する蛍光スペクトルを認め、PpIX に由来する赤色蛍光と考えられた。

2011 年 3 月から 2013 年 3 月にかけて臨床試験を実施した。術前 CT 検査にて漿膜浸潤が疑われた大腸癌患者、男性 9 名、女性 3 名 (39-84 歳) を対象とした。5-ALA hydrochloride 15-20mg/kgBW、最大用量 1g/body を手術 3 時間前に経口投与し、蛍光腹腔鏡にて術中観察を行った。5-ALA 投与に伴う有害事象は認めなかった。従来法白色光観察にて 8 例に腹膜播種を認めた。蛍光観察では全ての播種結節に赤色蛍光を認めた。播種結節の一部をサンプリングし、全症例にて病理学的に腹膜播種陽性である事を確認した。6 例に於いては肝表面に露出する肝転移巣に赤色蛍光を認めた。1 例に於いて、白色光観察では同定困難であった微小平坦病変を蛍光観察にて用意に同定し得た。この微小病変はサンプリングを行い病理学的に播種結節である事を確認した。非転移部では、脂肪織、肝表面、腸管壁は腹壁に比べ軽度赤色に観察された。

診断法の定量化を検討する目的に、蛍光腹腔鏡画像を画像解析ソフト ImageJ 1.45S を用いて分析した。PpIX 由来赤色蛍光強度の指標として 24bit RGB カラー画像データの赤色値を用いる事とし、腹膜播種結節、及び非転移部の腹壁、腸管壁、脂肪織、肝表面に於ける最大赤色値を評価した。最大赤色値は播種結節で高値であったが、数値にばらつきを認めた。原因としては、被写体とスコープの位置関係等、観察条件を均一化する事が不可能である事から、主に明るさ等の画像条件に相違が生じる為と考えた。RGB 画像に於いて各信号強度の総和は明るさの指標に該当する事から、赤色値/(赤色値+緑色値+青色値)も同様に評価したところ赤色値単独に比べデータのばらつきは軽減し、播種結節で腹壁、腸管壁、脂肪織、肝表面に比して有意に高値であった。P 値はそれぞれ $P < 0.001$ 、 $P = 0.0066$ 、 $P = 0.0057$ 、 $P = 0.0014$ であった。5-ALA 光線力学診断法に於いて赤色蛍光の評価は観測者の主観に依るところがあるが、本法を用いる事で定量診断が可能となると考えられる。

蛍光診断は、低侵襲である、簡素な検査機器にて検出可能である、リアルタイムに診断可能であるという利点を有し、様々な癌特異的蛍光プローブが開発されている。しかし、臨床利用可能な蛍光プローブは限られている。5-ALA は既に神経膠腫や膀胱癌の診断に臨床利用されており、その安全性、有用性が報告されている。しかし、5-ALA を用いた大腸癌腹膜播種に対する光線力学診断の報告例は無い。本研究では、術中白色光観察で腹膜播種と診断し得た結節は全て 5-ALA 投与に起因する赤色蛍光を認め、全症例に於いて病理学的に腹膜播種の診断を得た。更に、微小病変の為に白色光観察で発見困難であった結節を、蛍光観察により発見し得た。5-ALA 光線力学診断はこの様に、白色光下で視認不可能な微小平坦病変が診断可能となる事で、大腸癌腹膜播種の診断精度向上に繋がると考えられる。5-ALA 光線力学診断では、生検を行わずとも術中リアルタイムに腹膜播種診断が可能となる事から、病巣の完全摘除の助けになると考えられる。本法では初期段階の微小な腹膜播種巣が診断可能となる事により適切な治療方針選択に繋がり、予後の改善が期待できる。

結論として、5-ALA 光線力学診断は従来の腹腔鏡観察に比してより良好な大腸癌腹膜播種診断精度を示した。本法は大腸癌腹膜播種診断に有用であると考えられる。