

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

気管支学 (2002.12) 24巻8号:607～611.

カラー蛍光内視鏡システムの構築と応用

大崎能伸、中西京子、中尾祥子、豊嶋恵理、丹野幸恵、佐藤真紀、高橋啓、長内忍、菊池健次郎、竹山周良、中島進

## カラー蛍光内視鏡システムの構築と応用

大崎能伸<sup>1</sup>；中西京子<sup>1</sup>；中尾祥子<sup>1</sup>；豊嶋恵理<sup>1</sup>；  
丹野幸恵<sup>1</sup>；佐藤真紀<sup>1</sup>；高橋 啓<sup>1</sup>；長内 忍<sup>1</sup>；  
菊池健次郎<sup>1</sup>；竹山周良<sup>2</sup>；中島 進<sup>3</sup>

索引用語 — 肺癌，自家蛍光内視鏡，光線力学的診断，光線力学的治療

(気管支学，2002;24:607-611)

## Development and Clinical Applications of a Color Fluorescence Endoscopic System

Yoshinobu Ohsaki<sup>1</sup>; Kyoko Nakanishi<sup>1</sup>; Shoko Nakao<sup>1</sup>; Eri Toyoshima<sup>1</sup>;  
Sachie Tanno<sup>1</sup>; Maki Sato<sup>1</sup>; Toru Takahashi<sup>1</sup>; Shinobu Osanai<sup>1</sup>;  
Kenjiro Kikuchi<sup>1</sup>; Kaneyoshi Takeyama<sup>2</sup>; Susumu Nakajima<sup>3</sup>

KEY WORDS — Lung cancer, Autofluorescence endoscopy, Photodynamic diagnosis, Photodynamic therapy

(JJSB. 2002;24:607-611)

### 1. はじめに

正常組織に特定の波長の励起光を照射すると、組織を構成する物質による蛍光を発生する。<sup>1</sup> 自家蛍光の大部分は粘膜下層の蛍光物質から発生し、コラーゲン、nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP) や flavin-adenine dinucleotide (FAD) などが主な発生源であるといわれる。<sup>2,3</sup> 健常な気道粘膜では、405 nm 前後の励起光を照射すると 520 nm 程度の緑色の自家蛍光を発する。腫瘍病変部では、粘膜上皮の肥厚、自家蛍光物質の減少、蛍光吸収物質の増加などにより緑色自家蛍光が減弱するとされる。緑色蛍光の減弱を内視鏡で観察することで病変を検索する検査法が autofluorescence endoscopy (AF) である。

わが国では、病変部の緑色蛍光の減弱を内視鏡的に観察するための3機種システムが臨床に使用されている。LIFE lung system<sup>4,5</sup> (Xillix, Richmond, Canada) は

レーザー光を励起光として、病変部の緑色蛍光の減弱を観察する。SAFE-1000<sup>6,7</sup> (Asahi Optical, Tokyo, Japan) は、基本的には LIFE lung system と同様であるが、励起光にレーザーを用いないために LIFE lung system よりも安価である。LIFE lung system と SAFE-1000 は白黒の CCD を用いたシステムである。D-Light AF system<sup>8</sup> (Storz, Tuttlingen, Germany) は、カラー CCD を用いて、自家蛍光の減弱を観察する。D-Light AF system では、ALA モードでポルフィリン誘導体からの赤色蛍光が観察できる。しかし、いずれも基本的には緑色蛍光のみを観察するシステムである。

ポルフィリン誘導体は正常組織に比べ、腫瘍組織に約 10 倍多く取り込まれ排泄も遅延する。<sup>9-11</sup> 腫瘍組織に取り込まれたヘマトポルフィリン誘導体は、405 nm 前後の励起光を照射すると 630 nm 程度の赤色蛍光を発する。<sup>12</sup> Figure 1 の左は扁平上皮癌培養細胞，右は線維芽細胞にフォトフリン (dihematoporphyrin ether and/or ester)

<sup>1</sup> 旭川医科大学第1内科；<sup>2</sup> 浜松ホトニクス；<sup>3</sup> 帯広畜産大学。  
著者連絡先：大崎能伸，旭川医科大学第1内科，〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 (e-mail: yohsaki@asahikawa-med.ac.jp)。

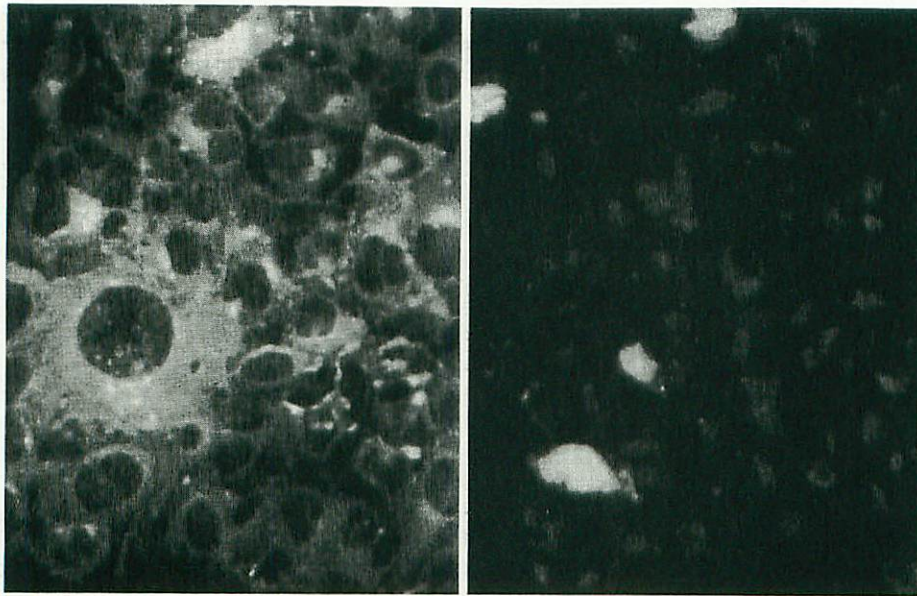
<sup>1</sup>Respirology Branch, First Department of Medicine, Asahikawa Medical College, Japan; <sup>2</sup>Hamamatsu Photonics, Japan; <sup>3</sup>Obihiro

University of Agriculture and Veterinary Medicine, Japan.

Corresponding author: Yoshinobu Ohsaki, Respirology Branch, First Department of Medicine, Asahikawa Medical College, 2-1-1-1 Midorigaoka Higasi, Asahikawa 078-8510, Japan (e-mail: yohsaki@asahikawa-med.ac.jp).

© 2002 The Japan Society for Bronchology





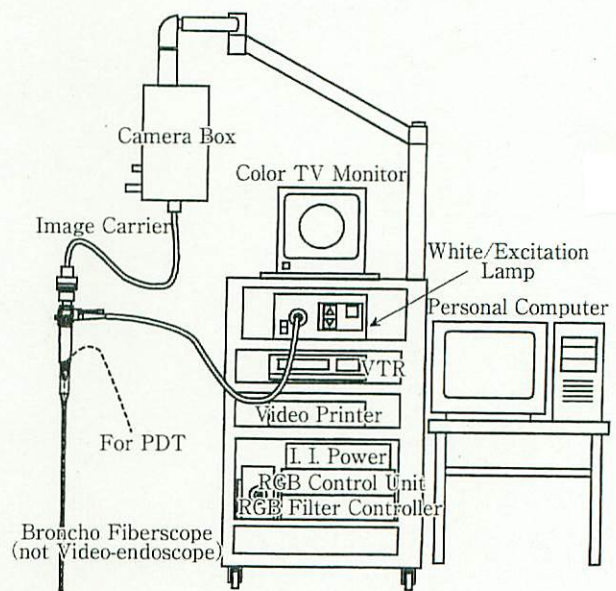
**Figure 1.** Uptake of Photofrin by cultured cells. Left; squamous cell carcinoma, right; fibroblast cells. Photofrin was added to culture medium, then red fluorescence from the cells were observed under a fluoromicroscope.

(Axcan Pharma, Quebec, Canada)を取り込ませて、蛍光顕微鏡で赤色蛍光を観察した結果を示す。線維芽細胞に比べ、扁平上皮癌培養細胞では細胞質全体に強い赤色蛍光が観察された。癌組織に取り込まれたポルフィリン誘導体の蛍光を内視鏡的に観察して癌の局在診断を行う方法が photodynamic diagnosis (PDD)<sup>13</sup> である。私たちは、癌組織に選択的に取り込まれたポルフィリン誘導体が発生する蛍光を、内視鏡を用いてカラー観察するための内視鏡システムを開発してきた。<sup>14-16</sup> 病変部から発生する微弱な蛍光もカラーで観察できるように、高感度なカラーチルド intensified CCD (ICCD) カメラを開発してシステムに組み込んだ。この ICCD は、400 nm から 700 nm の微弱な蛍光をカラー情報として可視化できる性能をもつ。カラー内視鏡システムの開発は、組織中のポルフィリン誘導体の取り込みの差を内視鏡を用いて観察することを当初の目的としていた。しかし、システムの熟成にともなって、緑色自家蛍光の観察にも十分な性能をもち、さらに腫瘍病変部から赤色の自家蛍光も検出できる可能性を持つことが明らかになった。

ここでは、カラー蛍光内視鏡システムをもちいた病変部の観察結果と、本システムの今後の展望について報告したい。

## 2. カラー蛍光内視鏡システムの概要

Figure 2 にカラー蛍光内視鏡システム (PDS-2000) の概要を示す。300W の Xenon 光源から平均 405 nm の波長の励起光を選択してファイバースコープのライトチャンネルから照射する。励起光の波長は、システムのために



**Figure 2.** Block diagram of the color-fluorescence endoscopic system, PDS-2000.

設計されたフィルターにより選択的に減弱される。そのほかの波長については、400 nm から 700 nm まで観察できる。ファイバースコープからの観察画像は、イメージキャリアーを通じて、カメラボックス内のカラーチルド ICCD カメラ (浜松ホトニクス社製) に入力される。カメラボックスにはオリンパス OES (Olympus endoscopic system) アタッチメントが装着され、気管支鏡だけではなく、種々のファイバースコープを装着できる。白色光モードに切り替えると、そのまま通常のファイバース



コープとして使用できる。ICCD カメラからの情報は、画像解析装置に入力され、カラー情報はモニター、画像記録装置、コンピューターへ出力される。LIFE lung system と SAFE-1000 はカメラボックスに直接内視鏡を装着するために、きわめて操作性が悪かった。私たちのシステムでは、操作性を向上するためにイメージキャリアーを組み込んでいる。ICCD の性能が高いために、イメージキャリアーを用いても十分な観察が可能である。直接カメラボックスにファイバースコープを装着することもでき、その場合は解像力と感度が上昇する。

### 3. フォトフリンを用いた気管支病変の観察

photodynamic therapy (PDT) による治療をうけるために、旭川医科大学第一内科に入院した 9 症例、14 病変を対象として、カラー蛍光内視鏡システムを用いて観察した。<sup>16</sup> カラー蛍光内視鏡システムでは、通常の気管支ファイバースコープを用いるために特殊な装置を体内に入れる必要はないが、検査時間が長くなることと検査の目的、方法を説明して検査に対する承諾を得た。生検部

にフォトフリンが取り込まれて偽陽性所見を示すことがあるため、2 週間以内は生検を行わないこととした。カラー蛍光内視鏡システムによる観察のあとにフォトフリン 2.0 mg/kg を静注した (Table 1)。この量は PDT での常用量である。48 時間後にフォトフリンの蛍光をカラー蛍光内視鏡システムで観察した後に、エキシマダイレーザーを照射した。検討した症例は 2000 年から 2001 年に PDT をおこなった 9 例である (Table 2)。3 例は気管支扁平上皮癌、4 例は気管支扁平上皮癌の carcinoma *in situ* (CIS)、1 例は肺頭腫瘍の気管支転移、1 例は乳癌の気管支転移であった。1 例の CIS 症例は扁平上皮癌のほかに 2 ヶ所の扁平上皮化生を合併していた。すべての症例で、病理診断は入院の 2 週間以上前に確定していた。観察方法は、フォトフリン静注前の観察も、後の観察も同様で、白色光モードで主要な気管支を観察した後に蛍光モードに切り替えて同様な観察を繰り返した。PDT の対象病変部からフォトフリンの赤色蛍光が観察されれば、カラー蛍光内視鏡所見を陽性とした。白色光所見とカラー蛍光内視鏡観察時での病変の形状を比較した。また、対象病変以外に赤色蛍光が観察された場合は、その部位を生検することとした。蛍光観察時の気管支鏡前処置や、術中の薬剤は通常の気管支鏡検査と同じで、蛍光観察の際に特別な全処置は必要なかった。気管支鏡はおもにオリンパス BF-type 40 を使用した。

### 4. 結果

観察した 14 病変中 14 病変でフォトフリンの赤色蛍光が観察された。また、赤色蛍光は扁平上皮化生 2 病変にも観察された。正常気管支粘膜では、フォトフリン静注

Table 1. Method of PDD

Informed consent for PDD
↓
Observation I Photofrin 2.0 mg/kg
↓
48 hours
↓
Observation II Excimer dye laser 100 J/cm <sup>2</sup>

Table 2. Results of fluorescence observation using the fluorescence imaging system

Case	Sex	Age	Location	Type	Stage	Red fluo.
1	M	51	L.M	Islet	Meta.	bright
2	F	48	R.TI	Adeno	Meta.	bright
3	M	74	R.B <sup>9</sup>	SqCC	Tis *	bright
4	M	73	L.B <sup>6</sup>	SqCC	Ia	bright
5	M	65	L.B <sup>3</sup>	SqCC	Ia	bright
6	M	56	L.Lo	SqCC	Ia *	bright
7	M	81	L.U	SqCC	Tis *	bright
			L.U	Normal		weak
			R.U	Normal		weak
8	M	70	L.B <sup>4</sup>	SqCC	Tis	bright
			L.B <sup>1+2</sup>	Dysplasia		bright
			R.B <sup>3</sup>	Dysplasia		bright
9	M	76	R.B <sup>1</sup>	SqCC	Tis	bright
			R.B <sup>2</sup>	SqCC	Tis	bright
			R.Sup.	SqCC	Tis	bright
			L.B <sup>3</sup>	SqCC	Tis	bright
			L.Us/Ls	SqCC	Tis	bright
			L.Us	SqCC	Tis	bright



にかかわらず黄緑色の自家蛍光が観察された。フォトフリンの赤色蛍光はPDTの対象病変以外にはみられなかった。症例7で淡い赤色部分があったので2カ所生検したが、正常気管支粘膜であった。この部位の赤色蛍光はハレーションのようで、病変部よりも明らかに弱く、区別は極めて容易であった。

## 5. カラー蛍光内視鏡システムの開発と今後の展望

カラー蛍光内視鏡システムは、ポルフィリン誘導体から発生する赤色蛍光を生体内で観察することを目的として開発を始めた。正常部位と病変部の蛍光の差が小さいことが予想されたために、当初から感度が極めて高く、解像力のよいシステムの開発を目標にした。本システムの特徴は、微弱な蛍光情報をフルカラーで観察できること、操作性が高いこと、OESアタッチメントのあるファイバースコープが使用できること、白色光源を用いること、ライトガイドから励起光を照射することなどである。また、当初から蛍光波長の高い新世代のポルフィリン誘導体を使用したPDDを想定して開発を始めたために、700 nmまで観察できることも特徴のひとつである。

カラー蛍光内視鏡システムを用いた気管支悪性病変のPDDでは、多重病変の症例も含めた14病変中14病変とも明るい赤色の蛍光が観察された。また、扁平上皮化生2病変中2病変でも赤色蛍光が観察できた。カラー蛍光内視鏡システムの開発目標であった、生体内のフォトフリンの蛍光をカラー観察するという目的は達成されていると考えられる。フォトフリンは630 nmの赤色蛍光を中心とした蛍光を発生するが、その蛍光強度は弱い。新世代のポルフィリン誘導体ATX-S10<sup>17</sup>の基礎的な検討では、フォトフリンの約10倍以上の蛍光強度をもつことが示された。フォトフリンは体内よりの排泄が極めて遅く、2週間以上貯留する。また、高価であるなどPDDでの使用には問題点もある。体内薬効動態の優れた新世代ポルフィリン誘導体の臨床への導入によって、外来でのPDDに引き続きPDTを行うという肺癌治療戦略が開発される可能性が考えられる。

気管支扁平上皮癌はしばしば多発する。<sup>18</sup> また、治療後の経過観察中に新病変が発見されることも多い。ポルフィリン誘導体を使用したPDDは、このような症例の見落とし病変を発見するのに有用である可能性がある。白色光内視鏡では、表在性病変の広がり範囲を決定することが困難な場合がある。カラー内視鏡システムを用いたPDDによって、このような症例の治療範囲の決定が容易になる可能性がある。自験例で、左B3病変の遠位端が不明なため、治療範囲の決定にカラー蛍光内視鏡によるPDD所見を参考にしたことがあった。カラー蛍光内視鏡システムを用いたPDDの有用性については、このような視点からの臨床的検討が必要であると思われる。

気管支に発生する早期病変のうち気管支鏡で確認できるのはCISの30%、微小浸潤癌では2/3にすぎないとされる。このような早期病変を発見するために、自家蛍光を観察する蛍光内視鏡が有用であるとされる。<sup>19</sup> 現行の蛍光診断装置による自家蛍光の観察では病変部が自家蛍光の脱落として認識されるために、診断精度の向上のために症例数を重ねた経験が必要である。私たちのカラー蛍光内視鏡システムでも緑色の自家蛍光が観察でき、蛍光の色調の変化が観察できる。したがって、従来のシステムよりも正確な所見を少ない経験で得ることができると思われる。14病変のフォトフリン静注前の観察では、病変部の自家蛍光の減弱が観察された。

私たちのシステムでは400 nmから700 nmの波長の情報が得られるため、色調の解析が可能である。自家蛍光の観察では病変部の緑色蛍光の減弱とともに、同部位が赤色調に観察された。画像解析プログラムを用いて解析したところ、病変部のR/G比が正常部に比較して有意に高かった。<sup>20</sup> 癌病変では生体内のポルフィリン誘導体が蓄積すると報告されており、カラー蛍光内視鏡システムでは、これから生じる蛍光を観察できる可能性が考えられた。このことがさらに確認されれば、R/G比の解析を画像解析装置に組み込むことで診断精度を向上できる可能性が拓かれると思われる。

## REFERENCES

- Schomacker KT, Frisoli JK, Compton CC, et al. Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic polyps. *Gastroenterology*. 1992;102:1155-1160.
- Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. New York: Plenum Press; 1983.
- Schomacker KT, Frisoli JK, Compton CC, et al. Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: basic biology and diagnostic potential. *Lasers Surg Med*. 1992;12:63-78.
- Palcic B, Lam S, Hung J, et al. Detection and localization of early lung cancer by imaging techniques. *Chest*. 1991;99:742-743.
- George PJ. Fluorescence bronchoscopy for the early detection of lung cancer. *Thorax*. 1999;54:180-183.
- Kakihana M, Ii KK, Okunaka T, et al. Early detection of bronchial lesions using system of autofluorescence endoscopy (SAFE) 1000. *Diagn Ther Endosc*. 1999;5:99-104.
- Adachi R, Utsui T, Furusawa K. Development of the autofluorescence endoscope imaging system. *Diagn Ther Endosc*. 1999;5:65-70.
- Leonhard M. New incoherent autofluorescence/fluorescence system for early detection of lung cancer. *Diagn Ther Endosc*. 1999;5:113-118.
- Nakajima S, Hayashi H, Omote Y, et al. The tumour-localizing properties of porphyrin derivatives. *J Photochem Photobiol B*. 1990;7:189-198.
- Gomer CJ, Dougherty TJ. Determination of [3H]- and [14C] hematoporphyrin derivative distribution in malig-



- nant and normal tissue. *Cancer Res.* 1979;39:146-151.
11. Bellnier DA, Ho YK, Pandey RK, et al. Distribution and elimination of Photofrin II in mice. *Photochem Photobiol.* 1989;50:221-228.
  12. Eales L. Clinical chemistry of the porphyrins. In: Dolphin D, ed. *The porphyrins*. New York: Academic Press; 1978:810.
  13. Kato H, Cortese DA. Early detection of lung cancer by means of hematoporphyrin derivative fluorescence and laser photoradiation. *Clin Chest Med.* 1985;6:237-253.
  14. Ohsaki Y, Nishigaki Y, Takeyama K, et al. Visualization of cancer using high sensitive fluorodynamic camera and fiber-optic endoscope. *Porphyrins.* 2000;9:197-203.
  15. 大崎能伸, 竹山周良, 中島 進. 高感度内視鏡システムの開発と応用. 末舛恵一, 原澤道美, 人見滋樹, 監修. 先端医療シリーズ, 10. 呼吸器疾患. 東京: 先端医療技術研究所; 2001;99-104.
  16. Ohsaki Y, Takeyama K, Nakao S, et al. Detection of photofrin fluorescence from malignant and premalignant lesions in the bronchus using a full-color endoscopic fluorescence imaging system: A preliminary report. *Diagn Ther Endosc.* 2001;7:187-195.
  17. Nakajima S, Sakata I, Hirano T, et al. Therapeutic effect of interstitial photodynamic therapy using ATX-S10 (Na) and a diode laser on radio-resistant SCCVII tumors of C3 H/He mice. *Anti-cancer Drugs.* 1998;9:539-543.
  18. Miller YE. Pulmonary neoplasms. In: Goldman L, Bennett JC, eds. *Textbook of Medicine*. Philadelphia: WB Saunders; 2000:449-454.
  19. Lam S, Kennedy T, Unger M, et al. Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy. *Chest.* 1998;113:696-702.
  20. Nakanishi K, Ohsaki Y, Kikuchi K, et al. Quantification of the difference in full-color fluorescence bronchoscopic images between cancer and normal bronchus. In: 12th World Congress for Bronchology (WCB) World Congress for Bronchoesophagology (WCBE). Boston, 2002.