



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

旭川医科大学研究フォーラム（2014.02）14巻1号:91～93.

平成24年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題
薬事承認を目標とした蛍光内視鏡システムによる臨床研究の展開

大崎 能伸、竹山 周良

依 頼 稿 (報告)

平成 24 年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト型研究課題 薬事承認を目標とした蛍光内視鏡システムによる臨床研究の展開

大 崎 能 伸* 竹 山 周 良**

はじめに

生体に 405nm 付近の青色可視光を励起光として照射すると、組織を構成する成分に応じて様々な波長の蛍光を発生する。人体組織から発生する蛍光は極めて微弱なため、カラーで観察するには高い感度が要求される。本研究は、その人体から発生する微弱な蛍光を内視鏡を使用して観察するための内視鏡用高感度カラー蛍光カメラを開発することを目的とし、最終的には薬事法の承認を得て医療機械として販売することを目標としている。

カメラの感度を増加するには、いくつかの方法がある。しかし、いずれの手段を行っても、カメラの感度を限界まで増加すると技術的に様々な問題が生じてくる。

画像情報を電気信号に変える入力装置に CCD イメージセンサーが用いられる。CCD は charged-couples device の略称で、簡単にいうと太陽電池の小型版みたいに理解される。CCD イメージセンサー上には 10 万 -1000 万以上の受光素子が配置されている。CCD イメージセンサーは光の強さを電気信号に変換する装置なので、色情報を得るためには工夫が必要である。色情報の採り方には、赤、緑、青 (RGB) の三色のフィルターを通した 3 種の画像からカラーを得る 3 板式カラーカメラと、それぞれの受光素子に RGB フィルターを乗せた単板式カラーカメラに大別される。コンパクトデジタルカメラには単板式 CCD カメラが載っているため、CCD の表面は虹色に輝いて見える。3 板

式カラーカメラはテレビカメラなど、大型の高品位カメラに用いられる。私たちが開発してきた内視鏡用カラー蛍光カメラの第一号機では感度を高めた冷却増感 CCD の前で回転式 RGB フィルターを装着した、順次式を採用したために大きな本体になった。単板式カラー CCD は小型軽量であるが、RGB 情報のそれぞれに対する面積が減るために感度に難がある。しかし、内視鏡で観察するためには小型軽量が望ましいので、新しいカラー蛍光カメラでは単板式 CCD を採用することにした。

カメラの感度を増加させると、ノイズが強くなる。ノイズを減らす工夫を上手にしなければ、画像のフォーカスが甘くなるなど画像の品質に支障をきたす。感度を増加する一つの手段として、顕微鏡写真撮影装置でよく使用される画像の重ね合わせ技術がある。これはフォーカスを保って感度を上げる良い方法ではあるが、内視鏡観察では動画が主であるため、時相のずれが起こると使用できない。ノイズを減らしてフォーカスを保ったうえでカラーバランスを崩さずに感度を上げることが極めて難しい。しかも、高感度カラー画像を動画として取得することはさらに技術的にハードルが高い。また、本研究では光源装置に新たな問題が生じたために、これに対する解決策も必要になった。

肺癌での内視鏡カラー蛍光診断システム開発の歴史

肺癌は、その発生部位によって中心型と末梢型に区別される。末梢型肺癌とは肺の周辺に発生する肺癌で、

*旭川医科大学 呼吸器センター教授 **客員教授

組織型は腺癌が多い。末梢型肺癌は進行するまで症状が出ないことが多く、胸部エックス線写真やCTによって発見されることが多い。中心型肺癌は、気管から気管支が分かれたあたりから少し肺に入るまでの気管支の表面にできる肺癌で、扁平上皮癌が多い。中心型の肺癌は血痰や長引く痰で見つかることもあるが、診断のためには気管支鏡検査が必須である。中心型肺癌は治療した後に再発したり、初めとは異なる場所に新たに発生することも多く注意が必要である。

早期の中心型肺癌は正常の気管支粘膜との区別が難しく、気管支鏡で詳しく見ても見つからないことがしばしばある。肺癌の危険性が高く、痰の中に怪しい細胞が見つかった例で気管支鏡で見ても異常が分からない場合は、到達できるすべての気管支から細胞を採取して癌を探すというような検査も行われていた。蛍光気管支鏡は、このように通常の検査では見つからない病変を検索するために開発された。

人体の組織から発生する蛍光は、人体の組織を構成する物質から発生し、気管支粘膜などの主な組織は正常であると 520nm 程度の緑色の自家蛍光が観察される。正常組織からの自家蛍光の大部分はコラーゲンや nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADP)、flavin-adenine dinucleotide (FAD) などが発生源とされている。一方、癌病変部では、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の自家蛍光が減弱したり発生する蛍光色調が変化する。この蛍光の減弱や波長の変化を画像化して観察するのが蛍光気管支鏡の原理である。

本研究で最初に作製した内視鏡用カラー蛍光観察システムの PDS-2000 では、300W の内視鏡用キセノン光源のフィルターを装着して平均 405nm の波長の励起光を選択し、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、蛍光の観察時は PDS-2000 のために設計されたフィルターにより選択的に減弱される。励起光の波長以外については 400nm から 700nm まで観察することができる。カラー蛍光カメラにはオリンパス 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や胸腔鏡、腹腔鏡などの光学視管も装着できる。

蛍光観察システムを開発する当初は、開発中の新規ポルフィリン誘導体を利用した蛍光診断

(photodynamic diagnosis, PDD) を目的としていた。PDS-2000 は非常に感度が高く、カラー特性に優れたシステムに仕上がって、自家蛍光診断の目的でも使用できることが明らかになった。PDS-2000 を使用した我々の自家蛍光観察による気管支早期病変の検出に関する臨床的な検討の結果、自家蛍光診断を用いると通常の気管支鏡検査よりも早期病変の発見率が 54.1% から 89.1% に有意に上昇したことを報告した。また、異常蛍光として認識された気管支壁の前癌病変では、すでに癌遺伝子の異常を認めることを報告した。

PDS-2000 は蛍光観察システムとしては優れた性能を示したが、カメラボックスが大きく操作性は劣っていた。そこで、PDS-2000 に組み込んだシステムを見直して、操作性が優れた次世代機を開発することにした。次世代機ではカラー画像に優れた小型で感度の高い CCD を使用することにして、手のひらに収まるサイズを目指した。新しい PDS は白色光内視鏡観察、自家蛍光観察、フォトダイナミック診断、赤外蛍光観察ができることから PDS-TriMode と名付けた。PDS-TriMode はファイバースコープのみならず、胸腔鏡や腹腔鏡にも装着することができる。

PDS-TriMode の開発以降に生じた問題に対する取り組み

PDS-TriMode は優れた可能性をもつシステムであるが、蛍光内視鏡システムで薬事承認を目指すためには、製造と販売を視野に入れた企業の協力が不可欠である。PDS-TriMode を製品にすることを考えた場合、どうしても避けられない問題が少なくとも 3 点あった。一つは、市販用の高感度カラー蛍光カメラその物の開発である。この開発のためには前述した技術的な問題を解決できる技術力を持ったメーカーとの共同研究が不可欠である。幸い、国内の高感度 CCD カメラのトップメーカーであるフローベ社とクラボウ社が協力してくれることになり、現在市販器を開発している。市販器では PDS-TriMode の性能を引き継ぎ、軽量で操作性の良いものを目指している。カメラの解像度と感度が向上し、動画はハイビジョンに変更される予定である。CCD カメラの感度を上げることは機器の軽量化と反する作業であるが、現在は詰め段階に入っている。

2 つ目の問題は、蛍光カメラに接続する内視鏡の性

能に関してである。近年の内視鏡はビデオスコープが主流で、ファイバースコープのシェアは少なくなっている。私たちの蛍光システムは高性能の高感度カメラを開発するという側面を持つので、初めから内視鏡の先端にカメラを入れることは想定していなかった。したがって、観察する画像の質は使用するファイバースコープの性能に左右され、これが決まらなければどの程度の画像性能が出ているのか判断できない問題があった。これを解決するために、世界の内視鏡トップメーカーのオリンパスに最高画像性能をもった気管支ファイバースコープ試作機の製造を依頼した。このファイバースコープは外径が6mmで、生検チャンネルは1.4mmと操作性は犠牲になった部分もあるが、観察画像は素晴らしい性能を持つ。現在は、PDS-TriModeと組み合わせて使用しており、ビデオスコープに匹敵する解像度を示している（図1）。

第3の問題点は内視鏡用光源についてである。PDS-2000、PDS-TriModeとも300Wの内視鏡用キセノンライト光源を観察用白色光と蛍光用励起光に用いていたために、既存の光源を購入して改造する必要があった。これを解決するために、LED装置の国内トップメーカーであるCCS社と専用光源の共同研究を開始した。現在は、新たに開発した青色LED光源を蛍光用光源に用い、さらに白色光源もLED化するための作業中である。

蛍光観察システムを用いた新たな臨床研究の展開

現在、我々のグループでは蛍光内視鏡観察システムを用いた二つの臨床研究が進行中である。一つは、5アミノレブリン酸を用いたPDDの研究で、呼吸器センター外科で進行中である。もう一つは、旭川医療センターと呼吸器センター内科の共同研究で、気管支鏡を用いた早期気管支病変の発見に関する臨床第Ⅱ相研究である。いずれも、旭川医科大学倫理委員会の承認を得て進行中である。

近々、我が国で5アミノレブリン酸（5ALA）が脳腫瘍での蛍光診断に保険収載される。5ALAは経口的に投与されたのち、癌病巣に集積してプロトポルフィリン-IX（PP-IX）に代謝される。PP-IXを青色可視光で励起すると赤色の蛍光を発生する。悪性脳腫瘍では、この蛍光を観察して癌病巣を取り除く治療が保険

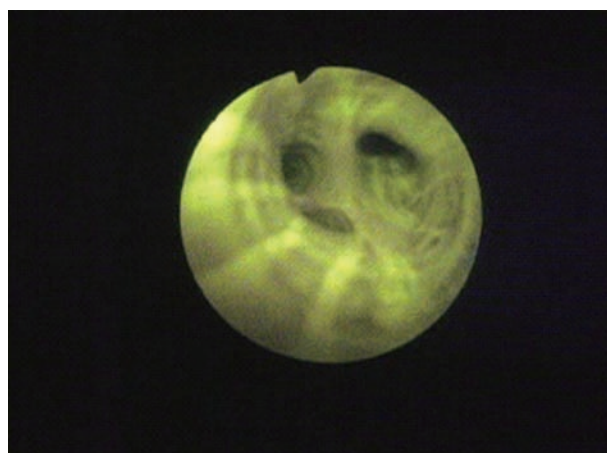


図1 新しく試作した帰還しファイバースコープを使用した気管支粘膜の自家蛍光観察写真。以前の画像に比べ解像度と色調の再現性が改善した。



図2 5ALAを内服した後の臓側胸膜病変の蛍光観察。緑の自家蛍光を背景に、小隆起病変に取り込まれたPP-IXの赤色蛍光が観察されている。

診療で行えるようになる。5ALAは肺癌や胃癌などのほとんどの悪性腫瘍に取り込まれるので、脳腫瘍以外にも蛍光診断に応用できる。呼吸器センター外科では、胸部悪性腫瘍の開胸手術症例で術前に5ALAを経口投与して、術中に壁側胸膜、臓側胸膜の微小病変が発見できるかについて臨床研究を行っている。現在まで、10例近くの症例が集積され、術前にわからなかった胸膜転移や、術中の観察では発見が難しかった播種病変が観察されている（図2）。

内科での臨床研究は、気管支癌のハイリスク症例を対象とした前癌病変や早期癌の発見を試みるものである。倫理委員会の承認が得られ、症例の登録が開始されたところである。