

消化器内悪性腫瘍検出のための非染色蛍光分子イメージング技術の開発

[1] 組織

代表者：有本 英伸
 (産業技術総合研究所)
 対応者：香川 景一郎
 (静岡大学電子工学研究所)
 分担者：吉田 成人 (広島大学病院)

[2] 研究経過

(本プロジェクトの目的・概要、及び、研究会、研究打ち合わせ・研究討論会、研究発表会、研究集会等の開催状況を記載して下さい。)

胃癌や大腸癌のような悪性腫瘍の内視鏡検査観察において、従来よりも高精度な腫瘍部位判定を可能とするための非染色コントラストイメージング技術の確立を目指し、蛍光イメージング技術の主要技術開発および抽出試料に対する計測実験から原理の妥当性評価を行うことを目的としてプロジェクトを遂行した。

本プロジェクトは、本年度が初年度であった。これまでは、既報告である365nm、405nmの2波長励起による抽出腫瘍組織の自家蛍光イメージング実験を行い、悪性腫瘍部検出のコントラスト反転などの問題点が明らかになった。そこで本プロジェクトではこれまでの成果を踏まえながら、腫瘍部位および正常部位における自家蛍光スペクトルの取得実験を繰り返し、スペクトルからの不要要素除去技術、血中酸素レベルの推定技術、および補酵素 NADH と FAD の濃度定量化技術の開発を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。

2014年6月4日：広島大学病院において悪性腫瘍自家蛍光スペクトルの計測実験を実施

2014年10月6日：広島大学病院において研究打ち合わせを実施

2014年12月15日：広島大学病院において悪性腫瘍自家蛍光スペクトルの計測実験を実施

2015年1月30日：静岡大学電子工学研究所にて研究打ち合わせを実施

尚、2015年3月9日および23日にも広島大学病院において悪性腫瘍自家蛍光スペクトル計測実験を予

定。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

腫瘍組織の蛍光スペクトル計測光学系の構築および計測実験：粘膜組織に存在する自家蛍光物質はそれぞれ最大吸光波長が異なるため、複数の励起光源を使用した。コラーゲンの最大吸光波長は300～340nm、NADHは260および340nm、FADは375および450nmであることを考慮し365nm、405nm、および450nmのレーザーとLED光源により自家蛍光を励起した。試料から射出光路には励起光をカットするフィルターを設置し、蛍光のみを分光器に導くことで自家蛍光スペクトルを計測した。実験で使用した光学系の概念図を図1に示す。本研究の最終目標は腫瘍部位と正常部位のコントラスト画像を描出することであるため、自家蛍光スペクトルは試料中の腫瘍部位と正常部位の両者を計測した。また、組織中の血液に含まれる酸素レベル（血中酸素飽和度）も悪性腫瘍判定に用いることを予定しているため、これを光学的に計測するのに必要な分光反射率を推定すべく白色光源による反射スペクトル計測も同時に行った。

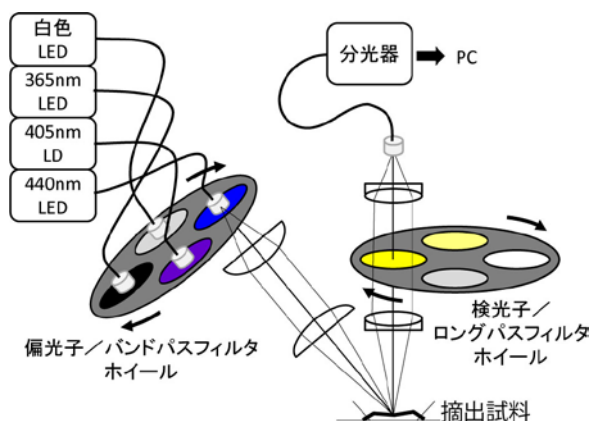


図1：自家蛍光計測のための光学系。

蛍光スペクトルの解析：実験から得られた正常部位と腫瘍部位を含む自家蛍光スペクトルデータを分析し、粘膜組織に含まれる自家蛍光物質の濃度や血中酸素飽和度の推定を行った。計測した自家蛍光ス

ペクトルは粘膜表層部に存在する血中ヘモグロビンにより表面からの射出時に光吸収を受けて変調されている。そのため、物質が発した自家蛍光スペクトルを推定するために吸収物質の影響の補正をはじめに行った。これは、自家蛍光スペクトル計測と同時に行った白色光源による反射スペクトル計測実験のデータを用いた。組織に含まれる物質のうち、可視領域で光吸収を示すものはメラニン、酸化ヘモグロビン、脱酸化ヘモグロビンが支配的であることから、これらの既知の吸収スペクトル（モル吸光係数）を線形的に合成し、実測した分光反射率を合成するフィッティング手法を採用した。これにより組織における正常部位と腫瘍部位での血中酸素飽和度の推定に成功した（図2）。血中酸素飽和度は正常部位よりも腫瘍部位の方が低くなる傾向が得られたが、これは癌細胞は正常細胞よりも増殖能が高いため、悪性腫瘍部位では慢性的に酸素分圧が低くなりやすいという事実と整合する結果である。したがって、本手法によって組織の血中酸素飽和度を推定することが腫瘍判定の補助的情報として使用できるという見通しを得た。

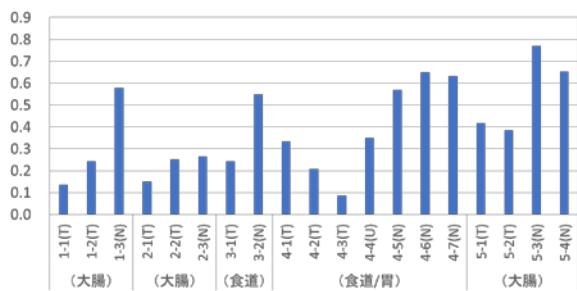


図2：酸素飽和度の推定結果。横軸の凡例は試料番号-測定点番号(正常/腫瘍の別)を意味する。ただし、正常、腫瘍の別ではNが正常部位、Tが腫瘍部位を表す。明らかに腫瘍部位の酸素飽和度が低い傾向が得られた。

補酵素NADHとFADの定量化も同様に既知の要素自家蛍光スペクトルを線形合成し、実測したスペクトルへフィッティングする手法を採用した。目的物質であるNADHとFAD以外に、組織に存在するコラーゲンも自家蛍光を発することが知られているが、コラーゲンの自家蛍光スペクトルはNADHやFADを正しく定量化するためのノイズ要因となるので、計測スペクトルから除去する目的で定量化を行った。腫瘍判別のためには、NADHとFADの自家蛍光を正確に分離、定量化するとともに、コラーゲンなどの不要な自家蛍光成分を排除する必要があるが、このためには適切な励起波長を選定する必要がある。一般的に励起波長が異なると自家蛍光スペクトルも

ピーク波長がシフトすることが知られているが、上記の目的のためには励起波長 405nm、あるいは450nm が現時点では有力な候補と考えている。NADHとFADの既知自家蛍光スペクトルの線形合成によるフィッティング法からそれぞれの補酵素の濃度推定を行ったが、現在その妥当性を検討中であり、年度末にかけての計測実験によってデータを補強する予定となっている。

蛍光イメージング光学系の構築と計測実験：蛍光スペクトル解析のプロセスから得られた選定波長や画像間演算方法をもとに、腫瘍部の高コントラスト蛍光イメージング光学系を構築し、腫瘍組織のイメージング計測実験を行った。静岡大学で開発した高感度イメージセンサーを用いて、摘出主要組織を計測し、血中ヘモグロビンの酸素飽和度や自家蛍光の2次元イメージングを行い、悪性腫瘍の選択的描出技術に関する新規原理技法の可能性について検討を行った。

(3-2) 波及効果と発展性など

本プロジェクトは学外研究者との交流が活性化し、自家蛍光計測にもとづく消化器系悪性腫瘍検出イメージング技術の開発というテーマで科学研究費補助金基板Bへの応募を行った。また、補酵素の定量化とイメージングへの展開に関して早期に原理構築を行い、知財の取得を目指す。また、内視鏡技術の新規開発であることから、研究成果が企業で利用されることが十分期待され、将来の共同研究や製品化としての発展性も高いと思われる。

[4] 成果資料

(1) 尾崎聖史, 有本英伸, 香川景一郎, 徐珉雄, 高澤大志, 小南陽子, 吉田成人, 田中信治, 安富啓太, 川人祥二, “ヘモグロビン吸収を考慮した自家蛍光腫瘍イメージング法の提案と基礎検討”, 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014, 講演予稿集 6pA10 (Nov., 2014).

出張報告

該当なし(ただし、個別経費にて、1月30日静岡大学浜松キャンパスに本研究プロジェクト関係者が集まり、研究打合せを行った。)