

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19932

研究課題名(和文) ビタミンB2投与による肺動脈血流を利用した肺区域同定法の開発

研究課題名(英文) A novel method of identifying pulmonary intersegmental planes using intravenous injection of vitamin B2.

研究代表者

齋藤 大輔 (SAITO, DAISUKE)

金沢大学・附属病院・医員

研究者番号：50722055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：肺区域切除において光線力学診断(photodynamic diagnosis: PDD)用内視鏡システムとビタミンB2を利用した蛍光法により切除対象区域の肺動脈血流を利用した肺区域間同定法を確立しブタ生体において有用性を評価した。また、同様にブラックライトでも肺区域間の同定が可能かどうかを検討した。切除対象区域の肺動脈を結紮、耳静脈からビタミンB2を全身投与しPDD用内視鏡システムおよびブラックライトにより観察した。いずれにおいてもブタ生体における動物実験で本法の有用性を証明した。

研究成果の概要(英文)：In this study we attempted to identify the intersegmental planes after ligation of the dominant pulmonary artery using a photodynamic diagnosis endoscope system and a black-light after intravenous injection of vitamin B2. We established this method and proved its feasibility in vivo porcine lung.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺癌 区域切除 外科 ビタミンB2 光線力学診断 ブラックライト

1. 研究開始当初の背景

原発性肺癌に対する標準術式は肺葉切除及び縦隔リンパ節郭清である。CT 肺癌検診の普及による小型肺癌の増加、低肺機能患者の増加により、近年、肺区域切除を必要とする状況が増えてきている。現在、小型肺癌に対して、より切除範囲の少ない縮小手術、すなわち肺区域切除の是非を検証する全国規模の臨床試験 (JCOG1211, JCOG0804, JCOG0802/WJOG4607L) が行われている。今後、肺区域切除が肺癌の標準術式となる可能性がある。

肺は右3葉、左2葉からなり、肺区域はそれをさらに小単位に分けたものであり右10区域、左8区域に分けられる。原則胸膜により分かれている肺葉の切除とは異なり、区域切除は区域間を同定する必要がある。解剖学的には区域間結合織が存在し、肺区域を分けているが肺表面より区域間結合織を認識することは不可能である。古典的には区域間肺静脈がこの結合織の層に存在するため、区域を同定する目安とされてきたが、variationが多く、また肺区域は立体的構造であるため肺静脈のみを目安とするのでは不十分な場合が多い。そこで、肺区域の構成要素として、肺動脈および気管支が同様の走行をしており、これらの支配領域を同定することで肺区域同定が可能となる。現在最も一般的な方法は、切除区域の気管支より切除区域を選択的に含気もしくは虚脱させることで含気虚脱ラインを作成し、区域同定を行う方法である。この方法は、空気を区域の識別に用いるため簡便であり、作成された含気虚脱ラインは肺表面からの同定が良好であるが、区域切除時、肺実質内に切り込んでいく際にはラインの見極めが困難となる。また胸腔鏡下や小切開での手術においては肺を含気させることで術野が失われ、操作性が低下する。その他、様々な区域同定法の報告があるが、一定していないのが現状である。理想的な区域同定法は、<1>肺表面だけでなく肺実質内での正確な見極めが可能であること、<2>簡便・安全であること、<3>背景肺の影響を受けにくいこと、これらがバランスよく達成されることが必要である。

2. 研究の目的

本研究で注目したのは光線力学診断 (Photodynamic diagnosis, 以下 PDD) 用内視鏡システムである (KARL STORZ GmbH and Co., Tuttlingen, Germany)。本システムは、フィルター交換により通常光、自家蛍光、外因性蛍光をとらえることが可能であり、外因性蛍光として 375~445nm の励起光で 480~800nm の波長を観察可能である。これまで、当教室では本システムを利用した肺のセンチネルリンパ節同定に関する基礎的研究 [1] を行ってきた。その中で有用な蛍光物質としてビタミン B2 を発見した。ビタミン B2 は、本システム下で他の蛍光物質と比較し、極めて

強い蛍光をしめし、加えてアレルギー・中毒が原則存在しない安全性を有し、さらに安価であり、優れた蛍光物質であると考えられる。PDD 用内視鏡システムなどの特殊なシステムがなくともブラックライトでも発光可能である。

当教室では今までに科研費の助成を受け [2][3] ビタミン B2 を蛍光物質とした研究を様々行ってきた。区域間同定においてはビタミン B2 水溶液を経気道的に注入し、PDD 用内視鏡システムの外因性蛍光モードによる肺区域間同定法を開発した [4]。本法は、<1>肺表面だけでなく肺実質内でも強い蛍光により区域間の同定が可能であること、<2>副作用の可能性が極めて低く、安価で取り扱いも容易なことより、理想的な区域同定法の要点を有している。しかし、正常肺には理想的な方法であるが、肺気腫などの病的肺では区域間に存在する Kohn 孔や Langston 管の開大を認め、経気道的注入では正常な区域間を描出できない可能性が高い。そこで支配領域が類似しており、破格の少ない肺動脈血流を利用した区域間同定法が理想的であると考えた。また、経気道的注入法ではビタミン B2 水溶液が注入されるため、肺が膨張し術野が失われ、操作性が低下する。切除検体も同水溶液により容積が増大し検体の取出しに手間がかかることも臨床応用には不向きである。しかし、支配肺動脈に直接ビタミン B2 を投与するのでは、出血の危険性、肺静脈への誤穿刺による空気塞栓の可能性などがあるため不適と思われる。そこで切除区域の支配肺動脈を遮断後にビタミン B2 を経静脈的に全身投与することで、これらの問題点が解決できると考えた。よって切除予定区域は蛍光欠損部となる。

本研究では肺動脈血流を利用したビタミン B2 による肺区域同定法の臨床導入を目指し、研究・評価を行うことを目的とした。

[1] Vitamin B2 as a Tracer for Intraoperative Pulmonary Sentinel Node Navigation Surgery, Anticancer Research, Anticancer Research 30, 4109-4114, 2010.

[2] JSPS KAKENHI Grant Number 23791562、若手研究(B)、早稲田龍一、光線力学診断を利用した新しい肺区域同定法の開発

[3] JSPS KAKENHI Grant Number 25861243、若手研究(B)、早稲田龍一、光線力学診断を利用した肺マーキング法の開発および臨床展開

[4] A novel fluorescence technique for identification of the pulmonary segments by using the photodynamic diagnosis endoscope system an experimental study in ex vivo porcine lung, J Thorac Cardiovasc Surg 146, 222-7, 2013.

3. 研究の方法

(1)PDD 用内視鏡システムを用いた肺動脈血流を利用した肺区域同定手技の確立：

塩酸ケタミンの筋肉注射により麻酔導入(鎮痛・鎮静)を行う。耳静脈に末梢静脈路を確保後に気管切開を施行、維持麻酔(鎮痛・鎮静)としてハロタンを使用し、人工呼吸器を用いた調節呼吸を行う。さらに術中の非動化を得るため臭化パンクロニウムを併用する。側臥位で開胸を行う。プロッカーにより分離肺換気とする。

その後、切除対象区域の支配肺動脈を同定・剥離する。切除対象区域の肺静脈はテーピングのみ、切除対象区域の気管支は気管支動脈血流を遮断するため結紮した。同定した肺動脈を結紮・切離し、肺動脈血流を遮断した後、末梢静脈路よりビタミン B2 200mg/body を静脈内注射する。肺動脈血流の遮断された切除対象区域のみビタミン B2 の分布がないため、PDD 用内視鏡システムで観察すると切除区域が蛍光欠損部、残存区域が蛍光部となり、区域間の同定が可能となる。

〔評価項目〕

投与後の肺区域間の同定の可否を評価した。また投与後 30 分間の蛍光強度を測定した。描出された区域間を電気メスにてマーキング後にそれを指標に区域切除を行う。区域間は剪刀で丁寧に切離し、切除対象区域の支配気管支および肺静脈は結紮切離を行い、区域切除を完遂した。

脈管、気管支の損傷や空気漏れの程度により区域間同定の精度を評価した。その後 KCL の静脈内注射により安楽死させた。本評価の肺区域切除部位を左前葉前部として計 6 体のブタ生体で評価した。蛍光強度は U11437 (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) により測定した。

(2)ブラックライトでの検討

ビタミン B2 はブラックライトでも蛍光を発する。ブラックライトは PDD 用内視鏡システムと比し、安価であり入手しやすい。今回付随的にブラックライト(LED ブラックライト TRI-365 HB, NDT アドヴァンス, 埼玉)でも蛍光描出可能かを上記と同様にブタ 6 頭で評価した。

4. 研究成果

(1)PDD 用内視鏡システム

計 6 頭においていずれも区域間同定が可能であった(図 1)。ビタミン B2 投与後平均 64 秒で区域間を認識し得た。いずれも観察した 30 分は蛍光が持続しており、蛍光領域と非蛍光領域の蛍光強度にも有意な差を認めた(図 2)。

区域切除では胸膜面の切離だけでなく肺実質の切離でも境界が認識可能であった。全 6 例で脈管、気管支の損傷は認めず、区域切除を完遂し得た。2 例でわずかな空気漏れを認めたのみであった(図 3)。

図 1

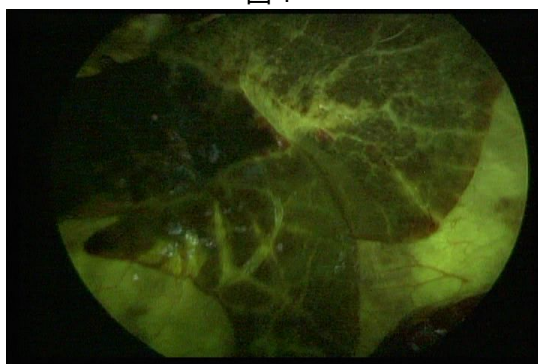


図 2

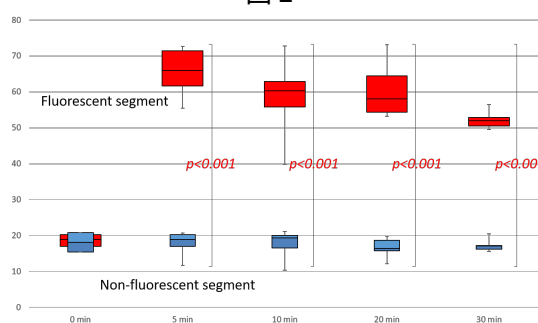


図 3

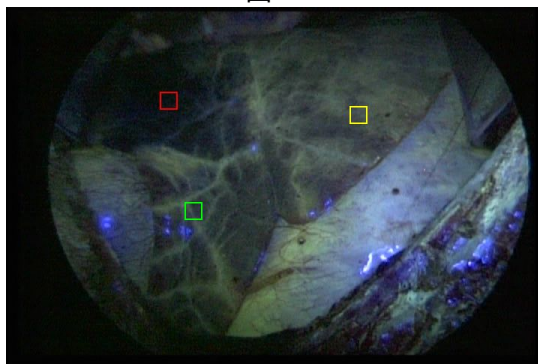
Identification rate (%)	100
Complications	0
Bronchial injury	0
Vessel injury	0
Air leakage	Grade 0: 4 Grade 1: 2

Graded by the Macchiarini scale: the presence or absence of air leaks was scored as grades 0 (no leak), 1 (countable bubbles), 2 (stream of bubbles), and 3 (coalesced bubbles).

(2)ブラックライト：

ブラックライトでも同様に全例で区域間の描出が可能であった(図 4)。今後はビタミン B2 適切なブラックライトの波長の検討が必要である。

図 4



以上より生体における本手技の有用性の示すことができ、本研究の成果を今後国内学会で発表予定であり、また現在、論文を作成、海外雑誌に投稿を予定している。

今後はブラックライトに特異的な波長を出す機器の開発が必要と考える。さらには、本研究の成果をもって、本来の目的であるヒト臨床への本手技の導入を進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 大輔 (SAITO DAISUKE)
金沢大学・附属病院・医員
研究者番号：50722055

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

該当なし