

ラット実験腫瘍におけるインドシアニングリーンと近赤外光トポグラフィーを用いた癌診断法の基礎的研究

大畑 崇¹⁾ 阿部 由直¹⁾ 三浦 富智²⁾ 佐藤 達資²⁾

1) 弘前大学医学部医学科放射線医学教室
2) 弘前大学医学部保健学科検査技術科学専攻

An experimental Study for Tumor Detection by Indocyanine Green with Near-infrared Topography

Takashi Ohata¹⁾, Yoshinao Abe¹⁾,
Tomisato Miura²⁾, and Tatsusuke Sato²⁾

We studied tumor detection by indocyanine green (ICG) with near-infrared topography in rat experimental tumors: hepatoma AH109A and osteosarcoma POB102. Time-intensity curves and topograms after ICG injection were obtained in tumors and surrounding normal tissues. Intensities in tumors were slowly reduced, and intensities in normal tissues were rapidly reduced, resulting in positive tumor image in topogram. It is concluded that near-infrared topography enhanced by ICG is useful for cancer detection.

Research Code No.: 209.9

Key words: Near-infrared topography, Indocyanine green, Rat experimental tumors, Tumor vessels

Received Dec. 17, 2001; revision accepted Apr. 8, 2002

1) Department of Radiology, Hirosaki University School of Medicine
2) Department of Medical Technology, Hirosaki University School of Health

別刷請求先
〒036-8562 弘前市在府町 5
弘前大学医学部医学科放射線医学教室
大畑 崇

はじめに

700～1,300nmの波長域の近赤外光は、その高い生体透過性から生体計測に用いられる^{1),2)}。発光部から照射された近赤外光は生体組織を通過し受光部に至るが、深部方向へは発光部-受光部間距離の約半分の深さまで到達するとされる²⁾。近赤外光が生体組織を通過する際にヘモグロビン(Hb)等の酸素代謝を担う色素蛋白により吸収され、この過程で生じる透過光量変化に基づいて組織内のHb量の変化が計測され、血液量の変化を検討することが可能となる²⁾。これを二次元画像化したものを近赤外光トポグラフィーといい、実際に脳機能計測の研究に応用されている¹⁾。インドシアニングリーン(ICG)の生体内最大吸収波長は約800nm^{3,4)}で、近赤外光による検出が可能である。この性質を利用してICG投与によるラット実験腫瘍の検出を行い、その機構と有用性について検討した。

材料および方法

本研究は弘前大学動物倫理委員会の承認ならびに動物実験に関する指針に則って行われた。雌ドブネラット12匹の背部皮下に腹水肝癌由来のAH109Aを、フィッシャーラット3匹の背部皮下に骨肉腫由来のPOB102を移植し、腫瘍径が約2cmとなった時点で実験を行った。

近赤外光トポグラフィー装置(日立メディコ製)は近赤外光送受信部、データ処理部と表示部からなる本体とプローブより構成される。プローブは光ファイバーで光源と接続され、発光部、受光部各8本が10mm間隔で縦4×横4列に市松状に配置され、24カ所でデータ収集が行われる(Fig.1)。光源より近赤外レーザー光(780±15nm, 830±15nm)を照射し、受信した信号を経時的変化として画像化した。本装置では信号として酸化、還元、総Hb濃度が相対値として得られるが、今回の実験では総Hb濃度変化を解析した。担癌ラットの背部に皮下腫瘍を中心としてプローブを装着し、ICG溶液を0.5, 1.0, 1.5mg/kg体重当たり尾静脈から投与し、Fig. 1に示す各計測部位における信号の経時の変化を30～60分間計測し、時間-信号強度曲線とトポグ

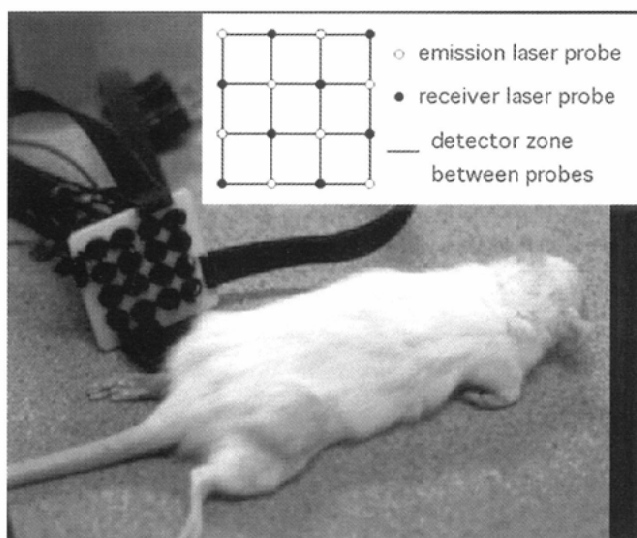


Fig. 1 Probes with tumor bearing rat. Inserted photo indicates schematic diagram of laser probes.

ラムを得た。曲線をもとに信号のピーク値、ピーク時間および半減時間を算出した。信号の最大値をピーク値、ICG投与から信号が最大になるまでの時間をピーク時間、ピーク値の時点から信号がピーク値の半になるまでの時間を半減時間とした(Fig. 2)。同様の実験を非担癌ラット15匹の軟部組織(以下正常軟部組織)で行った。統計学的解析はWelchまたはStudent t検定にて行った。

結 果

担癌ラットのデータ収集終了時のトポグラムにおいて、腫瘍にはほぼ一致する高信号域が描出された(Fig. 3)。腫瘍の中央は著しい高信号、腫瘍の辺縁は軽度高信号、腫瘍の周囲は低信号を示した。それぞれ腫瘍中央部、腫瘍辺縁部、腫瘍周囲組織と定め、以下の解析を行った。病理組織像では、中央部に腫瘍細胞と壊死層が、辺縁部に腫瘍細胞と正常組織の混在が観察された。

時間-信号強度曲線は、正常軟部組織、腫瘍中央部、腫瘍辺縁部、腫瘍周囲組織のすべての部位でICG投与直後から信号が上昇してピークに達し、その後は減衰した。ピーク値はICG濃度に比例した(Fig. 4)が、ピーク時間と半減時間はICG濃度と無関係であった。AH109A群の各計測部位においてピーク時間に有意差はなかったが信号の減衰曲線に差がみられ、腫瘍周囲組織では正常軟部組織と同様に速やかな減衰を、腫瘍部では緩徐な減衰を示した(Fig. 2)。半減時間で検討すると腫瘍中央部(267.6 ± 50.6 秒)、腫瘍辺縁部(188.4 ± 36.3 秒)、腫瘍周囲組織(128.2 ± 30.8 秒)の順となりそれぞれの間に有意差がみられ($p < 0.05$)、腫瘍周囲組織と正常軟部組織の半減時間(135.1 ± 17.3 秒)に差はなかった(Table)。またPOB102群の値はAH109A群の範囲内にあった。

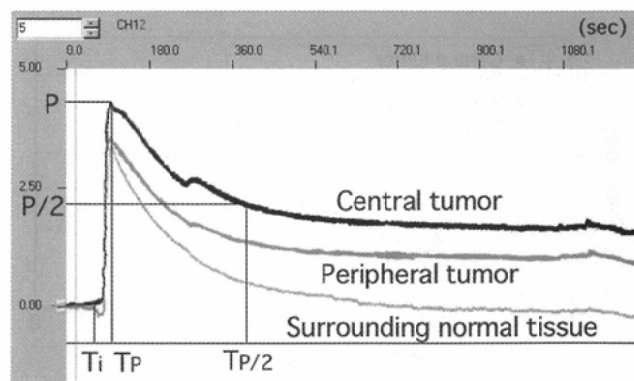


Fig. 2 Time intensity curves at various tumor regions after ICG injection.

P: peak value, P/2: half peak value, Ti: time at injection, Tp: time indicating P, $T_{P/2}$: time indicating P/2, $T_P - T_i$: peak time and $T_{P/2} - T_P$: half time.

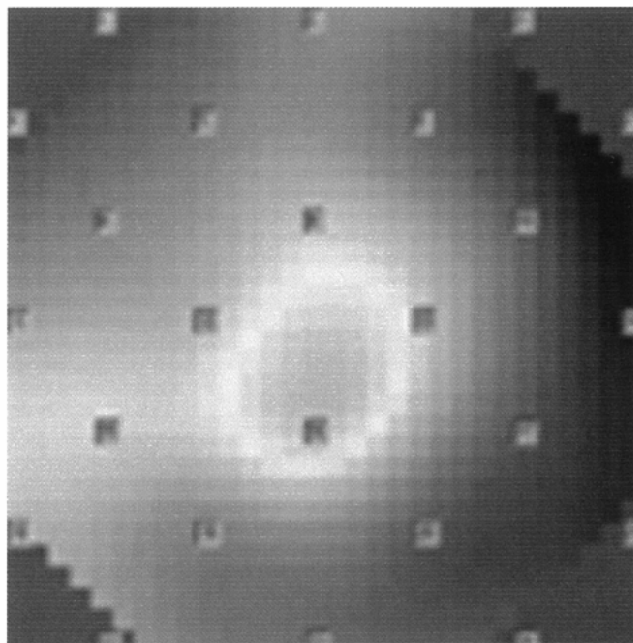


Fig. 3 Typical topogram of AH109A tumor obtained 50 minutes after ICG injection.

考 察

これまでICG投与後、近赤外光により乳癌と胃癌の検出が可能であることが報告されている^{3),4)}。われわれは複数の実験腫瘍においても腫瘍が検出されること、腫瘍と腫瘍周囲組織で半減時間に明確な差があることを明らかにした。この原因として、腫瘍におけるICGの排泄が軟部組織に比し遅延していることが考えられた。さらに本論文では省略するが腫瘍組織および培養腫瘍細胞の観察から、ICGが腫瘍細胞に摂取されず腫瘍間質、特に血管に存在することが

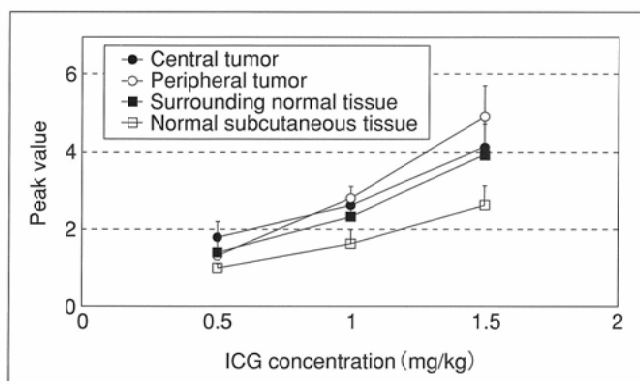


Fig.4 Relationship between ICG concentration and peak value in AH109A tumor and normal subcutaneous tissue.

推測された。これは間接的に薬物動態解析からICGが血液プールにあると推測した報告³⁾と一致し、腫瘍血管のランダムな開閉による血流停滞⁵⁾からICGの排泄遅延が生じると考

Table Half-time and peak time at various tumor regions and normal subcutaneous tissue after injection of ICG.

	Half time (sec)*	Peak time (sec)*
Central tumor	267.6 ± 50.6	34.1 ± 13.4
Peripheral tumor	188.4 ± 36.3	34.8 ± 10.9
Surrounding normal tissue	128.2 ± 30.8	29.8 ± 9.4
Normal subcutaneous tissue	135.1 ± 17.3	31.4 ± 13.0

*: Average ± S.D

えることもできる。

以上より近赤外光トポグラフィーはICGを併用することにより癌診断に応用できる可能性が示された。

文 献

- 1) 牧 敦, 山下優一, 伊藤嘉敏, 他: 光トポグラフィによる無侵襲脳機能計測. BME 11(5): 12-18, 1997
- 2) 小見山高士, 重松 宏, 小野塚温子: NIR: S(近赤外線分光法). 血管無侵襲診断法研究会将来構想委員会編: 血管無侵襲診断の実践, 33-36, 2001, 文光堂, 東京
- 3) Gurfinkel M, Thompson AB, Ralston W, et al: Pharmacokinetics of ICG and HPPH-car for the detection of normal and tumor tissue using fluorescence, near-infrared reflectance imaging: a case study. Photochem Photobiol 72: 94-102, 2000
- 4) Reynolds JS, Troy TL, Mayer RH, et al: Imaging of spontaneous canine mammary tumors using fluorescent contrast agents. Photochem Photobiol 70: 87-94, 1999
- 5) Chaplin DJ, Olive PL, Durand RE: Intermittent blood flow in a murine tumor: radiobiological effects. Cancer Res 47: 597-601, 1987