



Optical diagnosis of gastric cancer using near-infrared multichannel Raman spectroscopy with a 1064-nm excitation wavelength

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2010-10-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 川端, 俊貴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1935

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 5 5 9 号	学位授与年月日	平成 22 年 3 月 15 日
氏 名	川 端 俊 貴		
論文題目	Optical diagnosis of gastric cancer using near-infrared multichannel Raman spectroscopy with a 1064-nm excitation wavelength (1064 nm の励起波長による近赤外マルチチャンネル ラマン分光法を用いた胃癌の光学的診断)		

博士(医学) 川 端 俊 貴

論文題目

Optical diagnosis of gastric cancer using near-infrared multichannel Raman spectroscopy with a 1064-nm excitation wavelength

(1064 nm の励起波長による近赤外マルチチャンネルラマン分光法を用いた胃癌の光学的診断)

論文の内容の要旨

[はじめに]

胃癌は日本において最も頻度の高い癌の一つである。近年の光学的内視鏡診断技術の進歩により早期発見が可能となっているが、さらなる予後の改善のために新規診断技術の開発が期待されている。ラマン分光法 (Raman spectroscopy: RAS) は 1928 年に Raman により確立され、近年の技術発達により光学的診断に応用できる技術の一つとなった。RAS の原理は、物質に光が入射されると波長に小さな変化(ラマンシフト)を起こした光が散乱(ラマン散乱)される現象に基づいている。検体を前処理する必要がないためリアルタイムでの測定が可能である。また「分子の指紋」と呼ばれ、組織特異的な化学的情報の取得ができる。RAS を胃癌診断に応用できれば、胃癌の早期発見に寄与し、さらなる予後の改善が期待できる。

RAS において最も必要なことはラマン散乱光の取得であるが、ラマン散乱光は微弱で組織からの蛍光に妨害される。このため長波長励起により蛍光の影響を除外することが試みられているが、長波長励起のラマン散乱光は通常の CCD では検出できないため、我々は 1400 nm までの長波長に感度をもつ近赤外マルチチャンネル RAS 装置を開発した。本研究では、この新しく開発した RAS が胃癌の診断に応用できるかどうかの基礎的な検討を行った。

[材料と方法]

倫理委員会の承認と、すべての患者からのインフォームド・コンセントを得た。2005 年から 2006 年までに浜松医科大学第二外科で内視鏡検査を受けた胃癌 49 症例を対象に胃癌と正常粘膜から計 6 個の生検検体を採取した。検体は無処理で測定点を変えて数回測定し、測定後 HE 染色し組織学的に評価した。また胃癌切除検体は無処理で癌部と正常粘膜部のいくつかの点を測定した後、病理組織学的に診断した。

測定には 1064 nm 励起近赤外マルチチャンネル RAS 装置を使用した。Nd:YAG laser (1064 nm) で励起し、後方散乱光を近赤外光に感度のあるイメージインテンシファイア(浜松ホトニクス製)を用いて採光した。ラマンスペクトルは白色光による感度補正とインデンのラマンスペクトルによる波長補正を行い、 1027.5 cm^{-1} から 1794 cm^{-1} の合計強度で標準化した。これを検体毎に平均化し解析した。

主成分分析(PCA)によりスペクトルの特徴を抽出し、判別分析により胃癌の判別能を評価した。胃癌と正常粘膜の単一ラマンシフト(1644 cm^{-1})の強度の比較は、t 検定により検討した。

[結果]

ヒトの血液と脂肪組織を 1064 nm 励起により測定した結果、高シグナル／ノイズ(S/N) 比のラマンスペクトルが得られた。また、785 nm 励起にて正常胃粘膜を測定すると強い自家蛍光に妨害されたが、我々の装置での 1064 nm 励起では高 S/N 比の胃粘膜ラマンスペクトルを得ることができ、

本装置は物質診断に有用であることが確認された。

この結果に基づき胃癌 49 症例から 251 (123 の癌組織と 128 の正常粘膜) の生検検体を採取し、1064 nm 励起によるラマンスペクトルを測定した。癌と正常粘膜から得たラマンスペクトルの全体的な形状は似ていたが、それぞれの平均スペクトルには違いが見られた。さらに 251 のラマンスペクトルに対し PCA および判別分析を施行したところ、感度 66%、特異度 73%、正診率 70% で癌と正常粘膜を判別できた。PCA で得られた第一主成分の最も高いピークの波数は 1644 cm^{-1} であり、この波数が特徴的な性質を示していると考えた。 1644 cm^{-1} における強度を比較すると、癌と正常粘膜で有意な差を認め (t 検定、 $P<0.001$)、 1644 cm^{-1} における単一ラマンシフトの強度を用いた判別分析では、感度 70%、特異度 70%、正診率 70% で癌と正常粘膜を判別できた。

次に切除検体の癌部 5 点、正常部 5 点からラマンスペクトルを取得したところ癌部のラマンスペクトルは正常部のラマンスペクトルと区別できた。 1644 cm^{-1} におけるラマンシフトの強度は癌部と正常部で有意差があった (t 検定、 $P<0.05$)。

[考察]

胃癌に対する RAS はこれまで *in vitro* でのみ研究されており、今回初めて新鮮な臨床検体を *ex vivo* として用いた。RAS はこれまで、乳腺や、肺、食道、その他の悪性疾患に対して用いられている。中でも乳癌においては、RAS を用いた判別で高い感度と特異度をもつことが報告されているが、胃癌研究の報告は少ない。RAS による胃癌診断が困難である理由として、1. 胃癌は、乳癌の様に高密度で硬くなることのない、2. 胃癌には種々の組織型がある、3. 胃癌患者の正常胃粘膜にはほとんど慢性炎症が存在する、などが考えられる。これらの問題を克服し、正診率を上げるために、我々はヘリコバクター・ピロリ感染と炎症がない健常人正常胃粘膜の RAS による研究を開始した。また胃癌に対する胃切除検体の直接測定を始めた。癌部のラマンスペクトルは正常部のものと区別できたが、今後生検検体のラマンスペクトルと比較するとともに、より精細な研究が必要と考えられた。

今回の研究では 1644 cm^{-1} にピークが存在した。 1644 cm^{-1} は 1650 cm^{-1} と同様に蛋白／アミド結合のピークと考えられた。癌組織において 1644 cm^{-1} の強度が大きいことは、高い蛋白合成のために大きな N/C 比となる癌細胞の数が増加している可能性を示唆している。単一波数 (1644 cm^{-1}) の強度を用いた正診率は、スペクトルに含まれるすべての情報を利用した PCA と同程度であり、単一波数における強度の使用でラマン診断法を簡易化できる可能性が示された。

今回の研究により初めて、1064 nm 励起近赤外マルチチャンネル RAS 装置を用いた胃癌診断の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

ラマン分光法は、前処理なしで物質特異的なスペクトルを観測可能であり、癌診断への応用が期待されている。申請者は、49 例の胃癌患者から内視鏡下で採取された胃癌組織と正常粘膜組織に対して 1064 nm 励起近赤外マルチチャンネルラマン分光装置を用い、ラマン散乱光を解析した。その結果、胃癌組織と正常粘膜ではラマン散乱光のスペクトルに相違がみられ、主成分分析では感度 66%、特異度 73%、正診率 70% で癌と正常粘膜を判別できた。第一主成分の最も高いピークの波数は 1644 cm^{-1} であり、 1644 cm^{-1} の単一ラマンシフトの強度の比較でも 70% の正診率が

得られ、ラマン診断法を簡易化できることを示した。また切除標本でも癌部と非癌部で 1644 cm^{-1} のラマンシフトの強度に有意差を認めた。 1644 cm^{-1} のピークは蛋白/ペプチドのアミド結合に由来し、癌組織の活発なタンパク合成を反映していると考えられている。以上の結果から、申請者は 1064 nm 励起ラマン分光法により、簡便で迅速な胃癌診断ができることを示した。

審査委員会では、申請者が開発したラマン分光法を用いる診断法が胃癌の迅速診断法として有望であり、生検材料、切除標本を用いた本研究が将来の内視鏡下でのインビボ胃癌診断への応用の基礎になる研究であると高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した

論文審査担当者	主査	阪原 晴海		
	副査	間賀田 泰寛	副査	古田 隆久