



近紫外線励起固有蛍光法による口腔病変の分析

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村井, 睦彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1010

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 157号	学位授与年月日	平成 6年 3月25日
氏 名	村 井 睦 彦		
論文題目	近紫外線励起固有蛍光法による口腔病変の分析		

医学博士 村井睦彦

論文題目

近紫外線励起固有蛍光法による口腔病変の分析

論文の内容の要旨

口腔病変は大部分が直視可能で視診や触診によってある程度診断可能であるが、確定診断は病理組織学的診断によらなければならない。しかし、病変の surgical margin の決定や癌残存の有無の検索のため、観血的な生検を頻繁施行することは困難である。また、従来の理学的診断および画像診断等では微細な病変を診断することはできない。

一方、生体組織に固有蛍光が存在することは古くから知られていたが、蛍光強度が微弱なためその蛍光成分の同定は困難であった。1980年、胃癌切除標本において癌組織特有な固有蛍光があるという川北らの報告があるが、口腔領域での報告は渉猟しえた範囲では鷺野谷らおよび Harris らの報告のみであった。鷺野谷らの口腔固有蛍光の測定方法は高感度フィルムを使用しているので、現像および焼き付け等の複雑な操作が必要である。そこで申請者は波長可変型レーザー (Optical Parametric Oscillator (OPO) レーザー) を励起光源とする蛍光画像診断治療装置を用いる方法で健常ヒトの口腔固有蛍光の研究をしてきた。

しかし、この装置はレーザーを用いるため大型で高価である。そのため申請者は暗視装置ナイトビューアーを用い、高感度で即時診断可能な近紫外線励起固有蛍光撮影装置を開発した。この装置の有用性を調べるために、蛍光画像診断治療装置を用いる方法と比較検討した。その結果、申請者の開発した装置は先の測定法にとって代わると高感度で操作法が簡便な小型で安価なものとなった。

そこで、この方法によりヒトの口腔固有蛍光をコントロールとして、口腔悪性腫瘍の固有蛍光のスペクトル解析を行い、固有蛍光による非観血的な口腔悪性腫瘍の蛍光診断法の確立を試みた。

まず最初に、OPO レーザー・蛍光画像診断治療装置で健常ヒト口腔固有蛍光を測定した。対象は健常な男女 (男32名、女7名、合計39名) で、平均年齢25.4歳 (22~36歳) であった。測定部位を代表点として舌背部、右舌側縁部、右下顎第1大臼歯頰側付着歯肉部、右頬粘膜部、硬口蓋部、軟口蓋部、口底部および下唇粘膜部の8点とした。励起波長 (Ex) は OPO レーザーでは355nm および410nm、キセノンランプでは360nm および410nm にそれぞれ設定した。照射は照射野に対して垂直に約5mm離して行なった。

その結果、Ex355nm (キセノンランプでは360nm) においては、舌およびその他の部位で490~510nm に極大点を有する各種の単峰性の蛍光スペクトル (Em) が確認された。Ex410nm では、Em610nm および620nm~650nm に極大点を有する各種の単峰性の蛍光スペクトルが存在した。しかし、610nm 付近に極大点を有する蛍光スペクトルをもつものはごく小数であった。また、舌とその他の舌以外の部位では、相対蛍光強度に有意の差があることを認めた。

次に、申請者が開発した近紫外線励起固有蛍光撮影装置を用いて9例の口腔悪性腫瘍患者の患部を蛍光スペクトル分析した。これによれば、Ex410nm では、全例に Em630nm と680nm にそれぞれ極大点をもつ2峰性の蛍光スペクトルがあることがわかり、健常ヒト口腔固有蛍光と明らかに差異が認められた。false-positive が3%で false-negative が0%であり、したがって正診率は97%であった。本法により、非観血的で高感度な口腔悪性腫瘍の蛍光診断が可能になった。

性別、年齢、初発部位、癌の進行度や浸潤様式の違いなどにより蛍光スペクトルに差は認められな

かった。また、低分化のもの程、蛍光強度が高い傾向がみられた。

口腔悪性腫瘍患者の蛍光特性はプロトポルフィリンの蛍光特性にきわめて類似しており、蛍光成分がプロトポルフィリンである可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

口腔病変は大部分が視診や触診によってある程度診断可能であるが、確定診断は病理組織学的診断によらなければならない。しかし、病変の surgical margin の決定や癌残存の有無の検索のため、観血的な生検を頻繁に施行することは困難である。また、従来の理学的診断および画像診断などでは微細な病変を診断することはできない。

一方、生体組織に固有蛍光が存在することは古くから知られていたが、蛍光強度が微弱なためその蛍光成分の同定は困難であった。1980年、胃癌切除標本において癌組織特有な固有蛍光があるという川北らの報告があるが、口腔領域での報告は渉猟しえた範囲では鷺野谷らおよび Harris らの報告があるにすぎない。

口腔固有蛍光の測定方法には、鷺野谷らの特殊紫外線ストロボ蛍光測定法があるが、この方法は高感度フィルムを使用しているので、現像および焼き付けなどの操作が繁雑である。そこで、申請者は波長可変型レーザー（OPO レーザー）と photodynamic therapy（PDT）用蛍光画像診断治療装置を組み合わせた新しい測定法を用いて口腔固有蛍光を測定した。しかし、この方法もレーザー装置が大型で高価であるため、実際の口腔臨床診断への応用に不便である。

申請者は、主論文に発表した研究において、先の測定法にとって代わる高感度で操作方法が簡便な小型で安価な紫外線励起固有蛍光撮影装置を研究開発した。

そして、この方法により健常ヒトの口腔固有蛍光をコントロールとして口腔悪性腫瘍の固有蛍光の検出と蛍光スペクトル解析を行なった結果、この方法が非観血的な口腔悪性腫瘍の診断に極めて有効であることを明らかにした。

主として申請者が開発した紫外線励起固有蛍光撮影装置および比較対照装置として OPO レーザー・PDT 蛍光画像診断治療装置を用いて、測定の際の照射の幾何学的条件を一定（照射は照射野に対して垂直に 5 mm 離して行った。）にして、次のような実験を行った。

まず、健常な男女（男 32 名、女 7 名：合計 39 名、22～36 歳：平均年齢 25.4 歳）を対象とし、測定部位は代表点として舌背部、右舌側縁部、右下顎第 1 大臼歯頰側付着歯肉部、右頬粘膜部、硬口蓋部、軟口蓋部、口底部および下唇粘膜部の 8 点とした。その結果、励起波長（Ex）360nm では舌およびその他の全部位では蛍光波長（Em）490～510nm の範囲に極大点をもった各種の単峰性蛍光スペクトルが観測された。また、Ex410nm では Em610nm および 620nm～650nm 付近に極大点を有する各種の単峰性蛍光スペクトルが存在することがわかった。この時、舌とその他の舌以外の部位では蛍光スペクトルの相対蛍光強度に有意の差が認められた。

これに対して、9 例の口腔悪性腫瘍患者の患部をコントロールと同一条件で測定した結果によれば、Ex360nm ではコントロールと同様の波長領域に極大点を有する各種の単峰性蛍光スペクトルが認められたが、Ex410nm においてはコントロールと異なり、全例に Em630nm と 680nm にそれぞれ極大点をもった 2 峰性の蛍光スペクトルが存在することを確認した。申請者は、後者の Ex における口腔悪性腫瘍患者の蛍光スペクトル特性が健常ヒトのそれと差異があることを明確にし、申請者自ら開発した紫外線励起固有蛍光撮影装置を用いた測定法により、非観血的で高感度な口腔悪性腫瘍の蛍光診断を可能

にした臨床診断学的な意義は大きい。

性別、年齢、初発部位、癌の進行度や侵潤様式の違いなどにより蛍光スペクトルに差は認められなかった。また、低分化のもの程相対蛍光強度が高い傾向があるなどの新事実を明らかにした。さきの測定の結果認められた後者の Ex における口腔悪性腫瘍患者の蛍光特性は、天然に存在する各種ポルフィリンのうちプロトポルフィリンのそれに極めてよく類似していることから、申請者はこの口腔悪性腫瘍患者の患部に確認された蛍光成分がプロトポルフィリンである可能性を示唆した。しかし、LC/MS、NMR などを用いるこの蛍光成分の解析は今後の課題として残した。

本審査委員会は、この申請者の一連の研究成果は、臨床診断学的に十分に価値あるものと認めた。また、申請者が検討された実験の細部にわたり以下に挙げたような臨床的問題について活発な討論を行った。

1. 本装置により扁平上皮癌以外の口腔癌（唾液腺悪性腫瘍）でも診断可能か
2. 口腔癌の固有蛍光成分がプロトポルフィリンであると推定した論拠
3. プロトポルフィリンは癌細胞内と間質のいずれに集積するか
4. 集積したプロトポルフィリンの細胞内の局在について
5. 励起光の送光と癌組織からの蛍光受光が同時にできるようにするための光ファイバーの工夫について
6. 正常口腔粘膜で、Ex360nm で認められた Em490～510nm の蛍光成分について
7. 室内（散乱光）と暗室における蛍光検出効率の相違について
8. プロトポルフィリンが LDL と結合して癌細胞内に取り込まれるメカニズムについて
9. Ex360nm で、舌が他の正常部位より相対蛍光強度が高い理由
10. 治療後の症例（例えば、放射線療法後）でも Ex410nm で Em630nm と 680nm に 2 峰性の蛍光スペクトルが認められるか
11. 口腔癌以外の疾患からもプロトポルフィリンと目される 2 峰性のピークが観測されるか

これらの質問に対する申請者の解答は概ね適切であった。よって、申請者の論文は博士（医学）の学位授与に値するものと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 一 瀬 典 夫

副査 教授 喜 納 勇 副査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 平 光 忠 久 副査 助教授 星 野 知 之