

氏名	米田 隆
(ふりがな)	(よねだ たかし)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第 号
学位審査年月日	平成30年7月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Spectral Radiance of Protoporphyrin IX Fluorescence and Its Histopathological Implications in 5-Aminolevulinic Acid-Guided Surgery for Glioblastoma  (5 アミノレブリン酸ガイド下膠芽腫手術における プロトポルフィリン IX 蛍光のスペクトラル ラジア ンスと病理学的因子の関係性について)
論文審査委員	(主) 教授 荒 若 繁 樹 教授 岡 田 仁 克 教授 近 藤 洋 一

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《目的》

5 アミノレブリン酸(ALA)は、腫瘍細胞に取り込まれるとプロトポルフィリン IX (PpIX) に代謝される。PpIX は 405nm の励起光を照射することで赤色蛍光を発する。近年この性質を利用して脳腫瘍手術において切除範囲の決定に利用されている。蛍光強度と病理学的所見との関係についてさまざまな報告がなされているが、蛍光強度は術者の主観的判断に依存していることから、蛍光強度の判定が不確実でその意義が曖昧であった。本研究では、蛍光強度を定量化して、病理学的所見との関係をより明確にすることを目的とした。

## 《対象》

2011～2016年に倫理委員会承認後、大阪医科大学附属病院で行われた初発の多形膠芽腫の手術患者14症例から摘出した計34の組織標本を解析に用いた。手術3時間前に5-ALAを内服投与して、術中のPpIXの蛍光強度は、術者の主観的判断によって強蛍光、弱蛍光、無蛍光の三段階に分類した（強蛍光24標本、弱蛍光10標本）。

## 《方法》

摘出された組織標本の蛍光強度は、分光蛍光輝度定量システム（JETI社製の分光蛍光放射輝度計にフォーカシング光学系Specbos 1201を装着したもの）を用いて暗室で速やかに測定し、スペクトラルラジアンズとして定量化した。HE染色および免疫組織化学染色（MIB-1抗体によるKi-67およびCD31免疫染色）を行い、細胞密度、MIB-1 index、血管因子（血管密度、全血管面積、血管周囲長）を病理学的因子として評価した。最後にそれぞれの組織標本ごとに、病理学的因子と蛍光強度との関係を解析した。

## 《結果》

強蛍光に分類された24標本のうち、病理組織学的に21標本が腫瘍本体、3標本が周囲の腫瘍浸潤脳と判断された。一方、弱蛍光と分類された10標本は全て周囲の腫瘍浸潤脳であった。蛍光強度と病理学的因子との関係については、細胞密度とMIB-1 indexがスペクトラルラジアンズと正の相関関係にあった。血管因子に関しては、全血管面積と血管周囲長が正の相関関係にあった。一方、血管密度はスペクトルラジアンズとの相関関係が認められなかった。

## 《考察》

本研究は、5-ALAガイド下手術におけるPpIX蛍光強度をスペクトラルラジアンズとして初めて定量化し、PpIXの蛍光強度と病理学的因子との関係について明らかにした。スペクトラルラジアンズは細胞密度、MIB-1 index、全血管面積、血管周囲長と正の相関関係

にあった。周囲の腫瘍浸潤脳に限定してみると、相関関係にあったのは細胞密度、全血管面積、血管周囲長の 3 因子であった。この所見は、弱蛍光領域に腫瘍細胞や異常血管が存在することを示唆していた。臨床において、弱蛍光領域も周囲の腫瘍浸潤脳として十分な切除を行うことが重要と考えられた。また、血管因子のなかでも全血管面積が強い相関関係にあったことから、PpIX 濃度は異常な血管の数よりも、血管拡張のような形態上の変化に強い影響を受けることが考えられた。Vascular endothelial growth factor (VEGF) によると思われるこのような血管拡張変化は、脳血液関門の破綻につながり、5-ALA の透過性を亢進させ、多形膠芽腫において細胞内に PpIX を蓄積させる重要な要因と推測された。

#### 《結論》

我々は多形膠芽腫における PpIX の蛍光強度と病理学的因子の関係を定量的解析した。肉眼的に判定された強および弱蛍光領域は、細胞密度、MIB-1 index、全血管面積、血管周囲長と正の相関関係にあることを示した。これらの所見は、腫瘍本体の強蛍光領域だけでなく、周囲の弱蛍光領域にも腫瘍浸潤があることを示していた。

(様式 乙9)

## 論文審査結果の要旨

5-aminolevulinic acid (ALA)は、腫瘍細胞に取り込まれると protoporphyrin IX (PpIX) に代謝される。PpIX は励起光の照射によって赤色蛍光を発する。この性質を利用して 5-ALA は脳腫瘍手術において術中の切除範囲の決定に広く用いられている。PpIX の蛍光強度と病理学的所見との関係についてはさまざまな報告がなされているが、蛍光強度の判定は術者の主観的判断に依存していることから、蛍光強度の判定が不確実でその意義が曖昧であった。本研究では、PpIX の蛍光強度を定量的に解析し、蛍光強度と病理学的所見との関係を明らかにすることを目的とした。方法として、摘出された多形膠芽腫の組織標本を用いて、分光蛍光輝度定量システムで蛍光強度を測定し、スペクトラル ラジアンズとして定量化した。細胞密度、MIB-1 index、血管因子（血管密度、全血管面積、血管周囲長）を病理学的因子として検討し、PpIX 蛍光強度との関係を解析した。その結果、細胞密度、MIB-1 index、全血管面積、血管周囲長はスペクトラル ラジアンズと正の相関関係にあることを認めた。周囲の腫瘍浸潤脳に限定して解析すると、細胞密度、全血管面積、血管周囲長がスペクトラル ラジアンズと正の相関関係にあった。この所見は、弱蛍光領域に腫瘍細胞や異常血管が存在することを示唆していた。実際の臨床において、弱蛍光領域も周囲の腫瘍浸潤脳として十分に切除することが重要と考えられた。また、血管因子のなかでも全血管面積が強い相関関係にあったことから、血管拡張変化は、脳血液関門の破綻につながり、5-ALA の透過性を亢進させ、多形膠芽腫において細胞内に PpIX を蓄積させる重要な要因と推測された。

生命予後が極めて不良な多形膠芽腫においては可及的摘出が重要である。術中支援として光線力学的診断が臨床応用されているが、申請者は蛍光強度を初めて客観的に定量化して、PpIX の蛍光強度と病理学的所見との関係を明らかにした。多形膠芽腫の可及的摘出を目指した有用な情報を提供した。

以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Photomedicine and Laser Surgery 36(5): 266-272, 2018