

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業（ナノメディシン研究事業）

超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な
診断・治療用微細内視鏡機器装置及び
その医療技術の開発に関する研究

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 小林 寿光

平成22（2010）年5月31日

目 次

I. 総合研究報告

- 超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・
治療用微細内視鏡機器装置及びその医療技術の開発に関する研究 …… 1
小林寿光

(資料) 分担研究報告

1. 超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・
治療用微細内視鏡機器装置及びその医療技術の開発に関する研究 …20
執印太郎
2. 超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・
治療用微細内視鏡機器装置及びその医療技術の開発に関する研究 …22
馬目佳信
3. 超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・
治療用微細内視鏡機器装置及びその医療技術の開発に関する研究 …34
佐野 浩
4. 超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・
治療用微細内視鏡機器装置及びその医療技術の開発に関する研究 …45
玉川克紀

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……50

III. 研究成果の刊行物・別刷 ……51

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業（ナノメディシン研究））

総合研究報告書

超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・治療用微細内視鏡機器装置及び
その医療技術の開発に関する研究

研究代表者 小林 寿光 国立がん研究センター 室長

研究要旨

超早期で微小ながんに、血管や気管支、尿管などを介して到達し、診断・治療を行う微細内視鏡システムと医療技術を、磁気誘導を導入して開発する。

初年度は、X線透視装置の光電子増倍管への磁気干渉を低減する磁気遮蔽装置の開発に目処がついたため、開発全体をより臨床応用を前提としたものへと変更した。誘導経路を経路の長い尿路系として、3次元腫瘍モデルを作製して腎盂内（ブタ）に固定し、尿管内に挿入したカテーテル内に外径0.8mmの微細内視鏡を進め、X線透視下に腎盂までの誘導を試みた。磁気遮蔽装置は有効でX線透視下の誘導が可能であったが、腎盂内での急峻な屈曲に必要な高磁界領域では限界があった。微細内視鏡によって尿管内や3次元腫瘍塊の観察が可能であり、今後の開発を促進する臨床的な意義が明示された。

2年度は、誘導用磁力、磁気遮蔽装置の性能、内視鏡画像などの懸案を改良した装置を開発した。基礎的な検証の後、動物実験においても実際の操作を行い検証した。その結果、画像ファイバー数の限界から来る画質と、微細内視鏡先端への被誘導用強磁性体の装着及び操作に基づく画像ファイバーの折損が問題であった。その一方で、この画質を前提としても、尿管～腎盂系での低侵襲な内視鏡検査として、高い臨床的な意義が見出された。

これらの結果を受け3年度は、問題点の解決として微細内視鏡の画質及び耐久性向上と、成果をより生かすために早期臨床応用という目標を設定した。これを基に、磁気誘導ガイドワイアと磁気誘導カテーテルの併用を前提とした微細内視鏡と、尿管～腎盂系の内視鏡の、2種類の内視鏡を開発し、それに伴う機器装置及び将来の診断・治療を目的とした基礎技術の開発を行った。それぞれ基礎検証から動物実験による検証を行い、適切な効果が確認された。尿管内視鏡に関しては既存の内視鏡構造を基礎として開発を行ったが、高い臨床意義が期待された。その結果を受けて、臨床試験計画を作成し、倫理審査委員会の承認を得て、臨床試験を開始したが、現時点で良好な結果を得ている。

今後もこれらの成果及び並行で行った要素技術の成果を基に、開発を継続していく予定である。

執印太郎・高知大学医学部教授
馬目佳信・東京慈恵会医科大学教授
佐野浩・HOYA 株式会社 PENTAX ライフケ
ア事業部先端技術担当部長
玉川克紀・株式会社玉川製作所代表取締役

A. 研究目的

診断機器の進歩や普及によって、微小な病変が多く発見されるようになった。これらは悪性腫瘍であればこれまで以上に早期である可能性があり、適切な治療を行うことで治癒が期待できる。しかし画像診断のみで確定診断は難しく、生検を行おうとしても通常の方法では微小であるために病変への到達が難しい。CTガイド下に経皮的針穿刺生検を行えば、希とはいえ重篤な合併症が発生する可能性があり、播種や転移の可能性も否定し得ない。手術的に生検を行えば、診断手技としては侵襲が過剰である。また確定診断が得られても、これまでの標準的な治療が行われた場合には、特に超早期のがんでは過剰侵襲の可能性もある。

これらの病変が超早期の悪性腫瘍である場合には、診断・治療に伴う侵襲は、標準的ながんに対して行われるものより低く抑える必要がある。また病変が良性であれば、侵襲的な診断手技は本来行うべきではない。

この点で、血管や気管支、尿管などの管腔を介した病変へのアプローチは、基本的に組織損傷はあっても僅かであり、低侵襲である。しかしこれまで以上に微小な病変への到達はこれまで以上に難しい。またこの技術は医師に大きく依存しているために標準化が難しく、無理をすれば安全性を犠牲にしかねない。

そこで血管や気管支、尿管などの管腔等

を介して、低侵襲で効果的、正確で安全な診断・治療を行う、微細内視鏡機器装置を開発する。微細化のために内視鏡先端の屈曲機構を省略し、その代わりに外部から磁気をかけて先端の屈曲をはかるが、そのための装置や器具も開発する。微細化のレベルはカテーテルなどにも挿入できるものとして、これまでのカテーテル検査を始めとして、体内に挿入されたチューブを介した検査も内視鏡検査化することにも配慮する。また新規の概念であるために、診断・治療技術を開発することも目的とする。

全体方針は、研究単年度内に開発する内視鏡システムの仕様を決め、実際に装置を製作し、検証するものとするが、その開発の過程の問題点は適宜対処し、年度内で完成する施策装置に還元する。その結果に対する対処を、次年度の開発目標とする。

B. 研究方法

初年度

市販されている微細内視鏡の太さは 3mm 弱であり、カテーテル等の $\phi 1\text{mm}$ 以下の内腔に挿入するためには、内視鏡の先端の屈曲機構を省略し、内視鏡先端に磁性体キャップを装着することで磁気誘導を行う。磁気発生装置には、高磁力が低電力で発生できる小型超伝導電磁石を開発する。

処置チャンネルは、 $\phi 1\text{mm}$ 以下の微細内視鏡内に設置したとしても、粘稠物の吸引は殆ど期待できない。そこで、微細内視鏡を挿入するカテーテルの内壁と微細内視鏡の外壁との間隙を必要に応じて利用するものとした。

一般的にカテーテルなどの誘導にはX線

透視を使用するが、光電子増倍管に磁気が干渉して画像の確認ができない。そこで光電子増倍管を使用しない、フラットパネルX線透視装置を使用すれば解決する。しかしフラットパネルX線透視装置の開発や購入は本研究内では難しく、また動物実験施設でのフラットパネルX線透視装置の利用も難しい。そこで当初は、誘導対象物を透明にすることで、通常の光学系を使用することを想定していた。

これに対して、これまで開発不可能と考えられていた光電子増倍管への磁気干渉を大幅に低減する、磁気遮蔽装置の開発に目処がついた。そこで大幅に臨床使用を念頭に置いたものへと研究を変更することとした（変更申請済）。

このX線透視を前提とした場合には、X線透視に直交する平面で、挿抜方向に対して左右の誘導ができれば良いことになる。そこで、小型超伝導電磁石を2機対向させて誘導装置を構成することとした。

対象経路は、誘導経路が長く意義が確認しやすい尿管～腎盂とした。なお、将来治療技術の開発を行うことに配慮して、立体的な腫瘍塊の作製も行うこととした。

磁気誘導装置と磁気遮蔽装置に関しては、磁界発生部である超伝導電磁石の仕様をまず決定し、磁界発生部と被誘導物、X線透視装置の位置関係を決定し、装置の構成を決定する。

X線透視装置の漏れ磁場の影響を確認するため、実際にX線透視装置に磁界発生コイルを接近させながら撮像してその画像を取得し、許容磁界強度を確定する。

次に、決定された超伝導電磁石の仕様を基に、縮小スケールモデルの常伝導電磁石

を製作し、磁界の強度、分布を実測することで、実際の超伝導電磁石の磁界分布を推測する。更に微細内視鏡モデルを用いて操作性の確認を行う。

磁気遮蔽装置は様々な形状で試作し、上記の常伝導電磁石に設置してその効果を実測により確認する。

微細内視鏡は、磁気誘導用に先端に磁性ステンレスキャップを装着する。画像伝達用光ファイバー束は、画質と柔軟性の確保のために、多成分ガラスを用いることとする。今年度はまずカテーテルへの挿入性と誘導性に配慮して、多成分ガラス等からなるファイバーを用いた照明用光ファイバー束を、前記画像伝達用ファイバー束と共に使用し、内視鏡挿入部外径を0.8mm以下にした内視鏡を製作して検討を行う。

3次元腫瘍細胞は、T24細胞を用いて作製を行った。立体三次元培養はタイプII組織吸収性ゼラチンをデバイスに用いて行った。動物実験時の視認性に配慮して、デバイス上の腫瘍細胞（図1）をグルタルアルデヒドで固定後に、メチレンブルーで染色を行い（図2）、実験用3次元腫瘍塊とした。

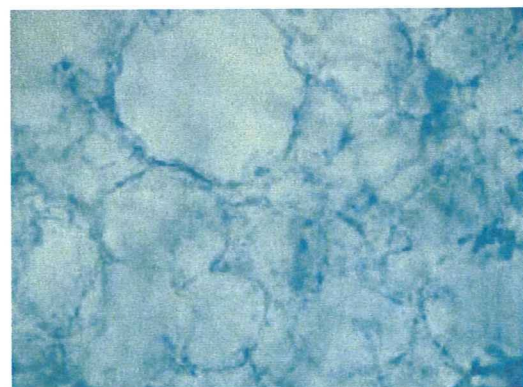


図1 3次元培養後、固定・染色を行った

ゼラチンデバイス上の腫瘍細胞

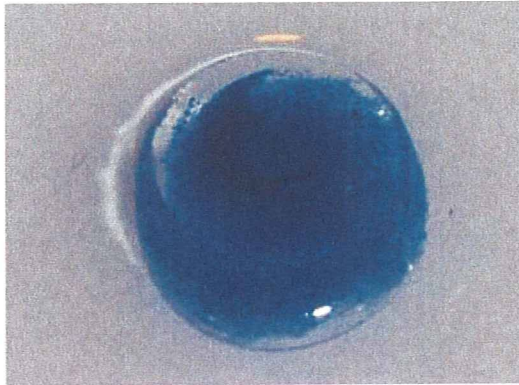


図2 固定染色後、アガロースに封入したT24腫瘍細胞

動物実験は、尿管経路で微細内視鏡で腎盂内の染色された腫瘍塊の観察を主眼とし、超伝導コイルで内視鏡先端を誘導し内腔観察を検討する。その手順は、開いた膀胱内で微細な尿管口を発見し、尿管口経路でガイドワイヤを挿入し、それを利用してガイド用カテーテルを腎盂まで誘導する。微細内視鏡の誘導はカテーテル内を腎盂まで行い、その際に腎盂内の位置についてX線透視にて観察する。青色に染色した癌細胞腫瘍塊を、腎盂を開いて腎盂内に固定し、微細内視鏡を用いこの腫瘍塊を確認する。

診断・治療技術の開発のための要素技術開発として、生体内での脳腫瘍の動向を近似するシステムを実験室内で構築するため、三次元構造ゼラチンマトリクスにヒトグリオーマ細胞を生育させた。次に脳内浸潤に影響を与える細胞接着因子として低分子Gタンパク質 Rho に着目し、エフェクターである ROCK1、ROCK2 に対する siRNA をデザインし、各タンパク発現が低下するグリオーマノックダウン細胞株の作製を試みた。

また超音波の音響エネルギーを集中させることにより、脳腫瘍を縮小させる方法を検討した。安全で低侵襲な治療法を確立するため、HIFU などの医療器械よりも更に低い強度の超音波を用いることとし、口径 40mm と 60mm のトランスデューサーで超音波の分布域を調べた。

ところで脳腫瘍と、尿路系の設定は矛盾するが、高精度な治療を必要とする脳腫瘍の特徴と、誘導が高意義となる尿路系の特徴を両立することで、限られた領域の一つの疾患に適用される医療技術開発ではなく、広範な疾患に応用可能な基礎技術開発とすることにも配慮する。

2年度

昨年度の開発研究の結果として、微細内視鏡の観察光学系の性能向上を目的として、微細内視鏡の先端部外径 0.8mm、挿入部外径 0.5mm 以下とし、画像伝達用光ファイバーの材料に多成分ガラスを用いることを前提に、これまで限界と考えられていたファイバーの素線径を更に細くし、また画像伝達用光ファイバー束の外径を大きくすることで、画像伝達用光ファイバーの本数増加を行う。視野角に関しては、これまでの微細内視鏡の前面の対物レンズの前に装着する、微細凹レンズを新たに開発製作して、90 度程度まで広げる。

画像ファイバーの折損は、製作時と使用時に発生していたが、その構造上現時点では根本的な対応が難しい。そこで細心の注意を払い、複数の微細内視鏡を製作することで対策する。

昨年度白黒であった特殊高感度カメラを本研究で開発またカラー化するの難しい。

そこで液晶カラーフィルターを介在させることでカラー化する。

ところで誘導力向上のために、微細内視鏡先端の被誘導体を磁性ステンレスから純鉄に変更し、その効果を確認する。

昨年度の超伝導磁気誘導装置は微細内視鏡の磁力には十分な余裕があったが、周囲の磁性体の磁気吸引による飛び込み事故が発生する可能性があり、実際には十分な磁力を発生させることができなかった。そこで、鉄心に加えてヨーク（継鉄）を有する構造を開発、試作する。ヨークを鉄心に接合することにより、磁束が鉄心及びヨークに集中し、高磁力化と漏洩磁界の低減が期待できる。

昨年度の磁気遮蔽装置は確かに磁力発生中でもX線透視画像を確認できたが、腎盂内に微細内視鏡を挿入するために要する急峻な屈曲を得る磁場では、十分な遮蔽能力を持っていなかった。X線透視画像を確認するためには、光電子増倍管周囲を広く地磁気レベルまで低下させる必要があり、種々の開発及びその適正化が必要である。しかし磁気遮蔽装置開発環境ではX線透視装置を利用することができず、その評価が難しい。そこで同様の現象を呈するCRTモニタを擬似的にX線透視装置の撮像部の位置に設置して、影響及び対策の効果を確認していく。この実験系を利用して、アクティブシールドを強化して強い磁力への対策を行う。

昨年度に対象とした三次元腫瘍細胞塊は、T24細胞とタイプII組織吸収性ゼラチンをデバイスに用いて三次元化を図ったが、メチレンブルーだけでは微細内視鏡の診断能は明確に評価できなかった。そこで今年

度は、脳腫瘍(KNS 脳腫瘍細胞株)と膀胱癌(T-24 膀胱腫瘍細胞株)を用いて3Dマトリクス培養を行う際に、内部で腫瘍細胞塊が島状に散在するように三次元腫瘍塊を作製する。また色素だけではなく、GFPを組み込んだ腫瘍細胞による3次元腫瘍塊も作製し、その蛍光を確認することで微細内視鏡の診断能を、将来の医療技術開発をも想定して確認する。

3年度

2年度の開発で確認された最も大きな問題点は、微細内視鏡画像ファイバー数の限界による画質と、その製作時と操作時に発生する折損であった。その一方で、これまで難しかった尿管～腎盂内の確認が可能であり、たとえ2年度の微細内視鏡の画質であっても、臨床的に十分な意義が期待されたことであり、このジレンマとも言える状況を解消し、早期臨床応用と磁気誘導の発展が最終年度のテーマと考えられた。

そこで早期臨床適用を考えた場合、尿管～腎盂を対象とした内視鏡の太さは必ずしも0.8mm以下にする必要はない。また、カテーテル内に挿入して誘導を行うとすれば、先端の磁気誘導がなくてもよい。よってこの方針を基にして、尿管～腎盂系に対する新たな尿管内視鏡を開発する。

磁気誘導に関しては、微細内視鏡を直接誘導するのではなく、カテーテルやガイドワイアを誘導するのであれば、装着できる強磁性体の種類や形状の自由度は上がる。そこで、これらを使用して誘導を行う、画質や耐久性の問題に対策を施した微細内視鏡を開発する。

以上の方針の下に今年度は、早期臨床導入と尿管～腎盂系での新たな内視鏡検査を

開発するための新たな尿管内視鏡開発と、磁気誘導デバイス併用する微細内視鏡開発の、二つを行うこととした。また磁気誘導デバイスは、磁気誘導カテーテル及び磁気誘導ガイドワイアを使用するものとして、誘導力の向上のために磁石を被誘導体として用いるものとした。

内視鏡の開発に関して、まず尿管内視鏡では、挿入部外径 1.5mm程度で先端部に磁性体を設けない構造とし、内部には微細内視鏡と同じように、多成分ガラスを用いた画像伝達用光ファイバー束と照明用光ファイバーを設け、外周を微細内視鏡より厚い合成樹脂製チューブで被覆する。

磁気誘導と共に使用する微細内視鏡の開発では、挿入部外径 0.8mm以下で先端部に磁性体を設けない構造とする。内視鏡画像の改良として、ファイバー束の外径を大きくしてファイバー本数の増加を検討する。対物レンズは、視野角を 90°程度とし、性能向上のため複数の光学レンズの組み込みを検討する。照明用光ファイバーは、前記挿入部に組み込み可能な本数を検討する。

これらの検討結果を基に試作機を作製し、机上検討を行った。

磁気誘導ガイドワイア及び磁気誘導カテーテルについては、微細内視鏡に合わせて径及び長さが適切なものを選定した。先端に装着する永久磁石は、種類及び形状、寸法、ガイドワイア、カテーテルへの固定方法を検討し、試作した。

磁界発生部について、永久磁石を効率的に誘導できると共に、漏洩磁界が少なく、安全性の高い構造を研究、開発する。また、磁気シールドについて、漏洩磁界に合わせた適切な構造、形状を研究し、試作する。

以上の研究開発を基に磁気誘導装置を試作し、動物実験の実施によってその性能を確認した。

動物実験（ブタ）では基本的に、全身麻酔下に膀胱を開き、尿管口よりガイドワイアを挿入後、尿管カテーテルを挿入して、内視鏡をカテーテル内に挿入し、腎盂～尿管の観察を行った。磁気を使用する場合には、カテーテル先端に磁石を装着したものをを用いて、微細内視鏡の先端屈曲を試みた。尿管内視鏡では、破断などを含めた安全性に関しても結果を確認した。

その結果を受け、臨床試験計画を作成し、倫理審査委員会の承認の後に、経尿道的に膀胱内に尿管カテーテル経由で細径内視鏡をヒト腎盂尿管に挿入して、ヒト腎盂～尿管の観察を臨床研究として行った。

また磁気誘導の結果を踏まえ、局所においてより強力な磁場が必要と考えられた。また、超伝導に至るまでの時間を含む安定性を高めることが必要と考えられた。そこで、線材を転移温度の高いニオブ3スズ線としてコイルを試作し、従来のニオブチタン線のコイルと比較した。

診断・治療技術に関して、近年腫瘍の可視化技術が進んでおり、通常蛍光顕微鏡等でしか観察することができない蛍光プローブを使用した脳腫瘍の観察も、内視鏡で行うことが可能であった。この結果を踏まえて3年度は、浸潤や増殖に関係すると思われる、ROCKのシグナルを低下させた脳腫瘍細胞株での、音響化学療法と膀胱癌を想定した、抗癌剤のデリバリーシステムを検討した。脳腫瘍三次元培養モデルの遺伝子の発現を、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）で解析し、ROCK2 強制発現低下

ラット脳腫瘍細胞株の性質は、ラットを用いてマイクロバブル存在下で超音波局所治療の効果を比較した。抗癌剤システムはアドリアマイシン結合磁性体ビーズを作成して、磁気誘導によるデリバリーを内視鏡的に観察した。

C. 研究結果

初年度

誘導用超伝導電磁石の磁界発生部は、漏れ磁界の低減と低い通電電流で離れた場所に効率よく磁界を発生させるため、鉄芯を入れた構造とした（図3）。

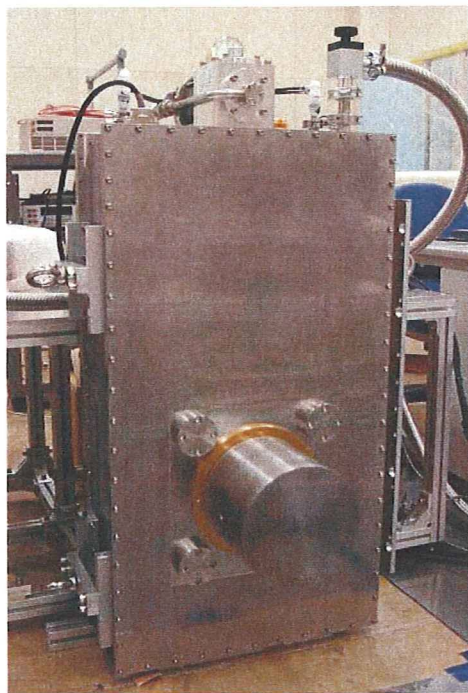


図3 小型超伝導電磁石装置の外観(縦置)

X線透視装置はX線発生部と撮像部を鉛直に配して位置を固定することとした。そこで動物実験施設のX線透視装置を用いて、撮像面に近接させたソレノイドコイルから

磁界を発生させて、透視画像に対する影響を確認した。その結果、撮像面表面で垂直な磁場成分を $20e$ 以下にする必要性を確認した。これを基準に縮小スケールモデルの常伝導型電磁石を製作し、磁場測定および微細内視鏡モデルの屈曲実験を行い操作性を確認すると共に、様々な形状の磁気シールドを製作してその効果を実測した。その結果、Z方向の磁界を0にすることが可能であることが示唆された。

以上の実験結果から、超伝導磁気誘導装置の仕様を最終決定し、製作を行った（図4）。

実験系

- CアームX線透視装置の撮像部
- 磁気シールド装置
- 対象動物
- 磁気対応検査台



図4 微細内視鏡誘導実験系

微細内視鏡は、挿入部先端に外径 0.8 mm 、長さ 4 mm の磁性ステンレスを設けた2種類の実験用微細内視鏡を試作した。タイプ1として、画像伝達用ファイバー束を合成樹脂で被覆した外径 0.3 mm で、有効長さ 1 m の挿入部を有する微細内視鏡を試作した。

また、タイプ2として、タイプ1の片側に照明用光ファイバー束を配置して、外周を合成樹脂で被覆した、外径 $0.6\sim 0.8\text{ mm}$ で、有効長さ 9.9 cm の微細内視鏡を試作

した (図5)。

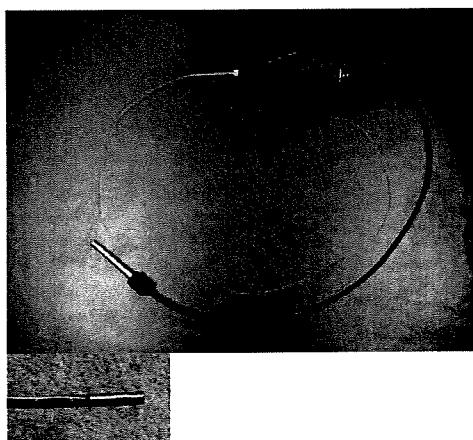


図5 微細内視鏡 (全体と先端、照明ファイバー有)

磁気誘導装置を作動させてX線透視を行った場合には、画像の確認はできなかった (図6)。対象動物 (ブタ) の体表に誘導用カテーテルとメジャーを置き、磁気遮蔽装置を作動させてX線透視を行った場合は、遮蔽装置を適切に調整することで、対象を確認することができたが画像のゆがみは残った (図7)。

実際に動物実験 (ブタ) で微細内視鏡をX線透視下に進めたが、尿管内の所見は同時に記録されたビデオ画像上確認することができた。腎盂への挿入及び対象の確認は、今回の腎盂が小さいこともあり急峻な屈曲を要した (図8)。この急峻な屈曲を可能とする磁力では磁気遮蔽装置の性能は十分ではなかったが、対象とした3次元腫瘍塊をブルーの領域として確認することができ (図9)、屈曲誘導が可能であることが示された。

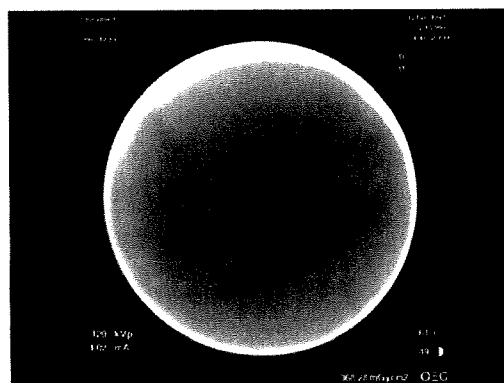


図6 X線透視像 (磁気遮蔽無)

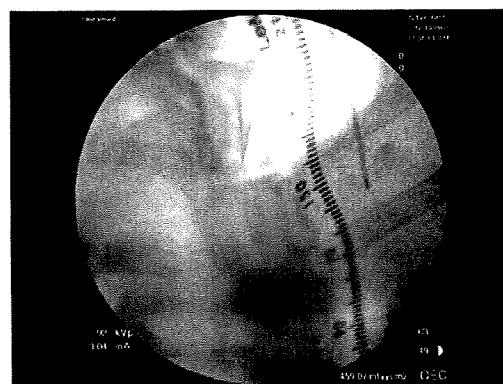


図7 X線透視 (磁気遮蔽有)

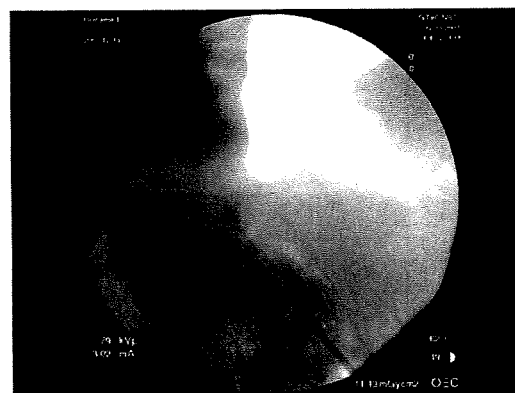


図8 X線透視 (微細内視鏡とカテーテル)

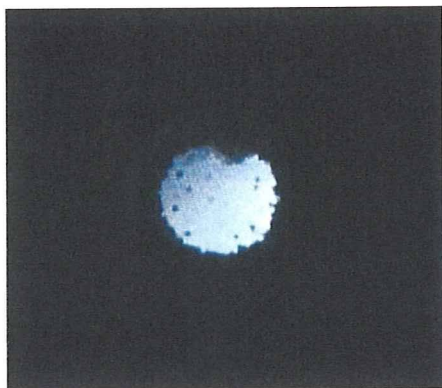


図9 微細内視鏡画像

要素技術開発として、三次元培養したヒトグリオーマ細胞の組織を光学および電子顕微鏡で評価したところ、グリオーマ細胞は産生する細胞外基質を介してゼラチンマトリクスと三次元的に接着し、腫瘍細胞同士はグリア線維を介して接着していた。また ROCK1、ROCK2 に対する siRNA を発現するベクターを構築してヒトグリオーマ細胞に導入し安定株を得た。ウエスタンブロット法でこれらの細胞で ROCK1 および ROCK2 のタンパク発現の低下を確認した。

また口径 40mm と 60mm のトランスデューサーで 500kHz 及び 200kHz の振動数のビームパターンを検討した。500kHz で比較すると 60mm の方が水平面 (X-Y 断面) においてビームの分布が狭く、垂直面 (Y-Z 断面) においても焦点はトランスデューサーから 55-65mm、約 10mm 以内に分布していた。一方、40mm 口径では焦点分布が 30mm 程度に分散した。この傾向は 200kHz で更に顕著で、特に Y-Z 断面では 60mm 口径のトランスデューサーの焦点が 30mm 以内に収束されたのに対し、40mm 口径のものでは 35mm-100mm 以上に拡散してしまい、40mm のものは事実上使用不能なことが示された。500kHz 及び

200kHz の振動数の比較では、いずれの口径でも 500kHz の振動数の方が超音波の分布域が狭かった。

2年度

微細内視鏡の画像用光ファイバーの本数に関しては、素線径を昨年度より約 10% 細くし、ファイバー束の外径を 1.6 倍にしたことで、3 倍程度に増加することができた。また昨年度装置の照射光量には余裕があったことから、照明用光ファイバーの本数を約半分にすることで、外径の増大を抑えた (図 10)。しかしその一方で、同時に製作時にファイバー折れが多く発生する不具合も生じた。

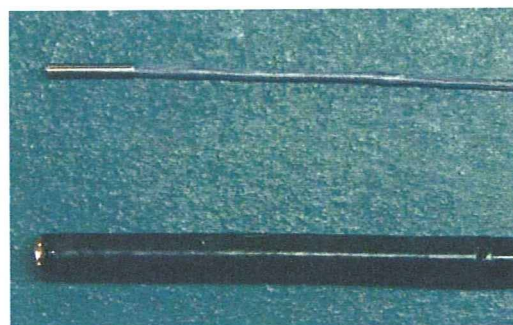


図10 微細内視鏡(上段、先端部磁性体外径 0.8mm)と市販最細径内視鏡(下段、先端部外径 2.4mm)



図 1 1 広視野角化用凹レンズ (白枠内)

広視野角化に関しては、外径 0.35mm の凹レンズを試作し (図 1 1)、微細内視鏡先端のセルフオックレンズの前側に貼り合わせた。この結果、机上で視野角が約 90° 程度になっていることが確認できた。一方、対象物が少し離れると画像のボケが発生し易い傾向も見られた。

内視鏡先端に設ける被磁気誘導体に関して、磁性ステンレスと純鉄の磁化特性を確認した結果、磁性ステンレスに比べて純鉄のほうが、1.3 倍程度値が大きいことがわかった。

超伝導電磁石のヨークは、背面ヨークと、上側ヨーク及び下側ヨークの 3 ピース構造とした。この構造がもたらす強度と熱の問題について最適化を図り、新規設計の超伝導コイルと共に超伝導電磁石の試作を行った。発生磁界については、磁極表面で昨年度に比して 2 倍以上となり、磁気吸引力に關与する磁気勾配も増大した (図 1 2)。

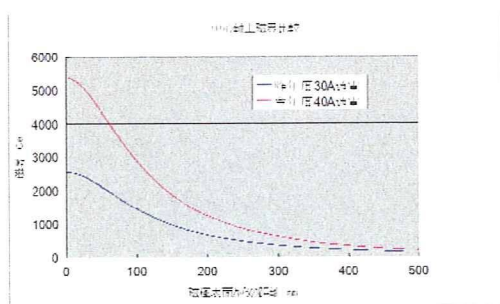


図 1 2 超伝導電磁石の性能

磁気遮蔽装置の性能向上のために、CRT モニターを検出器として用いて磁界の影響と遮蔽の効果、キャンセルコイルの効果について検証した。この実験から透視装置

の撮像部には 2 段にしたキャンセルコイルを設置し、アクティブシールド効果を向上することとした。

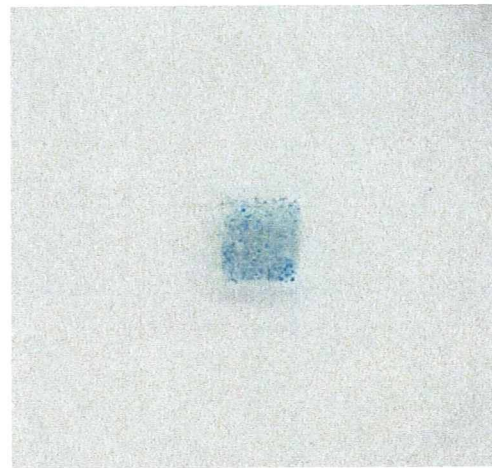


図 1 3 KNS 脳腫瘍細胞株を使用した三次元腫瘍細胞塊 (アルシアンブルー染色)

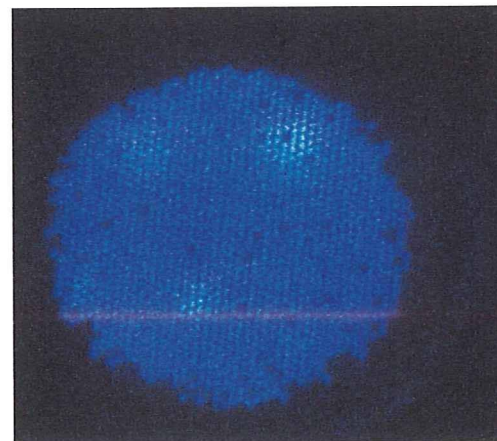


図 1 4 外部照射光による生体外の GFP 導入脳腫瘍細胞株の微細内視鏡画像

三次元腫瘍塊は、目的に合わせて作製した (図 1 3)。生体外で外部照明光を用いることで、微細内視鏡を介して GFP の発光を、カラー化した特殊高感度カメラを使用して確認することができた (図 1 4)。しかし微

細内視鏡自体の照明光では光量が足りず、蛍光を確認することはできなかった。

動物実験系(ブタ)を構築して(図15)、開発された機器装置の検証を行うと共に、臨床医学的評価を行った。

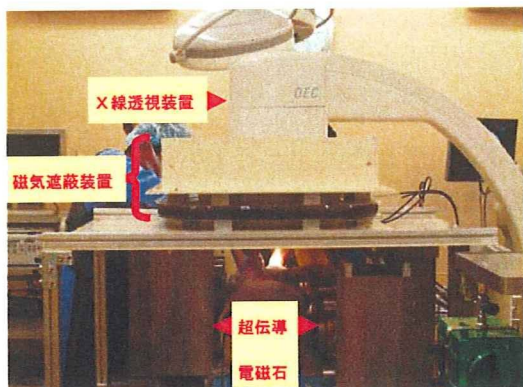


図15 動物実験系

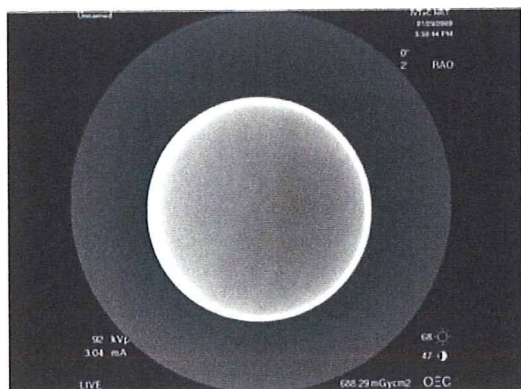


図16 X線透視画像(40A 通電、キャンセル無)



図17 X線透視画像(40A 通電、キャンセル有)

自由空間で微細内視鏡は、磁気誘導装置により十分に屈曲することが確認された。またX線透視画像は、十分な屈曲が可能なコイルの電流量である40Aでは確認できないが(図16)、アクティブシールドによってキャンセルを行うと、微細内視鏡が確認できた(図17)。しかし画像は拡大されて視野が狭くなり、また回転してゆがむことが確認された(図18)。

動物実験では尿管内に挿入したカテーテルを介して微細内視鏡を挿入したが、内腔の浮遊物や尿管壁、対象の腎盂内の確認ができた(図19)。病変等がない正常の内腔であるために、病変の診断能力を確認することはできなかったが、何等の病的変化があれば確認できることが期待できる画質であった。

腎盂内に三次元腫瘍塊を固定して、外部光源を用いてカラー化 EM-CCD カメラで微画像を確認した。その結果、島状に存在する腫瘍細胞塊の GFP からの蛍光を確認することができた(図20)。

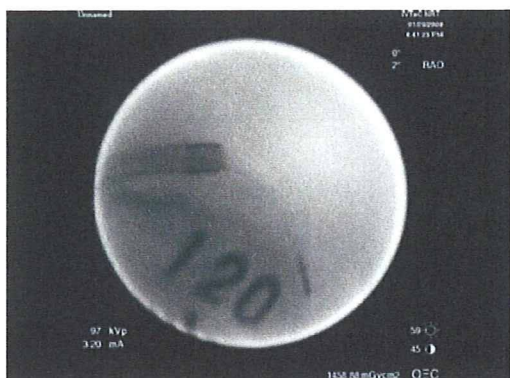


図 1 8 屈曲した微細内視鏡 (30A、遮蔽有)



図 1 9 微細内視鏡の画像 (尿管内)

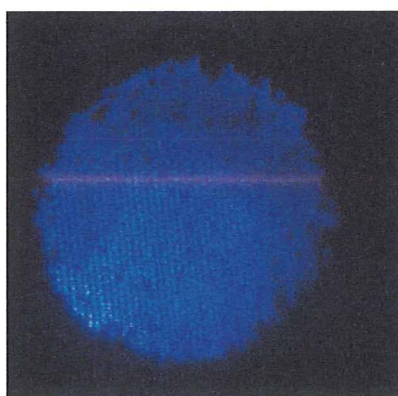


図 2 0 脳腫瘍 (GFP) のカラー化 EM-CCD カメラ画像 (外部光源使用)

3年度

試作尿管鏡は、画像伝達用光ファイバー束のファイバー本数を、昨年度の微細内視

鏡に比較して約3倍にし、外径0.7mmの試作レンズ3種類各1枚組み合わせた対物レンズを画像伝達用光ファイバー束の前方に固定し、照明用光ファイバーを画像伝達用光ファイバー束の片側を囲むように配置し、微細内視鏡の3倍の肉厚を有する合成樹脂製チューブで被覆した(図21)。

試作微細内視鏡は、前記尿管鏡に用いた対物レンズの外径を0.5mmに小径化し、画像伝達用光ファイバー束の本数を昨年度より約2.3倍増加させ、照明用光ファイバー束も本数を約2.7倍にして、外周を昨年度と同肉厚の合成樹脂製チューブで被覆した(図21)。また、観察範囲の拡大も図っている(図22)。

内視鏡画像に関して、上記試作機を用いて机上にて昨年度の試作機と比較した結果、昨年度に比べ、文字の輪郭が明瞭で、ファイバー折れも少ないことを確認した(図23、24)。

平成21年度試作内視鏡

・ FUR-K4P及び微細内視鏡の先端



図 2 1 尿管内視鏡と微細内視鏡

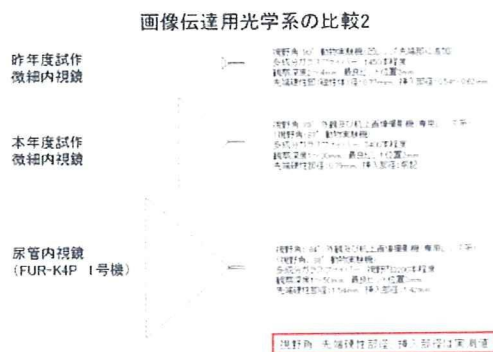


図 2 2 試作内視鏡の観察範囲

画像伝達用光学系の比較(画像)1

・本年度試作微細内視鏡と昨年度試作微細内視鏡との比較

内視鏡先端面から	3mm	5mm
<p>本年度微細内視鏡試作機</p> <ul style="list-style-type: none"> ・専用カメラにて高倍視野角化 ・画素: 640x 1440画 		
<p>昨年度微細内視鏡試作機</p> <ul style="list-style-type: none"> ・カメラ: 1/2.5インチカメラ ・高倍視野角化 ・画素: 640x 1440画 		

図 2 3 微細内視鏡の画像比較

画像伝達用光学系の比較(画像)2

・FUR-K4Pと本年度試作微細内視鏡との比較

先端面から	1mm	3mm	5mm	20mm	30mm
尿管内視鏡 FUR-K4P					
試作 微細内視鏡					

図 2 4 尿管内視鏡と微細内視鏡の画像

上記試作機を用いた動物実験の結果、問題なくカテーテルに挿抜でき、単独でも尿管に挿入できた。カテーテル誘導下でブタ

腎盂～尿管の観察は容易に行え、内視鏡画像は微細内視鏡より明瞭で、良好な視野も認められた(図25)。

また、破断に繋がりが得るような、臨床的にはあり得ないような操作を行っても、破断することはなく、画像ファイバーのごく一部は折損するが、内腔確認が十分可能な画像を維持できることも確認された。



図 2 5 尿管内視鏡の画像

この細径内視鏡の結果を受けて、細径内視鏡の使用に関して学内倫理委員会の承認を得て、ヒト腎盂尿管内景の観察を臨床試験として開始した。これまでの4例の腎盂尿管に異常所見を示す患者で尿管～腎盂の観察を行った結果では、腎盂尿管粘膜の損傷が少なく非侵襲的に従来型の大径尿管鏡と同様かそれ以上の視野観察が行えた。

磁気誘導に関しては、まず微細内視鏡に適応するカテーテルの選定を行った。外径は、本研究の目的からできるだけ細径のものとし、5Frを選択した。先端に装着する永久磁石は、保磁力の大きなネオジウム磁石とし、形状はパイプ状の肉厚の薄いものとして外径が極力小さくなるようにし、エ

ボキシ系接着剤で角の無いよう成形しながら接着した（図26）。

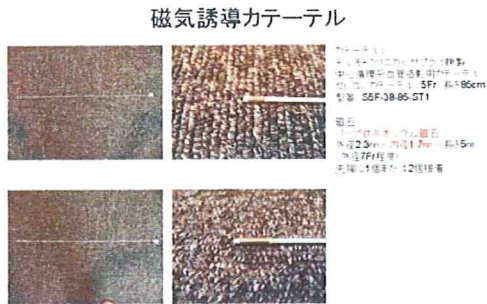


図26 磁気誘導カテーテル

次に選択したカテーテルに適応する、径の異なるガイドワイヤを2種選択した。永久磁石は円柱状とし、肉厚が非常に薄い熱収縮チューブを使用してガイドワイヤ先端に連結した（図27）。

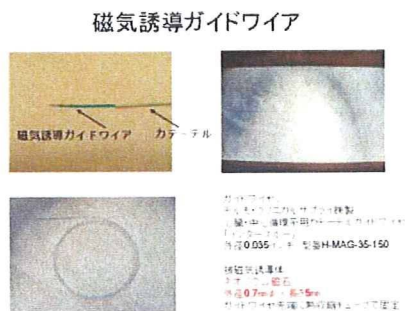


図27 磁気誘導ガイドワイヤ

超伝導磁気誘導装置の磁界発生部はレイアウトを変更し、対向する鉄心の反対側を鉄製のヨークで連結して磁路を形成した。磁気シールドは、水平の磁界成分を打ち消すキャンセルコイルを付加した（図28）。

新規超伝導磁気誘導装置



図28 超伝導磁気誘導装置

動物実験（ブタ）では、比較的低い磁界から十分な屈曲を確認した。透視画像は磁界の増加に伴って拡大や歪みが発生し、十分に打ち消すことはできなかったが、その効果は確認できた。

磁気誘導による微細内視鏡手技に関して、尿管～腎盂内壁が明瞭となり、視野も良好であった（図29）。また、先端部に磁性体を固定した5Frカテーテルに試作微細内視鏡を挿入した状態で、改良型試作磁気誘導装置により牽引可能であることを確認した。しかしながら、漏洩磁場の影響が強いため、X線透視の視野がゆがんで、透視下にカテーテル先端の動きを観察する事は困難であった。

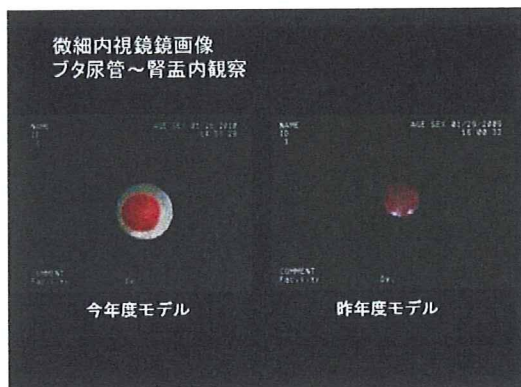


図 2 9 微細内視鏡画像

磁気誘導に使用する超伝導コイルの磁力や安定性を高める手段として、転移温度の高い NbTi と Nb₃Sn の試験用コイルを使用した超伝導電磁石の試作一号機を用いて (図 3 0)、電流掃引温度 9 K において外部から 3.5 kOe の磁界を印加して安定して電流掃引できるか調べた。

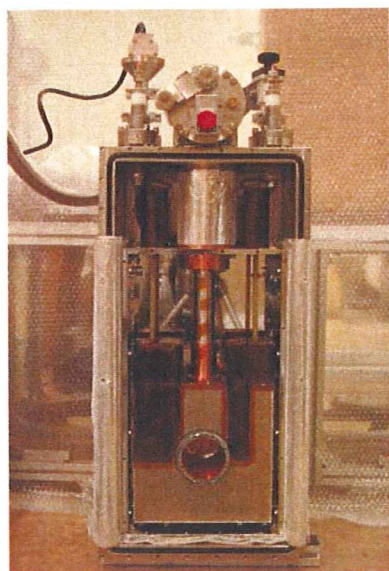


図 3 0 ニオブ 3 スズ線を使用した超伝導電磁石装置

その結果、NbTi のコイルは 1 A/s

e c 以上で電流掃引すると途中でクエンチしたのに対し (図 3 1)、Nb₃Sn のコイルは 4 A/s においても安定して電流掃引することができ (図 3 2)、Nb₃Sn の有効性が確認できた。

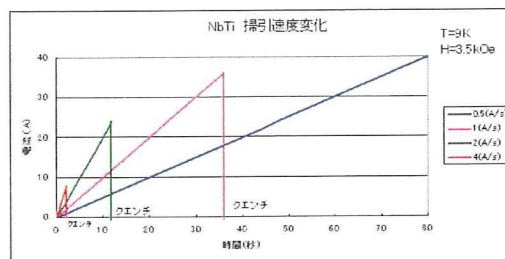


図 3 1 NbTi 線コイルの掃引速度変のグラフ

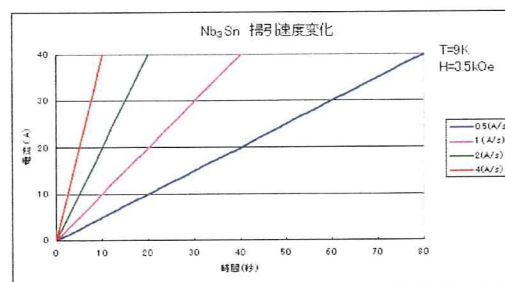


図 3 2 Nb₃Sn 線コイルの掃引速度変化グラフ

診断・治療用基礎実験に関して、3次元培養のヒトグリオーマ細胞組織を光学および電子顕微鏡で評価すると、腫瘍によって形態が大きく異なっていた。この時、細胞同士や細胞と細胞外マトリックスとの接着性に差が認められたため、細胞増殖に関するシグナル分子を解析したところ、細胞増殖因子で発現の差異が見つかり、特に増殖と共に遊走をおこす腫瘍株では PDGFA (血小板増殖因子 A) が局所に留まる株より 10 倍以上発現が高いことなどが判った。次に

ROCK2 発現を低下させると細胞周期における G2/M 期の細胞の割合が減少した。この細胞でマイクロバブルを用いた音響化学療法による治療効果を調べたところ、野生型と対照細胞に治療効果の差は認められなかったが、ROCK2 の抑制で、野生型とは $p=0.0297$ 、対照株とは $p=0.0446$ で生存日数に差が認められた。また、磁力によるアドリアマイシン結合磁性体ビーズの腫瘍への誘導を膀胱癌を想定して行ったが、インビトロの結果と異なり生体内では磁束に沿ってビーズが連鎖を起し期待された効果が得られていないことが内視鏡的に観察された (図 3 3)。

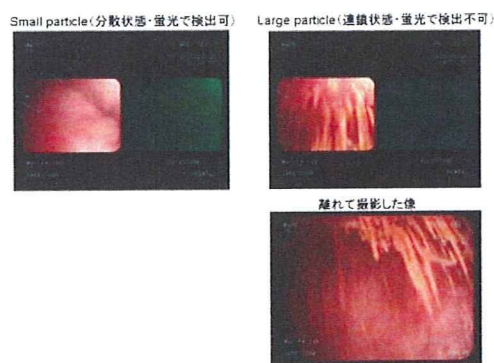


図 3 3 磁性体ビーズの誘導実験

D. 考察

昨今の PET や CT などの画像機器の進歩及び普及によって、微小で、悪性腫瘍であれば超早期の可能性のある病変が多数、また容易に発見できるようになっている。これらの確定診断に基づき、超早期治療を行う、超早期発見・超早期治療は、がん治療の一つの理想であるが、実際にこれを行うためには、これらに対応した、これまで以上に高精度で効果的、低侵襲で安全な確

定診断及び治療法が必要であるが、これらの開発は検診に比較して大きく遅れていると考えられる。検診は、続く診断、治療が適切に対応できるとして成り立つものであり、例えば適切に診断できない、また治療の意義がない病変の発見は問題であり、本来診断や治療が必要ない病変に高い侵襲を加えることとなれば、検診の意義が問題となる。

このような問題に対する診断、治療の開発が必要であるとして、今回の経腔的な微細内視鏡的診断、治療技術の開発を行ってきた。

当初は X 線透視装置に対する磁気干渉を防止する方法がなく、干渉のないフラットパネル X 線透視装置が将来普及することを期待して、対象物を透明にして可視光を使用して誘導を行うことを想定していた。これに対して、磁気遮蔽装置の開発ができたことは、動物実験系を構築するなど、研究を臨床的に大きく促進させることができた。

この結果は、これまで容易に施行可能な内視鏡検査がなかった尿管～腎盂系において、高い臨床的意義のある新たな内視鏡検査の開発に繋がった。このことは、これまで適切に診断できなかった領域で、何らかの画像診断で異常を指摘された症例において、微小で超早期と考えられる移行上皮癌を正確で高精度、低侵襲で安全に診断する臨床技術の開発に繋がったと考えられる。現在まだ治療技術や、またより効果的な診断技術の開発はできていないが、まずは新たな診療化の段階に至ることが 3 年間の研究期間でできた。

3 年間の研究期間を終了しても、この成

果を受けて同様に臨床試験を継続して、研究によって新たに開発された医療技術を進めて行く予定である。

磁気誘導に関して、確かに磁気は体外から非接触で確実な動力を対象に与える殆ど唯一の方法である。しかしその一方で、必要とする磁気装置が十分な動力を発生させようとするれば大型化し、更に危険物の飛び込みが発生すると共に、対象が微小化すると発生する誘導力が極端に低下することがジレンマである。特に微細化に伴う磁気吸引力の低下は、例えば被誘導体の重量が1gを切る状態で、2倍の重量まで持ち上げることができるとしても、2g程度と考えられる。この力では、理想となる例えば磁気誘導微細内視鏡を、磁気のみで牽引して、目的の部位に到達することは、不可能と考えられる。この点で、先端の屈曲を支援して挿抜することは、特に微細な管腔の末梢分岐を選択する点で意義があり、また微細化を必要とするれば構造の単純化が必要であり、医療においても必要に応じて使用できる技術として、備えておくべきものと考えられる。現時点ではまだ早いと考えられる医療技術であるが、例えば今回の尿管内視鏡などを含む診療技術が新たな発展をした時点で、必要において今回の開発の成果を利用することを考えている。

E. 結論

超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断、治療を開発するために、磁気誘導を併用した微細内視鏡の開発を行った。その結果、これまで容易に診断できる内視鏡検査ができなかった尿管～腎盂での内視鏡検査が開発され、臨床応用を行うことが

できた。この時点で磁気誘導の医療における導入はまだ早い、今後の新たな経腔的診断、治療システムが構築された際の誘導技術の一つとして使い得る、要素技術開発を行うことができた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ 井上啓史、執印太郎、他. 膀胱癌の光学的診断. Japanese Journal of Endourology and ESWL, 20 卷, 112-120, 2007.
- ・ 井上啓史、執印太郎、他. 蛍光スペクトラム解析に基づく膀胱癌診断の試みー光線力学技術の膀胱癌治療への応用ー. Japanese Journal of Endourology and ESWL, 20 卷, 50-55 2007.
- ・ 井上啓史、執印太郎. 光学的診断を併用した経尿道膀胱腫瘍切除術, Japanese Journal of Endourology and ESWL. 21(3):323-331, 2008
- ・ Manome Y, Kobayashi T, et al. Three-dimensional cell culture of glioma and morphological comparison of four different human cell lines. Anticancer Research, 30:383-390, 2010.
- ・ Akiyama N, Ohno Y, Fukuda T, Manome Y, Saito S. Enhancing activity of N-glycosylation for constitutive proteins secretions in non-polarized cells. Biochem Biophys Res Commun. 381:612-618, 2009.

- ・ Manome Y, Kobayashi T, et al. Application of Therapeutic Insonation to Malignant Glioma Cells and Facilitation by Echo-contrast Microbubbles of Levovist. Anticancer Research 29: 235-242, 2009
- ・ Kouki Fujioka, Masaki Hiruoka, Keisuke Sato, Noriyoshi Manabel, Ryosuke Miyasaka, Sanshiro Hanada, Akiyoshi Hoshino, Richard D Tilley, Yoshinobu Manome, Kenji Hirakuri, Kenji Yamamoto. Luminescent passive-oxidized silicon quantum dots as biological staining labels and their cytotoxicity effects at high concentration. Nanotechnology 19 (2008) 415102 (7pp).
- 2. 学会発表
 - ・ 濱口卓也、執印太郎、他. 膀胱癌に対する光学的診断(PDD)部位別診断精度の検討. 第45回日本癌治療学会 (2007年10月)
 - ・ 井上啓史、執印太郎、他. 尿路上皮癌における5-アミノレブリン酸に基づくプロトポルフィリン IX 生合成とその制御. 第45回日本癌学会総会 (2007年10月)
 - ・ 井上啓史、執印太郎、他. 膀胱癌に対する光力学診断補助下経尿道的膀胱腫瘍切除術、第22回Endourology・ESWL学会総会 (2008年11月)
 - ・ 井上啓史、執印太郎、他. 膀胱癌に対する光力学診断補助下経尿道的膀胱腫瘍切除術、第29回日本レーザー医学会 (2008年11月)
 - ・ 馬目佳信 脳腫瘍治療における超音波分子生物学的技術 特別企画[基礎技術研究会共催セッション] 日本超音波医学会関東甲信越地方第21回学術集会 2009年11月7日 東京ファッションタウン (TFT) ビル 東京有明
 - ・ 稲葉宣晴、石澤将、木村真規、柴崎敏昭、馬目佳信. グリオーマ細胞の増殖に対するROCKアイソフォームの関与 第126回成医会総会 2009年10月1日-2日 東京
 - ・ Manome Y, Kobayashi T, Mizuno S. Three-dimension cell culture and comparison of morphology of four different glioma cell lines, 15th Congress of the European Cancer Organization, 21, Sept, 2009. ICC Berlin, Berlin, Germany.
 - ・ Inaba N, Ishizawa S, Kimura M, Watanabe M, Shibasaki T, Manome Y. Different roles of ROCK isoform in malignant glioma cells The 15th Annual Meeting 2009, Japan Society of Gene Therapy 10, July, 2009 Osaka
 - ・ 藤岡宏樹、星野昭義、真鍋法義、花田三四郎、昼岡正樹、佐藤慶介、Richard D Tilley、平栗健二、山本健二、馬目佳信 蛍光ナノ粒子 QD を使った医療応用 Cell Biology Summer Meeting 2009 平成21年7月12日、つくば市
 - ・ 馬目佳信、小林寿光、他. 三次元培養脳腫瘍細胞の形態学的変化 日本顕微鏡学会第65回学術講演会 平成21年5月29日 仙台
 - ・ Y Manome, T Kobayashi, M. Watanabe. Morphologic characterization of human glioma cells in three-dimensional cell culture. 9th