

がん手術において非腫瘍境界を強調するイメージング

リチャード・ゴーン

腫瘍組織に優先的に蓄積する蛍光体への照射イメージングが、標準的な手法になる可能性がある。

患者は麻酔をかけられた状態で横たわり、2つの肋骨の間には小さな外科的開口部であるポータルが2つある。外科医はポータルから、ハサミ、把持鉗子、ステープラー、リモートカメラなどの胸腔鏡機器を操作する。コンピュータ断層撮影(CT)とポジトロン断層法(PET)の走査により、肺腫瘍が特定された。ここからが難しい。健常組織を可能な限り取り除かずに、腫瘍を完全に切除する。これは簡単なことではない。密集した領域は健常組織と明らかに異なるのだが、その境界はほとんど見分けできない。

そこで、外科医はスイッチを入れ、腫瘍領域を照射する(図1)。これに先立って標的となる蛍光体を注入しておく、腫瘍組織と結合して、影響を受けない組織は見えなくなる。励起光は腫瘍を刺激し、より長い波長の光を発する。そのときに、外科医は光っている組織を取り除き、腫瘍を無事に切除できたことをほぼ確信できる。

標的となる蛍光ラベル、蛍光イメージングシステム、画像処理ソフトなど、必要なものはすべて入手できる。しかし、このような手術支援である蛍光ガイド手術(FGS、画像ガイド手術や術中イメージングとも呼ばれる)が使われることはほとんどない(図2)。

その理由は、他の新技術の開発と同様に、細部にある。標的となる蛍光剤は入手できるが、どの腫瘍に対してどの程度のコントラストが得られるのか。励起源やセンサは蛍光体を刺激して検出できるが、実用的な情報が得られるのか。これらの課題がクリアできたとして、FGSは患者の寿命延長や、より健康的な生活に貢献するのか。

付着して発光する

あらゆるFGS蛍光剤に求められるシンプルなことは、腫瘍と通常組織の間で高い可視コントラストをもたらすこと、つまり腫瘍に付着して光ることである。言い換えれば、腫瘍に集まり、

通常組織には存在しないということだ。発光波長がバックグラウンド光と容易に区別しやすいこと、発光が正確に検出できるほど明るいということである。

現在、FGSで一般に使用されている蛍光剤は3種類のみである。インドシアニン・グリーン(ICG)、5-アミノレブリン酸塩(5-ALA)、フルオレセインナトリウムだ(表)^{(1)~(3)}。ICGとフルオレセインは血管イメージングラベルであり、成長する腫瘍に特徴的な、血流が過剰に多い場所に蓄積する。少なくとも脳では、ICGは投与後24時間、いわゆるセカンドウィンドウと呼ばれる時間帯まで蓄積し続ける。5-ALAは蛍光体ではないが、ヘム合成経路の中間化合物である。代謝が亢進している腫瘍では、別の中間化合物であるポリポルフィリン-IX(PpIX)を介してヘムを過剰生産するようになる。5-ALAが過剰に存在すると、これらの細胞はPpIXをさらに産生し、ピンクの蛍光を発する。

コントラストに影響を及ぼす因子は、細胞や腫瘍ごとに異なる可能性がある。しかし、そのような制限があったとしても、FGSは最も難しい腫瘍ターゲットのいくつかについて、その価値がすでに実証されている。

難題に挑む

がんはあらゆる組織を攻撃するが、最も壊滅的なものはおそらく、体で最重要財産である脳にできる100種類以上のがんだろう。腫瘍は肉眼でも見える部分があるが、境界はしばしば不明瞭である。



図1 蛍光ガイド手術は、特定の組織を明確にできると期待されている。ここでは、750nmの照明とイメージングセンサを統合したハンドヘルド型のFluobeamを使用している。(提供：フリュオプティクス社)

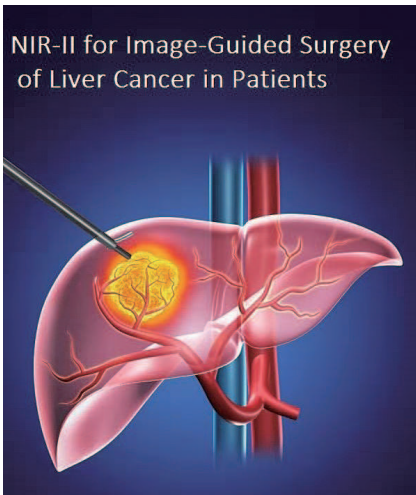


図2 蛍光ガイド手術の原理は簡単である。目的の組織を蛍光ラベリングし、その領域を照射して光った組織を取り除く。(提供: チェン氏)

脳腫瘍を切除するときは、他の部位とは異なり、外科医は腫瘍組織を見つけるために触診することができない。さらに、他の臓器と異なる点は、組織の余分な切除は高リスクであることだ。

悪性度の高いグリオーマは、脳腫瘍の中でも最も侵略性が高い。見えにくく、触れることもできず、切除しないと広がる。しかし、余分な「安全マージン」を切除してしまうと、神経学的障害による衰弱を引き起こす可能性がある。術前のCTまたはMRIによって腫瘍の中心領域を特定できるものの、手術で頭蓋を開けると1cm程度の「脳偏位」が生じるため、予備的な情報はほとんど役に立たなくなる。

もし、FGSの使用に最も適した状況があるなら、このときである。

2006年、ウィリアム・スタマー氏(William Stummer)らはドイツの17の外科施設で、FGSの初の大規模臨床試験を完了した⁽²⁾。5-ALA投与後のPpIX可視光蛍光を利用した外科医は、標準的な白色光照明を利用した外科医と比較して、2倍の効率で腫瘍を切除した。がん治療の標準的なベンチマークで

ある、術後6ヶ月間の無増悪期間の割合も、FGSを実施すると2倍になった。

その後、5-ALA⁽²⁾、フルオレセイン⁽³⁾、ICG⁽³⁾を用いたさらなる研究により、脳腫瘍をはじめ、皮膚がん、大腸がん、膵臓がんなど、10種類以上のがんの手術効率を測る指標である全切除(GTR)も、同様の改善が見られた⁽³⁾。

北米で早くから5-ALAを腫瘍イメージングに使用してきたグループの1人で、米ニューハンプシャー州のレバノンにあるダートマス・ヒッチコック・ヘルス(Dartmouth-Hitchcock Health)外科イノベーションセンターの科学主任であるキース・ポールセン教授(Keith Paulsen)は、「著名な神経外科医数名が視察し、主任外科医は最初に見たとき、『火山のようだ』と言った」と述べる。

特異性を持たせる

承認されたイメージング剤の成功、一般に全切除が2倍というものは印象的だが、スタマー氏が最初に行った影響力のある大規模試験においても、腫瘍を完全に切除できる確率は3分の2に過ぎなかった。FGSの価値は十分に示したものの、より特異的な蛍光マーカーの必要性も十分に示された。

より特異的なマーカーを作るための解決策は、腫瘍のみに存在する化合物、あるいは現実的には、腫瘍に主に存在する化合物を見つけるところから始まる。そして、抗体や抗体様分子、ペプチド、低分子、ナノ粒子など、ターゲット化合物に強く結合する標的部位を探す(または作る)。それを、光る蛍光体に結合させる^{(3)~(6)}(図3)。もし、マーカーが近赤外(near-IRまたはNIR)で蛍光を発するのであれば、ポータスポイントだ。NIRなら、組織の吸光と散乱が最小限に抑えられるからである。概念上はシンプルだが、実際

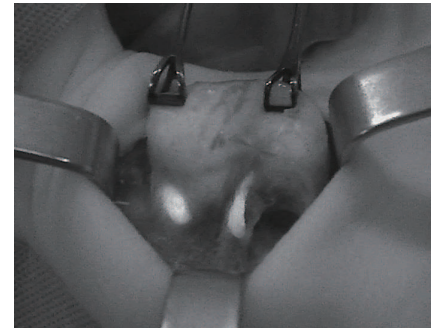


図3 副甲状腺は甲状腺の上で位置が異なるため、自家蛍光を励起光して可視化できるようなFluobeamが開発された。(提供: フリュオプティクス社)

には課題が山積みだ。

ポールセン氏とダートマスの同僚らは、手術の結果を改善する機器の開発に専念していたが、「使える蛍光体があまり登場しなかったことに不満を抱いていた」と、同氏は話す。蛍光体の開発を加速させる米国立がん研究所(National Cancer Institute, NCI)のプログラムの一環として、ダートマスのチームは、スウェーデンのアフィボディ社(Affibody)の結合タンパク質を米ライコア社(Li-Cor)の蛍光体に結合させ、新規イメージング剤ABY-029を作製した。

この58アミノ酸のペプチドは、腫瘍で過剰発現している血管内皮細胞増殖因子受容体(EGFR)に結合する。776nmで吸光して792nmで発光することで、ICGの3倍の明るさを持ち、目立った副作用のない新たなイメージング剤である。ABY-029は、ちょうどマイクロドーズ試験が終了したところだ。「ABY-029は腫瘍に優先的に蓄積し、非常に低い投与量でも蛍光を検出できることが示された」とポールセン教授は話す。「現在フェーズII試験に移行しており、診断薬としての有効性と、手術における精度の効果を検討している」。

米ワシントン大セントルイス校

表 承認されているイメージングラベルの特徴

蛍光体	ピーク励起/発光	明るさ (フルオレセインとの比較)	コスト (フルオレセインとの比較)
フルオレセイン	494nm/521nm	1X	1X
5-ALA(PpIX)	405nm/630nm	.005X	~200X
ICG	600~900nm/ 750nm~950nm	.15X	~2X

(Washington University-Saint Louis, WUSTL)放射線科の講師であるレイ・タン氏(Rui Tang)は、同僚と協力し、ターゲット蛍光体に別のアプローチを試みている。LS301は8アミノ酸に、小さな近赤外蛍光シアニン色素である cypate を結合させたものである⁽³⁾。780nm 付近で吸光し、820nm 付近で発光し、腫瘍細胞で上昇するタンパク質であるリン酸化アネキシンA2 (pANXA2) に選択的に結合する。

LS301は、特にカルシウム濃度が上昇したときにpANXA2と強い親和性を持つ。前臨床試験では、蛍光と腫瘍の位置との間に優れた相関が確認された。

タン氏によると、LS301の1つの重要な特徴は、がん発現の一般的なメカニズムを標的にしていることだという。「もし特定の経路をターゲットにすると、特定のがん特有のものかもしれない、また腫瘍の成長段階特有のものになってしまうかもしれない」と言う。

FGS の欠点

FGSはすでに素晴らしい成功を収めているが、改善の余地は十分にある。例えば、2006年にスタマー氏らによって実施された臨床試験では、完全に切除できた手術はわずか65%だった。問題の1つは、腫瘍の縁周辺の曖昧さにある。腫瘍は周辺組織に浸潤するが、その浸潤の先端は腫瘍細胞の密度が低く、そこではPpIX発現が低いことを意味し、通常組織と同レベルとなる。また、PpIX蛍光は組織によって吸光、散乱されてしまい、蛍光ラベルしても腫瘍境界を特定しにくくなる。さらに、ICG、フルオレセイン、5-ALA/PpIXは通常組織にも蓄積する⁽³⁾。

これらの問題は、イメージング剤の有効性を低下または無効化すらさせる可能性がある⁽³⁾。さらに厄介なことは、腫瘍の種類や患者ごとによって薬物動態が多様であり、蛍光が変化することだ⁽³⁾。実

用上の問題として、血液やその他の液体の貯留によって、励起光と発光の両方が遮断されて蛍光が減少することもあり得る。

もう1つの事実も留意しよう。FGSは手術の補助である、外科医を助けるということだ。特に脳では、蛍光が見えるからといって切除できるとは限らない。血液脳関門の矛盾により、蛍光が弱い部位をそのままにすべきではない。ダートマスのポールセン氏は、「外科医がよりよい仕事、つまり最善の判断を下すことを支援できるよう、我々は取り組んでいる」と指摘する。外科医の仕事は、蛍光イメージングからの情報を、事前知識や他の観察結果と組み合わせ、手術方針を決めることである。現在の方法では理想ではないものの、FGSを利用した外科医は、臨床と研究の両方でFGSの導入がさらに進むだろうと確信している⁽³⁾。

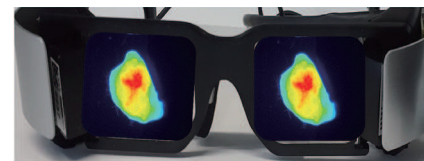


図4 研究者は商業開発を利用して、外科医に蛍光画像を効率よく表示する方法を作っている。その一例が、腫瘍の蛍光を示すゴーグルだ。(提供:タン氏)

「がんが進行しようとする限り、アネキシンとカルシウムは過剰発現する」。LS301のもう1つの特徴は、シンプルな化学的性質であるため、低コストで簡単に保管できることである。「我々の目標は、資源の限られた発展途上国でも標準治療を改善することだ」。

ダートマスとWUSTLのイメージング剤は、さまざまな開発段階にある数十種類の2つに過ぎない⁽³⁾、⁽⁴⁾。しかしこれは、最初の疑問に半分答えただけである。蛍光を可視化するには、適切な照明とイメージングシステムが必要である。

そのまま見る

FGSの光学系は、蛍光プローブと同じ目標で設計される。すなわち、高コントラストのイメージングをサポートし、腫瘍と通常組織を識別することである。バックグラウンドを最小限に抑えるため、照明は蛍光体の励起波長の狭い幅に限定すべきである。しかし、外科医が参考とするためには、白色光も最適である。本来の用途と蛍光体の励起波長に応じて、白色光の画像と狭帯域画像を重ねて表示したり、広帯域と狭帯域の照明を交互に切り替えて直視したりすることで実現できる。

その中で、さまざまなイメージングシステムが利用または開発されている。例えば脳腫瘍では、外科医は基本的に手術用顕微鏡で可視化しながら手術を行う。顕微鏡メーカーは、現在の

医療現場に導入できるよう、異なる蛍光体を可視化するためのカスタムモジュールを開発している。近赤外の蛍光を照射してイメージングするために、ハンドヘルド型のモジュールを開発している企業もある。あるグループは、フルオレセインをイメージングするために、既成の画像フィルタを組み込んだ必要最小限となるシステムを開発している^{(3)、(4)}。

スーマン・モンダル氏(Suman Mondal)は、WUSTLの放射線科の講師であり、LS301開発チームの一員でもある。モンダル氏は、近赤外の蛍光体を用いるFGSをサポートするためにイメージングハードウェアを設計している。イメージング性能に加え、彼らのグループは2つの要件を優先している。混雑する手術室に対する影響を最小限にすることと、外科医に自然な視野を提供することだ。これらの要件を満たすために取り組んでいるのが、ゴーグル拡張イメージング・ナビゲーションシステム(GAINS)と彼らが呼んでいる拡張現実型ヘッドマウントディスプレイである⁽³⁾。

GAINSには、近赤外照明LED、CMOSセンサ、光学フィルタ、ヘッドマウントディスプレイ、広帯域画像と蛍光画像を取得して合成するための画像処理プログラムが搭載されている(図4)。また、他のアプリケーションにおける発展も利用している。例えば、「監視カメラによって、近赤外センサの開発は、わずか数年で量子効率で25%から60%にまで向上した」とモンダル氏は話す。GAINSはすでに、乳がんの腫瘍境界を正確に可視化できることを証明しており、この技術の早期検証に貢献している。モンダル氏は臨床医と緊密に連携しており、外科医のフィードバックを受けながら設計を繰り返している。「米国

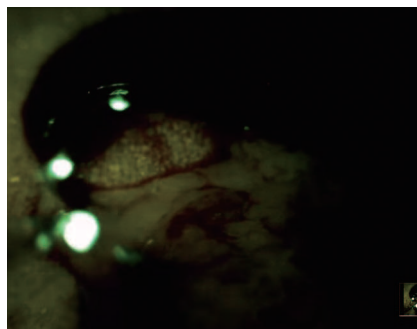


図5 切除手術のビデオからの静止画は、マウスモデルから膵臓腫瘍を切除していることを示す。(提供: PLOS One, doi:10.1371/journal.pone.0099977より廣島氏ら)

では年間約3万人の女性が、不完全な切除のために再手術を必要としている」と同氏は言う。「ヘルスケアシステムの負担を軽減するソリューションに参加することは、我々の大きなモチベーションとなっている」。

今後の展開に光を照らす

FGSの価値を支持する証拠は急速に集まっているが、それは未来のトレンドなのか、ニッチなアプリケーションなのだろうか。

ジェン・チェン氏(Zhen Cheng)は、米スタンフォード大(Stanford University)放射線学の准教授である。彼らは複数の研究機関とともに、より急速な導入に向けて道を切り開くかもしれないマルチスペクトルFGSの使用を最近報告した。チームは、事前にICGを投与された患者から肝臓の腫瘍を切除

した。彼らは可視光画像と、700~900nmのNIR-I画像と、1~1.7 μ mにわたるNIR-II画像を取得した。また、1000枚以上のIR画像と、スペクトルウィンドウごとに約500枚を取得した(図5)。NIR-IIでは、NIR-Iよりもいくつかの利点があることがわかった。より波長の長い画像は部屋の照明下でも劣化せず、腫瘍と正常組織の強度比がより高く、組織のより深いところにある腫瘍を検出できた。

ICG蛍光のNIR-II画像では、術前では検出できなかった腫瘍が特定され、NIR-IIデータは数名の患者において手術方針を変更する重要な要因となった。しかし、ICGのNIR-II蛍光で検出したのは、術前に同定された病変のうち60%以下でしかなかった。「検出率を大幅に向上させるための標的プローブを開発することが重要だ」とチェン氏は話す。同氏は、新たな標的イメージング剤の開発をサポートするには、革新的なアイデアが必要だろうと考えている。なぜなら、標的イメージング剤は、商業的関心の利益センターとまらないからだ。チェン氏のチームは、イメージング剤やイメージングシステムのさらなる改良を目指し、多施設臨床試験の続行を計画している。現時点では、「我々のデータは、FGSが外科医と患者の役に立つことを示している」と同氏は述べた。

参考文献

- (1) D. Y. Zhang et al, *Neurosurgery*, 85, 3, 312-324 (2019); doi:10.1093/neuros/nyy315.
- (2) M. Taniguchi and J. S. Lindsey, *Photochem. Photobiol.*, 94, 290-327 (2018); doi:10.1111/php.12860.
- (3) C. M. Erdman et al, *Child. Nerv. Syst.* (2020); doi:10.1007/s00381-020-04857-3.
- (4) T. Noh et al, *Neurosurg. Clin. N. Am.*, 32, 1, 47-54 (2021); doi:10.1016/j.nec.2020.09.003.
- (5) W. Stummer et al, *Lancet Oncol.*, 7, 5, 392-401 (2006); doi:10.1016/s1470-2045(06)70665-9.
- (6) O. Schober et al, *Mol. Imaging Oncol.*, 818-827 (2020).

著者紹介

リチャード・ゴーハンは米マウンテンオプティカルシステムズ社(Mountain Optical Systems)のオーナー、BioOptics World誌の寄稿記者。