



# OPTICAL MEASUREMENT OF DYE KINETICS AND ITS MEDICAL APPLICATION

Awazu, Kunio

---

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

1996-04-26

(Date of Publication)

2012-07-05

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2029

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.11501/3117008>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002029>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍) <sup>あわづくに お</sup> 粟津邦男 (京都府)

博士の専攻分野の名称 博士(工学)

学位記番号 博ろ第143号

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位授与の日付 平成8年4月26日

学位論文題目 OPTICAL MEASUREMENT OF DYE KINETICS AND ITS MEDICAL APPLICATION  
(色素代謝の光学的計測とその医療応用)

審査委員 主査 教授 藤井 進  
教授 多田 幸生 教授 赤澤 堅造

### 論文内容の要旨

現代医療では、より侵襲の少ない治療・診断システムの開発が要求されている。一方近年のレーザー、光ファイバー、および半導体受発光素子を中心としたオプトエレクトロクス技術は通信、情報、計測、システムの分野に寄与している。本技術は、対象に与える影響の小ささ、電磁干渉の問題の少なさ、大情報量を扱うことの容易さ等多くの利点を有しており、医療分野への応用が期待されている。特にレーザー等の単色光を生体組織に照射し、組織内色素による蛍光や光吸収を測定することにより、色素の取り込みや代謝のシステムの振る舞い、すなわち代謝動態を求めることは、臨床的に極めて有用である。代謝動態の知見は、癌の光化学治療や肝機能検査といった治療・診断方法を侵襲少なく効果的に行うために必須である。この代謝動態を求めるには、治療・診断対象となる組織中に存在あるいは化学的に結合する色素の蛍光強度や透過光強度の光学的測定法と、測定値から色素濃度を定量する適切な校正方法が開発されねばならない。さらに、得られた結果より導かれるパラメータから適切な治療方法や診断基準を提案するためには、生物学的評価も要求される。

上記の理由から、本研究においては、まず色素代謝の光学的計測方法の開発とその医療応用のため、色素濃度の代謝動態をコンパートメントシステムにモデル化することを試みた。次にレーザーによる蛍光法及び発光ダイオードによる吸光法を提案し、コラーゲン線維膜(2章)、ラット培養ガン細胞(3章)、肝臓(4章)を対象として実験的に得られた光学測定結果とコンパートメント解析により代謝動態を求めた。また、得られる色素の代謝動態より、細胞の活性あるいは肝の病態との関係を考察した。さらに、光学的に混濁と考えられる組織については、色素消失率を光散乱の影響を考慮した数学モデルにより解析することにより臨床結果と併せて検討した(5章)。

2章では、蛍光色素を、生体組織を模したコラーゲン膜からなるモデルに、光化学反応を用いて固定化し、退色により色素が消失する振る舞いをコンパートメントモデルを用いて表現した。実験的には、レーザーを用い、ガン診断に用いられつつある蛍光色素(TBR; Tetra Brominated Rhodamine)をコラーゲン膜に固定した後、レーザー蛍光法を用いて色素の光照射量毎の固定化率を求めると共に組織内光強度分布が可視化できることを示した。さらに、色素の組織モデルへの固定化速度、消失速度

を実験結果およびコンパートメントモデルによる解析を用いて求めた。また、コラーゲン膜にDMSO (Dimethylsulfoxide)を加えることで、DMSOがコラーゲンとTBR色素との間にあるアイスと呼ばれる構造を破壊することにより、固定化率が上昇することを示した。

3章では、2章で示したレーザ蛍光法を顕微鏡的に適用し、細胞レベルでの癌の光化学治療 (PDT; Photo-Dynamic Therapy) に応用した。PDTは、癌に取り込まれる蛍光色素を投与し、癌組織にレーザを照射し、色素が励起されたときに発生する活性酸素によってガン細胞を壊死させるというメカニズムの治療方法で、正常組織への侵襲は少ない。しかし、現在臨床的に使用されている色素の毒性が高いことや不要な色素の体外への排泄に時間を要することから、より侵襲の少ない色素の検討とプロトコール作りが要求されている。そこで、本章では細胞内因性のポルフィリン誘導体色素の細胞内濃度を高めてPDTに用いるため、個々の細胞内の蛍光色素濃度の測定およびレーザ照射時の色素退色率測定法を提案した。実験的には、個々の細胞へのレーザ照射が可能で、リアルタイムで蛍光を画像処理できるレーザ蛍光顕微鏡法とレーザ光ファイバー型蛍光スペクトル分析法を用いた。また、蛍光強度より濃度-蛍光強度の関係を定量化するための校正方法を示した。さらに、ラット乳ガン細胞でのPDTの細胞内因性色素の消失速度をコンパートメントモデルを用いて求める方法を示し、PDTに必要な照射光エネルギーおよび色素濃度を、培養細胞におけるPDT後の細胞生存率との関係から定め、PDTのプロトコールについて考察した。

4章では、2, 3章で示した消失速度測定を非侵襲的に実施する方法について検討し、この方法の臨床的応用例について示した。インドシアニングリーン (ICG; Indo-cyanine green) は血中からの消失が早く、胆汁へのみ排泄され、血漿消失には健康者群と肝疾患群とに有意差が認められ、鋭敏な肝色素排泄機能試験として用いられているが、消失速度の測定には少なくとも数回の採血が必要なことから患者にかける負担は大きい。そこで本章では、ICGの濃度変化から求められる消失速度を無侵襲で連続的に測定するため、2波長の光を用いて生体の揺動や血流変化による影響を取り除く校正方法および、近赤外発光ダイオードを用いた光センサーによる測定方法を開発した。さらに、本方法を470症例に対して臨床的に用い、同時に測定した従来の採血法による結果および肝疾患診断の結果と比較し考察した。

5章では、4章で述べた方法および結果に対して、解析的検討を加えた。組織内の光伝搬をモンテカルロ法及び光子拡散理論を用いて求める方法を提案し、生体組織を光学的に混濁な組織モデルとみなし、両方法の比較を行った。さらに混濁組織に付加された色素の消失速度を、組織の見かけ上の吸光より求められる消失速度と、従来の採血法により測定される結果との比較を行い、組織の散乱及び吸光の測定値に与える影響について考察した。

最後に、6章では本論文で得られた結果をまとめ、今後の研究の方向としていくつかの研究テーマを展望した。

## 論文審査の結果の要旨

医療においては、より侵襲の少ない治療・診断システムを求めて様々な研究開発が進められている。近年、急速に進歩しつつあるレーザ、光ファイバー、および半導体受発光素子を中心としたオプトエレクトロクス技術は、その対象に与える影響の小ささ、電磁干渉の問題の少なさ、大情報量を扱うことの容易さ等多くの利点を有しているため、医療分野への応用も活発に研究されている。本論文は、色素を用いる癌の光化学治療や肝機能検査などのより効果的な治療・診断方法の開発のために、組織

への色素の取り込みや代謝および光照射による退色のシステムの振る舞いを表す色素濃度のカイネティックスを、レーザに代表される単色光を生体組織に照射し、組織内の色素による蛍光や光吸収を測定することにより求める方法について研究した成果をまとめたものである。

第1章では、色素濃度のカイネティックスを求めることの治療、診断から見た意義と、その測定法の開発上の課題について論じている。

第2章では、コンパートメントシステムを用いて、色素が光化学反応により生体組織を模したコラーゲン膜からなるモデルに固定化され、退色により色素が消失する挙動を表現する。さらに、アルゴンイオンレーザを用いてコラーゲン膜にTBR(Tetra Brominated Rhodamine)色素を固定し、レーザ蛍光法により照射量毎の色素固定化率を求めると共に、組織内光強度分布が可視化出来ることを実験により示している。さらに、色素の組織モデルへの固定化速度、消失速度を実験結果およびコンパートメントモデルによる解析により求めている。また、コラーゲン膜にDMSO(Dimethylsulfoxide)を加えることで、固定化率が上昇することを示している。

第3章では、第2章で示したレーザ蛍光法を、細胞レベルでの癌の光化学治療(PDT)に応用する。PDTは、癌に取り込まれる蛍光色素(ポルフィリン誘導体)を投与し、癌組織にレーザを照射し、色素が励起されたときに発生する酸素によってこれを壊死させるというメカニズムの治療方法で、正常組織への侵襲は少ない。しかし、より侵襲の少ない色素の検討とプロトコール作りが要求されている。本章では、内因性のポルフィリン色素の濃度を高めてPDTに用い、個々の細胞内の蛍光色素濃度の測定およびレーザを照射したときの色素の退色率を、ファイバー型蛍光スペクトル分析装置を用いて測定する方法を示すと共に、蛍光強度より濃度-蛍光強度の関係を定量化するための校正方法を示している。さらに、ラット乳ガン細胞に対するPDTによる細胞内因性色素の消失速度をコンパートメントモデルを用いて求めるとともに、内因性色素を用いたPDTのプロトコールについて実験的に検討している。

第4章では、肝色素排泄機能試験に用いられているインドシアニンググリーン(ICG)の濃度変化に基づく消失速度を、採血法ではなく無侵襲で連続的に測定する方法を提案している。このために必要となる、2波長の光により生体の揺動や血流変化の影響を除去する校正方法および、近赤外発光ダイオードを用いた光センサーによる消失速度測定法を示し、さらに470例の臨床実験により、提案法と採血法による消失速度の測定結果並びに疾患診断の結果を比較し、その有効性を示している。

第5章では、組織内の光伝搬をモンテカルロ法及び光子拡散理論を用いて求める方法を提案し、前章の方法および結果の解析的検討を行っている。生体組織を光学的に混濁な組織モデルとみなし両方法の比較を行うとともに、色素の消失速度を、採血法による測定結果と組織の見かけ上の吸光より求められる速度と比較し、組織の散乱及び吸光の測定値に与える影響について考察している。

第6章では本論文で得られた結果をまとめている。

本研究は、色素を用いる癌の光化学治療や肝機能検査などのより効果的な治療・診断方法の開発のために、色素濃度のカイネティックスをコンパートメントシステムにモデル化したのち、レーザによる蛍光法及び発光ダイオードによる吸光法を提案し、その有用性を理論的、実験的に検討したものである。これによって、色素代謝の光学的計測方法の開発とその医療応用について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって、学位申請者 粟津 邦男 は、博士(工学)の学位を得る資格があると認める。