

学位論文 博士 (工学)

光増感反応を用いた経カテーテル的頻脈性不整脈治療  
における光学モニター技術

2014 年度

慶應義塾大学大学院理工学研究科

高橋 芽意

# 主論文要旨

主論文題目：

光増感反応を用いた経カテーテル的頻脈性不整脈治療  
における光学モニター技術

(内容の要旨)

申請者は光増感反応を用いた経カテーテル的頻脈性不整脈治療 (光線力学アブレーション) を安全確実に運用するための光学モニターを提案し、基礎実験および大型動物を用いた実証実験によりその実用性を検討した。検討した光学モニターは、レーザ照射に伴う発熱による血液の熱凝固物形成を防止するための血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、隣接臓器保全および確実な心筋電気伝導遮断を得るために治療深度を推定する細胞外光増感反応進行モニター、光線過敏症のリスクを管理するための皮膚残留薬剤モニターの 3 つである。頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療は、心筋傷害によりその電気伝導を遮断して即時的に治療効果を得ることおよび治療に関する物理情報を各種モニターより取得しながら治療を制御することに特徴がある。従来の組織熱凝固による治療とは異なり、光線力学アブレーションは光感受性物質タラポルフィンナトリウムとその Q 帯吸収ピークに相当する  $664\pm 2$  nm の半導体レーザ光を用いた光増感反応による酸化作用により治療を達成するため、従来のモニター技術に加えて、光増感反応による治療原理に立脚した光学モニター技術が必要となる。

血液熱変性モニターの目的は、放射照度  $40$  W/cm<sup>2</sup> 以上の光照射を行う際に血液-光学窓界面の発熱により生成される血液熱凝固物に関して、その発生過程を施術中に観測して塞栓症を予防することにある。レーザ照射に伴う血液熱凝固物生成過程は、熱作用による赤血球形態変化に由来する光学特性変化に基づく拡散反射光強度変化にて説明できること、また経時的に拡散反射光強度を計測することにより血液熱凝固物生成過程を検出しその生成を未然に検知できることを見出した。

光線力学アブレーションによる治療深度と経カテーテル的に経時計測したタラポルフィンナトリウムの波長  $710\pm 2$  nm における蛍光の減少総量に対数関数相関を見出し、心筋における光線力学アブレーションをモデル化することでこの相関を説明するとともに、治療深度の推定を行えた。この細胞外光増感反応進行モニター技術により光線力学アブレーションによる治療深度を  $1.0\pm 0.6$  mm の精度にて推定可能であったことから、貫壁性の治療深度を得つつ近接する重要臓器を保全するために必要な mm 単位での治療深度推定性能を有することがわかった。

皮膚残留薬剤モニターは、光線過敏症が発症する表皮に残留するタラポルフィンナトリ

ウムの相対濃度を推定し、光線過敏症の発症リスク管理に活用することを目的とする。波長  $409\pm 16$  nm の Soret 帯光励起によって  $90\sim 300$   $\mu\text{m}$  深さに分布するタラポルフィンナトリウム蛍光を、長さ 5 cm の光拡散チップにより皮膚測定部位の不均一性を克服しつつ計測可能であることを明らかにした。この皮膚残留薬剤モニターは臨床において遮光措置が解除される投薬 2 週間後の血漿中タラポルフィンナトリウム濃度に相当する  $2.5\pm 0.1$   $\mu\text{g/ml}$  まで測定可能であり、実用性を有することを示した。

以上本研究では、提案した光学モニター技術により光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療における塞栓症発症リスクの抑制、mm 単位での治療深度推定、光線過敏症発症リスクの管理の効能が見込め、治療の安全性および確実性を高められることが示唆された。

## SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

### Title

Optical monitoring techniques for application of photodynamic ablation to tachyarrhythmia treatment

### Abstract

The author proposed and designed optical monitoring techniques for application of photodynamic ablation to tachyarrhythmia treatment using talaporfin sodium. The proposed optical monitors are aimed to inspect clot formation process at the boundary between blood and optical window of the laser catheter to detect clot formation, observe the progress of extracellular-photosensitization reaction to estimate myocardial treatment depth by photodynamic ablation, and predict talaporfin sodium concentration in epidermis to evaluate skin photosensitivity risk.

A clot formation process was investigated by backscattering light measurement using *ex vivo* experimental system. Backscattering light change during the laser irradiation was corresponded to the optical property change at the blood-optical window boundary due to morphology change of red blood cells associated with laser-induced heating.

The extracellular-photosensitization reaction progression monitor was proposed employing measurement of talaporfin sodium fluorescence in wavelength of  $710\pm 2$  nm via the laser catheter during the photodynamic ablation. A logarithmic relationship between the measured myocardial necrosis depth and summation of fluorescence intensity decrease was found in the result from *in vivo* animal experiment. This relationship was clearly explained by a simplified reaction model for extracellular-photosensitization reaction in myocardium. The myocardial treatment depth by photodynamic ablation might be predicted with  $1.0\pm 0.6$  mm accuracy, which would satisfy the requirements for practical tachyarrhythmia treatment to avoid surrounding organ injury and achieve transmural myocardial necrosis.

The fluorescence sensing system employing Soret-band light excitation of  $409\pm 16$  nm in wavelength via 5 cm long diffuse tips was proposed to estimate the relative talaporfin sodium concentration in epidermis, where skin photosensitivity occurs. The talaporfin sodium in skin with concentration of  $2.5\pm 0.1$   $\mu\text{g/ml}$  in plasma was successfully detected *in vivo*. This concentration was equivalent to that of when dark hospitalization would be expired in clinical such as 2 weeks after the

talaporfin sodium administration. The author concludes that employing the proposed optical monitors, which aimed to ensure safety and practicability such as embolism prevention, treatment depth prediction, and skin photosensitivity risk management, might promote the reliability of photodynamic ablation for tachyarrhythmia treatment in clinical.

## 目次

第1章 序論	1
1.1 緒言	1
1.2 光増感反応を用いた経カテーテル的頻脈性不整脈治療における光学モニターの目的と背景	1
1.3 本論文の構成	3
1.4 結言	4
参考文献	5
図表	8
第2章 光増感反応を用いた治療とモニター技術	9
2.1 緒言	9
2.2 光増感反応	9
2.2.1 光増感反応の原理	9
2.2.2 光増感反応に用いられる光感受性薬剤	10
2.3 光増感反応を用いた治療	12
2.3.1 細胞内光増感反応を用いた治療	12
2.3.2 細胞外光増感反応を用いた治療	13
2.4 光増感反応を用いた治療におけるモニター技術	14
2.5 光増感反応を用いた治療の副作用	16
2.5.1 光線過敏症	17
2.5.2 肝機能障害	18
2.6 結言	18
参考文献	19
図表	24
第3章 頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療とモニター技術	33
3.1 緒言	33
3.2 頻脈性不整脈と治療指針	33
3.2.1 頻脈性不整脈の分類	33
3.2.2 頻脈性不整脈の治療指針	34
3.3 頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療	36
3.3.1 心筋電気伝導遮断の原理	36
3.3.2 カテーテルアブレーション技術の開発経緯	37
3.3.2.1 Point-to-point アブレーション技術	38
3.3.2.2 一括アブレーション技術	39
3.3.3 カテーテルアブレーション治療の課題	41
3.4 カテーテルアブレーション治療におけるモニター技術	42
3.4.1 電気生理モニター	42
3.4.2 カテーテルアブレーション治療中のモニター	43
3.4.2.1 熱作用モニター	43
3.4.2.2 接触および接触圧モニター	45
3.5 結言	47
参考文献	48

図表	56
第4章 頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーション	67
4.1 緒言	67
4.2 光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断原理	67
4.3 光線力学アブレーションの運用構想	69
4.4 光線力学アブレーションにおいて使用する機材と開発状況	70
4.4.1 レーザカテーテル	70
4.4.2 光感受性薬剤タラポルフィンナトリウム	71
4.4.3 レーザ発振装置、モニター装置	72
4.5 結言	73
参考文献	74
図表	76
第5章 光線力学アブレーションにおける光学モニター技術の提案	88
5.1 緒言	88
5.2 光学モニター技術の提案	88
5.2.1 光線力学アブレーションにおいて必要とされる光学モニター	88
5.2.2 本研究で取り組む光学モニター	89
5.2.2.1 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター	90
5.2.2.2 細胞外光増感反応進行モニター	91
5.2.2.3 皮膚残留薬剤モニター	92
5.3 結言	92
参考文献	93
図表	96
第6章 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター	98
6.1 緒言	98
6.2 拡散反射光経時計測による血液-光学窓界面における発熱過程の光学現象調査 ( <i>ex vivo</i> )	98
6.2.1 実験方法	98
6.2.2 実験結果	100
6.3 双積分球法による血液-光学窓界面発熱過程における血液光学特性経時測定 ( <i>ex vivo</i> )	100
6.3.1 実験方法	100
6.3.2 実験結果	101
6.4 血液-光学窓界面の血液熱変性モニターの実用性検討	102
6.4.1 経カテーテル的拡散反射光経時計測による血液-光学窓界面の血液熱変性モニター運用実験 ( <i>in vivo</i> )	102
6.4.1.1 実験方法	102
6.4.1.2 実験結果	103
6.4.2 血液-光学窓界面の発熱過程における血液焦げ付き前駆状態の検出性能調査 ( <i>ex vivo</i> )	104
6.4.2.1 実験方法	104
6.4.2.2 実験結果	105
6.4.3 血液-光学窓界面の発熱過程における過熱防止法の運用実験 ( <i>ex vivo</i> )	105
6.4.3.1 実験方法	105
6.4.3.2 実験結果	106

6.5 考察	106
6.6 本章の適用範囲	109
6.7 結言	110
参考文献	111
図表	114
<b>第7章 細胞外光増感反応進行モニター</b>	<b>130</b>
7.1 緒言	130
7.2 光線力学アブレーションによる細胞外光増感反応進行モニターの提案	130
7.3 細胞外光増感反応進行モニターの運用実験 ( <i>in vivo</i> )	132
7.3.1 実験方法	132
7.3.2 実験結果	134
7.4 細胞外光増感反応進行モニターに対するレーザカテーテル接触圧力の影響	135
7.4.1 レーザカテーテル接触圧力が治療深度に与える影響 ( <i>in vivo</i> )	135
7.4.1.1 実験方法	135
7.4.1.2 実験結果	137
7.4.2 レーザカテーテル接触圧力と心筋血流量の関係 ( <i>in vivo</i> )	138
7.4.2.1 実験方法	138
7.4.2.2 実験結果	139
7.5 考察	139
7.6 本章の適用範囲	143
7.7 結言	144
参考文献	145
図表	149
<b>第8章 皮膚残留薬剤モニター</b>	<b>173</b>
8.1 緒言	173
8.2 皮膚残留薬剤モニターの運用構想	173
8.3 皮膚残留薬剤モニターの試作	174
8.3.1 試作皮膚残留薬剤モニターの構成	175
8.3.2 性能評価	175
8.3.2.1 実験方法	176
8.3.2.2 実験結果	177
8.4 皮膚残留薬剤モニターの運用実験 ( <i>in vivo</i> )	177
8.4.1 実験動物の準備	177
8.4.2 皮膚残留薬剤モニターを用いた経皮的蛍光計測	177
8.4.2.1 実験方法	178
8.4.2.2 実験結果	178
8.4.3 光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムの薬物動態調査	179
8.4.3.1 実験方法	179
8.4.3.2 実験結果	180
8.4.4 皮膚の組織病理学的評価	180
8.4.4.1 実験方法	180
8.4.4.2 実験結果	181
8.5 考察	181
8.6 本章の適用範囲	183
8.7 結言	184



参考文献	185
図表	187
<b>第9章 光学モニター技術に関する総括的討論</b>	<b>205</b>
9.1 光学モニター技術の位置づけ	205
9.1.1 技術的優位性	205
9.1.2 社会的な有効性	209
9.2 本研究で提案した光学モニター技術の総括	210
参考文献	211
図表	212
<b>第10章 結論</b>	<b>214</b>
参考文献	216
<b>付録</b>	<b>217</b>
A Invers adding doubling (IAD) 法	217
B 薬物動態解析のための2コンパートメントモデル	219
C 本研究で提案した光学モニター技術の医療経済的評価法	221
C.1 診療報酬点数	221
C.2 本研究で提案した光学モニター技術に対する診療報酬点数の推定方法	221
C.3 比較対象とする他光学モニター技術	223
D 用語および略語説明	225
D.1 光照射および光計測に関する用語および記号説明	225
D.1.1 用語説明	225
D.1.2 記号説明	225
参考文献	226
図表	228
<b>著者論文目録</b>	<b>235</b>
<b>謝辞</b>	

## 図表の目次

図 1-1	本論文の構成
図 2-1	光感受性薬剤と酸素の光増感反応のエネルギーダイアグラム
図 2-2	ポルフィマーナトリウムの構造式
表 2-1	ポルフィマーナトリウムの化学的特性
図 2-3	第二世代光感受性薬剤の化学構造
表 2-2	代表的な第二世代光感受性薬剤の特性および適用疾患
表 2-3	細胞内光増感反応と細胞外光増感反応の比較
表 2-4	治療効果の予測を目的としたモニター技術の種類と目的、および方法
表 2-5	Explicit および Implicit metric によるモニター方法の長所と短所
表 2-6	Implicit metric を用いたモニターの報告例
表 3-1	頻脈性不整脈の分類と起源、および我が国における不整脈全体における出現頻度
図 3-1	Point-to-point アブレーション型のイリゲーションカテーテル
図 3-2	一括アブレーション型の高周波アブレーション用カテーテル
図 3-3	クライオアブレーション用カテーテル
図 3-4	レーザーアブレーション用カテーテル
表 3-2	心房細動に対する種々のカテーテルアブレーションにおける合併症の発生頻度
図 3-5	三次元マッピングシステム CARTO <sup>®</sup> System における左心房マッピング画像
図 3-6	食道温度モニター装置 Sensitherm <sup>™</sup>
図 3-7	接触圧モニター機能付き高周波アブレーション用カテーテル
図 3-8	高周波アブレーションにおけるカテーテル接触圧力と治療深度および治療体積の関係
図 3-9	レーザーアブレーション用カテーテル HeartLight <sup>®</sup> による肺静脈入口部の観察画像
表 4-1	現行のカテーテルアブレーションと光線力学アブレーションの比較
図 4-1	レーザーカテーテルの外観
図 4-2	レーザーカテーテル先端の内部構造
図 4-3	レーザーカテーテル先端から照射したレーザー光の相対照射強度分布
図 4-4	レーザーカテーテルの先端屈曲
図 4-5	ヒト、ブタ、イヌ、マウス、ラットにおける血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移
図 4-6	タラポルフィンナトリウムの吸収スペクトル
図 4-7	レーザー発振装置 Optical Fuel の外観および発振スペクトル
図 4-8	モニター装置光学系の外観
図 4-9	モニター装置光学系の内部構造
図 4-10	モニター装置光学系に搭載された光学系の透過スペクトル
図 4-11	レーザー発振装置、モニター装置、およびカテーテル先端電位表示機能を備えた一体型の光線力学アブレーション装置の外観

図 5-1	光線力学アブレーションにおいて利用可能なモニターとその観測対象
図 5-2	経レーザカテーテル的にブタ心内腔にて放射照度 $40 \text{ W/cm}^2$ にて光線力学アブレーションを行ったときにレーザカテーテル先端光学窓に付着した血液の炭化物
表 5-1	血中レーザ光照射における炭化物検知技術
図 6-1	血液-光学窓界面モデルの模式図
図 6-2	赤色レーザ光照射中の拡散反射光強度経時測定用に構築した顕微計測系
図 6-3	顕微計測系にて使用したダイクロイックミラー (770DCXR, Chroma Technology Corp.) の透過スペクトル
図 6-4	顕微計測系において測定した血液-光学窓界面モデルからの拡散反射光強度変位の経時変化
図 6-5	放射照度 $2.3 \text{ W/cm}^2$ にてレーザ光照射を行った際の赤血球形状
図 6-6	光学特性経時計測のために構築した双積分球系の概要
図 6-7	光学特性経時計測のために構築した双積分球系の外観
図 6-8	血液-光学窓界面モデルに対して放射照度 $40 \text{ W/cm}^2$ にてレーザ光照射を行った際の $R_d$ 、 $T_d$ 、 $T_c$ の変位の時間変化
図 6-9	血液-光学窓界面血液に対して放射照度 $40 \text{ W/cm}^2$ にてレーザ光照射を行った際の $\mu_a$ および $\mu'_s$ の経時変化
図 6-10	経カテーテル的拡散反射光強度経時計測のための光学系の概要
図 6-11	ブタ右心房において放射照度 $60 \text{ W/cm}^2$ にて光線力学アブレーションを行った際にレーザカテーテル先端光学窓に付着した熱凝固物
図 6-12	ブタ右心房において放射照度 $60 \text{ W/cm}^2$ にて光線力学アブレーションを行った際に、レーザ光照射 8 回目に計測した経カテーテル的拡散反射光強度経時変化
表 6-1	熱凝固物生成事前検知精度検討のための熱凝固物生成過程の分類表
図 6-13	拡散反射光強度経時計測による血液熱凝固物生成前段階検出における ROC 曲線
図 6-14	血液熱凝固物生成前段階にて放射照度を減少させたときの拡散反射光強度変位の経時変化
表 6-2	熱作用による赤血球の形態変化および光学特性変化に関する報告
図 7-1	心筋組織に対する光線力学アブレーションの概念
図 7-2	心筋細胞における細胞外光増感反応の概念
図 7-3	経カテーテル的蛍光計測から算出する細胞外光増感反応の進行指標である FA の概念
図 7-4	経カテーテル的タラポルフィンナトリウム蛍光および拡散反射励起光経時計測のための光学系の概要
図 7-5	タラポルフィンナトリウムの蛍光スペクトル
表 7-1	開胸下イヌ心筋における経カテーテル的光線力学アブレーションによる治療深度調査のための投薬および光照射条件
図 7-6	タラポルフィンナトリウムを $2.5 \text{ mg/kg}$ 投与したイヌの開胸下心室に、放射照度 $10 \text{ W/cm}^2$ 、 $20 \text{ s}$ にて光線力学アブレーションを行ったときの経カテーテル的蛍光経時変化
図 7-7	タラポルフィンナトリウムを $2.5 \text{ mg/kg}$ 投与したイヌの開胸下心室に、放射照度 $10 \text{ W/cm}^2$ 、 $20 \text{ s}$ にて光線力学アブレーションを行った際の HE 染色標本の顕微画像 (倍率: 4.2 倍)
図 7-8	タラポルフィンナトリウムを $2.5 \text{ mg/kg}$ 投与したイヌの開胸下心室に、放射

- 照度  $10 \text{ W/cm}^2$ 、 $20 \text{ s}$  にて光線力学アブレーションを行った際の HE 染色標本の顕微画像 (倍率: 40 倍)
- 図 7-9 タラポルフィンナトリウム  $5 \text{ mg/kg}$  を投与したイヌ開胸下心室において放射照度  $5, 10 \text{ W/cm}^2$  にて光線力学アブレーションを行った際の FA と  $d_{mnc}$  の関係
- 図 7-10 タラポルフィンナトリウム  $2.5, 5 \text{ mg/kg}$  投与したイヌ開胸下心室において、放射照度  $5, 10, 20 \text{ W/cm}^2$  にて光線力学アブレーションを行った場合の FA と  $d_{mnc}$  の関係
- 図 7-11 イヌにタラポルフィンナトリウムを  $2.5 \text{ mg/kg}$  を単回静脈投与、 $2.93 \text{ mg/kg/hr}$  にて持続静脈投与した際の実測血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移
- 図 7-12 イヌ心筋に接触圧力  $0, 40 \text{ g}$  を負荷して光線力学アブレーションを行った際の経カテーテル的蛍光強度経時変化
- 図 7-13 カテーテル接触圧力と血漿中薬剤濃度で補正した  $d_{mnc}$  および FA の関係
- 図 7-14 タラポルフィンナトリウム投薬前に経カテーテル的に放射照度  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行ったときのカテーテル接触圧力と蛍光強度
- 図 7-15 タラポルフィンナトリウム投薬から 15 分後に経カテーテル的に放射照度  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行ったときのカテーテル接触圧力と蛍光強度
- 図 7-16 タラポルフィンナトリウム投薬から 15 分後に経カテーテル的に放射照度  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行った際の、分類したカテーテル接触圧力と蛍光強度
- 図 7-17 デジタルフォースゲージを装着したレーザドップラー血流計を用いたブタ開胸下心筋における血流速度計測
- 図 7-18 血流量の相対値とカテーテル接触圧力の経時変化
- 図 7-19 カテーテル接触圧力と心筋血流量相対値の関係
- 図 7-20 分類したカテーテル接触圧力と血流量の相対値の関係
- 表 7-2 心筋における水溶性物質の毛細血管透過性
- 図 7-21 心筋血流と血管透過性の関係
- 表 7-3 蛍光計測を用いた光増感反応による治療効果を推定する方法の報告例
- 図 8-1 試作した皮膚残留薬剤モニター計測プローブの外観
- 図 8-2 試作した皮膚残留薬剤モニター計測プローブの設計図
- 図 8-3 青色 LED 光源からの発光スペクトルとロングパスフィルターの透過スペクトル
- 図 8-4 拡散チップの透過率計測のための積分球系の模式図
- 図 8-5 皮膚残留薬剤モニター計測プローブからの照射強度分布計測系の模式図
- 図 8-6 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの光照射強度分布
- 図 8-7 白色 LED 光源の光放射強度分布
- 図 8-8 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの受光分布計測系の模式図
- 図 8-9 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの受光強度分布
- 図 8-10 皮膚残留薬剤モニター計測プローブをブタに設置した様子
- 図 8-11 皮膚残留薬剤モニターによりブタ皮膚において計測した蛍光スペクトルの経時変化
- 図 8-12 ブタ皮膚において計測・算出した  $S_{\text{fluo}}$  の経時変化
- 図 8-13 実測したブタ血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移および推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移
- 図 8-14 皮膚残留薬剤モニター計測プローブを設置したブタ皮膚の HE 染色標本の倍率 40 倍における観察画像

図 8-15	種々の蛍光計測条件における $S_{fluor}$ と血漿中、組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移
図 8-16	$S_{fluor}$ の一例と血漿中、組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移
図 8-17	$S_{fluor}$ の構成比率 $a/b$ と皮膚残留薬剤モニター設置部位および圧排の有無との関係
表 8-1	蛍光計測により光感受性薬剤分布を推定する方法および装置の報告例
表 9-1	本研究で提案した光学モニター技術の計測方法、解釈・解析方法、および得られる結果
図 9-1	本研究で提案した光学モニター技術および治療用光学モニター技術の医療経済的評価
図 A-1	Adding doubling 法; ある一層の薄層に $\nu'$ の角度から入射した光が $\nu$ の角度に反射率 $R_{(\nu', \nu)}$ にて反射、透過率 $T_{(\nu', \nu)}$ にて透過する場合の概念図
図 A-2	Adding doubling 法; 第一層と同じ層を重ねる doubling を行った場合の光束の出入りの概念図
図 A-3	Adding doubling 法; 第三層を重ねた場合の光束の流入出の概念図
図 B-1	単回静脈投与における 2 コンパートメントモデル
図 C-1	医科診療報酬点数の構成
表 C-1	頻脈性不整脈治療に関する医療機器に定められた特定保険医療材料の材料価格
表 C-2	1 日あたりの一般病棟入院基本料

## 第 1 章 序論

### 1.1 緒言

本研究の目的は、細胞外光増感反応を応用した経カテーテル的頻脈性不整脈治療（光線力学アブレーション）を安全かつ確実に施行するための情報を提供できる、光学モニター技術を確立することにある。具体的には、(i) 塞栓症を未然に防止するために光照射に伴うカテーテル先端光学窓界面における血液の熱変性過程を観測すること、(ii) 治療深度を推定することで周囲臓器に傷害を与えることなく貫壁性に心筋電気伝導遮断を実現する目的で細胞外光増感反応の進行を観測すること、(iii) 光感受性薬剤投与に起因する副作用である光線過敏症の発症リスクを管理するために皮膚に残留する光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定すること、である。

光線力学アブレーションは、通常癌治療に利用される光増感反応を経カテーテル的な頻脈性不整脈治療に応用したものである [1]。光線力学アブレーションは光増感反応により生成された一重項酸素の酸化作用によって心筋細胞を傷害し、頻脈性不整脈を引き起こす電気興奮の伝搬経路を遮断することで、頻脈性不整脈を治療する構想である [1, 2]。頻脈性不整脈に対する現行のカテーテルアブレーション治療は、即時的に心筋電気伝導遮断効果を得られることから、術者が施術中に治療に関する情報を取得・確認しながら治療を行う特徴がある [3]。そのため、治療に関する情報を提供するモニター技術に対するニーズが高まっている [4]。現在、最も普及している高周波カテーテルアブレーションでは、高周波電流を通電することによって心筋を熱凝固壊死させる。一方、光線力学アブレーションは光感受性薬剤とレーザー光の化学反応により心筋を傷害する治療機構であり、レーザー光照射条件を変更することによって治療制御を行う。よって著者は光線力学アブレーションにおいて光学的手法に基づいた計測により術者に治療に関する情報を提供するモニター技術を確立することが必要であると考え、本研究を行った。

### 1.2 本研究の目的と背景

頻脈性不整脈に対する代表的治療法は薬物療法であるが、非薬物療法であるカテーテルアブレーションが根治治療法として薬物療法よりも優れた治療効果を示すことが実証され、近年急速に普及してきている [5, 6]。カテーテルアブレーションの治療指針は、心筋を壊死させることによって頻脈性不整脈を引き起こす電気興奮の伝導経路を遮断することにある [7]。疾患ごとに頻脈性不整脈治療のための心筋電気伝導遮断線および、貫壁性傷害を起こすべき心筋厚みが異なるため、アブレーションに要求される性能も異なる [8, 9]。高周波カテーテルアブレーションは 500 kHz 程度の高周波電流を通電することで心筋組織を熱凝固壊死させて電気伝導遮断を得る方法である [7]。高周波カテーテルアブレーションでは、心

筋組織内温度を制御することが困難であることから、過加熱に伴う副作用が発生する [9, 10]。例えば、心房細動に対する高周波カテーテルアブレーションにおける副作用は総計 5% 以下であり、心タンポナーデ (1.1%)、塞栓症 (0.8%)、食道瘻 (0.2%)、横隔神経障害 (0.3%)、などがある [10]。特に、心タンポナーデや塞栓症は、過加熱によってカテーテル先端に血液の凝固・炭化物が生成して過加熱が増悪することが原因の一端であり、その生成の未然防止が必要とされている。高周波アブレーションによる副作用は、重篤であるとともに頻脈性不整脈は抗不整脈薬投与によって保存的な治療が可能であることから、問題視される。これらの副作用の原因である熱作用を用いない新たな治療法として光線力学アブレーションが提案されてきた [1]。光増感反応を応用した癌治療においては、癌細胞・癌組織における光感受性薬剤排泄が健常組織よりも遅いことを利用して、光感受性薬剤投与から数 hr 後に癌細胞・癌組織における光感受性薬剤濃度が健常組織に比べて相対的に高い状態になってから照射を行う [11,12]。すなわち、このような治療では癌細胞・癌組織を選択的に治療することができる。この光増感反応の場合、光感受性薬剤は特定の細胞内小器官に分布するので、これを細胞内光増感反応と呼ぶ。一方、癌細胞・癌組織のような排泄特性をもたない組織に対する光増感反応では、光感受性薬剤投与から照射までの時間を設定する必要がない。対象組織が心筋組織である光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては、光感受性薬剤を投与してから 15~30 min 後に、光感受性薬剤が心筋間質中あるいは血中に分布した状態で照射を行う細胞外光増感反応を利用する [13, 14]。細胞外からの傷害によってイオンチャネル障害が生じるので即時的な電気伝導遮断が得られ、細胞膜傷害が惹起されて細胞死を起こす [14]。光線力学アブレーションにおいては、光感受性薬剤の心筋間質への送達および全身からの排泄が早期に行われることが望ましいため、水溶性の光感受性薬剤であるタラポルフィンナトリウム (Talaporfin sodium, Laserphyrin<sup>®</sup>, NPe6) が光感受性薬剤として採用されている [1, 14, 15]。タラポルフィンナトリウムは生体内において血漿タンパク質に結合して、Soret 帯吸収ピークとして 404 nm に、Q 帯吸収ピークとして 664 nm に吸収ピークを有する [17]。タラポルフィンナトリウムを光励起すると、Q 帯の自然放出として中心波長 667 nm にピークを有する蛍光を発する [18]。頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーションにおいて必要な心筋組織傷害深度は、心房を対象とする場合は 1~4 mm、心室を対象とする場合は 5~12 mm である [19, 20]。そのため、光線力学アブレーションにおいては光侵達長が 0.96 mm と大きい Q 帯光を細胞外光増感反応の励起光源として用いて血中で照射して、治療を行う [2, 13]。光線力学アブレーションによる治療深度は放射照度 [ $\text{W}/\text{cm}^2$ ] および放射照射量 [ $\text{J}/\text{cm}^2$ ] によって制御できる。光線力学アブレーションの利点は現行治療法である高周波アブレーションに比べて治療に伴う熱発生が抑えられ、熱的副作用の抑制が可能である点にある [1, 2]。一方で、光感受性薬剤が術後に皮膚組織に残留し、日光曝露により光線過敏症が起こる危険性がある [21]。光線力学アブレーションに用いるタラポルフィンナトリウムは、早期肺癌および原発性悪性脳腫瘍において

認可されている投与条件  $40 \text{ mg/m}^2$  において、光線過敏症発症を避けるために代謝の最も遅い患者を基準として約 2 週間 500 ルクス以下の室内で過ごさせる遮光措置が課されているが [22]、厳密な遮光措置を医師管理の下で行うためには入院を指示せざるを得ないため、現実には 2 週間の入院が必要となる。しかし、タラポルフィンナトリウムの代謝速度は個人によって大きく異なることから、代謝の速い患者については光線過敏症リスクを評価できる方法があれば早期の退院も可能になると考えられる。

頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーションにおいては、疾患や患者によって異なる様態や治療部位に対応しつつ治療の安全性を担保するために、術者が施術中に治療に関する種々の情報を即時的に取得できるモニター技術を併用する。現在の臨床では、心内電位を計測する電気生理学的検査によって治療部位の特定や治療効果を確認したり、心臓の構造を把握しながら適切なアブレーションライン作成の戦略をたて有効な治療の実現を支援したりする三次元マッピングシステム (electroanatomical mapping 法) が広く普及している [3, 23]。また、治療温度制御を目的としてカテーテル先端温度を施術中に計測・表示する温度モニターや、組織内発熱を反映するインピーダンスモニター、接触圧力計測により過圧による心穿孔を防止する接触圧モニターなど、多くのモニター技術が開発されている [4, 24, 25]。前述のように、光線力学アブレーションは光を用いた治療であるから、この治療におけるモニター技術は光学計測に基づいた光学モニター技術が望ましい。著者は、安全かつ確実な光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療を実現するための治療支援を行うことを目的とした光学モニターの確立をめざす。光学モニターとして、光照射による血液熱凝固物生成防止のための血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、光線力学アブレーションによる心筋傷害深度を推定するための細胞外光増感反応進行モニター、光線過敏症の発症リスクを管理するための皮膚残留薬剤モニターの開発を目指す。各モニターの目的に沿って、光と心筋組織あるいは血液との相互作用を実験的に調査し、得られた計測結果を解析する手法を検討した。また、試作装置を用いて大型動物実験において各種モニターの運用を行い、臨床における実用性を検証した。

### 1.3 本論文の構成

本論文は 10 章から構成される。図 1-1 に本論文の構成を示す。

本章では光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療における光学モニターを提案するに至った背景を記述した。

第 2 章では、光増感反応を用いた治療に関して、その治療メカニズムと応用例、治療におけるモニター技術、現状の治療における課題点に関して述べた。

第 3 章では、頻脈性不整脈の病態およびその治療法を述べ、現行のカテーテルアブレーション治療の課題、カテーテルアブレーションにおいて現在用いられているモニター技術について述べた。



第 4 章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療に関して、その治療メカニズムと治療運用構想、開発中の装置の概要を述べた。

第 5 章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において運用する三種の光学モニターを提案した。光線力学アブレーションにおいて必要とされるモニター技術に関して述べ、本研究で提案する光学モニター技術の目的を示した。

第 6 章では、治療深度 5~12 mm を必要とする心室を対象とした光線力学アブレーションを想定した際に、血中で経レーザカテーテル的に  $40 \text{ W/cm}^2$  以上の放射照度にて光照射を行う場合に血液-光学窓界面にて発生する熱作用に関して、その発熱過程を観測し塞栓症の原因となる血液熱凝固物の生成を未然防止するための光学モニター（血液-光学窓界面の血液熱変性モニター）を提案した。経時的な拡散反射光強度計測による発熱過程をモニターする方法を *ex vivo* 実験により調査した。また提案した血液熱変性モニターの実用性を *in vivo* および *ex vivo* 実験にて調査した。

第 7 章では、確実に心筋電気伝導遮断を得つつ周囲臓器傷害を回避するために、光線力学アブレーションによる心筋治療深度を経カテーテル的蛍光計測結果から推定するモニター（細胞外光増感反応進行モニター）を提案した。心筋における細胞外光増感反応をモデル化することで、施術中のタラポルフィンナトリウム蛍光強度減衰を経時計測することで治療深度を推定する方法を検討し、*in vivo* 実験に基づいて得られた治療深度との相関を調査した。

第 8 章では、光感受性薬剤投与後に皮膚に残留する光感受性薬剤と日光曝露によって発生する光線過敏症に関して、その発症リスクを管理することを目的としたモニター（皮膚残留薬剤モニター）を提案した。経皮的にタラポルフィンナトリウム由来蛍光を計測することで皮膚内、特に表皮に残留するタラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定する計測および解析方法を検討するとともに *in vivo* 実験にてその実用性を調査した。

第 9 章では、第 6 章から第 8 章で得られた知見について総括し、臨床におけるモニター技術の意義と、種々の光学モニター技術における本研究の位置付けを光学計測における技術的優位性と社会的な有効性の観点から論じた。

第 10 章では、第 6~8 章の検討および第 9 章の総括的討論に基づいて、本研究の総括を行った。

## 1.4 結言

本章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療のための光学モニターを提案するに至った背景を述べ、本論文全体の構成をまとめた。

## 参考文献

- [1] T. Kimura, S. Takatsuki, S. Miyoshi, K. Fukumoto, M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Arai, S. Ogawa, and K. Fukuda, “Nonthermal cardiac catheter ablation using photodynamic therapy,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 1025–1031, 2013.
- [2] A. Ito, S. Miyoshi, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, K. Fukuda, and T. Arai, “Myocardial electrical conduction block induced by photosensitization reaction in exposed porcine hearts *in vivo*,” *Laser Surg Med*, vol. 43, pp. 984–990, 2011.
- [3] 奥村謙, 相澤義房, 相原直彦, 青沼和隆, 沖重薫, 熊谷浩一郎, 庄田守男, 住友直方, 高橋淳, 内藤滋人, 中村好秀, 野上昭彦, 平尾見三, 松本万夫, 村川裕二, 山根禎一, “カテーテルアブレーションの適応と手技に関するガイドライン,” *Circ J* 2012, vol. 76, pp. 3–67, 2012.
- [4] K. Yokoyama, H. Nakagawa, D. C. Shah, H. Lambert, G. Leo, N. Aebly, A. Ikeda, J. V. Pitha, T. Sharma, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Novel contact force sensor incorporated in irrigated radiofrequency ablation catheter predicts lesion size and incidence of steam pop and thrombus,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 1, pp. 354–362, 2008.
- [5] 奥村謙, 相澤義房, 青沼和隆, 磯辺文隆, 大西哲, 加藤貴雄, 清水昭彦, 新田隆, 萩原誠久, 松本万夫, 笠貫宏, 相澤義房, 大江透, 大西哲, 奥村謙, 加藤貴雄, 新田隆, 松本万夫, 村川裕二, “不整脈の非薬物治療ガイドライン (2011年改訂版),” *Jpn Circ J*, vol. 65 (Supp. IV), pp. 1127–1160, 2001.
- [6] R. Cappato, H. Calkins, S. Chen, W. Davies, Y. Iesaka, J. Kalman, Y. Kim, G. Klein, D. Packer, and A. Skanes, “Worldwide survey on the methods, efficacy, and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation,” *Circulation*, vol. 111, pp. 1100–1105, 2005.
- [7] M. D. Lesh, G. F. Van Hare, L. M. Epstein, A. P. Fitpatrick, M. M. Scheinman, R. J. Lee, M. A. Kwasman, H. R. Groggin, and J. C. Griffin, “Radiofrequency catheter ablation of atrial arrhythmias. Results and mechanisms,” *Circulation*, vol. 89, pp. 1074–1089, 1994.
- [8] F. H. M. Wittkampf and H. Nakagawa, “RF Catheter Ablation: Lessons on Lesions,” *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 29, pp. 1285–1297, 2006.
- [9] H. Calkins, J. Brugada, D. L. Packer, R. Cappato, S. A. Chen, H. J. Crijns, R. J. Damiano Jr., D. W. Davies, D. E. Haines, M. Haissaguerre, Y. Iesaka, W. Jackman, P. Jais, H. Kottkamp, K. H. Kuck, B. D. Lindsay, F. E. Marchlinski, P. M. McCarthy, J. L. Mont, F. Morady, K. Nademanee, A. Natale, C. Pappone, E. Prystowsky, A. Raviele, J. N. Ruskin, and R. J. Shemin, “HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: Recommendations for Personnel, Policy, Procedures and Follow-Up: a report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on Catheter and Surgical Ablation of Atrial

- Fibrillation developed in partnership with the European Heart Rhythm Association (EHRA) and the European Cardiac Arrhythmia Society (ECAS); in collaboration with the American College of Cardiology (ACC), American Heart Association (AHA), and the Society of Thoracic Surgeons (STS). Endorsed and approved by the governing bodies of the American College of Cardiology, the American Heart Association, the European Cardiac Arrhythmia Society, the European Heart Rhythm Association, the Society of Thoracic Surgeons, and the Heart Rhythm Society,” *Europace*, vol. 9, pp. 335–379, 2007.
- [10] H. Hoyt, A. Bhonsale, K. Chilukuri, F. Alhumaid, M. Needleman, D. Edwards, A. Govil, S. Nazarian, A. Cheng, C. A. Henrikson, S. Sinha, J. E. Marine, R. Berger, H. Calkins, and D. D. Spragg, “Complications arising from catheter ablation of atrial fibrillation: Temporal trends and predictors,” *Heart Rhythm*, vol. 8, pp. 1869–1874, 2011.
- [11] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, and Q. Peng, “Photodynamic therapy,” *J Natl Cancer Inst*, vol. 90, pp. 889–905, 1998.
- [12] J. V. Mooreyx, C. M. L. Westz, and C. Whitehurstyz, “The biology of photodynamic therapy,” *Phys Med Biol*, vol. 42, pp. 913–935, 1997.
- [13] A. Ito, S. Hosokawa, S. Miyoshi, K. Soejima, S. Ogawa, and T. Arai, “The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 57, pp. 488–495, 2010.
- [14] E. Ogawa, A. Ito, and T. Arai, “Detailed in vitro study of the photosensitization reaction of extracellular talaporfin sodium in rat myocardial cells,” *Laser Surg Med*, vol. 45, pp. 660–667, 2013.
- [15] A. Ito, T. Kimura, S. Miyoshi, S. Ogawa, and T. Arai, “Photosensitization reaction-induced acute electrophysiological cell response of rat myocardial cells in short loading periods of talaporfin sodium or porfimer sodium,” *Photochem Photobiol*, vol. 87, pp. 199–207, 2011.
- [16] D. Kessel, “Pharmacokinetics of N-aspartyl chlorin e6 in cancer patients,” *J Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 39, pp. 81–83, 1997.
- [17] J. D. Spikes, and J. C. Bommer, “Photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6): a candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors,” *J Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 17, pp. 135–143, 1993.
- [18] K. Aizawa, T. Okunaka, T. Ohtani, H. Kawabe, Y. Yasunaka, S. O’Hata, N. Ohtomo, K. Nishimiya, C. Konaka, H. Kato, Y. Hayata, and T. Saito, “Localization of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) in mouse tissue,” *Photochem Photobiol*, vol. 46, pp. 789–793, 1987.
- [19] S. Y. Ho, D. Sánchez-Quintana, J. A. Cabrera, and R. H. Anderson, “Anatomy of the left atrium: implications for radiofrequency ablation of atrial fibrillation,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 10, pp. 1525–1533, 1999.

- [20] R. A. Greenbaum, S. Y. Ho, D. G. Gibson, A. E. Becker, and R. H. Anderson, "Left ventricular fibre architecture in man," *Br Heart J*, vol. 45, pp. 248–263, 1980.
- [21] T. J. Dougherty, M. T. Cooper, and T. S. Mang, "Cutaneous phototoxic occurrences in patients receiving Photofrin®," *Laser Surg Med*, vol. 10, pp. 485–488, 1990.
- [22] J. Akimoto, J. Haraoka, and K. Aizawa, "Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas," *Photodiagn Photodyn*, vol. 9, pp. 91–99, 2012.
- [23] C. Knackstedt, P. Schauerte, and P. Kirchhof, "Electro-anatomic mapping systems in arrhythmias," *Europace*, vol. 10, pp. iii28–iii34, 2008.
- [24] D. E. Haines and A. F. Verow, "Observations on electrode-tissue interface temperature and effect on electrical impedance during radiofrequency ablation of ventricular myocardium," *Circulation*, vol. 82, pp. 1034–1038, 1990.
- [25] S. Themistoclakis, O. M. Wazni, W. Saliba, R. A. Schweikert, A. Bonso, A. Rossillo, M. Gordon, J. Melsky, A. Raviele, and A. Natale, "Endoscopic fiberoptic assessment of balloon occlusion of the pulmonary vein ostium in humans: Comparison with phased-array intracardiac echocardiography," *Heart Rhythm*, vol. 3, pp. 44–49, 2006.

図表

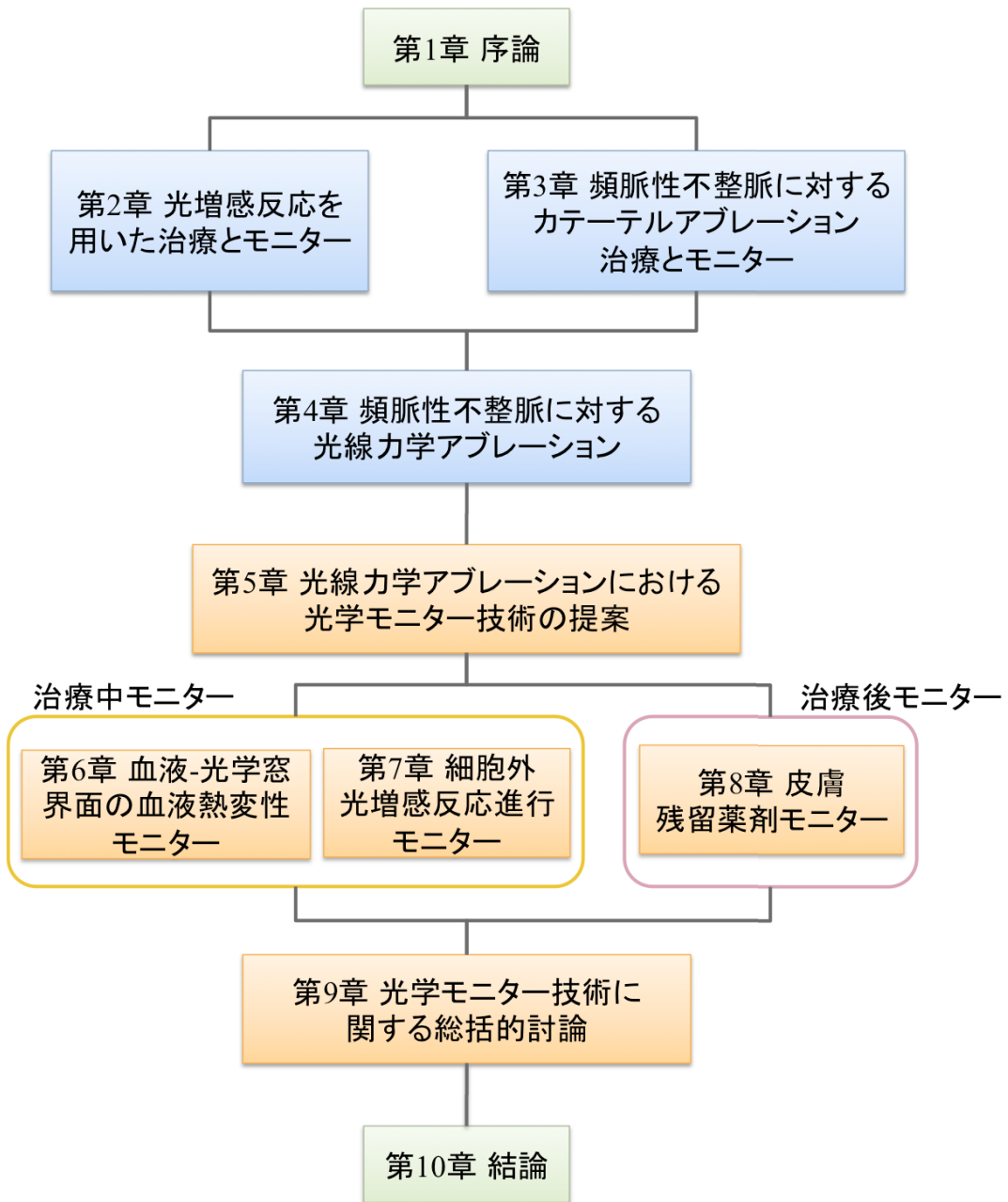


図 1-1 本論文の構成

## 第 2 章 光増感反応を用いた治療とモニター技術

### 2.1 緒言

光増感反応は光化学反応の一種であって、光、光感受性薬剤、酸素によって生体組織傷害効果を有する活性酸素を生成する。同じ光増感反応であっても活性酸素の発生部位が異なると、生体組織傷害作用が異なる。本章では、光増感反応の原理を述べるとともに、細胞内および細胞外光増感反応を応用した治療方法、および光増感反応を利用した治療におけるモニター技術に関して解説する。

### 2.2 光増感反応

光増感反応の原理として光、薬剤、酸素によるエネルギーの授受および産生物生成までの内部エネルギー機構に関して述べ、光増感反応の治療への応用とそれに用いられる光感受性薬剤に関して述べる。

#### 2.2.1 光増感反応の原理

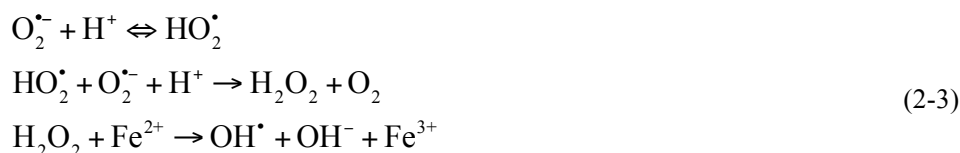
光増感反応は光感受性物質を光によって励起し、そのエネルギーが他物質に移譲して光反応を促進 (増感) させることをいい、狭義には光励起された光感受性物質のエネルギーが酸素へ移譲することで生じる光化学反応をいう。光増感反応による生体組織傷害は、光吸収により励起された励起三重項状態の光感受性物質と生体分子間におけるエネルギー授受によって生成されるラジカルによるもの (Type I 反応) と一重項酸素によるもの (Type II 反応) である [1, 2]。図 2-1 に光増感反応におけるエネルギーダイアグラムを示した。基底状態 ( $S_0$ ) にある光感受性物質がその吸収ピーク波長域の光を吸収すると光子エネルギーに応じて  $S_1$  や  $S_2$  の励起状態に励起される。光励起によって遷移するエネルギー状態は主に  $S_1$  であり、エネルギーの高い紫外光や高放射照度にて励起した場合には  $S_2$  に励起される場合もある。励起された光感受性物質のエネルギー状態は、分子内振動緩和および内部転換により  $S_2$  は  $S_1$  に  $10^{-12}$  s のオーダーで遷移し、 $S_1$  状態の光感受性物質は蛍光を發して  $S_0$  に戻るか、非放射的でスピン反転を伴う項間交差によって励起三重項状態 ( $T_1$ ) に移行する。 $T_1$  の寿命は  $10^{-6} \sim 10^{-5}$  s であるため、周囲の分子と反応を生じやすい。 $T_1$  の光感受性物質の一部は低い確率で  $S_0$  にリン光を發して遷移するが、多くが組織内溶存酸素  $^3O_2$  へエネルギーを移譲して一重項酸素  $^1O_2$  を產生する。 $^1O_2$  の酸化作用により組織傷害が起こる。これが Type II 反応である。一方、Type I 反応は、 $T_1$  の光感受性薬剤 PS と生体分子 A の間での電子移動が起こり、一電子酸化還元反応を起こす [1]。



さいで、組織溶存酸素  $O_2$  と反応してラジカルの中間生成物  $O_2^{\bullet-}$  を生成する [1]。



さらにラジカル連鎖反応を起こして過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) やヒドロキシルラジカル ( $OH^{\bullet}$ ) といった種々の活性酸素を産生して組織を酸化傷害する。



多くの光感受性物質は Type I 反応よりも Type II 反応によって組織傷害を引き起こすと考えられている [3]。光増感反応のうち Type I 反応による生体組織傷害の効果は、組織内に分布する光感受性物質によって吸収された光子数すなわち光感受性物質における光エネルギーの吸収特性や、一重項酸素生成量子収率 ( $\Phi_{\Delta}$ )<sup>\*</sup>により、これらは光感受性物質ごとに特有の値をとる [4, 5]。詳細は 2.2.2 節にて記述する。

Type II 反応によって生成される  $^1O_2$  の寿命は 10~320 ns と短く、細胞内での拡散距離は 10~55 nm に限られるため、光増感反応による酸化傷害は光感受性物質の局在部位近傍に限られる [6]。例えば、細胞膜、ミトコンドリア、ライソソームや細胞核である。光増感反応による酸化傷害に伴う細胞死はアポトーシスとネクローシスに大別され、細胞死の機構は酸化傷害を受けた細胞部位すなわち光感受性物質の集積部位とその傷害の程度に関係する [4]。アポトーシスは全ての細胞にプログラムされた能動的な細胞死機構であり、光増感反応においては細胞内小器官の傷害によって生じる [7]。アポトーシスに要する時間は、傷害を受ける細胞内小器官によって異なるが数 hr から数日を要する [8, 9]。一方、ネクローシスは外部からの物理的あるいは化学的傷害によって誘導される受動的な細胞死機構である [7]。光増感反応においては、細胞外での反応進行によって細胞の膨化や細胞内小器官や細胞膜の破壊を経てネクローシスが生じる [8]。光増感反応におけるネクローシスの発生は標的とする細胞に酸化が直接作用する場合と、内皮細胞が酸化されることによって血管傷害に伴う組織虚血を起こし、低酸素状態になる場合とがある [8]。

## 2.2.2 光増感反応に用いられる光感受性薬剤

生体傷害作用の目的における光増感反応にて用いられる光感受性物質を特に光感受性薬剤と呼び、臨床において薬事承認を受けているものから開発中のものまで数多くの種類が

---

\*一重項酸素生成量子収率とは、吸収した光子数に対する一重項酸素の生成数を示す量子収率を指す。

ある [1, 3]。本節では、光増感反応を用いた治療に用いられる代表的な光感受性薬剤について、その特性や開発経緯、適用疾患について述べる。

生体組織傷害を目的とした光増感反応においては、生体組織における光侵達長が長い波長域 600~800 nm における吸収が大きいこと、Type II 反応の効率がよく一重項酸素生成量子収率  $\Phi_{\Delta}$  が大きいこと、光照射を行わない場合の毒性がなく、生体における代謝が速いこと、高い蛍光発光効率を有すること、が挙げられる [10]。

薬事承認を我が国で最初に受けた光感受性薬剤はポルフィリン環を有するヘマトポルフィリン誘導体であるポルフィマーナトリウム (Porfimer sodium, Photofrin, フォトフリン<sup>®</sup>) である。光感受性薬剤のうち第一世代光感受性薬剤と呼ばれる [10, 11]。ポルフィマーナトリウムの構造式を図 2-2 に、化学的性質を表 2-1 に示した。ポルフィマーナトリウムの吸収ピークは波長 635 nm に存在し、モル吸収係数は  $1\sim 2\times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  である [12]。ポルフィマーナトリウムは我が国において、早期肺がん、表在型食道がん、表在型早期胃がん、子宮頸部初期がん・高度異形成の治療において薬事承認を得ている [13]。しかし、(i) ポルフィマーナトリウムは 60 以上の化合物から成る重合体であり化学物質として安定しないこと [1, 10]、(ii) 吸収ピーク波長 635 nm における生体の光侵達長は 1~3 mm であるため治療域が浅部に限られること [1, 3, 10]、(iii) 赤色波長域における光吸収効率が低いこと [14]、などの特性がある。加えて、(iv) 生体における代謝が遅いため後述する細胞内光増感反応を用いた治療においては投薬から 48 hr 経過後に光増感反応を行う必要があったり、全身クリアランスに時間を要するため光線過敏症の発症リスクが 4~6 週間と長期に及んだりするという問題があった [1, 3, 10]。これらの課題を克服するために、クローリンなど種々の化学構造を持つ第二世代光感受性薬剤が開発された [1, 3, 9]。代表的な第二世代光感受性薬剤として、タラポルフィンナトリウム (talaporfin sodium, Npe6, レザフィリン<sup>®</sup>)、5-アミノレブリン酸 (5-amino levulinic acid, 5-ALA)、ベルテポルフィン (Verteporfin, ビスダイン<sup>®</sup>)、メチレンブルー (Methylene blue) に関して述べる。タラポルフィンナトリウム、5-アミノレブリン酸、ベルテポルフィン、メチレンブルーの構造式を図 2-3 に、化学的特性と適用疾患を表 2-2 にまとめた。クローリン環を有するタラポルフィンナトリウムは水溶性の光感受性薬剤であるが、親水性および親油性の塩基を有するため細胞膜間の受動輸送が行われやすい構造を持つ [1, 19]。その Q 帯吸収ピークは波長 664 nm に、Soret 帯吸収ピークは波長 404 nm に存在する [1, 20]。Q 帯吸収ピークにおけるモル吸収係数は  $4\times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  と他の光感受性薬剤と比べて大きいこと、また水溶性であるために生体における薬剤排泄が比較的速いことが特長である [20]。この光感受性薬剤は我が国において早期肺がん、原発性悪性脳腫瘍に対する治療法として薬事承認を得ている [21]。5-アミノレブリン酸それ自体は光感受性薬剤ではないが、投薬後、細胞内でのヘム生合成経路により代謝されることで光感受性を有するプロトポルフィリン IX (Protoporphyrin IX; PpIX) になる [1, 3]。プロトポルフィリン IX の Q 帯吸収ピークは 630 nm に、Soret 帯ピークは 407 nm に存在し光侵達長が短いため、組



織浅部に対する治療に適することから、表在型扁平上皮がんや膀胱がんの治療に用いられている [1, 10, 11]。我が国においては光感受性薬剤の蛍光を計測し画像表示することによって光感受性薬剤の局在部位を可視化することで組織診断を行う光線力学診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) のための薬剤として薬事承認を受けている [17, 18]。ポルフィリン系光感受性薬剤であるバルテポルフィン<sup>®</sup>は親油性であり、波長 690 nm にモル吸収係数  $3.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  の吸収ピークを有する [1, 10, 11]。生体内での代謝が速いことが特長であり、日本を含む世界 50 カ国以上の国で加齢性黄斑変性に対して臨床で使用されている [1, 22]。メチレンブルーは、後述する細胞外光増感反応を用いた感染症治療に用いられる光感受性薬剤である。この光感受性薬剤はサイアジン系光感受性薬剤の一種でカチオン性であり、外膜を有するグラム陰性菌にも取り込まれやすいことが特長である。波長 665 nm にモル吸収係数  $8.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  の吸収ピークを有する [23, 24]。

## 2.3 光増感反応を用いた治療

生体における光増感反応は、その反応発生部位によって反応環境が異なるとともに生体組織の傷害作用も異なる。細胞内において生じる光増感反応 (細胞内光増感反応) と細胞外において生じる光増感反応 (細胞外光増感反応) における、光増感反応条件や細胞死の機序、治療対象とする疾患を表 2-3 にまとめた。本部では、光増感反応を用いた治療 (光線力学的治療, Photodynamic therapy; PDT) に関して、細胞内光増感反応と細胞外光増感反応を用いた治療について、その治療指針と光増感反応環境、治療原理に関して解説する。

### 2.3.1 細胞内光増感反応を用いた治療

細胞内光増感反応は、光感受性薬剤が癌組織や新生血管内皮によって取り込まれやすく、かつ滞留しやすい排泄特性を持つため、健常組織に比べて相対的に高い薬剤濃度を得られることを利用して選択的な治療を実現する [26]。その主な治療対象疾患は、癌や悪性脳腫瘍、新生血管多形成を原因とする加齢性黄斑変性である [2, 3, 14, 25]。癌組織と健常組織における光感受性薬剤濃度差を得るために、光感受性薬剤投薬から数 hr 後に光照射を行うことが運用上の特長である。例えば、タラポルフィンナトリウムの場合、投薬 4~6 hr 後に癌組織と健常組織の間に 6~10 倍の組織内薬剤濃度差が生じる [27, 28]。細胞内光増感反応による治療戦略は、

1. 治療対象組織の細胞内に取り込まれた光感受性薬剤による酸化作用により直接的に細胞内小器官を障害して組織傷害を得る。
2. 新生血管内皮に取り込まれた光感受性薬剤による酸化作用によって新生血管を傷害して血管閉塞を起こし周囲組織を低酸素状態にして壊死させる (vascular-targeting photodynamic therapy; Vascular-targeting PDT)。

である [2, 3]。1. の場合、ミトコンドリアやライソソームなどの細胞小器官に分布した光感

受性薬剤による光増感反応によってアポトーシスを誘導する [2, 9, 26]。2. の場合には、光感受性薬剤が新生血管内皮に分布しやすいことを利用して積極的に血管内皮を傷害する [4, 29, 30]。その組織障害機序は、細胞内光増感反応によって新生血管内皮が傷害されると徐々に血流が減少し、抗血栓性の低下、さらに血小板の凝集により血栓が生じて血流が閉止することである [4, 29]。血流閉止により周囲組織は低酸素状態となり壊死する [2, 4, 29]。癌組織に対する治療においては、新生血管傷害に伴う癌組織の壊死を目的とするが、加齢性黄斑変性に対する治療においては新生血管内皮細胞の傷害による閉塞が治療目的である。加齢性黄斑変性に対する治療においては、光感受性薬剤としてベルテポルフィンを用い、投薬から 15 min 後に光照射し血管内皮を傷害する [30]。癌組織に対する細胞内光増感反応を用いた治療においては、1. による組織傷害が主たる治療原理であると考えられていたが、2. の新生血管傷害も並行して生じ、これによって癌組織への酸素供給が停止するために細胞内光増感反応の進行が阻害されることが明らかになった [31]。現在の細胞内光増感反応による治療では2. の新生血管傷害による間接的な組織壊死を主なねらいとしている [3, 25, 32]。一方、2. の新生血管傷害が細胞外光増感反応による治療中に生じて血流が停止すると、細胞外光増感反応の進行が停止して所望の組織傷害領域を得られなかったり、保存すべき周囲の健常組織に傷害を与えたりする可能性があるため、施術中に血流閉止の起こらない範囲での細胞内光増感反応条件が探索され、現在使用されている。

細胞内光増感反応の反応環境は、光感受性薬剤が細胞内に取り込まれ細胞内小器官に局在した状態で光照射を行うことから、光増感反応中に光感受性薬剤が供給されない特長がある [26]。また、癌細胞と健常細胞との光感受性薬剤濃度コントラストを得るために、光感受性薬剤投与から数 hr 後に光照射を開始することから、光照射までの間に光感受性薬剤は代謝される。したがって細胞内光増感反応に消費される光感受性薬剤濃度は投薬から早期に光照射を行う細胞外光増感反応に比べて相対的に低くなる。

### 2.3.2 細胞外光増感反応を用いた治療

細胞外光増感反応を用いた治療は、細胞による光感受性薬剤の取り込みを必要とせず、細胞外に光感受性薬剤が分布した状態で光増感反応を起こすことで標的細胞の機能不全や傷害、壊死を起こす。術野での治療部位は、光照射によって選択することができる。細胞外光増感反応を用いた治療として、感染症に対する光線力学的治療（抗菌 PDT, antimicrobial-PDT）や、頻脈性不整脈治療のための光線力学アブレーションが開発されている [33, 34]。抗菌 PDT は、局在する細菌や真菌、ウイルスを対象とした治療法である。光感受性薬剤を塗布し、光感受性薬剤が細胞膜や外膜に分布した状態で光照射を行うことで、菌類の不活性化および壊死を起こし、感染症を治療する [24, 33]。細胞外光増感反応によって細胞膜や外膜を傷害し、細胞内容物の漏出や細胞壁溶解による細胞破裂、膜輸送システムや細胞内酵素を傷害し抗菌効果を示す [24, 33, 35]。また、核酸に分布した光感受性薬剤

により DNA 損傷を起こす場合もある [24, 33, 36]。光感受性薬剤としてメチレンブルーを用いる抗菌 PDT においては、投薬から 30 min 以内に光照射を行う [35]。抗菌 PDT は現在、ウイルス性乳頭腫症や、にきび治療に対して臨床試験が進められており、歯科や皮膚科における感染症への応用も広く期待されている [24, 33]。

健全組織を対象とした光増感反応を行う例として頻脈性不整脈治療のために細胞外光増感反応を用いる光線力学アブレーションが開発されている。光感受性薬剤として代謝の速いタラポルフィンナトリウムを用い、投薬から 15~30 min 後に光感受性薬剤が心筋間質中あるいは血中に分布した状態で光増感反応を行うことで心筋細胞の細胞膜傷害、イオンチャネル障害、次いでネクローシスを起こし、即時かつ永続的な心筋電気伝導遮断を得る構想である [33]。詳細は第 4 章で述べる。

## 2.4 光増感反応を用いた治療におけるモニター技術

本部では光増感反応を用いた治療において、治療に関する情報を提供し治療を支援することを目的としたモニター技術に関して説明する。光増感反応を用いた治療におけるモニター技術のねらいは (i) 治療対象部位の特定、(ii) 治療効果の予測、に大別される。(i) の治療対象部位の特定を目的としたモニター技術は、光線力学的診断 (photodynamic diagnosis; PDD) として知られ、主に細胞内光増感反応において利用される。PDD は癌組織がもつ光感受性薬剤の排泄特性を利用した蛍光観察法であり、組織に対して光感受性薬剤の吸収ピークに相当する励起光を組織傷害が生じない放射照度以下にて照射することで、癌組織に分布した光感受性薬剤蛍光を観察し組織判別する [37]。一方、(ii) の治療効果の予測を目的としたモニター技術は、光増感反応による組織傷害が光感受性薬剤と光エネルギーの投入量に関係することを利用して組織傷害の程度を推定する方法である。(ii) の治療効果の予測を目的としたモニター技術においては、下記に示す種々の因子が組織傷害程度に影響するため、考慮が必要とされる [38]。

1. 組織や個体ごとに光感受性薬剤の取り込み速度や量が異なる。
2. 組織や個体ごとに光学特性が異なるため、光侵達長や治療対象組織における励起光強度分布が異なる。
3. 組織や個体ごとに酸素供給状態が異なる。
4. 光増感反応による傷害に伴って治療対象組織の光学特性が変化する場合があるため、光侵達長が変化する。
5. 光増感反応に伴って光感受性薬剤が酸化されることによって、治療対象組織内における光感受性薬剤濃度が低下する (光感受性薬剤の持続的供給がない場合)。
6. 光増感反応あるいは血流障害による治療対象組織内の酸素枯渇が生じた場合、光増感反応の効率が低下する。

そこで、(ii) の治療効果の予測を目的としたモニター技術では、上記の因子を鑑みて光増

感反応による実際的な治療効果を推定することを目指す。治療効果の予測のためのモニター技術をその手段に基づいて、Wilson らが5種類に分類している [38]。以下に引用して示した。また表 2-4 に各モニター手法の詳細を示した [38, 39]。

1. **Explicit metric**: 光感受性薬剤、光の投入量、酸素状態を実測し、治療効果を計算により求める。
2. **Implicit metric**: 光感受性薬剤の蛍光減衰 (フォトブリーチング) を計測し、組織への実効的な傷害量を求める。
3. **Direct metric**: 光増感反応によって生成された一重項酸素濃度を実測する。
4. **Triplet state metric**: 励起三重項状態の光感受性薬剤濃度を求める。
5. **Photobiological metric**: 光増感反応による組織変性の量や程度を求める。

臨床において運用可能なモニター技術は、非侵襲的な計測が可能であり、ノイズや個体差の大きい生体における計測に耐え得るという点で、1. および 2. である [38, 39]。1. の **Explicit metric** では治療対象組織における光感受性薬剤濃度、放射照度あるいは放射射量、組織内酸素濃度を実測し、計算モデルを用いて光増感反応によって生成される一重項酸素量や、組織傷害領域の深度および体積を推定する [38, 40]。一方、2. の **Implicit metric** では光感受性薬剤蛍光のフォトブリーチングを計測することで、一重項酸素産生量や実効的な組織傷害を推定する [38, 39]。Explicit metric と Implicit metric によるモニター技術の長所および短所を表 2-5 にまとめた。Implicit metric によるモニター技術は、前述のモニターに影響を与える因子 1~6. を考慮したモニターの構築が可能であること、また生体内における運用が容易であることに Explicit metric に対する優位性を有しており、種々の光増感反応において検討が行われている [38, 39, 41]。Implicit metric を用いたモニター技術は、光増感反応における一重項酸素による組織傷害と光感受性薬剤破壊の過程を示すレート方程式に基づく [42]。基底状態の光感受性薬剤濃度を $[S_0]$ 、治療対象組織濃度を $[A]$ とする。一重項酸素によって傷害される $[S_0]$ および $[A]$ の時間変化は、

$$\frac{d[S_0]}{dt} = -k_{os}[S_0][^1O_2] \quad (2-4)$$

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_{oa}[A][^1O_2] \quad (2-5)$$

と書ける [42]。ここで $[^1O_2]$ はある時間  $t$  における一重項酸素濃度、 $k_{os}$  および  $k_{oa}$  は一重項酸素と光感受性薬剤あるいは治療対象組織との相互作用における反応速度定数である。式 (2-3) および式 (2-4) より、

$$\frac{[A](t)}{[A](0)} = \left\{ \frac{[S_0](t)}{[S_0](0)} \right\}^{k_{oa}/k_{os}} \quad (2-6)$$

光感受性薬剤の蛍光強度  $F(t)$  は $[S_0](t)$  に比例すると仮定すると式 (2-5) は、

$$\frac{[A](t)}{[A](0)} = \left\{ \frac{F(t)}{F(0)} \right\}^{k_{oa}/k_{os}} \quad (2-7)$$

となり、光感受性薬剤蛍光強度の変化により対象組織の傷害を推定することができる [42]。一方で、Implicit metric によるモニター技術を臨床で使用する場合、適用可能な範囲が限られるなど、下記に示す種々の課題がある [38, 42-45]。

1. 臨床にて認可されている放射照度および放射照射量の範囲内で、光感受性薬剤のフォトブリーチングが生じなければ利用できない [38]。
2. 光感受性薬剤の細胞内への取り込みや蛋白質への結合状態によってフォトブリーチング速度が変化するため考慮が必要である [38]。
3. 光増感反応によるフォトブリーチングから組織傷害を推定するためには、種々の仮定を設定し、光増感反応をモデル化して算出する必要がある [38]。
4. 計測される光感受性薬剤蛍光はサンプリングボリューム内の光学特性に影響をうける。光増感反応による組織光学特性変化、例えば蛍光ピークの長波長シフトなどの可能性があるので、対象組織の光学特性もモニターする必要があるが生じる場合がある [42]。
5. 組織由来の自家蛍光が蛍光計測時に影響を与える場合がある。光増感反応により組織自家蛍光もフォトブリーチングを起こすことがあるためである [43]。
6. 光増感反応によって酸化新生物が生成される場合があり、蛍光計測に影響を与える可能性がある [44]。一方で、酸化新生物の生成が光増感反応発生の結果であると考えて、生成された酸化新生物をモニター対象とした検討も行われている [45]。
7. *In vivo* において光感受性薬剤の蛍光量子収率や三重項寿命が一定であるか不明である。
8. 蛍光計測時に治療用励起光と同じ波長を用いると、蛍光サンプリングボリュームと治療領域がほぼ同一となるため、治療域推定には有用である一方で、蛍光のストークスシフトが数 nm であるため励起光と蛍光を波長フィルタリングにて分離することが技術的に困難な場合がある [38]。

これまでに報告されている Implicit metric を用いたモニター技術の例を表 2-6 にまとめた [45-49]。光増感反応を用いた治療におけるモニター技術の報告例はほとんどが細胞内光増感反応を対象としたものである。新たに、光増感反応のモニター技術を検討する場合には、光増感反応の反応環境や、使用する光感受性薬剤の特性、治療対象組織の特性を考慮して、計測系の構築や計測結果の解釈および治療効果推定対象やその導出方法を決定する必要がある。

## 2.5 光増感反応を用いた治療の副作用

光増感反応を用いた治療は光感受性薬剤の投与が必要不可欠であることから、投薬に由来する副作用が避けられない。本部では、光増感反応を用いた治療における代表的な副作

用に関して述べる。

### 2.5.1 光線過敏症

光増感反応を用いた治療における最大の副作用は光線過敏症である [8, 10, 50]。光線過敏症は、光感受性薬剤投与後に表皮に残留する光感受性薬剤と日光曝露、特に紫外線曝露による光増感反応によって生じる皮膚傷害であり [50]、その症状は、軽度なものから順に、掻痒、紅斑、浮腫、水疱である [51]。光増感反応を用いた治療においては、光線過敏症の発症を防ぐために、施術後に遮光措置が課せられている。例えば、比較的排泄が速い光感受性薬剤として知られるタラポルフィンナトリウムにおいては、2 週間の遮光措置が定められている [21]。遮光期間中は、直射日光を避け照度 500 ルクス以下の室内で過ごすこと、また投薬後 3 日間はサングラスを着用することが推奨されている [21]。なお、医療施設の照度範囲について、日本工業規格の照明基準総則 (JIS Z 9110) において病室 75~150 ルクス、食堂 200~500 ルクス、一般検査室・診察室・薬局 300~750 ルクス、手術室 750~1500 ルクスと規定されている [21]。よって 500 ルクス以下の施術後遮光は通常の屋内での生活を過ごせる程度であると言える。

表皮に残存する光感受性薬剤量は患者ごとの光感受性薬剤代謝速度によって異なり、一般に個人差が大きく、それ故に光線過敏症の発症リスクも個人によってばらつきがある [52, 53]。そのため光線過敏症発症を回避し治療の安全性を担保するために、光線過敏症発症リスクを管理するための判断プロトコルが定められている。例えば、タラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による治療における光線過敏症発症リスクの判断プロトコルは、投薬から 2 週間経過後に指、手掌背部を直射日光に 5 min 曝露させて紅斑や水疱等の光線過敏反応を示すかどうか確認する、というものである [21]。この判断プロトコルを用いて、タラポルフィンナトリウムを使用した原発性悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療の治験において光線過敏反応の発症リスクが調査されており、投薬から 4 日後に光線過敏反応が全患者の 55.6%において消失、8 日後には 77.8%において消失、さらに 16 日後には全ての患者において光線過敏反応は見られなくなったとの報告がある [54]。現在の光線過敏症発症リスク判断プロトコルは、代謝の最も遅い例を基準として定められている。この光線過敏症発症リスク判断プロトコルは患者の侵襲を強いること、定性的な判断基準である、といった課題が残る。徹底した患者の遮光措置を医師の管理下で行うためには、医師は入院を指示せざるを得ないため、事実上遮光措置は遮光入院と同義となる。しかし、前述のように光感受性薬剤の代謝速度は個人によって大きく異なることから、特に代謝の速い患者群に対しては不要な遮光入院を強いる場合もある。また、現実の臨床では担当医の判断で早期の退院指示をすることも多い。光線過敏症発症リスクを定量的に評価できる方法があれば、代謝の速い患者の早期退院が可能になると考えられ、より信頼性の高い光線過敏症発症リスクの判断方法が望まれる。

### 2.5.2 肝機能障害

光感受性薬剤の代謝は、多くの場合、肝臓で分解、代謝され、腎臓を通じて排泄される [11, 12]。そのため、光感受性薬剤投与によって肝臓に負担がかかるため、肝機能が低下している患者、特に高齢の患者へ光感受性薬剤投与する場合、肝機能障害を生じる可能性がある。肝機能障害の程度は、血液検査によって調査可能であり、肝機能を示す血液検査値 AST (GOT)、ALT (GOT)、AL-P の上昇から、肝機能障害の有無およびその程度が判断される。肝機能障害の発生頻度は、肝臓で代謝されるポルフィマーナトリウムの場合、5%以上の確率にて、ビスダインの場合には 1~5%の確率にて、肝機能を示す検査値である AST (GOT)、ALT (GOT)、AL-P 等の上昇が発生することが報告されている [13, 22]。主な排泄経路が胆汁であるタラポルフィンナトリウムにおいては、投薬による肝機能障害は報告されていないが [55]、肝機能が低下している患者群においては薬剤排泄が遅延して高い血中濃度が持続する可能性があることからタラポルフィンナトリウムの慎重投与が推奨されている [21]。

## 2.6 結言

本章では、光増感反応を用いた治療に関して、治療作用や治療支援のためのモニター技術、副作用に関して解説した。これまでに報告されている光増感反応を用いた治療におけるモニター技術は細胞内光増感反応を対象としたものに限られており、細胞外光増感反応を用いた治療のモニター技術は開発の余地がある。細胞外光増感反応の作用機序に基づいた独自のモニター技術を開発する必要がある。

## 参考文献

- [1] H. van den Bergh, and J. P. Ballini, *PDT in ocular disease*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, pp. 11–42.
- [2] C. H. Sibata, V. C. Colussi, N. L. Oleinick, and T. J. Kinsella, “Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment,” *Braz J Med Biol Res*, vol. 33, pp. 869–880, 2000.
- [3] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson, and J. Golab, “Photodynamic therapy of cancer: an update,” *CA Cancer J Clin*, vol. 61, pp. 250–281, 2011.
- [4] M. Ochsner, “Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours,” *Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 39, pp. 1–18, 1998.
- [5] H. van den Bergh, “Light and porphyrins in cancer therapy,” *Chem Br*, vol. 22, pp. 430–439, 1986.
- [6] J. S. Dysart and M. S. Patterson, “Characterization of Photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells in vitro,” *Phys Med Biol*, vol. 50, pp. 2597–2616, 2005.
- [7] P. Mroz, A. Yaroslavsky, G. B. Kharkwal, and M. R. Hamblin, “Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer,” *Cancers*, vol. 3, pp. 2516–2539, 2011.
- [8] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, and Q. Peng, “Review: photodynamic therapy,” *J Natl Cancer Inst*, vol. 90, pp. 889–905, 1998.
- [9] N. L. Oleinick, R. L. Morris and I. Balichenko, “The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how,” *Photochem Photobiol Sci*, vol. 1, pp. 1–21, 2002.
- [10] R. Allison, and C. H. Sibata, “Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 7, pp. 61–75, 2010.
- [11] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, and C. H. Sibata, “Photosensitizers in clinical PDT,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 1, pp. 27–42, 2004.
- [12] A. E. O’Connor, W. M. Gallagher, and A. T. Byrne, “Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy,” *Photochem Photobiol*, vol. 85, pp. 1053–1074, 2009.
- [13] ファイザー株式会社, フォトフリン<sup>®</sup> 静注用 75 mg, 医薬品インタビューフォーム, 2013年1月改訂 (改訂第10版).
- [14] R. W. Redmond and J. N. Gamlin, “A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules,” *Photochem Photobiol*, vol. 70, pp. 391–475, 1999.



- [15] J. M. Fernandez, M. D. Bilgin, L. I. Grossweiner, "Singlet oxygen generation by photodynamic agents," *Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 37, pp. 131-140, 1997.
- [16] SBI ファーマ株式会社, アラグリオ® 内用剤 1.5 g, 医薬品インタビューフォーム, 2013 年 7 月 (第 1 版).
- [17] ノーベルファーマ株式会社, アラベル® 内用剤 1.5 g, 医薬品インタビューフォーム, 2013 年 4 月 (第 1 版).
- [18] K. Kondo, T. Miyoshi, H. Fujino, H. Takizawa, S. Imai, N. Kobayashi, K. Kenzaki, S. Sakiyama, and A. Tangoku, "Photodynamic therapy using a second generation photosensitizer, Talaporfin," *Photodiagn Photodyn*, vol. 4, pp. 269-274, 2007.
- [19] D. Kessel, "Determinants of photosensitization by mono-L-aspartyl chlorin e6," *Photochem Photobiol*, vol. 49, pp. 447-452, 1989.
- [20] J. D. Spikes and J. C. Bommer, "Photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6): A candidate for the photodynamic therapy of tumors," *J Photochem Photobiol B*, vol. 17, pp. 135-143, 1993.
- [21] Meiji Seika ファルマ株式会社, 注射用レザフィリン® 100 mg, 医薬品インタビューフォーム, 2013 年 12 月改訂 (改訂第 6 版).
- [22] ノバルティスファーマ株式会社, ビスダイン® 静注用 15 mg, 医薬品インタビューフォーム, 2013 年 5 月改訂 (新様式第 6 版).
- [23] T. Dai, Y. Huang, and M. R. Hamblin, "Photodynamic therapy for localized infections –state of the art," *Photodiagn Photodyn*, vol. 6, pp. 170-188, 2009.
- [24] M. Wainwright, "Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT)," *J Antimicrob Chemother*, vol. 42, pp. 13-28, 1998.
- [25] B. W. Henderson and T. J. Dougherty, "How does photodynamic therapy work?" *Photochem Photobiol*, vol. 55, pp. 145-157, 1992.
- [26] J. V. Moore, C. M. L. West, and C. Whitehurst, "The biology of photodynamic therapy," *Phys Med Biol*, vol. 42, pp. 913-935, 1997.
- [27] A. Ferrario, D. Kessel, and C. J. Gomer, "Metabolic properties and photosensitizing responsiveness of mono-L-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model," *Cancer Res*, vol. 52, pp. 2890-2893, 1992.
- [28] K. Aizawa, T. Okunaka, T. Ohtani, and I. Kawabe, "Localisation of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) in mouse tissues," *Photochem Photobiol*, vol. 46, pp. 789-93, 1987.
- [29] B. W. Henderson, S. M. Waldow, T. S. Mang, W. R. Potter, P.B. Malone, and T. J. Dougherty, "Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumours following photodynamic therapy," *Cancer Res*, vol. 45, pp. 572-576, 1985.
- [30] N. M. Bressler and S. B. Bressler, "Photodynamic therapy with verteporfin (Visudyne): Impact

- on ophthalmology and visual sciences,” *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 41, pp. 624–628, 2000.
- [31] M. Ochsner, “Photophysical and photobiological process in the photodynamic therapy of tumours,” *J Photochem Photobiol B*, vol. 39, pp. 1–18, 1997.
- [32] V. H. Fingar, T. J. Wieman, S. A. Wiehle, and P. B. Cerrito, “The role of microvascular damage in photodynamic therapy: The effect of treatment on vessel construction, permeability, and leukocyte adhesion,” *Cancer Res*, vol. 52, pp. 4914–4921, 1992.
- [33] M. R. Hamblin and T. Hasan, “Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?,” *Photochem Photobiol Sci*, vol. 3, pp. 436–450, 2004.
- [34] T. Kimura, S. Takatsuki, S. Miyoshi, K. Fukumoto, M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Arai, S. Ogawa, and K. Fukuda, “Nonthermal cardiac catheter ablation using photodynamic therapy,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 1025–1031, 2013.
- [35] M. R. Hambrin, D. A. O’Donnell, N. Myrthy, K. Rajagopalan, N. Michaud, M. E. Sherwood, and T. Hasan, “Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria,” *J Antimicrob Chemother*, vol. 49, pp. 941–951, 2002.
- [36] T. N. Demidova and M. R. Hamblin, “Photodynamic therapy targeted to pathogens,” *Int Immunopathol Pharmacol*, vol. 17, pp. 245–354, 2004.
- [37] M. F. Grahn, M. L. De Jode, M. G. Dilkes, J. K. Ansell, D. Onwu, J. Maudsley, and N. S. Williams, “Tissue photosensitizer detection by low-power remittance fluoreimetry,” *Laser Med Sci*, vol. 12, pp. 245–252, 1997.
- [38] B. C. Wilson, M. S. Patterson, and L. Lilge, “Review article Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy: a new paradigm,” *Laser Med Sci*, vol. 12, pp. 182–199, 1997.
- [39] R. Bonnett and G. Martinez, “Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy,” *Tetrahedron*, vol. 57, pp. 9513–9547, 2001.
- [40] W. R. Potter, T. S. Mang, and T. J. Dougherty, “The theory of photodynamic therapy dosimetry: consequences of photodestruction of sensitizer,” *Photochem Photobiol*, vol. 46, pp. 97–101, 1987.
- [41] M. R. Stringer, D. J. Robinson, E. J. Hudson, and M. A. Smith, “In vivo monitoring of photosensitizer fluorescence during photodynamic therapy,” *Proc SPIE*, vol. 2371, pp. 104–108, 1995.
- [42] S. L. Jacques, R. Joseph, G. Gofstein, “How photobleaching affects dosimetry and fluorescence monitoring of PDT in turbid media,” *Proc SPIE*, vol. 1881, pp. 168–179, 1993.
- [43] M. Forrer, T. Glanzman, D. Braichotte, G. A. Wagnieres, H. Bergh, J. F. Savary and P. Monnier, “In vivo measurement of fluorescence bleaching of meso-tetra hydroxyl phenyl chlorin (mTHPC) in the esophagus and oral cavity,” *Proc SPIE*, vol. 2627, pp. 1–7, 1995.

- [44] J. Moan and D. Kessel, "Photoproducts formed from photofrin II in cells," *Photochem Photobiol*, vol. B1, pp. 429–436, 1988.
- [45] H. Zeng, M. Korbelik, D. I. McLean, C. MacAulay, H. Lui "Monitoring photoproduct formation and photobleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfin-like photosensitizer," *Photochem Photobiol*, vol. 75, pp. 398–405, 2002.
- [46] J. Ferreira, L. T. Moriyama, C. Kurachi, C. Sibata, O. Castro e Silva, S. Zucoloto, and V. S. Bagnato, "Experimental determination of threshold dose in photodynamic therapy in normal rat liver," *Laser Phys Lett*, vol. 4, pp. 469–475, 2007.
- [47] C. Sheng, P. J. Hoopes, T. Hasan, and B. W. Pogue, "Photobleaching-based dosimetry predicts deposited dose in ALA-PpIX PDT of rodent esophagus," *Photochem Photobiol*, vol. 83, pp. 738–748, 2007.
- [48] D. J. Robinson, H. S. de Bruijn, N. Veen, M. R. Stringer, and S. B. Brown, "Fluorescence photobleaching of ALA-induced protoporphyrin IX during photodynamic therapy of normal hairless mouse skin: the effect of light dose and irradiance and the resulting biological effect," *Photochem Photobiol*, vol. 67, pp. 140–149, 1998.
- [49] R. Cheung, M. Solonenko, T. M. Busch, F. D. Piero, M. E. Putt, S. M. Hahn, and A. G. Yodh, "Correlation of in vivo photosensitizer fluorescence and photodynamic-therapy-induced depth of necrosis in a murine tumor model," *J Biomed Opt*, vol. 8, pp. 248–252, 2003.
- [50] G. L. Zalar, M. P. Fitzpatrick, D. L. Krohn, R. Jacobs, and L. C. Harber, "Induction of drug photosensitization in man after parenteral exposure to hematoporphyrin," *Arch Dermatol*, vol. 113, pp. 1392–1397, 1977.
- [51] J. W. Gould, M. G. Mercurio, and C. A. Elmetts, "Cutaneous photosensitivity diseases induced by exogenous agents," *J Amer Acad Dermatol*, vol. 33, pp. 551–573, 1995.
- [52] T. J. Dougherty, M. T. Cooper, and T. S. Mang, "Cutaneous phototoxic occurrences in patients receiving Photofrin<sup>®</sup>," *Laser Surg Med*, vol. 10, pp. 485–488, 1990.
- [53] E. Bromley, B. Briggs, L. Kelner, and S. Wang, "Characterization of cutaneous photosensitivity in healthy volunteers receiving talaporfin sodium," *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, vol. 27, pp. 85–89, 2011.
- [54] Y. Muragaki, J. Akimoto, T. Murayama, H. Iseki, S. Ikuta, M. Nitta, K. Maebayashi, T. Saito, Y. Okada, S. Kaneko, A. Matsumura, T. Kuroiwa, K. Karasawa, Y. Nakazato, and T. Kayama, "Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors," *J Neurosurg*, vol. 119, pp. 845–852, 2013.
- [55] A. L. Chan, M. Juarez, R. Allen, W. Volz, and T. Albertson, "Pharmacokinetics and clinical

effects of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) photodynamic therapy in adult patients with primary or secondary cancer of the skin and mucosal surfaces,” *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, vol. 21, pp. 72–78, 2005.

図表

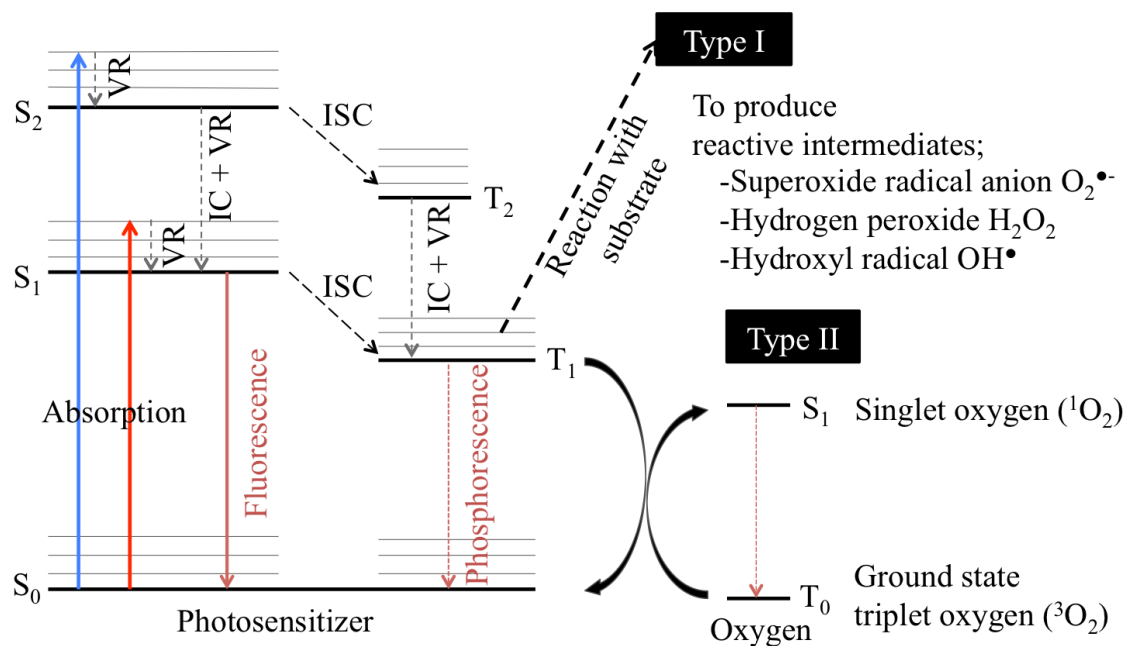


図 2-1 光感受性薬剤と酸素の光増感反応におけるエネルギーダイアグラム

(文献 [1, 2]より引用改変)

VR: 分子内振動緩和 (vibrational relaxation)

IC: 内部転換 (internal conversion)

ISC: 項間交差 (intersystem crossing)

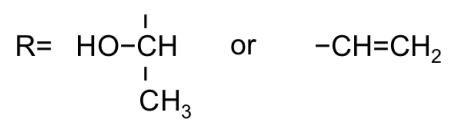
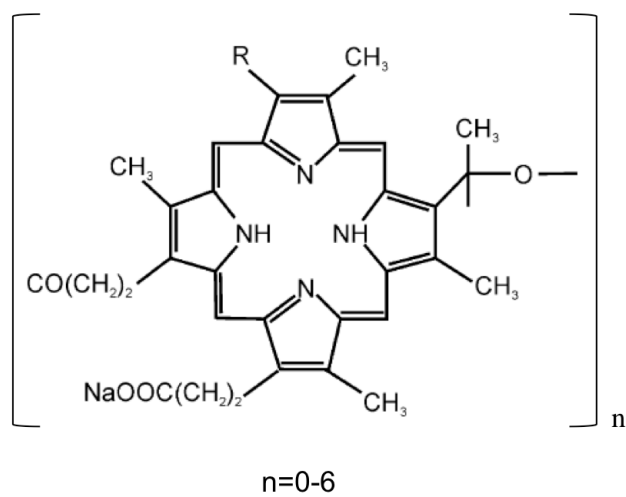


図 2-2 ポルフィマーナトリウムの構造式 (文献 [11, 12]より引用改変)

表 2-1 ポルフィマーナトリウムの化学的特性 (文献 [12, 14]より引用改変)

<b>Molar absorption coefficient at peak wavelength [<math>M^{-1}cm^{-1}</math>]</b>	$1\sim 2\times 10^3$ <sup>[12]</sup> (630 nm)
<b>Molecular weight</b>	1231.28~4883.3 <sup>[12]</sup>
<b>Hydrophilic/Lipophilic</b>	Lipophilic <sup>[12, 14]</sup>
<b>Quantum yield of <math>^1O_2</math> generation</b>	0.25 <sup>[14]</sup> (in PBS)
<b>Localization in cells</b>	Mitochondria, Plasma membrane, Golgi apparatus <sup>[12, 14]</sup>
<b>Duration of photosensitivity</b>	4~6 weeks <sup>[12]</sup>

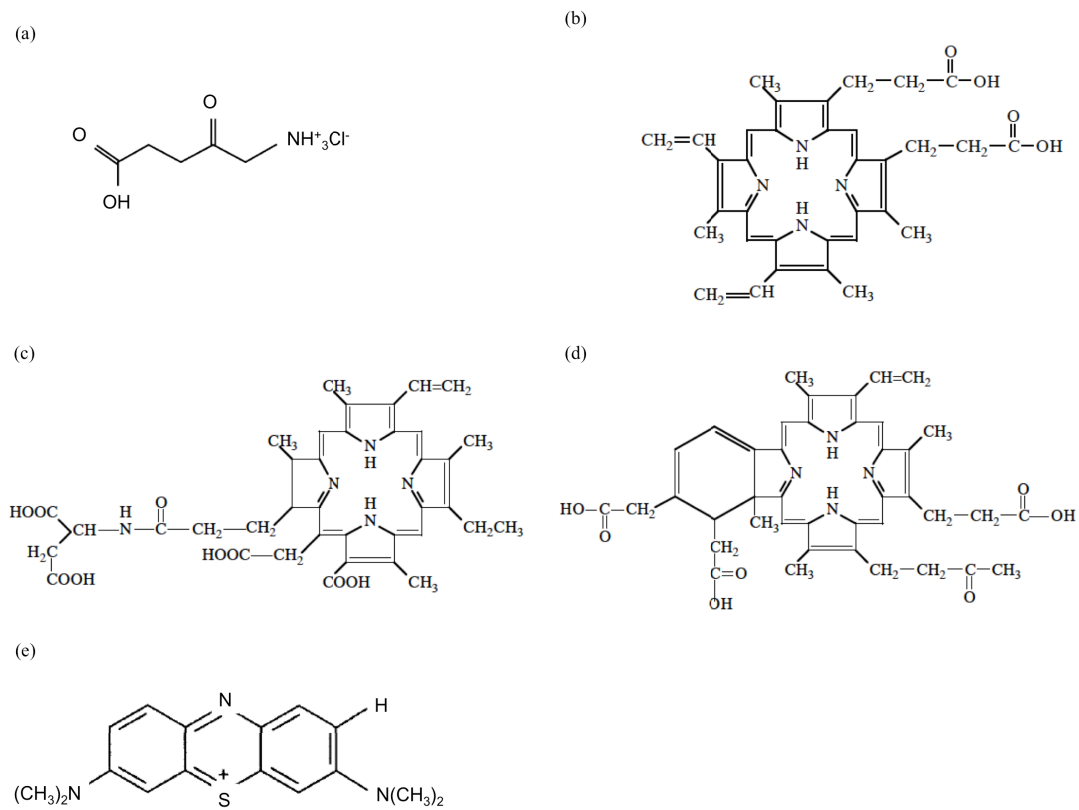


図 2-3 第二世代光感受性薬剤の化学構造 (文献 [11, 13, 21, 22, 33]より引用改変)

- (a) 5-アミノレブリン酸  
 (b) プロトポルフィリン IX  
 (c) タラポルフィンナトリウム  
 (d) ベルテポルフィン  
 (e) メチレンブルー



表 2-2 代表的な第二世代光感受性薬剤の特性および適用疾患  
(文献 [12, 14, 15, 24]より引用改変)

	<b>5-ALA</b>	<b>Talaporfin sodium</b>	<b>Verteporfin</b>	<b>Methylene blue</b>
<b>Molar absorption coefficient at peak wavelength [M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>]</b>	4.6×10 <sup>3</sup> [12] (635 nm)	4.0×10 <sup>4</sup> [12] (664 nm)	3.4×10 <sup>4</sup> [12] (690 nm)	8.2×10 <sup>4</sup> [24] (665 nm)
<b>Molecular weight</b>	167.59	799.69	718.79	319.85
<b>Hydrophilic or lipophilic</b>	Lipophilic	Hydrophilic	Lipophilic	Hydrophilic
<b>Quantum yield of <sup>1</sup>O<sub>2</sub> generation</b>	0.54 (in PBS) [14]	0.77 (in D <sub>2</sub> O) [20]	0.79 (in PB) [14]	0.52 (in PB) [15]
<b>Localization in cells</b>	Mitochondria, Cytosol, Cytosolic membrane	Lysosome, endosome	Mitochondria	Nucleus
<b>Duration of photosensitivity</b>	1~2 days	3~14 days	4~7 days	1~5 days
<b>Application</b>	Cancer (Skin, bladder, brain, esophagus)	Cancer (lung, liver, colon, brain), Tachyarrhythmia	Ophthalmic, Cancer (pancreatic, skin)	Localized infection

表 2-3 細胞内光増感反応と細胞外光増感反応の比較

	<b>Intracellular photosensitization reaction</b>	<b>Extracellular photosensitization reaction</b>
<b>Therapeutic application</b>	Cancer, Aged-related macular degeneration (AMD)	Localized infection, Tachyarrhythmia
<b>Photosensitizer localization</b>	Cell organelles; Mitochondria Lysosome	Extracellular; Interstitial fluid Cell membrane
<b>Drug-light interval</b>	2~96 hr	15 min~2.5 hr
<b>Photosensitizer supply</b>	None	By blood flow and permeability
<b>Oxygen supply</b>	By blood flow	By blood flow

表 2-4 治療効果の予測を目的としたモニター技術の種類と目的、および方法

<b>Metric</b>	<b>Aim</b>	<b>Methodology</b>
<b>Explicit</b> <sup>[38, 39]</sup>	To estimate the biological response	-To measure light fluence (rate), photosensitizer concentration, and tissue oxygenation of the target tissue -To calculate estimated-biological response by mathematical model
<b>Implicit</b> <sup>[38, 39]</sup>	To know the effective delivered dose of photosensitization reaction to the target tissue	-To measure photobleaching (rate) of the photosensitizer
<b>Direct</b> <sup>[38, 39]</sup>	To know produced singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ) concentration	-To measure the luminescence from $^1\text{O}_2$ in wavelength of 1270 nm.
<b>Triplet state</b> <sup>[38, 39]</sup>	To know triplet state photosensitizer concentration	-To measure phosphorescence
<b>Photobiological</b> <sup>[38, 39]</sup>	To know biological change during or immediately after the light irradiation	-To measure optical property of the target tissue -To measure fluorescence of the biological marker

表 2-5 Explicit および Implicit metric によるモニター方法の長所と短所

	<b>Explicit metric</b>	<b>Implicit metric</b>
<b>Advantage</b> <sup>[38, 39]</sup>	-Photobleaching measurement is not necessary	-Incorporate all factors of the photosensitization reaction -Measurement is technically simple
<b>Disadvantage</b> <sup>[38, 39]</sup>	-Need mathematical models for estimation combining the all factors of the photosensitization reaction -Measurement is technically complex: complete data set may not be possible -Does not incorporate all of the micro-dosimetric factors	-May need additional information to make quantitative -Effective dose definition is not clear

表 2-6 Implicit metric を用いたモニターの報告例

<b>Target tissue</b>	<b>Photosensitizer</b>	<b>Intracellular /Extracellular</b>	<b>Aim</b>	<b>Monitoring methodology</b>
Liver <sup>[45]</sup>	Photogen (porphyrin-like photosensitizer)	Intracellular	To estimate necrosis depth	Measuring photoproduct fluorescence
Skin <sup>[46]</sup>	Verteporfin	Intracellular	To calculate necrosis score	Measuring fluorescence of both photosensitizer and photoproduct
Esophagus <sup>[47]</sup>	ALA	Intracellular	To estimate total effective dose	Detecting edema due to photosensitization reaction
Skin <sup>[48]</sup>	ALA	Intracellular	To calculate scored damage due to photosensitization reaction	Measuring photosensitizer photobleaching
Murine tumor <sup>[49]</sup>	Photofrin	Intracellular	To estimate necrosis depth	Measuring photosensitizer photobleaching

## 第3章 頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療とモニター技術

### 3.1 緒言

不整脈は心臓の電氣的活動異常が原因で、脈が不規則に乱れた状態をいう。不整脈発生時における心拍数によって頻脈性不整脈と徐脈性不整脈に分類される。本章では頻脈性不整脈の病態や治療指針および治療成績の概要を説明する。現行の根治治療法であるカテーテルアブレーション治療を詳述し、その治療原理や治療技術およびモニター技術に関して解説する。

### 3.2 頻脈性不整脈と治療指針

頻脈性不整脈は、脈拍数が 100 回/min 以上になる不整脈をいう。頻脈性不整脈の原因は、心筋の電気興奮の旋回 (リエントリー) と異常自動能、撃発活動である [1]。多くの持続性頻脈性不整脈は異常興奮が心臓の解剖学的素因によって形成された回路および心筋組織の線維化によって形成された回路を繰り返し旋回することによる [1]。頻脈性不整脈は発生部位や心電波形、心拍数により疾患が分類される。頻脈性不整脈治療の目的は頻脈性不整脈の停止あるいは症状の軽減であり、その方法には薬物治療と非薬物治療がある。多くの頻脈性不整脈に対する代表的な治療は薬物治療であるが、発作の頻度や重症度、基礎心疾患の有無に応じて治療指針が決定される。本部では、頻脈性不整脈の疫学上の分類と、各頻脈性不整脈における治療指針に関して説明する。

#### 3.2.1 頻脈性不整脈の分類

頻脈性不整脈の種類とその起源、症状の特長、および我が国における不整脈全体における出現頻度を表 3-1 にまとめた。洞調律の心周期よりも早く、心房あるいは心室の興奮が生じる不整脈を期外収縮といい、異常興奮部位に応じて心房性期外収縮と心室性期外収縮に分けられる [1]。期外収縮が連続して生じることで、後述する種々の頻脈性不整脈が起こる原因となる。期外収縮を除く頻脈性不整脈は、心臓の異常電気興奮頻度 (心拍数) と異常興奮起源に基づいて分類される。心房を起源とする頻脈性不整脈は、心拍数の順に上室性頻拍 (230 拍/min 以内)、心房粗動 (240~440 拍/min)、心房細動 (350 拍/min 以上) に分けられる [2]。上室性頻拍は、疾患の原因となる異常な電気興奮発生および旋回位置によって分けられ、代表的な疾患として、心房-心室間における副伝導路による興奮旋回を原因とする房室回帰性頻拍 (WPW 症候群) と房室結節近部の伝導路における電気興奮の旋回による房室結節リエントリー性頻拍とがある [1, 2]。心房粗動には通常型と非通常型があり、通常型心房粗動は右心房に存在する三尖弁と下大静脈間の解剖学的狭部 (cavotricuspid isthmus;

CTI) を経路とする電気興奮の旋回が原因である [3]。非通常型心房粗動は右房上部や右房自由壁、左房における興奮旋回を原因とする。心房細動の原因は主に肺静脈内を起源とする異常興奮の不規則な旋回である [3]。心房細動はその持続期間に基づいて分類され、発症から7日以内に自然に洞調律に戻るものを発作性心房細動 (paroxysmal)、7日以上持続するものを持続性心房細動 (persistent)、1年以上持続するものを慢性心房細動 (long standing persistent) と呼ぶ [4]。持続性心房細動においては、肺静脈由来の異常興奮伝搬・旋回による心房細動の持続は全体の約80%であり [3]、その他の異常興奮は上大静脈や左房後壁等由来であると言われる。

一方、心室を起源とする頻脈性不整脈である心室性頻脈性不整脈には心室頻拍と心室細動がある。心室頻拍は持続性と非持続性心室頻拍に分けられる。持続性心室頻拍は心拍数が100拍/min以上になる頻拍が30s以上持続するものをいう。その主たる原因はヒス束およびヒス束よりも遠位の刺激伝導系起源の異常興奮が心室で旋回することである [5]。一方、非持続性心室頻拍は、心室起源の異所性興奮が100拍/min以上で3発以上連続して出現し、30s以内に停止するものをいう。一般に心室頻拍の発生原因は、心室における心筋自動能の亢進や撃発活動、興奮旋回であると考えられている [5]。心室細動は最も重篤な不整脈であり心室が300拍/min以上の心拍数にて不規則に興奮する。血液拍出のための有効な拍動が行えないため、発作から数sで失神、心停止となり死に至る。心室性頻脈性不整脈は、心臓突然死の主たる原因である致死性の高い疾患である。一方、心房性頻脈性不整脈は突然死の危険はないが塞栓症のリスクがあり、生命予後の悪化や生活の質 (quality of life; QOL) の低下が問題であることから、臨床的意義の重要性が強く認識されている [3]。

### 3.2.2 頻脈性不整脈の治療指針

頻脈性不整脈治療における現在の代表的な治療は抗不整脈薬を用いた対症療法である薬物療法であるが、根治治療法であるカテーテルアブレーション治療が薬物療法よりも長期予後が良好であることから、近年多用されるようになってきた [1, 3]。頻脈性不整脈に対する治療方針は頻脈性不整脈の種類によって異なり、興奮旋回部位あるいは異常興奮発生部位やその特性に応じて治療指針が定められている。

上室性頻拍のうち代表的な疾患である、WPW症候群および房室結節リエントリー性頻拍においては、カテーテルアブレーション治療が第一選択治療となっており、その高い成功率から根治治療法として確立されている [2, 7]。我が国での上室性頻拍に対するカテーテルアブレーション治療症例数は、2008年から2009年までの2年間で2498例であると報告されている [6]。WPW症候群の場合は、興奮旋回回路である心房-心室間における副伝導路を対象としてカテーテルアブレーションを行う。カテーテルアブレーション治療の成績は95%以上と高く、再発率は1~2%、合併症の発症率は0.5~2.0%と低い [4, 8]。房室結節リエントリー性頻拍の場合は、心房と心室の接合部近位における遅伝導路を対象として、カテーテ

ルアブレーションを行う [9]。房室結節リエントリー性頻拍に対するカテーテルアブレーション治療後の再発率も 1~3%と低い [4]。

心房粗動に対する治療の目標は洞調律への回復と心拍数のコントロールであり、最近では従来の抗不整脈薬を用いた薬物療法からカテーテルアブレーション治療などの非薬物療法に移行しつつある [10, 11]。これは、心房粗動発症率のうち全体の約 9 割を占める通常型心房細動において単回のカテーテルアブレーション治療によって約 80%の成功率にて根治が可能であるためである [12]。心房粗動に対するカテーテルアブレーション治療の症例数は、我が国では 2 年間で 1801 例であったと報告されている。心房粗動は後述する心房細動に比べて塞栓症の発症は低率であるが、投薬による抗血小板療法や抗凝固療法が推奨されている [13]。

心房細動に対する治療においては、頻脈性不整脈による症状を軽減する目的で抗不整脈薬を用いた薬物療法を行い、無効な場合には非薬物療法であるカテーテルアブレーション治療を行うことが推奨されている [4, 14-16]。薬物療法においては、洞調律の維持を目的とするリズムコントロールと、心拍数の調整を目的とするレートコントロールがある [14]。発作性心房細動に対する治療においては、両療法の生命予後に対する効果に有意差は認められていないが、レートコントロール治療は症状軽減に有用であり、リズムコントロール治療の有用性が認知されている [14]。カテーテルアブレーション治療は特に発作性心房細動に対して、単回の施術で 50~80%、2 回目の施術で 80~90%の確率で心房細動を抑制できることから、薬物治療抵抗性心房細動にはカテーテルアブレーション治療を選択する [14, 16]。カテーテルアブレーションによる心房細動治療の症例数は年々増加傾向にあり、2009 年度の国内での症例数は 28335 件であった [6]。

心室頻拍に対する治療は、生命予後の改善を目的とした薬物治療や植え込み型除細動器 (ICD) による治療が行われ、特に突然死予防の観点では植え込み型除細動器による治療が確実な方法であるとされている [4]。しかし植え込み型除細動器による治療は発生した心室頻拍を停止する手段であり、発作を抑制できないことから、発作予防を目的とした薬物治療の併用が重要である。薬物治療が無効あるいは植え込み型除細動器による除細動通電が頻繁に起こる場合には、根治を目標としてカテーテルアブレーション治療が行われているが、再発の危険性があることが課題である [17]。

心室細動においては発作が発生した場合の致死性が高いことから、予防的措置として植え込み型除細動器による治療が行われる [4, 18]。また、発作予防のために薬物治療を併用する場合もある。心室頻拍における治療と同様に、薬物治療が無効で発作が反復し植え込み型除細動器による除細動通電が頻回作動する場合にはカテーテルアブレーション治療が適用される場合もある [4, 18]。



### 3.3 頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療

カテーテルアブレーション治療は、経カテーテル的に頻脈性不整脈を引き起こす電気興奮の伝導経路あるいは発生部位の心筋を傷害して電気伝導遮断線を形成することにより、洞調律の維持を目指す方法である。癌に対する治療や血管形成術など一般的な治療は非健常部位を対象として施術を行うのに対して、頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療においては、健常部位を対象として組織壊死を起こす治療方針であることに特徴がある。カテーテルアブレーション治療は、アブレーションに用いるエネルギー源に応じて、心筋を傷害する機序やアブレーション技術が異なる。現在、最も普及しているカテーテルアブレーション治療は高周波通電を利用した高周波アブレーションであるが、その他に組織の凍結融解を利用したクライオアブレーション、レーザ光照射を熱源として利用したレーザアブレーションなどが開発されてきている [16]。本部では、種々のカテーテルアブレーション治療における心筋電気伝導遮断の原理、カテーテルアブレーション技術の開発の経緯および近年の開発動向、またカテーテルアブレーション治療の現状の課題について説明する。

#### 3.3.1 心筋電気伝導遮断の原理

心筋組織における電気伝導は、細胞間接合体であるギャップ結合を通じて心筋の活動電位が伝搬することによって生じる。隣接する心筋細胞同士は、細胞膜の蛋白が融合することによって細胞間チャンネルが形成され、電氣的に連結している [19]。カテーテルアブレーション治療では、心筋細胞を壊死させることによって、細胞間の電氣的結合状態を破壊する。本節では、種々のカテーテルアブレーション治療における心筋電気伝導遮断の原理を説明する。

高周波アブレーションは、高周波電流通電による発熱および熱伝導によって心筋組織を熱凝固壊死させる [20]。カテーテル先端電極と患者背面に設置した対極板を電極として、カテーテル先端電極より心筋組織に対して 500~1000 kHz の交流電流を 20~30 W 単極通電することにより、カテーテル先端電極が接した心筋組織表面においてジュール熱が生じる [20]。ジュール熱は電流密度に比例し、その電流密度はおおむねカテーテル先端電極からの距離の 2 乗に半比例する。よって、通電に伴って生じる単位体積あたりの熱量はカテーテル先端電極からの距離の 4 乗に反比例して減少する。そのため、高周波通電に伴う組織発熱および温度上昇は、組織深さ約 1 mm までの表面に限られ、組織深部の加熱は表面におけるジュール熱の熱伝導によって生じる [20]。組織表面における温度が、 $50\pm 8^{\circ}\text{C}$  にて一過性の電気伝導遮断が、 $62\pm 15^{\circ}\text{C}$  にて永続的な電気伝導遮断効果が得られる [21]。

クライオアブレーションは、心筋組織を亜酸化窒素ガスにより組織を  $-40\sim -60^{\circ}\text{C}$  に冷却して凍結凝固させる。凍結凝固とその後の解凍過程を繰り返すことで心筋を壊死させて電気伝導遮断を実現する [22]。クライオアブレーションによる心筋組織傷害機序は、(i) 細胞外

液の凍結に引き続く細胞小器官と細胞膜の凍結傷害、(ii) 解凍過程における血管拡張や透過性亢進による浮腫や血栓生成、出血による組織傷害、であり [22]、これにより即時的な細胞壊死を起こす。

レーザーアブレーションは熱源に波長 980 nm のレーザー光を用いたアブレーション方法であり、心筋組織を熱凝固壊死させて電気伝導遮断を得る [16]。一点あたり約 8.5 W、20~30 s のレーザー光を照射し、心筋組織による光吸収に伴う発熱および熱伝導により即時的な心筋組織傷害を起こす [23]。

### 3.3.2 カテーテルアブレーション技術の開発経緯

本節では、カテーテルアブレーション技術の開発経緯について解説する。カテーテルアブレーション治療による頻脈性不整脈治療は1982年に Scheinman, Gallagher らが直流通電による房室接合部の電気伝導遮断に成功したことに始まる [6, 24]。1983年にはカテーテルアブレーションによる副伝導路の電気伝導遮断に成功したが [25]、通電に伴う心室細動や心室頻拍の発生、心タンポナーデや神経障害、血栓生成など重篤な合併症が少なくなかった [26, 27]。その後、1987年に心室頻拍、WPW 症候群に対して高周波交流通電を行い心筋電気伝導遮断に成功したことから、高周波通電によるカテーテルアブレーション治療（高周波アブレーション）は急速に普及し、頻脈性不整脈に対する非薬物治療の主流となっていった [6]。高周波アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては、1点ずつアブレーションを行う point-to-point アブレーションによって、頻脈性不整脈の原因となる異常電気興奮の伝搬を遮断することを目的に、連続的な電気伝導遮断領域である電気伝導遮断線を作成する。高周波アブレーションの普及に伴い、種々の頻脈性不整脈を根治するため数多くの電気伝導遮断線作成の戦略が検討されてきた。例えば、発作性心房細動治療に関しては、1998年に Haïssaguerre らが肺静脈 (pulmonary vein; PV) 起源の反復性異常興奮を引き金として発作性心房細動が発症することを見出し [28]、2000年に発作性心房細動の根治治療法として肺静脈の左心房への入口部周囲に電気伝導遮断線を作成することによって肺静脈を電氣的に隔離する肺静脈隔離術 (PV isolation; PVI) を提唱した [29]。しかし肺静脈入口部への通電によって合併症の一つである肺静脈狭窄が起きたり、食道に近接する右肺静脈に対するアブレーションによって食道瘻が生じたりする危険性があること、また肺静脈と左心房の接合部における電気伝導の不均一性が心房細動の発生や持続に関与するとの仮説が提唱されたことから、これを克服するための電気伝導遮断線が報告されてきた。例えば、肺静脈入口部と左心房の接合部を広く含むように上下肺静脈周囲を通電して隔離する拡大肺静脈隔離術 (extensive encircling pulmonary vein isolation; EEPVI) や [30]、食道に近接する左心房後壁のアブレーションを行わずに4本の肺静脈を隔離する Box isolation などである [31]。また、持続性心房細動に対するカテーテルアブレーション治療後に僧帽弁輪周囲回旋型心房頻拍が医原性不整脈として発生するため、予防的措置として僧帽弁輪峡部 (peri-mitral isthmus;

MI) や下大静脈-三尖弁輪間の解剖学的峽部 (cavo-tricuspid isthmus; CTI) に対してカテーテルアブレーション治療を行う場合もある。現在の頻脈性不整脈治療におけるカテーテルアブレーション治療の手技は、術者や施設によってその方式は様々であり、統一的な電気伝導遮断線およびその作成方法は未だ定まっていない。

### 3.3.2.1 Point-to-point アブレーション技術

Point-to-point アブレーション方式を用いた高周波アブレーションによる頻脈性不整脈治療の安全性や有効性を高めるために種々の技術が開発されてきた。例えば、3.3.3 節にて解説する高周波アブレーションに伴う過加熱による副作用の低減および深部へのアブレーションを可能にするために、高周波アブレーションカテーテルの先端電極より生理食塩水を灌流する、冷却機能付き高周波アブレーションカテーテル (イリゲーションカテーテル、irrigation catheter) が開発された [32]。イリゲーションカテーテルの一例を図 3-1 に示した [33]。イリゲーションカテーテルは現在の標準的な高周波アブレーション用カテーテルとなっている。イリゲーションカテーテルを用いた高周波アブレーションにおいては、カテーテル先端電極より生理食塩水を約 15 ml/min の流量にて灌流しながら、約 30 W の高周波電流を通電する [32]。カテーテル先端電極を均一に冷却し、血栓の生成を防ぐためにイリゲーション孔の多孔化やイリゲーション孔の配置に関して検討・開発が行われてきている。イリゲーションカテーテルを用いたカテーテルアブレーションでは、組織の冷却効果が得られる一方で、アブレーションに伴う灌流によって容量負荷がかかるため、心不全のリスクがあり [16]、灌流量に注意してアブレーションを行うことが必要である。Point-to-point アブレーションにおいては、対象組織である心臓の解剖学的な複雑性から、術者のカテーテル手技の熟練が必要なので、確実に電気伝導遮断線を作成するための支援装置の開発も進められてきた。例えば、心臓の解剖学的位置関係とカテーテル位置およびアブレーション位置を統合して表示する三次元マッピングシステム (electroanatomical mapping system) やカテーテルの接触状態をモニターする接触モニター、コンピュータによってカテーテルを自在に遠隔操作するロボット制御システム (robotic control system) などが開発された [16]。三次元マッピングシステムおよび接触モニターについては 3.4.1 節および 3.4.2.2 項で詳細を解説する。ロボット制御システムは 1 mm 未満の位置精度で正確なカテーテル操作が可能であること、用手的な方法では困難な解剖学的に複雑な症例に対して有効であること、術者および患者の放射線被曝時間の低減が可能であることが報告されている [16]。しかし、ロボット制御システムは装置が大型で、治療成績が従来法と同程度であり、三次元マッピングシステム等のモニター技術の進歩により従来法によるカテーテルアブレーション治療の術時間短縮が可能になったことから普及には至っていない。

### 3.3.2.2 一括アブレーション技術

近年、point-to-point アブレーションの課題である術者や施設ごとに異なるアブレーション手技や治療成績の統一化および再現性を向上すること、またアブレーションの効率向上や手技の簡素化を目的として、一回のアブレーションで円周状あるいは部分円周状に遮断線を作成する一括アブレーションが考案され普及し始めている。一括アブレーションにおいては、(i) 高周波アブレーション、(ii) クライオアブレーション、(iii) レーザアブレーションが開発されている。(i) の高周波アブレーションにおいては、複数の電極を有する多電極アブレーションカテーテルやバルーン形状を有する高周波ホットバルーンカテーテルが開発された [34-43]。多電極アブレーションカテーテルと高周波ホットバルーンカテーテルを図 3-2 に示した [34-36]。多電極アブレーションカテーテルは環状あるいはらせん状のカテーテルに十数個の電極を配置して、1 回の通電で複数箇所のアブレーションが可能である。但し、一回の通電で環状の電気伝導遮断線を形成できないことから、カテーテルを回転させながら複数回の通電を行う。多電極アブレーションカテーテルの代表的なものとして、肺静脈隔離を目的とした多電極アブレーションカテーテルである Pulmonary Vein Ablation Cather<sup>®</sup>; PVAC<sup>®</sup>が Medtronic 社より開発され欧州にて臨床認可を得ている。PVAC<sup>®</sup>は直径 25 mm 円弧状の先端部に 10 極の白金製電極を有し、最大 8 W の高周波電流を 60 s 通電し電気伝導遮断線を作成する。単極および双極通電を切り替えることによって治療深度を調整することが可能である [34]。PVAC<sup>®</sup>を用いた肺静脈隔離による心房細動治療においては、単回のアブレーションから 6 ヶ月後の治療成功率は 83%であったとの報告がある [34]。一方で同一箇所への複数回アブレーション手技やカテーテル先端部の電極が近接しているために組織の過加熱が起こるために高い頻度で通電に伴う血栓が生成されることが最大の課題であった。現在では電極数を 9 極に減らし電極材質を金に変更した PVAC<sup>®</sup> GOLD が開発されている。PVAC<sup>®</sup>および PVAC<sup>®</sup> GOLD はアブレーション時の冷却機能を持たない一方で、イリゲーション機能を有する多電極タイプのアブレーションカテーテルである nMARQ<sup>™</sup>が Biosense Webster 社より開発され、欧州にて臨床応用されている [36]。nMARQ<sup>™</sup>はラッソ型と呼ばれる先端が環状のカテーテル形状をとり、円周状に配置された 10 極の各電極から通電および温度計測、生理食塩水の灌流が可能である。電極を有する円周部位は直径 20~35 mm の範囲でその寸法を変更可能であり、患者ごとに多様な解剖を有する肺静脈に適應できる [36, 37]。アブレーションにおいては、使用する電極を選択可能であり、18~25 W の高周波電流を 30~40 s 通電する [37]。nMARQ<sup>™</sup>は各電極においてイリゲーションおよび温度計測が可能な故にカテーテル内部構造が複雑なため、カテーテル太さが 8.4 Fr. (直径 2.8 mm) と太い。またイリゲーション時の還流灌流量が 30~60 ml/min と多いため、注入量過剰に伴う心臓の負担が課題である [37]。一方、高周波ホットバルーンカテーテルは、1 回の通電で 1 本の肺静脈入口部全周をアブレーションして簡易かつ短時間の手技で肺静脈隔離を実現することを目的としたアブレーションカテーテルである。このカテーテルはバルーン

ン内中心部に高周波通電用コイル電極と温度センサーを有し、バルーン内に充填された電解質溶液とバルーンの拡張、高周波通電によってバルーン表面を60~65°Cに加熱する [35]。拡張したバルーン表面を肺静脈に密着させ熱伝導によって肺静脈全周のアブレーションを一括で行う [35]。高周波ホットバルーンカテーテルは、現在我が国で臨床治験が進められている [16, 38]。

(ii) のクライオアブレーションでは、主にバルーン型のカテーテルを使用して肺静脈隔離を短時間かつ簡便に行うことを目的とする。図 3-3 にクライオアブレーションカテーテルを示した [39]。クライオアブレーションは Medtronic 社より開発された技術であり、クライオカテーテルとして Arctic Front™ および Arctic Front Advance™ が臨床応用されている。Arctic Front™ および Arctic Front Advance™ は 2 重バルーン構造をとり、亜酸化窒素ガスによりバルーンを冷却する [40]。造影剤と生理食塩水からなる溶液を灌流してバルーンを拡張するとともにバルーン内を均一に冷却する。バルーンの寸法は直径 23 mm および 28 mm の 2 種類であり、バルーン収縮時は 12 Fr. (直径 4 mm) の太さである。対象とする肺静脈寸法に応じてバルーン径を選択する。クライオアブレーションによる肺静脈隔離の手技は、以下の通りである [41]。

1. バルーン先端を肺静脈内部まで挿入する。
2. バルーンを拡張して肺静脈を閉塞させた状態で、先端部のバルーンに亜酸化窒素ガスを 4 min 供給し、心筋組織をバルーン先端温度-40~-60°Cにて冷却し冷凍凝固させる。
3. 約 5 min でバルーン先端部位の温度を体温付近まで復温する。
4. 再度同条件にて 4 min 冷却し、心筋組織を冷凍凝固させる。

クライオアブレーションによる発作性心房細動に対する治療は 35000 例以上に施行されており、その臨床成績は、薬物治療に比べて有意に心房細動抑制効果を示していること、また単回のアブレーションから 12 ヶ月後の肺静脈隔離成功率は 81.3~90.3%であり、通常のイリゲーションカテーテルを用いた高周波アブレーションに勝るとの報告がある [40, 41]。

(iii) のレーザアブレーションも、バルーン型のカテーテルにてアブレーションを行う方式であり、CardioFocus 社より HeartLight®が開発されている。図 3-4 にレーザアブレーションカテーテルを示した。レーザアブレーションでは、波長 980 nm のレーザ光を中心角 30°の円弧状に 5.5~12 W の出力にて照射可能な 12 Fr. (直径 4 mm) のバルーン型カテーテルを用いる。バルーン部寸法は 20, 25, 30 mm 直径の 3 種があり、対象とする肺静脈の寸法に応じて選択する。バルーン内は重水で満たされており、肺静脈寸法に応じて 9~35 mm の範囲でバルーン径を調整可能である [42]。バルーンを肺静脈に接触させた状態で一点あたり約 8.5 W、20~30 s の光照射を行い、カテーテルを回転させることでアブレーション位置を変更し、肺静脈全周をアブレーションして電気伝導遮断線を作成、肺静脈隔離を達成する [43]。レーザアブレーションの特長は、バルーン内に内視鏡システムが内装されているため、アブレーション部位の観察およびバルーンの組織への接触状態を観察しながら治療を行うこ

とができるモニター機能を有する点にある [42, 43]。詳細は、3.4.2.2 項にて解説する。レーザーアブレーションによる発作性心房細動の治療成績は、単回施術直後の肺静脈隔離成功率が 98.9%、施術 12 ヶ月後の心房細動再発率は 29%であり、イリゲーションカテーテルを用いた高周波アブレーションやクライオアブレーションと同等であると報告されている [43]。

### 3.3.3 カテーテルアブレーション治療の課題

現行のカテーテルアブレーション治療は、いずれも心筋を熱凝固あるいは凍結融解といった熱作用により傷害し、心筋電気伝導遮断効果を得る。心筋組織内外における熱伝導の制御が困難であるため、治療に伴う熱作用に由来する合併症の発症が現行のカテーテルアブレーション治療の課題の一つである。特に、心房細動治療におけるカテーテルアブレーション治療において発生する合併症が問題とされることが多い。現在までにカテーテルの改良や 3.4 部にて記述するモニター技術の発達により、高周波アブレーションによる心房細動治療における合併症発症率は総計 5%以下まで低減されてきたが、合併症の症状が重篤であることと、薬物療法によって十分に保存的な治療が可能であることが問題である [44]。心房細動に対するカテーテルアブレーション治療において発生する代表的な合併症は、心タンポナーデ、脳梗塞、肺静脈狭窄、食道瘻などである。カテーテルアブレーションの術式によって、発生する合併症の種類および頻度が異なり、一括アブレーション方式においては、point-to-point 方式よりも肺静脈自体の過加熱や近接する周囲臓器への傷害の発生確率が高い。イリゲーションカテーテルによる高周波アブレーションにおいては、2001 年から 2010 年までの 1190 例における調査で、心タンポナーデ (1.1%)、塞栓症 (0.8 %)、食道瘻 (0.2%)、横隔神経障害 (0.3%) の発症が報告されている [44]。バルーン型カテーテルを用いたアブレーションにおいては、肺静脈狭窄や食道瘻、横隔神経障害の発症頻度が高く、例えばクライオアブレーションにおいては心タンポナーデ (0.6%)、塞栓症 (2.5 %)、横隔神経障害 (13.5%) が [45]、レーザーアブレーションにおいては、心タンポナーデ (0.6%)、食道瘻 (3.7%)、横隔神経障害 (3.3%) が主な合併症である [46]。表 3-2 に心房細動に対してイリゲーションカテーテルを用いた高周波アブレーション、クライオアブレーション、レーザーアブレーションを行った際の合併症とその発症率をまとめた [44-46]。心タンポナーデの原因は、アブレーションカテーテルの過剰な接触による穿孔や、組織深部における過加熱による水蒸気爆発によって組織穿孔が生じることが原因であると考えられている。脳梗塞の原因は、心腔内に留置されたカテーテル表面での血栓生成や、アブレーションに伴う発熱によりアブレーションカテーテル先端や組織表面での熱凝固物の生成、アブレーションに伴う血液凝固能の亢進などがある [47]。現在、カテーテルアブレーション治療における最も重大な合併症の一つとして無症候性脳塞栓症が話題となっている。イリゲーションカテーテルを用いた高周波アブレーション後の無症候性脳塞栓症の発症率は 14.2%であり [48]、微少な血栓が原因とされる。無症候性脳塞栓症により知能障害のリスクがあることが報告

されている [48]。塞栓症の発症を防止するためには、適切な抗凝固療法を行ったり、できる限り短時間での治療を行ったりすることによって、脳梗塞の発症予防対策を行うことが必須である。肺静脈狭窄は、肺静脈入口部あるいは肺静脈内におけるアブレーションによって生じる [49]。肺静脈狭窄を避けるために肺静脈隔離術を行う際のアブレーション部位が食道に近接した左心房後壁側に移動したため、アブレーションに伴う発熱の熱伝導によって食道を傷害して、致死性である食道瘻を発生させる要因となっている [50]。また、アブレーション部位近傍に位置する横隔神経も過加熱による熱傷害を受けやすく、横隔神経麻痺の発生につながっている [51]。

### 3.4 カテーテルアブレーション治療におけるモニター技術

頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療は、心筋傷害によりその電気伝導を遮断して即時的に治療効果を得ることに特徴がある。そのため、カテーテルアブレーション治療に関する物理情報を施術中に取得するモニター技術が、種々のカテーテルやアブレーション方法の開発とともに発展してきた。カテーテルアブレーション治療におけるモニター技術併用のねらいは、モニターにより得られた治療に関する情報をもとにカテーテルアブレーション治療を制御し、安全かつ確実な治療を実現することにある。本部では、カテーテルアブレーション治療において必須のモニター技術である電気生理モニターと、カテーテルアブレーション治療中に運用するアブレーションによる熱作用を監視する熱作用モニターやカテーテルの接触状態に関する情報を取得する接触モニターに関して述べる。

#### 3.4.1 電気生理モニター

電気生理モニターは、経カテーテル的に心臓各所の電気興奮を記録し、心内電位の分布や電気興奮伝搬経路に関する情報を提供する。電極を2~20個配置した電気生理検査用電極カテーテルを心腔内に挿入し、電極を心筋に接触させて双極誘導として心筋局所の電位を記録し、カテーテル電極の配置と興奮伝搬の順序や興奮伝導に要する時間を解析する [52]。電気生理モニターによって頻脈性不整脈の原因となる興奮巡回回路の主たる伝導路の同定やアブレーション前後での伝導経路変化やアブレーション部位における電位の消失の確認が可能である。電気生理モニターは、治療指針の決定および治療効果の判定方法として、カテーテルアブレーション治療においては必要不可欠なモニターである。電気生理モニターから得られる心内電位情報を解釈するためには、心内電位興奮部位や伝搬経路と、心内の空間的位置関係との相関を把握する必要がある。これらの情報を一つのモニターで解析・表示することが可能な電気生理学モニターとして、三次元マッピングシステム (electroanatomical mapping system) の開発、普及が急速に進んでいる [52-54]。三次元マッピングシステムは、電気生理現象とCT画像やMRI画像から得られる解剖学的位置関係を統合し、局所電位の高さや興奮伝搬を三次元的に画像構築して同時に表示するモニターであ

る [52-54]。三次元マッピングシステムの代表例として、CARTO<sup>®</sup> System と EnSite<sup>™</sup> Array<sup>™</sup> システム、EnSite<sup>™</sup> NavX<sup>™</sup> システムがある。心房細動に対するカテーテルアブレーション治療における CARTO<sup>®</sup> System を用いた左心房の三次元マッピング画像を図 3-5 に示した [55]。CARTO<sup>®</sup> System は、微弱な交流磁場を形成するコイルを内蔵したレファレンスパッチ 3 枚を患者背部に貼付し、磁気センサーを内蔵した専用のアブレーションカテーテルを用いて磁場強度を計測して、カテーテル先端の三次元的位置を把握する [53-55]。カテーテル先端の電極が接触した部位の位置情報と心筋電位情報を数十点記録し (マッピング)、三次元画像に統合 (merge) することにより、心腔の形状と電位情報を再構築する。CARTO<sup>®</sup> System では、前述の磁気センサーを内蔵した専用のアブレーションカテーテルを用いて三次元マッピングとアブレーションの両方を行える長所がある。一方、三次元マッピング画像を再構築するために心腔内の各所の電位をマッピングする必要がある。EnSite<sup>™</sup> Array<sup>™</sup> システムは、各所の電位マッピングを術者が一点ずつ行う必要がなく、64 極の電極からなる EnSite<sup>™</sup> Array<sup>™</sup> カテーテルを心腔内に設置して、単極誘導にて電位を記録する [56]。体表に装着した 3 枚の電極パッチから微小電流を通電し、カテーテル電極との電位差計測から体内の空間的な位置を決定し三次元マッピングに再構築する EnSite<sup>™</sup> NavX<sup>™</sup> システムは、マッピングに使用可能なカテーテルに制限がない特長がある。電極を有するあらゆる形状のカテーテルを心腔内にて接触・移動させることで、各電極の軌道を記録、心内電位と空間的な位置関係を三次元マッピングに再構築できる。三次元マッピングシステムの利用によって心房細動に対するカテーテルアブレーション治療における X 線透視時間の短縮や頻脈性不整脈再発率の減少、洞調律維持率の向上といった治療効果や効率が向上している [57, 58]。また、合併症の一つである肺静脈狭窄の発生率減少も報告されており、解剖学的構造が複雑である左心房が可視化されることによって、カテーテルアブレーション治療の安全性向上にも役立っている [56]。

### 3.4.2 カテーテルアブレーション中のモニター

カテーテルアブレーションによる頻脈性不整脈治療において、確実な電気伝導遮断と過加熱が原因で発生する合併症の抑制を両立するために、アブレーション手技や熱作用に関する情報を提供し治療制御の支援を行うことを目的として、アブレーション中に運用するモニターの開発が行われている。本部では、アブレーションに伴う熱作用を観測する熱作用モニターと、カテーテルの接触状態をモニターする接触および接触圧モニターに関して説明する。

#### 3.4.2.1 熱作用モニター

熱凝固壊死によって心筋電気伝導遮断を達成する高周波アブレーションにおいては、組織への熱作用は組織に投入するエネルギー量、カテーテルの組織接触状態、カテーテル電



極の寸法に依存する [59]。組織深部への熱作用は熱伝導によるものであるため、アブレーションによる組織傷害領域は組織の熱特性や組織表面および組織周囲に走行する血管の血流による冷却に影響を受け、カテーテル電極形状や接触状態、投入エネルギーから組織傷害領域を直接予測することが難しかった [21]。カテーテルアブレーションによって心筋電気伝導遮断を得るためにはおよそ 50°C 以上の組織温度が必要であること、また組織-カテーテル先端界面温度と組織傷害領域の幅や深さに相関があることが見出されている [59, 60]。一方で、アブレーションに伴う発熱による血栓の生成は組織-カテーテル先端界面の温度が 80°C 以上で生じ、100°C 以上にて水蒸気爆発 (pop) が発生することが知られている [61]。血栓の生成は、脳梗塞をはじめとする塞栓症の原因となる、またカテーテル先端に血栓が付着すると有効なアブレーションが阻害されるため、その生成を未然に防止する必要がある。組織内部で水蒸気爆発が生じると組織穿孔が起こり、心タンポナーデを起こす可能性が高い。したがって電気伝導遮断を実現しつつ合併症のない安全なカテーテルアブレーション治療を行うためには、アブレーション中に組織への熱作用をモニターすることが重要である。熱作用モニターとしてカテーテル先端と組織界面における温度計測を経カテーテル的に行う温度モニターと、組織の電気インピーダンスを計測するインピーダンスモニターが考案され、現在ではほぼ全てのアブレーションカテーテルに搭載されている。温度モニターは、カテーテル先端電極付近に内蔵されたサーミスタによりアブレーション中に温度計測を行う [59, 60]。但し、温度モニターによって計測する温度は組織表面から伝導した温度であり、正確な組織測温ではない。温度モニターの運用はアブレーションによる組織発熱を監視し有効な治療が行われているかの情報を提供するとともに、血栓生成や水蒸気爆発の発生を未然防止することを目的とする。温度モニターは、アブレーションにおける安全装置としての役割も担っており例えば高周波アブレーションにおいては 55~60°C を上限温度として設定し、過加熱を防止する。インピーダンスモニターはアブレーションカテーテルと患者背部に設置した対極板間におけるインピーダンスを計測・表示するモニターである。インピーダンスの増減はアブレーションに伴う組織内の発熱を反映することから、温度モニターと同様に有効なアブレーションが行われているかどうかの確認を目的とするだけでなく、過加熱に伴う水蒸気爆発の発生や血栓生成を予測し、未然にその発生を予防するために用いられている。

高周波アブレーションにおいては近年、前述の生理食塩水を先端より灌流するイリゲーションカテーテルを用いたアブレーションが行われることが通例となった。イリゲーションによってカテーテル先端電極および組織表面が冷却されるために、従来のカテーテルアブレーションでは困難であった組織深部へのアブレーションに必要なエネルギーを投入可能になり、所望の組織傷害領域を形成できるようになった。また、灌流による血液の過加熱防止および熱変性した血液の流動によって、血栓形成のリスクが低下した。一方で、組織内部での水蒸気爆発の発生による心タンポナーデの発生といった合併症が多発した

[61-63]。これは、高周波通電によるジュール発熱においては、組織深度 1 mm 付近において組織内最高温度をとることと [61]、温度モニターにおいて計測される温度は生理食塩水灌流によって冷却された組織表面からの熱伝導の結果であり、実際の組織温度よりも低い温度がモニター結果として示されるためであった。イリゲーションカテーテルによるアブレーション中に温度モニターにより示される組織表面-カテーテル先端間の温度は 36~38°C とほとんど変化がないため、温度モニターのみに注目してアブレーションを行うと、過剰なエネルギーを投入してしまいがちであった [63]。一方で、アブレーションによる温度変化とインピーダンス変化に相関があること、水蒸気爆発発生に伴ってインピーダンスが大幅に減少することが明らかになり [60, 63]、臨床においても水蒸気爆発発生を未然に予測する目的でインピーダンスモニターが重用されるようになった [62]。イリゲーションカテーテルを用いたアブレーションを行った場合、アブレーション開始時とアブレーション終了時あるいは水蒸気爆発発生時点におけるインピーダンスの差は  $22 \pm 7 \Omega$ 、水蒸気爆発を発生しなかった群では  $18 \pm 8 \Omega$  であり、有意差を示した [62]。このとき、温度モニターによる組織表面-カテーテル先端間の温度は水蒸気爆発発生の有無に関わらず  $36 \pm 3^\circ\text{C}$  であった。このように、現在のカテーテルアブレーションにおいては、治療の安全性を担保するために温度モニターとインピーダンスモニターを併用し、過加熱による水蒸気爆発や血栓生成のリスクを判断し治療を制御する方法を担っている。これらの熱作用モニターの併用は安全運用の目的を担っているものの、現行のカテーテルアブレーション技術は熱作用を用いた治療であるので、血栓生成や水蒸気爆発による心タンポナーデといった合併症の発生を本質的に回避できるものではない。

一方、心房細動に対する治療において肺静脈隔離術を行う際に発生する危険性のある食道瘻などを防止することを目的として、食道における温度モニターの運用が近年多く取り入れられている [16, 64]。図 3-6 に食道温度モニターの一例として、St. Jude Medical 社の Sensitherm™ の外観を示した [65]。アブレーションによる食道における熱傷害の発生は、左肺静脈周囲におけるアブレーションにおいて頻発する。その原因は、左肺静脈および左心房後壁と食道の距離が 3~10 mm と近接していること、また肺静脈の組織厚みが 1~4 mm であることにより、アブレーション部位からの熱伝導によって食道が熱傷害を受けることにある [66]。食道温度モニターの併用によって、カテーテルアブレーションによる食道傷害の発生率は減少傾向にあるが、食道温度モニターの測定温度は食道内腔の温度であり食道組織温度を直接計測しているわけではないため、食道組織そのものや食道周囲の神経への傷害を防止しきれないという課題が残る [67]。

#### 3.4.2.2 接触および接触圧モニター

カテーテルアブレーション治療において最も普及している高周波アブレーションによる組織傷害は、カテーテルの接触状態に影響を受ける [21, 58]。例えば、カテーテルの接触状

態によって組織傷害領域が変化したり、バルーンを用いたアブレーションにおいてはバルーンが治療対象組織に接触していない場合には電気伝導遮断に有効な組織傷害を起こすことができなかつたりする [21, 58, 68]。また、カテーテルの過剰な接触によって、心筋穿孔を生じて心タンポナーデを起こしたり、周囲組織を傷害したり、血流停滞により血栓が生成されたりといった、合併症の発生リスクが高まる危険性がある [69]。そのため、接触状態に関する情報を取得して、適切な接触圧力下でアブレーションを行うとともに、接触圧力に応じた治療領域推定の必要性が高まっている。これまでに、インピーダンスモニターや温度モニターによりカテーテル接触状態のモニターが行われてきたが、正確性を欠くという課題があった [71]。現在ではカテーテルの接触状態をモニターする方法として、(i) カテーテルの心筋組織への接触圧力を直接計測する接触圧モニターと、(ii) レーザアブレーション用カテーテルのバルーン内に内装された内視鏡により接触状態を観察可能な機能を有するシステムの2つの方式が考案されている [21]。

(i) の接触圧モニターは point-to-point アブレーション型の高周波アブレーション用カテーテルに内装されたモニターであり、St. Jude Medical 社より TactiCath™ が、Biosense Webster 社よ THERMOCOOL® SMARTTOUCH®が開発されている。TactiCath™ は、カテーテルに内装された3本の光ファイバーによりカテーテルが組織に接触した際に生じる機械的なひずみを連続的に計測することでカテーテル接触圧力をカテーテル接触方向とともにモニターする。図3-7に TactiCath™ の構造および接触圧力計測法の模式図を示した [69]。カテーテル接触圧力計測の感度は1gであり、計測した接触圧力をカテーテル操作中に視覚的に表示する。これまでに、動物実験にて TactiCath™ を用いたカテーテル接触圧力下でのアブレーションを行った結果、カテーテル接触圧力に応じて治療深度が増大する傾向が報告されている [69, 70]。図3-8に高周波アブレーションにおけるカテーテル接触圧力と治療深度および治療体積の関係を示した [69]。アブレーション中のカテーテル接触圧力は拍動に応じて変動する。この接触圧力変動を補償し、アブレーションによる治療深度や治療領域を推定するモニター指標として、接触圧力のアブレーション時間積分値である FTI (force time integral) が考案された [71]。さらに、投入エネルギーやアブレーション時間をパラメータに取り入れ、治療領域を推定するモニター指標が考案され、さらなる治療深度推定の精度向上が試みられている [72]。臨床における TactiCath™ を用いたカテーテルアブレーションにおいては、カテーテル接触圧力は術者によるばらつきが大きく約8割の症例で一過性に100g以上の過剰な接触圧力が記録されること [73]、また20g以上の接触圧力では血栓生成のリスクがあることが報告されており [61]、接触圧力モニター運用下であっても完全な過接触や血栓生成防止は難しい。

(ii) のバルーン接触状態を観察可能なシステムは CardioFocus 社のレーザアブレーション用のバルーンカテーテルである HeartLight® に搭載されている。カテーテル内中央に搭載された直径500μm、視野角110°の内視鏡により、バルーン表面と接する血管内腔を施術中に

観察することができる [42]。図 3-9 にレーザバルーンを肺静脈入口部に接触状態下の観察画像を示した [42]。バルーンが血液に接触している場合、術者には視野が赤く見え、組織に接触している部位は白色の肺静脈の組織色が見える。また、内視鏡観察を行う際に、赤色あるいは緑色のモニター光をアブレーション用の波長 980 nm 光を照射する部位と同部位に照射すると、赤色光は組織及び血液により反射されるが、緑色光はヘモグロビンによる光吸収が大きいため組織から反射した赤色光のみが視認できるため、組織への接触状態を確認できる。これにより血液へのアブレーションを回避できることから、血栓生成リスクを低減できると考えられている [74]。また、アブレーションによる組織熱凝固に伴って組織色調が変化することから、アブレーションの効果を判別できる。しかし、このシステムを用いた組織観察による組織熱凝固判別性能は、ブタを用いた動物実験においてのみ実証されており、現状ではヒトにおいては組織熱凝固判別ができていない。

### 3.5 結言

本章では、頻脈性不整脈に関して、その分類と治療方法、根治治療法としてのカテーテルアブレーション治療およびカテーテルアブレーション中に運用するモニター技術に関して解説した。カテーテルアブレーションによる頻脈性不整脈治療において、確実な治療を実現しつつ、合併症の発生リスクを低減するためには、モニター運用が欠かせない。

## 参考文献

- [1] G. Y. H. Lip and J. Dodtfredsen, 不整脈テキスト-発生機序からみた治療のすべて, 小川聡, 和泉徹監訳, 東京: 西村書店, 2008, pp. 2-42.
- [2] 山口巖, 相澤義房, 井上博, 石川利之, 大江透, 小川聡, 奥村謙, 笠貫宏, 加藤貴雄, 鎌倉史郎, 小坂井嘉夫, 小林洋一, 杉薫, 高柳寛, 中里祐二, 渡辺一郎, 家坂義人, 岩佐篤, 大西哲, 久賀圭祐, 熊谷浩一郎, 小林義典, 里見和浩, 庄田守男, 住友直方, 副島京子, 高月誠司, 丹野郁, 池主雅臣, 永瀬聡, 平井真理, 藤木明, 安田正之, 杉本恒明, 早川弘一, 比江嶋一昌, 三崎拓郎, 矢野捷介, “臨床心臓電気生理検査に関するガイドライン,” *Jpn Circ J*, vol. 70 (Suppl. IV), pp. 1391-1462, 2006.
- [3] 早川弘一, 笠貫宏, 心房細動・粗動・頻拍, 東京: 医学書院, 1999, pp. 6-73, 158-240, 304-394.
- [4] 笠貫宏, 相澤義房, 大江透, 大西哲, 奥村謙, 加藤貴雄, 新田隆, 松本万夫, 三崎拓郎, 山口巖, 石川利之, 岩亨, 梅村純, 栗田隆志, 庄田守男, 住友直方, 中里祐二, 中村好秀, 庭野慎一, 平尾見三, 松田直樹, 児玉逸雄, 田中茂夫, 早川弘一, 平岡昌和, 三井利夫, “不整脈の非薬物治療ガイドライン (2006年改訂版),” *Jpn Circ J*, vol. 65 (Suppl. IV), pp. 1127-1160, 2001.
- [5] R. L. Mitra and A. E. Buxton, “The clinical significance of nonsustained ventricular tachycardia,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 4, pp. 490-496, 1993.
- [6] 奥村謙, 相澤義房, 相原直彦, 青沼和隆, 沖重薫, 熊谷浩一郎, 庄田守男, 住友直方, 高橋淳, 内藤滋人, 中村好秀, 野上昭彦, 平尾見三, 松本万夫, 村川裕二, 山根禎一, “カテーテルアブレーションの適応と手技に関するガイドライン,” *Circ J* 2012, pp. 3-67, 2012.
- [7] S. G. Hammill, C. J. McLaran, D. L. Wood, M. J. Osorn, B. J. Gersh, and D. R. Holmes, “Double-blind study of intravenous propafenone for paroxysmal supraventricular reentrant tachycardia,” *J Am Col Cardiol*, vol. 9, pp. 1364-1468, 1987.
- [8] H. Calkins, J. Langberg, J. Sousa, R. el-Atassi, A. Leon, W. Kou, S. Kalbfleisch, and F. Morady, “Radiofrequency catheter ablation of accessory atrioventricular connections in 250 patients. Abbreviated therapeutic approach to Wolff-Parkinson-White syndrome,” *Circulation*, vol. 85, pp. 1337-1346, 1992.
- [9] M. Akhtar, M. R. Jazayeri, J. Sra, Z. Blanck, S. Deshpande, and A. Dhala, “Atrioventricular nodal reentry. Clinical, electrophysiological, and therapeutic considerations,” *Circulation*, vol. 88, pp. 282-295, 1993.
- [10] S. H. Lee, C. T. Tai, W. C. Yu, Y. J. Chen, M. H. Hsieh, C. F. Tsai, M. S. Chang, and S. A. Chen, “Effects of radiofrequency catheter ablation on quality of life in patients with atrial flutter,” *Am J Cardiol*, vol. 84, pp. 278-283, 1999.

- [11] G. K. Feld, R. P. Fleck, P. S. Chen, K. Boyce, T. D. Bahnson, J. B. Stein, C. M. Calisi, and M. Ibarra, "Radiofrequency catheter ablation for the treatment of human type 1 atrial flutter. Identification of a critical zone in the reentrant circuit by endocardial mapping techniques," *Circulation*, vol. 86, pp. 1233–1240, 1992.
- [12] P. D. Bella, A. Franticelli, C. Tondo, S. Riva, G. Fassini, and C. Carbucicchio, "Atypical atrial flutter: clinical features, electrophysiological characteristics and response to radiofrequency catheter ablation," *Europace*, vol. 4, pp. 241–253, 2002.
- [13] A. Z. Arnold, M. J. Mick, R. P. Mazurek, F. D. Loop, and R. G. Trohman, "Role of prophylactic anticoagulation for direct current cardioversion in patients with atrial fibrillation or atrial flutter," *J Am Coll Cardiol*, vol. 19, pp. 851–855, 1992.
- [14] 小川聡, 相澤義房, 新博次, 井上博, 奥村謙, 鎌倉史郎, 熊谷浩一郎, 是恒之宏, 杉薫, 三田村秀雄, 矢坂正弘, 山下武志, 大江透, 児玉逸雄, 比江嶋一昌, 矢野捷介, "心房細動治療 (薬物) ガイドライン (2008年改訂版)," *Jpn Circ J*, vol. 72 (Suppl. IV), pp. 1581–1638, 2008.
- [15] A. J. Camm, P. Kirchhof, G. Y. H. Lip, U. Schotten, I. Savelieva, S. Ernst, I. C. Van Gelder, N. Al-Attar, G. Hindricks, B. Prendergast, H. Heidbuchel, O. Alfieri, A. Angelini, D. Atar, P. Colonna, R. De Caterina, J. De Sutter, A. Goette, B. Gorenek, M. Heldal, S. H. Hohloser, P. Kolh, J. Y. Le Heuzey, P. Ponikowski, and F. H. Rutten "Guidelines for the management of atrial fibrillation: The task force for the management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC)," *Eur Heart J*, vol. 31, pp. 2369–2429, 2010.
- [16] 山根禎一, 心房細動カテーテルアブレーション, 東京: メジカルビュー社, 2013, pp. 12–53, 85–257, 340–373.
- [17] M. Chinushi, Y. Aizawa, K. Ohhira, S. Fujita, M. Shiba, S. Niwano, and H. Furushima, "Repetitive ventricular response induced by radiofrequency ablation for idiopathic ventricular tachycardia originating from the outflow tract of the right ventricle," *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 21, pp. 669–678, 1998.
- [18] G. Gregoratos, J. Abrams, A. E. Epstein, R. A. Freedman, D. L. Hayes, M. A. Hlatky, R. E. Kerber, G. V. Naccarelli, M. H. Schoenfeld, M. J. Silka, S. L. Winters, R. J. Gibbons, E. M. Antman, J. S. Alpert, G. Gregoratos, L. F. Hiratzka, D. P. Faxon, A. K. Jacobs, V. Fuster, and S. C. Smith, "ACC/AHA/NASPE 2002 Guideline Update for Implantation of Cardiac Pacemakers and Antiarrhythmia Devices—Summary Article A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/NASPE Committee to Update the 1998 Pacemaker Guidelines)," *J Am Coll Cardiol*, vol. 40, pp. 1703–19, 2002.
- [19] 曾我部正博, イオンチャネル 電気信号をつくる分子, 東京: 共立出版, 2005, pp. 182–

191.

- [20] S. Nath, J. P. DiMarco, and D. E. Haines, “Basic aspects of radiofrequency catheter ablation,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 5, pp. 863–876, 1994.
- [21] J. J. Langberg, H. Calkins, R. El-Atassi, M. Borganelli, A. Leon, S. J. Kalbfleisch, and F. Morady, “Temperature monitoring during radiofrequency catheter ablation of accessory pathways,” *Circulation*, vol. 86, pp. 1569–1474, 1992.
- [22] G. B. Chierchia, A. Sorgente, A. Sarkozy, C. Asmundis, and P. Brugada, “The use of cryoballoon ablation in atrial fibrillation: simplifying pulmonary vein isolation?,” *J Atrial Fibrillation*, vol. 3, pp. 33–43, 2010.
- [23] S. R. Dukkupati, P. Neuzil, J. Skoda, J. Petru, A. d’Avila, S. K. Doshi, and V. Y. Reddy, “Visual balloon-guided point-by-point ablation: reliable, reproducible, and persistent pulmonary vein isolation,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 3, pp. 266–273, 2010.
- [24] M. M. Scheinman, F. Morady, D. S. Hess, and R. Gonzalez, “Catheter-induced ablation of the atrioventricular junction to control refractory supraventricular arrhythmias,” *JAMA*, vol. 248, pp. 851–855, 1982.
- [25] W. M. Jackman, K. J. Friday, and B. J. Scherlag, “Direct endocardial recording from an accessory atrioventricular pathway: localization of the site of block, effect of antiarrhythmic drugs, and attempt at nonsurgical ablation,” *Circulation*, vol. 68, pp. 906–916, 1983.
- [26] M. M. Scheinman, T. E. Bell, and the executive committee of the percutaneous cardiac mapping and ablation registry, “Catheter ablation of the atrioventricular junction: a report of the percutaneous mapping and ablation registry,” *Circulation*, vol. 70, pp. 1024–1029, 1984.
- [27] F. Morady, M. M. Scheinman, L. A. Di Carlo, J. C. Davis, J. M. Herre, J. C. Griffin, S. A. Winston, M. Buttler, C. B. Hantler, J. A. Wahr, W. H. Kou, and S. D. Nelson, “Catheter ablation of ventricular tachycardia with intracardiac shocks: results in 33 patients,” *Circulation*, vol. 75, pp. 1037–1049, 1987.
- [28] M. Haïssaguerre, P. Jaïs, D. C. Shah, A. Takahashi, M. Hocini, G. Quiniou, S. Garrigue, A. LeMouroux, P. LeMetayer, and J. Clémenty, “Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins,” *N Engl J Med*, vol. 339, pp. 659–666, 1998.
- [29] M. Haïssaguerre, D. C. Shah, P. Jaïs, M. Hocini, T. Yamane, I. Deisenhofer, M. Chauvin, S. Garrigue, and J. Clémenty, “Electrophysiological breakthroughs from the left atrium to the pulmonary veins,” *Circulation*, vol. 102, pp. 2463–2465, 2000.
- [30] F. Ouyang, D. Bänsch, S. Ernst, A. Schaumann, H. Hachiya, M. Chen, J. Chun, P. Falk, A. Khanedani, M. Antz, and K. Kuck, “Complete isolation of left atrium surrounding the pulmonary veins: new insights from the double-lasso technique in paroxysmal atrial fibrillation,” *Circulation*, vol. 110, pp. 2090–2096, 2004.

- [31] K. Kumagai, “Box isolation for atrial fibrillation,” *J Arrhythmia*, vol. 27, pp. 255–267, 2011.
- [32] L. Macle, P. Jaïs, R. Weerasooriya, M. Hocini, D. C. Shah, K. Choi, C. Scavée, F. Raybaud, J. Clementy, and M. Haïssaguerre, “Irrigated-tip catheter ablation of pulmonary veins for treatment of atrial fibrillation,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 13, pp. 1067–1073, 2002.
- [33] Biosense Webster 社 ホーム ページ , 製品 紹介 (ThermocoolSF catheter), <http://www.biosensewebster.com/thermocoolsf.php> (2014/6/25)
- [34] L. V. A. Boersma, M. C. E. F. Wijffels, H. Oral, E. F. D. Wever, and F. Morady, “Pulmonary vein isolation by duty-cycled bipolar and unipolar radiofrequency energy with a multielectrode ablation catheter,” *Heart Rhythm*, vol. 5, pp. 1635–1642, 2008.
- [35] K. Tanaka, S. Satake, S. Saito, S. Takahashi, T. Hiroe, Y. Miyashita, S. Tanaa, M. Tanaka, and Y. Watanabe, “A new radiofrequency thermal balloon catheter for pulmonary vein isolation,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 38, pp. 2079–2086, 2001.
- [36] Biosense Webster 社 ホーム ページ , 製品 紹介 (nMARQ catheter), <http://www.biosensewebster.com/nmarqgen.php> (2014/6/25)
- [37] R. Rosso, A. Halkin, Y. Michowitz, B. Belhassen, A. Glick, and S. Viskin, “Radiofrequency ablation of paroxysmal atrial fibrillation with the new irrigated multipolar nMARQ ablation catheter: Verification of intracardiac signals with a second circular mapping catheter,” *Heart Rhythm*, vol. 11, pp. 559 – 565, 2014.
- [38] H. Sohara, S. Satake, H. Takeda, Y. Yamaguchi, H. Toyama, K. Kumagai, T. Kuwahara, A. Takahashi, and T. Ohe, “Radiofrequency hot balloon catheter ablation for the treatment of atrial fibrillation: A3-center study in Japan,” *J Arrhythm*, vol. 29, pp. 20–27, 2013.
- [39] Medtronic 社 ホーム ページ , 製品 紹介 (Arctic Front Advance), <http://www.medtronic.com/for-healthcare-professionals/products-therapies/cardiac-rhythm/ablation-products-for-atrial-fibrillation/arctic-front/index.htm> (2014/06/25)
- [40] P. Kojodjojo, M. D. O’Neil, P. B. Lim, L. M. Lawes, Z. I. Whinnett, T. V. Salukhe, N. W. Linton, D. Lefroy, A. Mason, I. Wright, N. S. Peters, P. Kanagaratnam, and D. W. Davies, “Pulmonary venous isolation by antral ablation with a large cryoballoon for treatment of paroxysmal and persistent atrial fibrillation: medium-term outcomes and non-randomised comparison with pulmonary venous isolation by radiofrequency ablation,” *Heart*, vol. 96, pp. 1379–1384, 2010.
- [41] A. V. Sarabanda, T. J. Bunch, S. B. Johnson, S. Mahapatra, M. A. Milton, L. R. Leite, G. K. Bruce, and D. L. Packer, “Efficacy and safety of circumferential pulmonary vein isolation using a novel cryothermal balloon ablation system,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 46, pp. 1902–1912, 2005.
- [42] V. Y. Reddy, P. Neuzil, S. Themistoclakis, S. B. Danik, A. Bonso, A. Rossillo, A. Raciele, R. Schweikert, S. Ernst, K. Kuck, and A. Natale, “Visually-guided balloon catheter ablation of



- atrial fibrillation. Experimental feasibility and first-in-human multicenter clinical outcome,” *Circulation*, vol. 120, pp. 12–20, 2009.
- [43] S. R. Dukkupati, K. Kuck, P. Neuzil, I. Woollett, J. Kautzner, H. T. McElderry, B. Schmidt, E. P. Gerstenfeld, S. K. Doshi, R. Horton, A. Metzner, A. d’Avila, J. N. Ruskin, A. Natale, and V. Y. Reddy, “Pulmonary vein isolation using a visually-guided laser balloon catheter: the first 200-patient multicenter clinical experience,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 467–472, 2013.
- [44] H. Hoyt, A. Bhonsale, K. Chilukuri, F. Alhumaid, M. Needleman, D. Edwards, A. Govil, S. Nazarian, A. Cheng, C. A. Henrikson, S. Sinha, J. E. Marine, R. Berger, H. Calkins, and D. D. Spragg, “Complications arising from catheter ablation of atrial fibrillation: Temporal trends and predictors,” *Heart Rhythm*, vol. 8, pp. 1869–1874, 2011.
- [45] D. L. Packer, R. C. Kowal, K. R. Wheelan, J. M. Irwin, J. Champagne, P. G. Guerra, M. Dubuc, V. Reddy, L. Nelson, R. G. Holcomb, J. W. Lehmann, J. N. Ruskin, “Cryoballoon ablation of pulmonary veins for paroxysmal atrial fibrillation: First results of the North American Arctic Front (STOP AF) pivotal trial,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 61, pp. 1713–1723, 2013.
- [46] B. Schmidt, A. Metzner, K. R. J. Chun, D. Leftheriotis, Y. Yoshiga, A. Fuernkranz, K. Neven, R. R. Tilz, E. Wissner, F. Ouyang, and K. Kuck, “Feasibility of circumferential pulmonary vein isolation using a novel endoscopic ablation system,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 3, pp. 481–488, 2010.
- [47] O. G. Antinsen, K. Gjesdal, H. Aass, F. Brosstad, O. M. Orning, and J. P. Amlie, “When should heparin preferably be administered during radiofrequency catheter ablation?,” *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 24, pp. 5–12, 2001.
- [48] F. Gaita, D. Caponi, M. Pianelli, M. Scaglione, E. Toso, F. Cesarani, C. Boffano, G. Gandini, M. C. Valentini, R. De Ponti, F. Falimi, and J. F. Leclercq, “Radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation: a cause of silent thromboembolism? Magnetic resonance imaging assessment of cerebral thromboembolism in patients undergoing ablation of atrial fibrillation,” *Circulation*, vol. 122, pp. 1667–1673, 2010.
- [49] E. B. Saad, A. Rossillo, C. P. Saad, D. O. Martin, M. Bhargava, D. Erciyas, D. Bash, M. Williams-Andrews, S. Beheiry, N. F. Marrouche, J. Adams, E. Pisanò, R. Fanelli, D. Oitenza, A. Raciele, A. Bonso, S. Themistoclakis, J. Brachmann, W. I. Saliba, R. A. Schweiker, and A. Natale, “Pulmonary vein stenosis after radiofrequency ablation of atrial fibrillation: functional characterization, evolution, and influence of the ablation strategy,” *Circulation*, vol. 108, pp. 3102–3107, 2003.
- [50] M. Martinek, C. Meyer, S. Hassanein, J. Aichinger, G. Bencsik, R. Shoefl, G. Boehm, H. Nesser, and H. Purerfellner, “Identification of a high-risk population for esophageal injury

- during radiofrequency catheter ablation of atrial fibrillation: procedural and anatomical considerations,” *Heart Rhythm*, vol. 7, pp. 1224–1230, 2010.
- [51] F. Sacher, K. H. Monahan, S. P. Thomas, N. Davidson, P. Adragao, P. Sanders, M. Hosini, Y. Takahashi, M. Rotter, T. Rostock, L. Hsu, J. Clémenty, M. Haïssaguerre, D. L. Ross, D. L. Packer, and P. Jaïs, “Phrenic nerve injury after atrial fibrillation catheter ablation: characterization and outcome in a multicenter study,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 47, pp. 2498–2503, 2006.
- [52] 井上博, 奥村謙, *EPS 臨床心臓電気生理検査*, 東京; 医学書院, pp.28–44, 2007
- [53] P. A. Friedman, “Novel mapping techniques for cardiac electrophysiology,” *Heart*, vol. 87, pp. 575–582, 2002.
- [54] L. Gepstein, G. Hayam, and S. A. Ben-Haim, “A novel method for nonfluoroscopic catheter–based electroanatomical mapping of the heart in vitro and in vivo accuracy results,” *Circulation*, vol. 95, pp. 1611–1622, 1997.
- [55] K. Kumagai, “Catheter ablation of atrial fibrillation –State of the art–,” *Circ J*, vol. 75, pp. 2305–2311, 2011.
- [56] M. Martinek, H. Nesser, J. Aichinger, G. Boehm, and H. Purerfellner, “Impact of integration of multislice computed tomography imaging into three-dimensional electroanatomic mapping on clinical outcomes, safety and efficacy using radiofrequency ablation for atrial fibrillation,” *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 30, pp. 1215–1223, 2007.
- [57] P. M. Kistler, K. Rajappan, M. Jangir, M. J. Earley, S. Harris, D. Abrams, D. Gupta, R. Liew, S. Ellis, S.C. Sporton, and R. J. Schilling, “The impact of CT image integration into an electroanatomic mapping system on clinical outcomes of catheter ablation of atrial fibrillation,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 17, pp. 1093–1101, 2006.
- [58] D. E. Haines and A. F. Verow, “Observations on electrode–tissue interface temperature and effect on electrical impedance during radiofrequency ablation of ventricular myocardium,” *Circulation*, vol. 82, pp. 1034–1038, 1990.
- [59] D. E. Haines, “Biophysics of radiofrequency catheter ablation in the heart: The importance of temperature monitoring,” *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 16, pp. 586–591, 1993.
- [60] S. Tungjitkusolmun, E. J. Woo, H. Cao, J. Z. Tsai, V. R. Vorperian, and J. G. Webster, “Thermal–electrical finite element modeling for radio frequency cardiac ablation: Effects of changes in myocardial properties,” *Med Biol Eng Comput*, vol. 38, pp. 562–568, 2000.
- [61] K. Yokoyama, H. Nakagawa, F. H. M. Wittkampf, J. V. Pitha, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Comparison of electrode cooling between internal and open irrigation in radiofrequency ablation lesion depth and incidence of thrombus and steam pop,” *Circulation*, vol. 113, pp. 11–19, 2006.

- [62] J. Seiler, K. C. Roberts–Thomson, J. Raymond, J. Vest, E. Delacretaz, and W. G. Stevenson, “Steam pops during irrigated radiofrequency ablation: feasibility of impedance monitoring for prevention,” *Heart Rhythm*, vol. 5, pp. 1411–1416, 2008.
- [63] A. d’Avila, C. Houghtaling, P. Gutierrez, O. Vragovic, J. N. Ruskin, M. E. Josephson, and V. Y. Reddy, “Catheter ablation of ventricular epicardial tissue: A comparison of standard and cooled–tip radiofrequency energy,” *Circulation*, vol. 109, pp. 2363–2369, 2004.
- [64] T. Kuwahara, A. Takahashi, and A. Kobori, “Safe and effective ablation of atrial fibrillation: importance of esophageal temperature monitoring to avoid periesophageal nerve injury as a complication of pulmonary vein isolation,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 20, pp. 1–6, 2009.
- [65] St. Jude Medical 社 ホーム ページ , 製品 紹介 (Sensitherm), <http://www.sjm.co.jp/medical/af/sensitherm.html> (2014/06/26).
- [66] D. Sánchez–Quintana, J. A. Cabrera, V. Climent, J. Farré, M. C. Mendonça, and S. Y. Ho, “Anatomic relations between the esophagus and left atrium and relevance for ablation of atrial fibrillation,” *Circulation*, vol. 112, pp. 1400–1405, 2005.
- [67] U. Halm, T. Gaspar, M. Zachäus, S. Sack, A. Arya, C. Piorkwki, I. Knigge, G. Hindricks, D. Husser, “Thermal esophageal lesions after radiofrequency catheter ablation of left atrial arrhythmias,” *Am J Gastroenterol*, vol. 105, pp. 551–556, 2010.
- [68] V. Y. Reddy, P. Neuzil, A. d’Avilla, M. Laragy, Z. J. Malchano, S. Kralovec S. J. Kim, and J. N. Ruskin, “Balloon catheter ablation to treat paroxysmal atrial fibrillation: What is the level of pulmonary venous isolation?,” *Heart Rhythm*, vol. 5, pp. 353–360, 2008.
- [69] K. Yokoyama, H. Nakagawa, D. C. Shah, H. Lambert, G. Leo, N. Aeby, A. Ikeda, J. V. Pitha, T. Sharma, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Novel contact force sensor incorporated in irrigated radiofrequency ablation catheter predicts lesion size and incidence of steam pop and thrombus,” *Circ Arrhythn Electrophysiol*, vol. 1, pp. 354–362, 2008.
- [70] X. Zheng, G. P. Wallcot, J. A. Hall, D. L. Rollins, W. M. Smith, G. N. Kay, and R. E. Ideker, “Electrode impedance: an indicator of electrode–tissue contact and lesion dimensions during linear ablation,” *J Intervent Cardiac Electrophysiol*, vol. 4, pp. 645–654, 2000.
- [71] D. C. Shah, H. Lambert, H. Nakagawa, A. Langenkamp, N. Aeby, and G. Leo, “Area under the real–time contact force curve (force–time integral) predicts radiofrequency lesion size in an in vitro contractile model,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 21, pp. 1038–1043, 2010.
- [72] T. Gaspar, H. Sih, G. Hindricks, C. Eitel, P. Sommer, S. Kircher, S. Rolf, A. Arya, L. Teplitzky, and C. Piorkowski, “Use of electrical coupling information in AF catheter ablation: A prospective randomoized pilot study,” *Heart Rhythm*, vol. 10, pp. 176–181, 2013.
- [73] K. H. Kuck, V. Y. Reddy, B. Schmidt, A. Natale, P. Neuzil, N. Saoudi, J. Kautzner, C. Herrera, G. Hindricks, P. Jaïs, H. Nakagawam H. Lambert, and D. C. Shah, “A novel radiofrequency

ablation catheter using contact force sensing: Toccata study, *Heart Rhythm*, vol. 9, pp. 18–23, 2012.

- [74] K. Yokoyama, H. Nakagawa, J. V. Pitha, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Safety of laser application through blood using an endoscopic laser balloon catheter,” *Heart Rhythm*, vol. 3, S284, 2006.

## 図表

表 3-1 頻脈性不整脈の分類と起源、および我が国における不整脈全体における出現頻度 (文献 [1, 2]より引用改変)

Disease		Pulse rate [pulse/min]	Origin	Incidence ratio in arrhythmia in Japan [%]
<b>Atrial tachyarrhythmia</b>	Supraventricular tachycardia	<230 <sup>[1, 2]</sup>	Kent bundle	0.3 <sup>[2]</sup>
	-WPW syndrome		Around atrioventricular node	0.2 <sup>[2]</sup>
	-Atrioventricular nodal reentrant tachycardia			
	Atrial flutter			0.9 <sup>[2]</sup>
	-Type I	240~340 <sup>[1, 2]</sup>	Right atrium, cavotricuspid isthmus	
	-Type II	340~440 <sup>[1, 2]</sup>	Right atrial upper loop, right atrial free wall, left atrium	
	Atrial fibrillation	>350 <sup>[1, 2]</sup>	Left atrium, pulmonary vein	6.7 <sup>[2]</sup>
<b>Ventricular tachyarrhythmia</b>	Premature ventricular contraction		Left ventricle	8.7 <sup>[2]</sup>
	Ventricular tachycardia	>100 <sup>[1, 2]</sup>	Left ventricle	0.3 <sup>[2]</sup>
	Ventricular fibrillation	>300 <sup>[1, 2]</sup>	Left ventricle	



図 3-1 Point-to-point アブレーション型のイリゲーションカテーテル  
(文献 [33]より引用改変)

一例として、Biosense Webster 社の ThermoCool<sup>®</sup> SF カテーテルを示した。  
このカテーテルは、56 穴のイリゲーション孔を先端電極に有し、カテーテル先端  
を均一に冷却することができる。

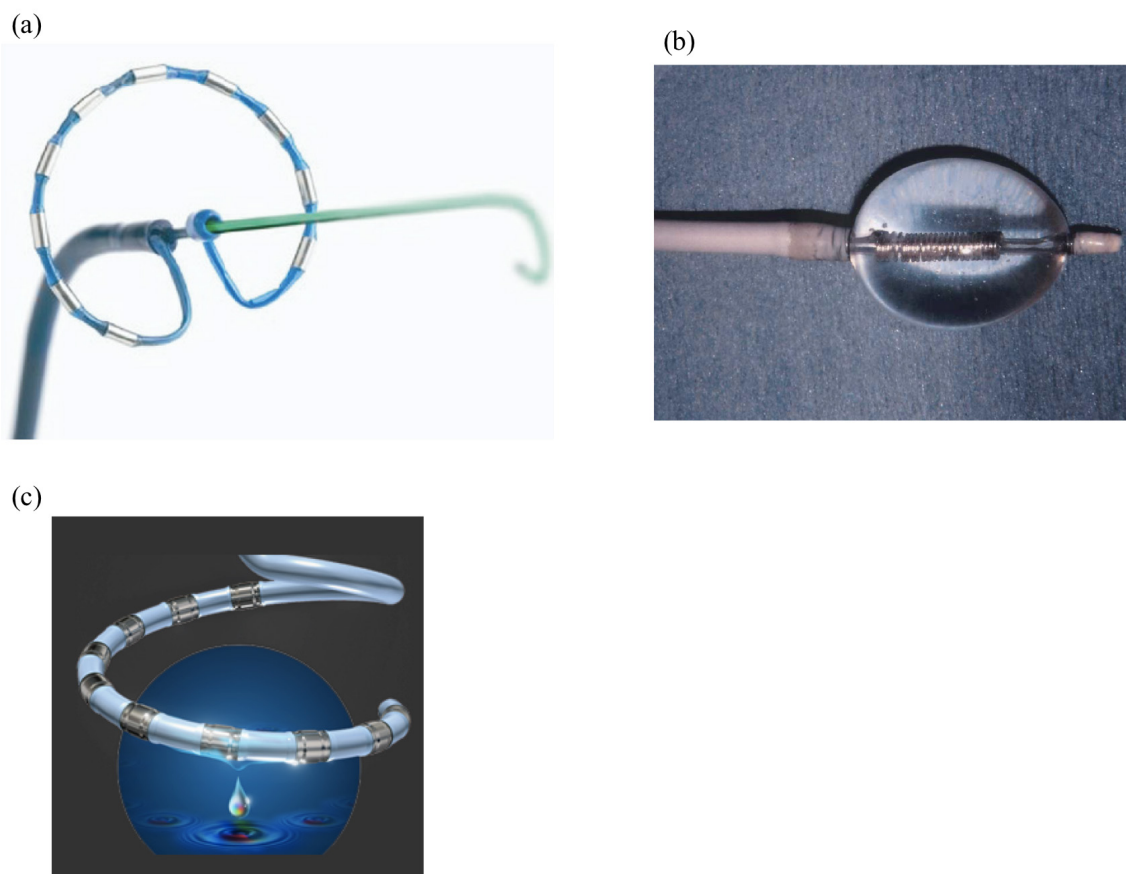


図 3-2 一括アブレーション型の高周波アブレーション用カテーテル  
(文献 [34-36]より引用改変)

- (a) Medtronic 社の多電極カテーテル Pulmonary Vein Ablation Cather<sup>®</sup>; PVAC<sup>®</sup>
- (b) Satake らにより開発中の高周波ホットバルーンカテーテル
- (c) Medtronic 社のラッソカテーテル型イリゲーション機能付きの多電極カテーテル nMARC<sup>®</sup>

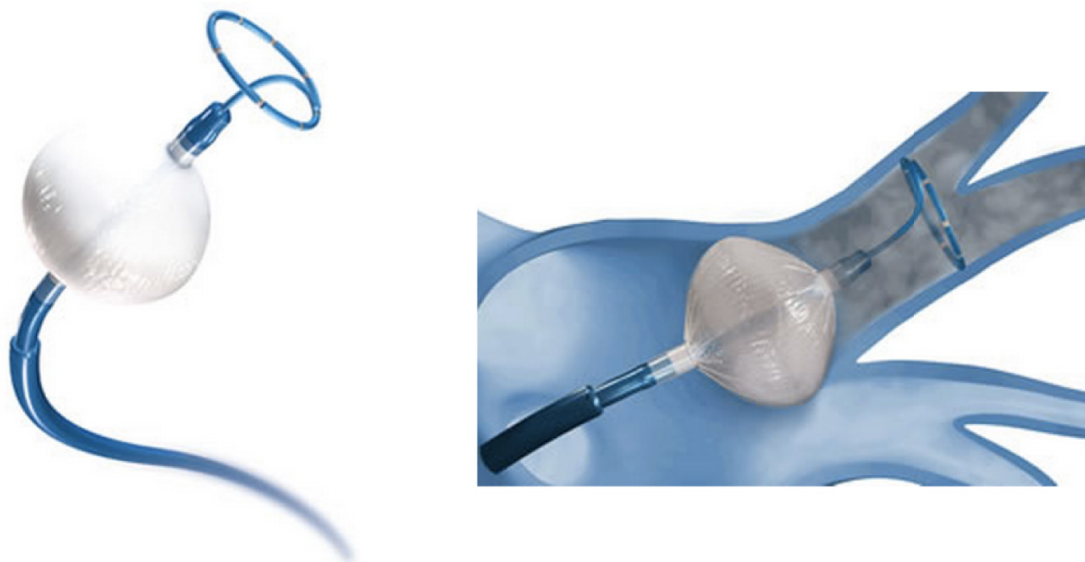


図 3-3 クライオアブレーション用カテーテル (文献 [39]より引用改変)

Medtronic 社のクライオアブレーション用のバルーン型カテーテル Arctic Front<sup>TM</sup>は円周状に組織を凍結し電気伝導遮断線を作成して肺静脈隔離を行う。亜酸化窒素ガスによりバルーンを冷却し、バルーン内にて造影剤と生理食塩水からなる溶液を灌流することでバルーンを拡張するとともにバルーン内温度を均一にする。



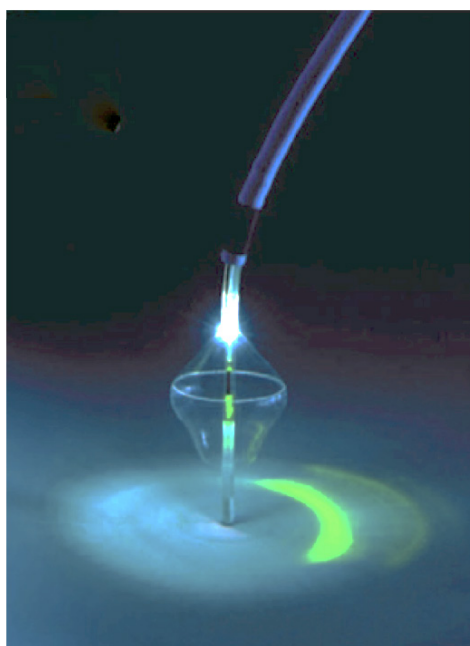


図 3-4 レーザアブレーション用カテーテル (文献 [42]より引用改変)

レーザー光照射による熱凝固作用を用いた CardioFocus 社のレーザーバルーンカテーテル HeartLight<sup>®</sup> は波長 980 nm のレーザー光を円弧状に照射してアブレーションを行う。緑色光はアブレーション用レーザー光と同一部位に照射されるモニター光であり、バルーンの組織への接触状態の確認およびアブレーション部位の確認のために利用する。

表 3-2 心房細動に対する種々のカテーテルアブレーションにおける合併症の発生頻度 (文献 [44-46]より引用改変)

	<b>Irrigation-type RF catheter ablation <sup>[44]</sup></b>	<b>Cryoballoon ablation <sup>[45]</sup></b>	<b>Laser balloon ablation <sup>[46]</sup></b>
<b>Tamponade</b>	1.1%	0.6%	3.3%
<b>Embolism</b>	0.8%	2.5%	-
<b>Pulmonary vein stenosis</b>	0.1%	3.1%	-
<b>Esophagus fistulae</b>	0.2%	0%	3.7%
<b>Phrenic nerve injury</b>	0.3%	13.5%	3.3%
<b>Total</b>	4.7 %	33.1%	10.3%

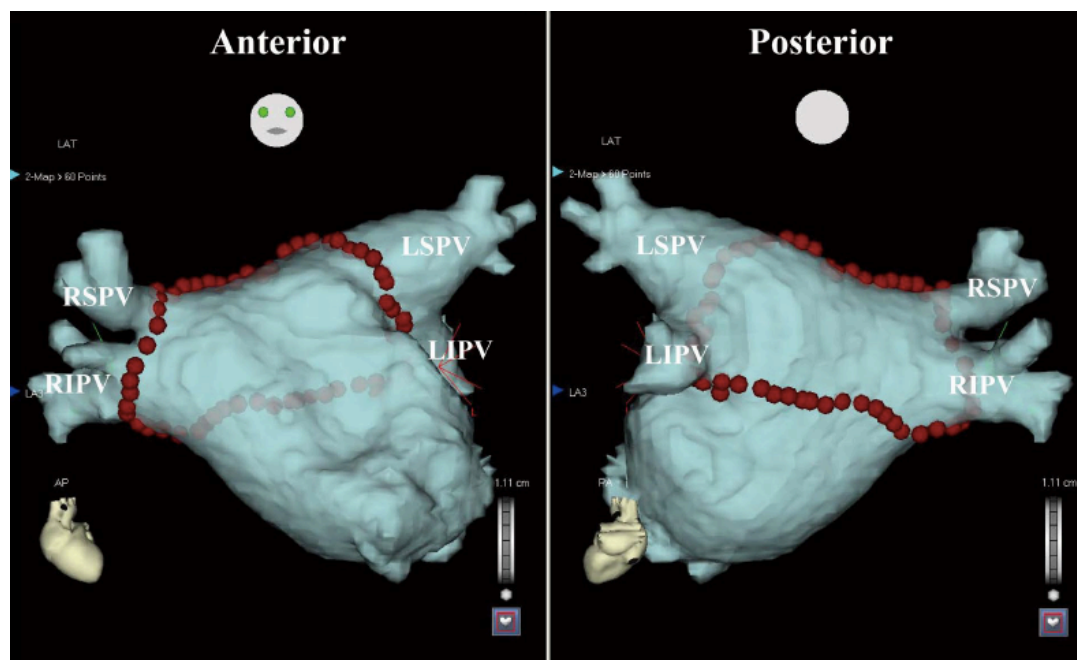


図 3-5 三次元マッピングシステム CARTO® System における左心房マッピング画像 (文献 [55]より引用改変)

図中の赤丸はカテーテルアブレーション施行部位を示す。

LSPV: left superior pulmonary vein

LIPV:left inferior pulmonary vein

RSPV: right superior pulmonary vein

RIPV: right inferior pulmonary vein



図 3-6 食道温度モニター装置 Sensitherm™ (文献 [65]より引用改変)  
St. Jude Medical 社の食道温度モニター Sensitherm™ は、食道内に測温用の  
カテーテルを挿入して 3 極の温度センサーにて温度計測を行う。

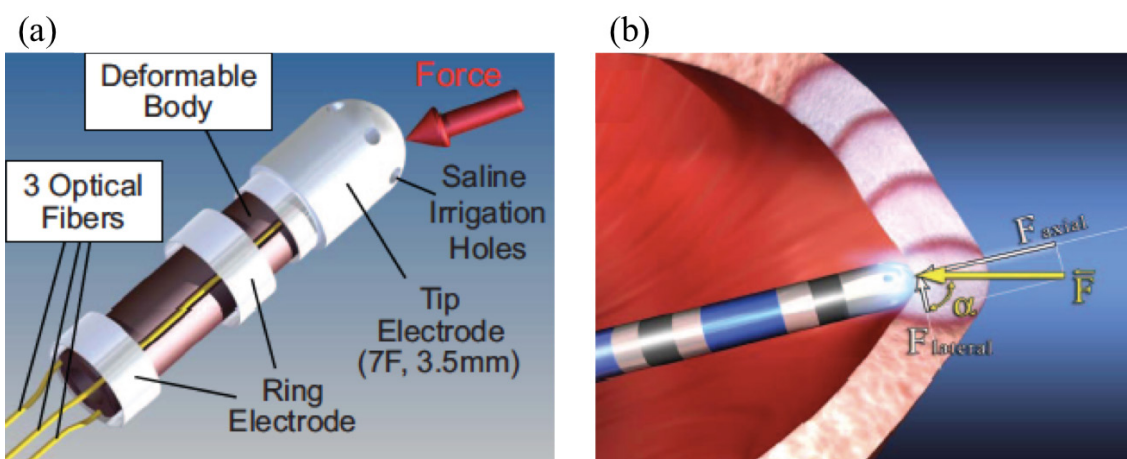


図 3-7 接触圧モニター機能付き高周波アブレーション用カテーテル  
(文献 [69]より引用改変)

St. Jude Medical 社の Tacticath™ を一例として示した。カテーテルに内装された 3 本の光ファイバーによりカテーテルが組織に接触した際に生じる機械的なひずみを計測しカテーテル接触圧力をモニターする。

- (a) カテーテル内部構造の概要
- (b) カテーテルの組織接触状態

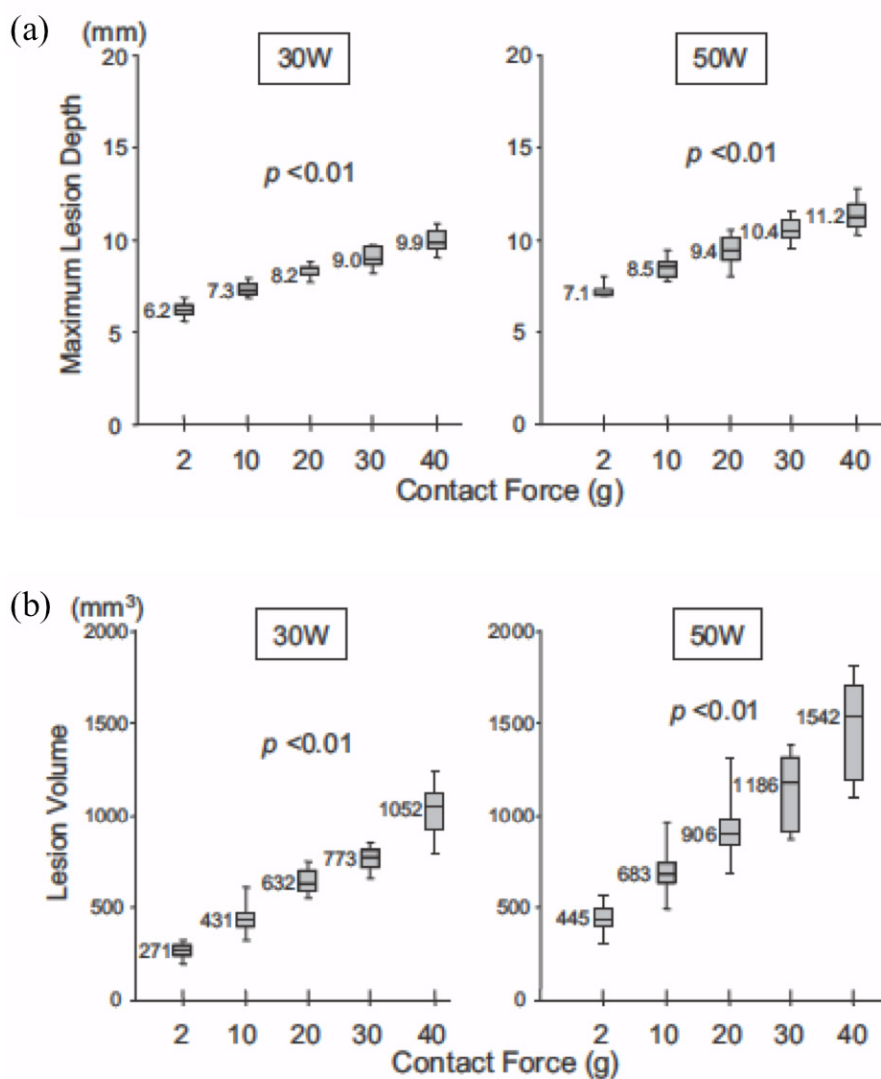


図 3-8 高周波アブレーションにおけるカテーテル接触圧力と治療深度および治療体積の関係 (文献 [69]より引用改変)

(a) カテーテル接触圧力と治療深度

(b) カテーテル接触圧力と治療体積

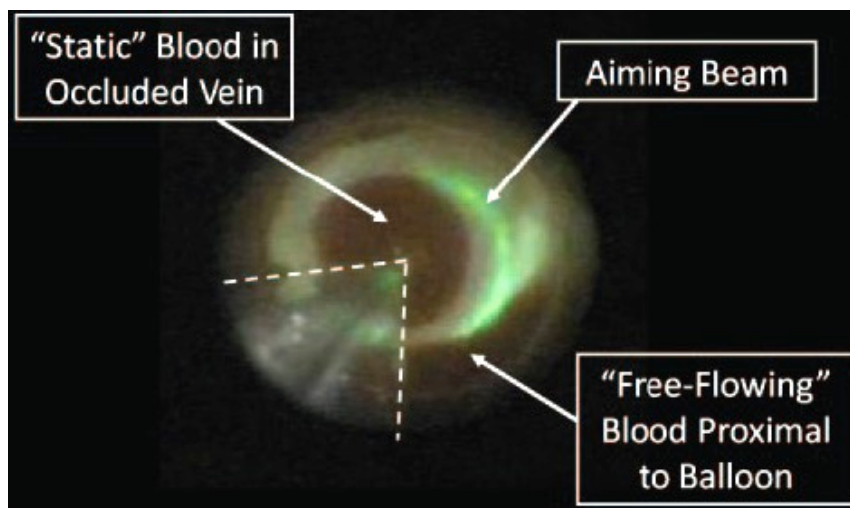


図 3-9 レーザアブレーション用カテーテル HeartLight<sup>®</sup>による肺静脈入口部の観察画像 (文献 [43]より引用改変)

## 第4章 頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーション

### 4.1 緒言

光線力学アブレーションは、細胞外光増感反応により発生した一重項酸素の酸化作用を利用して心筋を傷害するカテーテルアブレーション法である。現在のカテーテルアブレーション法と比べて熱発生を抑制できることが特徴の一つであり、現行の過加熱に伴う合併症の発症リスクを低減できる可能性がある。本章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療応用に関して、光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断の原理および治療運用構想、開発中の治療用装置に関して説明する。

### 4.2 光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断原理

光線力学アブレーションにおいては、光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムが心筋間質中および血中に高濃度にて分布した環境でレーザー照射を行うことで細胞外光増感反応を起こし、一重項酸素による酸化作用により心筋を傷害して電気伝導遮断を得る。現行のカテーテルアブレーションと同様のカテーテル手技にて、point-to-point アブレーション方式で電気伝導遮断ラインを作成し、頻脈性不整脈治療に応用する構想である。本部では、光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断原理および *in vivo* 動物実験において実証した心筋電気伝導遮断効果について説明する。

光線力学アブレーションにおいては、水溶性の光感受性薬剤であるタラポルフィンナトリウム (Talaporfin sodium, Laserphyrin<sup>®</sup>, NPe6) を採用している [1-3]。タラポルフィンナトリウムは生体内において血漿タンパク質に結合して、Q 帯吸収ピークとして 664 nm に吸収ピークを有することから、同波長域に発振波長を有する中心波長 663±2 nm の赤色レーザー光を用いる [1-3]。細胞外光増感反応を起こすために光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムを静脈投与 15~30 min 後から照射を開始する [1]。これは、投薬から 30 min 以降でタラポルフィンナトリウムが細胞内へエンドサイトーシスにより取り込まれライソソームに分布し始めることと [3]、投薬から 15 min 後にタラポルフィンナトリウムが心筋組織中で均一に分布するためである [2]。心筋における細胞外光増感反応の特徴は、持続的かつ十分量の酸素およびタラポルフィンナトリウムが血流によって供給される点にある。これは、心筋組織の血管網が発達していることと、細胞外すなわち間質中および血中にタラポルフィンナトリウムが高濃度で分布するためである。タラポルフィンナトリウムを用いた細胞外光増感反応による心筋電気伝導遮断の原理は、細胞外で生成した一重項酸素によるイオンチャンネルおよび細胞膜の傷害に引き続く心筋細胞の壊死である [3]。イオンチャンネルおよび細胞膜の傷害によって細胞外液が細胞内へ流入しブレブの形成および膨化によって、ネクロシスを生じる [3]。細胞外光増感反応によるイオンチャンネルおよび細胞膜の傷害は細胞外



光増感反応開始から 2~10 s で開始する [3, 4]。また、ブレブの形成に引き続く心筋細胞のネクロシスが生じるまでの光照射開始からの時間はタラポルフィンナトリウム濃度に依存し、タラポルフィンナトリウム濃度 30  $\mu\text{g/ml}$  の場合、放射照度 0.29  $\text{W/cm}^2$ 、放射照射量 40  $\text{J/cm}^2$  にて細胞外光増感反応を行った場合には 209 s 要することが明らかになっている [4]。細胞外光増感反応による心筋電気伝導遮断効果は、ラット摘出心臓を用いた *ex vivo* 実験やブタ露出心臓およびイヌにおけるカテーテルインターベンション下での *in vivo* 動物実験においても確認されている [1, 2, 5]。ラット摘出心臓を用いた *ex vivo* 実験においては、2.0  $\text{mg/kg}$  のタラポルフィンナトリウム投与後にラット心臓を摘出し、右心室に対して細胞外光増感反応を放射照射量 4.2  $\text{J/cm}^2$  にて行った。細胞外光増感反応を行った部位をまたぐように設置した 2 点の電極より心筋組織の電位を細胞外光増感反応前後において計測し、細胞外光増感反応による心臓電気伝導への影響を調査した。その結果、細胞外光増感反応直後に電気伝導が遮断され、施術から 2 hr 後も遮断が継続されていることを確認した [2]。また、*In vivo* 開胸下にて露出させたブタ左心耳において 5~10  $\text{mg/kg}$  のタラポルフィンナトリウム投与後に細胞外光増感反応を放射照射量 50~208  $\text{J/cm}^2$  にて行ったところ、細胞外光増感反応施行部位において心筋電気伝導遮断が得られた。また細胞外光増感反応施行部位に深度約 1 mm の貫壁性の組織癒痕化を施術 2 週間後に認めている [5]。臨床における光線力学アブレーションの実用性を調査する目的で、心房粗動に対するカテーテルアブレーションを電気生理モデルとして採用して、光線力学アブレーションを *in vivo* イヌ実験にて行った (N=17)。カテーテルインターベンション下にてイヌ右心房の下大静脈と三尖弁間に存在する解剖学的狭部 (cavo-tricuspid isthmus: CTI) に対して経レーザカテーテル的に光線力学アブレーションを 2.5~10  $\text{mg/kg}$  タラポルフィンナトリウム投与し、投薬から 15 min 後に放射照度 10  $\text{W/cm}^2$ 、一点あたりの光照射時間を 30 s にて  $16\pm 7$  カ所に対して光照射を行った。光線力学アブレーション直後に光照射部位の心筋電気伝導が遮断され、また右心房壁の三尖弁輪周囲における伝導パターンが変化したことから、経カテーテル下での光線力学アブレーションによる急性期における心筋電気伝導遮断が確かめられている [1]。また施術 2 週間後に行った組織病理評価により、光線力学アブレーション施行部位において深度 3~4 mm の貫壁性の組織癒痕化を得ている [1]。これまでに 30 例以上の動物実験にてカテーテルインターベンション下での光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断の実証を行っており、その実用可能性が示されてきた。

現行のカテーテルアブレーションに対する光線力学アブレーションの特長は、細胞外光増感反応による酸化作用を治療原理としているため、アブレーションに伴う熱発生が抑制できる点にある。イヌ心室筋に対して光線力学アブレーションを行い、アブレーションに伴う組織温度変化を調査した [1]。経レーザカテーテル的に放射照度 10  $\text{W/cm}^2$ 、血漿中薬剤濃度 20~30  $\mu\text{g/ml}$ 、照射時間 30 s にて開胸下のイヌ心室筋に対して光線力学アブレーションを行った場合、組織表面温度上昇は  $4.8\pm 0.5^\circ\text{C}$  であった。一方、イリゲーションカテーテル

を用いた高周波カテーテルアブレーションを、臨床において通常使用される 35 W, 30 s の条件にて同様に開胸下イヌ心室筋に対して行ったところ、組織表面温度上昇は  $23.3 \pm 8.9^\circ\text{C}$  であり、通電中に水蒸気爆発を起こし心筋穿孔が発生した例もあった [1]。加えて、カテーテルインターベンション下でのイヌ右房壁に対する光線力学アブレーション中に、食道温度モニターを用いて食道内温度を計測したところ、温度上昇はないことを確認しており、頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーションにおいては周囲組織への熱的傷害は生じる可能性は極めて低いと考えている [1]。

### 4.3 光線力学アブレーションの運用構想

光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療の運用は、現行のカテーテルアブレーション治療と同様の手技にて行う。タラポルフィンナトリウムの投与後に先端からレーザー光を照射することの可能なレーザーカテーテルを用いて治療を行うことが運用上の特徴である。下記に予定されている治療プロトコルを示す。

#### 1. カテーテルの挿入

現行のカテーテルアブレーション治療と同様の手技で行う。局所麻酔後、大腿静脈よりレーザーカテーテルおよび電気生理検査用の電極カテーテルやマッピングカテーテルを挿入し X 線透視ガイド下にて心内腔に導入する。

#### 2. 電気生理検査を行い、アブレーション位置を決定

心内腔に導入した電極カテーテルあるいはマッピングカテーテルを用いて心内電位を計測する。電気生理検査より得られる異常興奮部位およびその伝搬経路と、X 線透視画像より得られる解剖学的位置関係を把握して、アブレーション対象部位を決定する。

#### 3. タラポルフィンナトリウムの静脈投与

生理食塩水に溶解したタラポルフィンナトリウムを、現在認可されている投与条件である  $40 \text{ mg/m}^2$  の投与量にて静脈投与する [7]。

#### 4. レーザ光照射による光線力学アブレーション

投薬から 15 min 以降にレーザーカテーテルより治療対象部位に対して光照射を開始する。1 点あたり 5~60 s を照射時間の目安とし、point-to-point 照射を行い、電気伝導遮断線を作成する。放射照度は、目標治療深度が 1~4 mm の心房粗動および心房細動の場合には  $10 \text{ W/cm}^2$  未満、5~12 mm の心室粗動の場合には  $10 \text{ W/cm}^2$  以上にて行う。

#### 5. 電気生理検査による治療効果確認

心内腔に導入した電極カテーテルやマッピングカテーテル、あるいはレーザーカテーテルを用いて心内電位を計測する。光線力学アブレーションを行った部位における電位消失や異常興奮伝搬経路における伝導遮断効果を確認する。

#### 6. 光線過敏症の発症リスク評価、退院

光線過敏症の発症リスクを医師の判断により行い、退院する。タラポルフィンナトリ

ウムによる光増感反応を用いた治療における規定入院期間は2週間であるが [7]、第3章で述べたようにこの規定は十分に安全性を担保するために代謝の最も遅い例を基準として定められているため、現行のカテーテルアブレーションと同等の入院期間である3~5日程度に短縮することが可能であると考えられる。

光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療は、現行のカテーテルアブレーションによる治療と同等の施術時間およびX線透視時間となる予想である。表4-1に頻脈性不整脈治療における光線力学アブレーションと現行のカテーテルアブレーションの比較をまとめた [3, 8-12]。現行のカテーテルアブレーション技術に対する光線力学アブレーションの特徴は光増感反応による酸化作用を利用した治療原理に基づいているため、アブレーションに要するエネルギーが10~100分の一であること、それ故にアブレーションに伴う発熱が少ないことにある。頻脈性不整脈治療を行うにあたっては、光感受性薬剤の投与を必要とするものの、現行のカテーテルアブレーションと同程度の施術時間や手技にて治療を行うことができ、非熱的な特性により安全面で優位な新しい治療方法である。

#### 4.4 光線力学アブレーションにおいて使用する機材と開発状況

光線力学アブレーションを頻脈性不整脈治療に応用するためには、経カテーテル的照射によって心腔内にて細胞外光増感反応を起こす必要がある。本部では、光線力学アブレーションを臨床現場で運用するための機材である、レーザカテーテル、タラポルフィンナトリウム、レーザ発振装置に関して、その性能や開発状況に関して記述する。

##### 4.4.1 レーザカテーテル

心内腔より治療対象部位への光照射は、先端よりレーザ光を照射することの可能なレーザカテーテルを用いて行う。レーザカテーテルの外径は7 Fr. (直径2.33 mm) であり、現行のカテーテルアブレーションに用いられるアブレーションカテーテルと同等の太さである。図4-1にレーザカテーテルの外観および心筋組織への光照射の状況とレーザカテーテル先端の内部構造を図4-2に示した [1]。レーザカテーテルは石英光ファイバー (コア径: 200  $\mu\text{m}$ , NA: 0.37; WF200/22037, Ceram Optec, MA, USA) を内装する。この石英光ファイバーを後述するレーザ装置に接続し、励起光を伝送する。レーザカテーテル先端に設置された光学ガラスBK7の光学窓 (直径2 mm, 長さ2.5 mm, 曲率半径1.5 mm) を通してスポット径1.4 mmにて光照射を行う。レーザカテーテルの波長  $663\pm 2$  nmの赤色光における透過率は60~80%である。レーザカテーテルより照射された波長  $663\pm 2$  nmの赤色光の放射分布を図4-3に示した。レーザカテーテル内装の石英光ファイバーは、励起光の照射だけでなく光照射した際に心筋組織からの拡散反射光やタラポルフィンナトリウムの蛍光、心筋組織自家蛍光などの戻り光を受光し、伝搬することが可能である。後述するモニター装置はこの戻り光を受光、計測する。レーザカテーテル先端は、カテーテル先端電極に接着されたプルワイヤ

一の押し引きによって先端部の屈曲角度を 0~180°まで調整することが可能であり、現行のアブレーションカテーテルと同様の操作性を有する。図 4-4 にレーザカテーテルの先端屈曲の様子を示した。レーザカテーテル先端電極およびリング状の電極より、双極誘導電位の計測が可能であり電気生理モニターにも利用することができる。

#### 4.4.2 光感受性薬剤タラポルフィンナトリウム

細胞外光増感反応を用いた光線力学アブレーションにおいては、光感受性薬剤としてタラポルフィンナトリウムを用いる。タラポルフィンナトリウムは即時的な細胞傷害応答を必要とする頻脈性不整脈治療において必要とされる下記の条件を満たすためである。

1. 排泄速度が速く、遮光期間を現状のカテーテルアブレーション治療と同等の 3~5 日にすることも可能である。
2. 励起光の吸収係数が大きい。
3. 一重項酸素産生効率が大きい。

タラポルフィンナトリウムは水溶性の光感受性薬剤であり、血漿蛋白質であるアルブミンと結合して体内を循環、運搬されている [7, 13]。代謝経路は主に胆汁であり、体内からの排泄が比較的速い [7]。タラポルフィンナトリウムは現在、早期肺がんおよび悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療において我が国で使用が認可されており、その投与条件は  $40 \text{ mg/m}^2$  である (約  $1 \text{ mg/kg}$  に相当)。ヒトに対して  $40 \text{ mg/m}^2$  を投与した場合、薬剤の全身クリアランスは  $0.65 \pm 0.25 \text{ ml/hr/kg}$  であり、投薬直後に速やかに薬剤代謝が進む  $\alpha$  相における半減期は  $11.9 \pm 6.3 \text{ hr}$ 、 $\alpha$  相に引き続く緩やかな代謝速度を示す  $\beta$  相における半減期は  $140 \pm 43.5 \text{ hr}$  である [7]。タラポルフィンナトリウムの代謝速度は動物種によって大きく異なる。ヒト、ブタ、イヌ、マウス、ラットにおける血漿中濃度の時間推移を図 4-5 に示した [7, 13-15]。タラポルフィンナトリウムの励起光は Soret 帯および Q 帯にそれぞれ波長 405 nm、664 nm に吸収ピークを有する。タラポルフィンナトリウムの吸収スペクトルを図 4-6 に示した。光線力学アブレーションにおいては、組織深部への光侵達が必要なため Q 帯吸収ピークを標的とした励起を行う。タラポルフィンナトリウムの Q 帯吸収ピークにおけるモル吸収係数は  $4.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  である [16]。また一重項酸素産生効率は重水中にて 0.77 であり、代表的な光感受性薬剤として知られるポルフィマーナトリウムや 5-アミノレブリン酸の 0.25 (細胞培地中)、0.54 (細胞培地中) と比べて大きい [16, 17]。

これまでに、光線力学アブレーションによる心筋電気伝導遮断を得るための律速因子はタラポルフィンナトリウム濃度であることが *in vitro* 細胞実験および *in vivo* 動物実験より明らかになってきた。*In vitro* 細胞実験におけるタラポルフィンナトリウム濃度閾値は  $15 \text{ }\mu\text{g/ml}$  [6]、*in vivo* 動物実験においては  $20 \sim 30 \text{ }\mu\text{g/ml}$  の血漿中タラポルフィンナトリウム濃度が必要であることがわかっている [1]。これらのタラポルフィンナトリウム濃度は、早期肺がんおよび原発性悪性脳腫瘍に対して認可されたタラポルフィンナトリウムの用法用量である 40

mg/m<sup>2</sup> (1 mg/kg に相当) にて実現可能であると考えられている。

#### 4.4.3 レーザ発振装置、モニター装置

細胞外光増感反応の励起光源として、タラポルフィンナトリウムの Q 帯吸収ピークに中心発振波長を有する半導体赤色レーザ発振装置を用いる。使用するレーザ発振装置の一例として、発振波長 663±2 nm、最大出力 4 W のレーザ発振装置 (Optical Fuel, ソニー株式会社, 東京) の外観および発振スペクトルを図 4-7 に示した。経カテーテル的に取得した戻り光を計測および解析するモニター装置の開発が進められており、現時点では完成していない。レーザ発振装置にレーザカテーテル内装の光ファイバーを接続し、光照射を行うとともに、同光ファイバーより戻り光を受光可能であることを 4.4.1 項にて述べた。現在開発中のモニター装置においては、戻り光の抽出をレーザ発振装置内に設置された偏光ビームスプリッターにより行う。レーザ素子から発振された照射光は偏光状態が保たれているのに対し、組織からの拡散反射を経た戻り光は偏光が解消されることを利用して両者を分離する。戻り光はレーザ発振装置に内装された別の光ファイバー (コア径: 200 μm, NA: 0.22) (GF180, 住友電気工業株式会社, 神奈川) によって導光され、モニター装置光学系に入力される。図 4-8 にモニター装置光学系の外観を示した。また、図 4-9 にモニター装置光学系の模式図を示した。戻り光のうち、拡散反射した波長 663 nm の励起光の影響を抑制しつつ、ピーク波長 667 nm のタラポルフィンナトリウム由来の蛍光を計測するためにダイクロイックミラー (XF2024-690DRLP, Omega Optical, Inc., VT, USA) を用いた。拡散反射励起光はシリコンフォトダイオード (S2386-44K, 浜松ホトニクス株式会社, 静岡) によりその強度を計測する。ダイクロイックミラーによって分離された蛍光は、ビームスプリッター (BS11, ソーラボジャパン株式会社, 東京) によって 2 光路に分離される。一方はリニア CCD アレイ分光器に導光され、スペクトル計測を行う。もう一方はタラポルフィンナトリウム蛍光のみの強度を計測するため、ロングパスフィルター (690 nm; XF584, 朝日分光株式会社, 東京) およびバンドパスフィルター (710±2 nm; FB710-10, ソーラボジャパン株式会社, 東京) により波長選択され、フェムトワットフォトレシーバー (Model2151, New Port Corporation, CA, USA) によりその光強度を計測する。波長 690 nm においても拡散反射した励起光の強度が蛍光強度に比べて相対的に大きいため、蛍光計測における励起光の影響を押さえるために、バンドパスフィルターを追加設置した。フォトダイオードにより計測した拡散励起光強度とフェムトワットフォトレシーバーにより計測した蛍光強度は、モニター装置内の増幅器にて増幅後、デジタルペンレコーダー (DL850, 横河電気株式会社, 東京) にて記録される。図 4-10 にモニター装置光学系に搭載されたダイクロイックミラー、ロングパスフィルター、バンドパスフィルターのスペクトル特性を示した。

モニター装置によるタラポルフィンナトリウム蛍光計測とその解析法に関しては、薬剤濃度モニター、カテーテル接触モニター、光増感反応進行モニターの計 3 件の特許を申請

済みである [19-21]。薬剤濃度モニターは、タラポルフィンナトリウム蛍光強度がタラポルフィンナトリウム濃度を反映することから、カテーテル接触部位における心筋組織内タラポルフィンナトリウム濃度を推定する [19]。カテーテル接触モニターは、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療の施術時間範囲においては組織中のタラポルフィンナトリウム濃度が血漿中のタラポルフィンナトリウム濃度の約6分の1程度であることと [15]、血漿中に分布するタラポルフィンナトリウム由来の蛍光は心拍に同期して一定周期で変動することから、カテーテルの接触状態を、非接触状態、斜め接触状態、接触状態の3段階にて判別する [20]。細胞外光増感反応中にタラポルフィンナトリウムの持続的な供給がない状況では、タラポルフィンナトリウム蛍光のフォトブリーチングが細胞外光増感反応によって生成した一重項酸素の産生量に対応することから [16]、光増感反応進行モニターはタラポルフィンナトリウム蛍光強度を光増感反応中経時計測し、タラポルフィンナトリウム蛍光強度がある一定の閾値を下回った場合に心筋細胞傷害が生じたと判断し、術者に表示する [21]。いずれも *in vivo* 動物実験において運用済みであるが、薬剤濃度モニターはその濃度推定精度が十分でないこと、接触モニターは計測および推定が不安定であり信頼性が不足していること、光増感反応進行モニターは光線力学アブレーションの治療原理を完全には反映しておらず、また治療効果を間接的に解釈するための情報を提供することとどまるため、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては十分な実用性を有するとは言い難い。

現在、レーザー発振装置とモニター装置、およびカテーテル先端電極における心内電位計測結果を表示することの可能な、一体型の光線力学アブレーション装置が開発中であり、現時点では完成していない。装置の外観を図4-11に示した [22]。内装されているレーザー素子は前述のレーザー発振装置のものと同等の性能を有し、モニター装置としては、前述の薬剤濃度モニターのみを搭載している。レーザーカテーテルの光ファイバーを装置に接続することで、励起光照射および戻り光計測が可能である。

#### 4.5 結言

本章では、細胞外光増感反応を応用した光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療に関して、その治療原理と運用構想、治療に用いる装置について説明した。第3章にて、カテーテルアブレーションによる頻脈性不整脈治療においては確実な治療を実現しつつ、合併症の発症リスクを低減するためには、術中あるいは術前後におけるモニター運用が欠かせないことを述べたが、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においても同様である。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療におけるモニターは、これまでに光学計測に基づいた3種のモニターが考案されてきたが、いずれも臨床における有用性は十分とは言いがたく、さらなる開発が必要である。

## 参考文献

- [1] T. Kimura, S. Takatsuki, S. Miyoshi, K. Fukumoto, M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Arai, S. Ogawa, and K. Fukuda, “Nonthermal cardiac catheter ablation using photodynamic therapy,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 1025–1031, 2013.
- [2] A. Ito, S. Hosokawa, S. Miyoshi, K. Soejima, S. Ogawa, and T. Arai, “The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 57, pp. 488–495, 2010.
- [3] A. Ito, T. Kimura, S. Miyoshi, S. Ogawa, and T. Arai, “Photosensitization reaction-induced acute electrophysiological cell response of rat myocardial cells in short loading periods of talaporfin sodium or porfimer sodium,” *Photochem Photobiol*, vol. 87, pp. 199–207, 2011.
- [4] E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Immediate response of  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in myocardial cells against oxidation stress by extracellular photosensitization reaction using Talaporfin sodium for the arrhythmia treatment application,” *Proc SPIE*, vol. 8941, 89410U, 2014.
- [5] A. Ito, S. Miyoshi, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, K. Fukuda, and T. Arai, “Myocardial electrical conduction block induced by photosensitization reaction in exposed porcine hearts in vivo,” *Laser Surg Med*, vol. 43, pp. 984–990, 2011.
- [6] E. Ogawa, A. Ito, and T. Arai, “Detailed in vitro study of the photosensitization reaction of extracellular talaporfin sodium in rat myocardial cells,” *Laser Surg Med*, vol. 45, pp. 660–667, 2013.
- [7] 明治製菓株式会社, 注射用レザフィリン®100 mg, 医薬品インタビューフォーム, 2013年12月改訂 (改訂第6版).
- [8] K. Yokoyama, H. Nakagawa, F. H. M. Wittkampf, J. V. Pitha, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Comparison of electrode cooling between internal and open irrigation in radiofrequency ablation lesion depth and incidence of thrombus and steam pop,” *Circulation*, vol. 113, pp. 11–19, 2006.
- [9] L. V. A. Boersma, M. C. E. F. Wijffels, H. Oral, E. F. D. Wever, and F. Morady, “Pulmonary vein isolation by duty-cycled bipolar and unipolar radiofrequency energy with a multielectrode ablation catheter,” *Heart Rhythm*, vol. 5, pp. 1635–1642, 2008.
- [10] K. Tanaka, S. Satake, S. Saito, S. Takahashi, T. Hiroe, Y. Miyashita, S. Tanaa, M. Tanaka, and Y. Watanabe, “A new radiofrequency thermal balloon catheter for pulmonary vein isolation,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 38, pp. 2079–2086, 2001.
- [11] D. L. Packer, R. C. Kowal, K. R. Wheelan, J. M. Irwin, J. Champagne, P. G. Guerra, M. Dubuc, V. Reddy, L. Nelson, R. G. Holcomb, J. W. Lehmann, J. N. Ruskin, “Cryoballoon ablation of

- pulmonary veins for paroxysmal atrial fibrillation: First results of the North American Arctic Front (STOP AF) pivotal trial,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 61, pp. 1713–1723, 2013.
- [12] B. Schmidt, A. Metzner, K. R. J. Chun, D. Leftheriotis, Y. Yoshiga, A. Fuernkranz, K. Neven, R. R. Tilz, E. Wissner, F. Ouyang, and K. Kuck, “Feasibility of circumferential pulmonary vein isolation using a novel endoscopic ablation system,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 3, pp. 481–488, 2010.
- [13] D. Kessel, “Pharmacokinetics of N-aspartyl chlorin e6 in cancer patients,” *J Photochem Photobiol B*, vol. 39, pp. 81–83, 1997.
- [14] K. Kondo, T. Miyoshi, H. Fujino, H. Takizawa, S. Imai, N. Kobayashi, K. Kenzaki, S. Sakiyama, and A. Tangoku, “Photodynamic therapy using a second generation photosensitizer, Talaporfin,” *Photodigan Photodynam*, vol. 4, pp. 269–274, 2007.
- [15] C. J. Gomer and A. Ferrario, “Tissue distribution and photosensitizing properties of mono-l-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model,” *Cancer Res*, vol. 50, pp. 3985–3990, 1990.
- [16] A. C. E. Moor, B. Ortel, and T. Hasan, “Mechanisms of photodynamic therapy,” in *Photodynamic therapy*, T. Patrice, Ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003, ch. 2.
- [17] A. E. O’Connor, W. M. Gallagher, and A. T. Byrne, “Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy,” *Photochem Photobiol*, vol. 85, pp. 1053–1074, 2009.
- [18] 伊藤亜莉沙, “光増感反応の経カテーテル的心房性不整脈治療への応用に関する研究,” 慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻 博士論文, 2011 年度.
- [19] 玉村好司, 箱守志穂, 山口恭司, 荒井恒憲, 伊藤亜莉沙, “算出装置及び算出方法,” 国際公開 WO 2011114651 A1, 公開日 2011 年 9 月 22 日.
- [20] 玉村好司, 箱守志穂, 山口恭司, 荒井恒憲, 伊藤亜莉沙, “判別装置及び判別方法,” 国際公開 WO2011114652 A1, 公開日 2011 年 9 月 22 日.
- [21] 山口恭司, 箱守志穂, 玉村好司, 荒井恒憲, 伊藤亜莉沙, 内山淳 “評価装置及び評価方法,” 国際公開 WO 2011114653 A1, 公開日 2011 年 9 月 22 日.
- [22] 高橋芽意, 小川恵美悠, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “PDT の不整脈治療への応用: PDT アブレーション装置の開発,” *O plus E 特集 : 広がるレーザー応用*, vol. 35, pp. 492-495, 2013.



## 図表

表 4-1 現行のカテーテルアブレーションと光線力学アブレーションの比較

	<b>Photodynamic ablation</b> <sup>[3]</sup>	<b>Irrigation- type radiofrequency catheter ablation</b> <sup>[8]</sup>	<b>Multi- electrode radiofrequency catheter ablation</b> <sup>[9]</sup>	<b>Hot balloon catheter ablation</b> <sup>[10]</sup>	<b>Cryo balloon ablation</b> <sup>[11]</sup>	<b>Laser balloon ablation</b> <sup>[12]</sup>
<b>Treatment principle</b>	Oxidation	Thermal coagulation	Thermal coagulation	Thermal coagulation	Freeze	Thermal coagulation
<b>Ablation scheme</b>	Point-to- point	Point-to- point	Partially circumference	Circumference	Circumference	Partially circumference
<b>Input energy</b>	0.3~1.8 W (10-60 W/cm <sup>2</sup> )	<30 W	<8 W without irrigation 18~25 W with irrigation	<30 W 65~70°C at center of the balloon	-40~60°C	8.5 W
<b>Ablation duration</b>	30 ~ 60 s/point	30 ~ 60 s/point	30~40 s/point	2~3 min/vein	4~5 min/vein	20~30 s/point

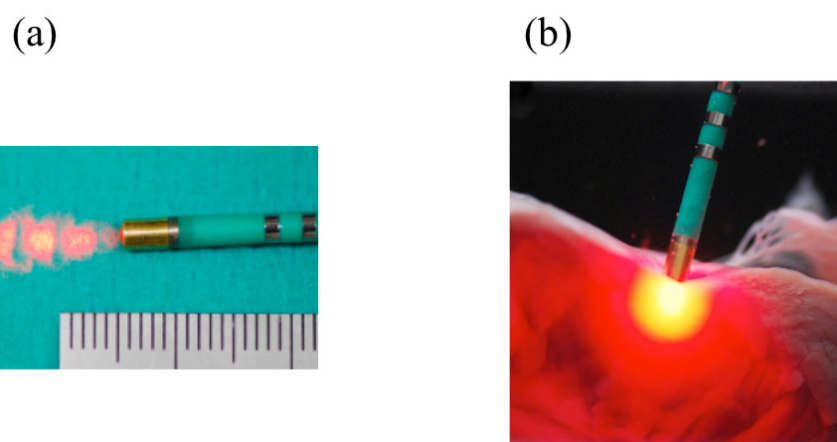


図 4-1 レーザカテーテルの外観 (文献 [1]より引用改変)

(a) レーザカテーテル先端の外観

(b) 心筋組織に対するレーザカテーテルからのレーザ光照射イメージ

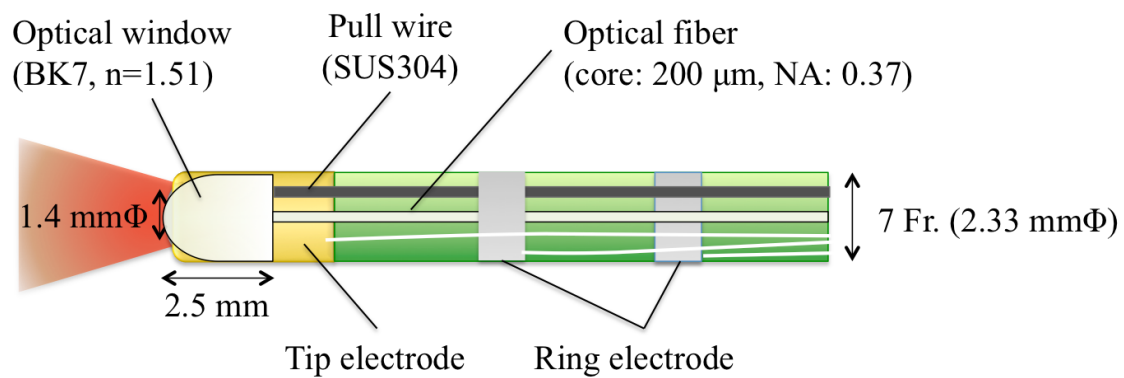


図 4-2 レーザカテーテル先端の内部構造 (文献 [1]より引用改変)

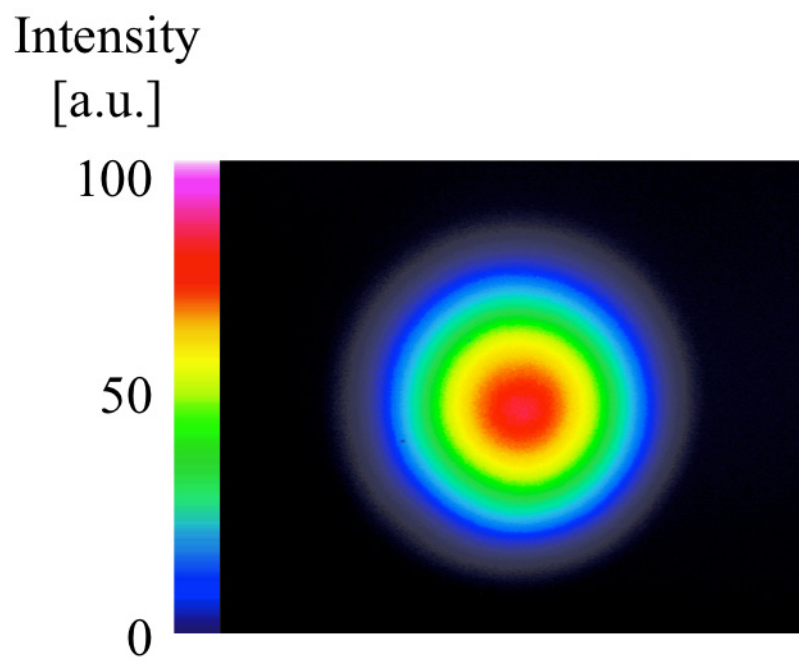


図 4-3 レーザカテーテル先端から照射したレーザー光の相対照射強度分布  
レーザーカテーテル光学窓の先端が受光面から 7 mm 離れた位置よりレーザー光を照射した。

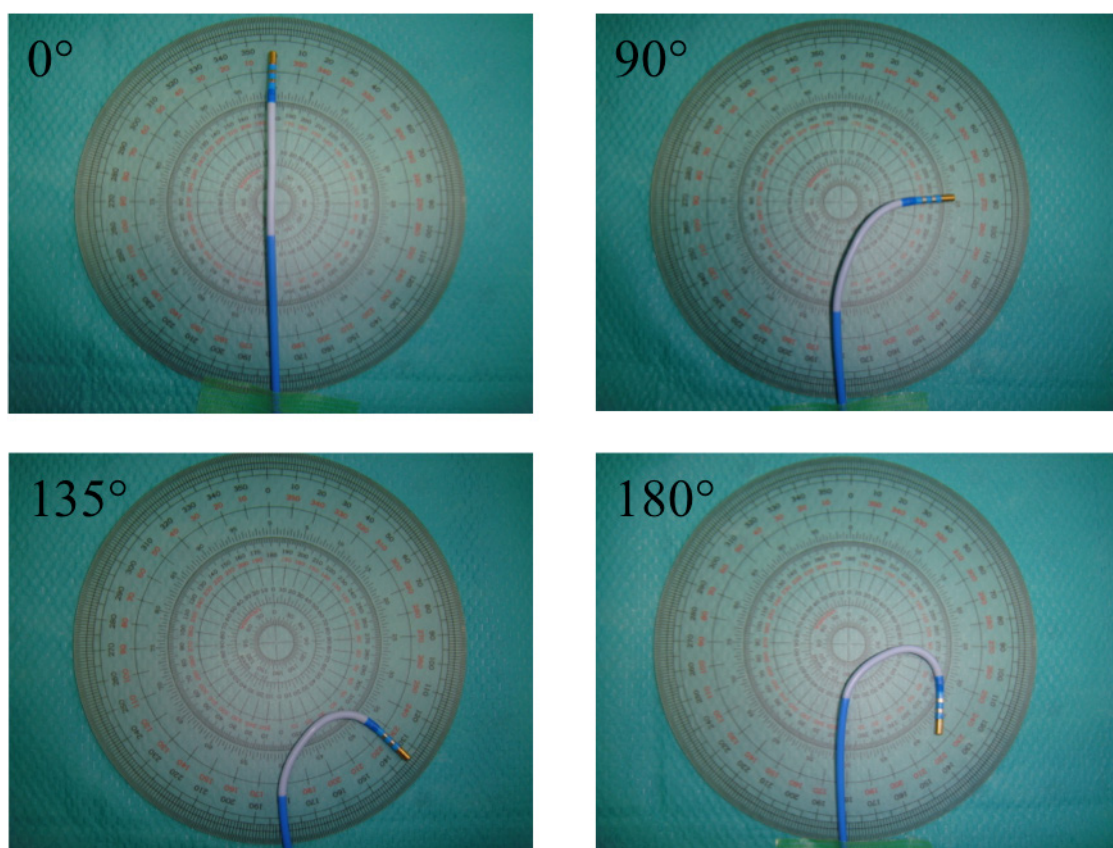


図 4-4 レーザカテーテルの先端屈曲

同一のレーザカテーテルにおいて、先端屈曲を  $0\sim 180^\circ$  まで屈曲させた。

カテーテル長軸方向に平行な向きを  $0^\circ$  とし、レーザカテーテル先端部を基準として屈曲角度を計測した。

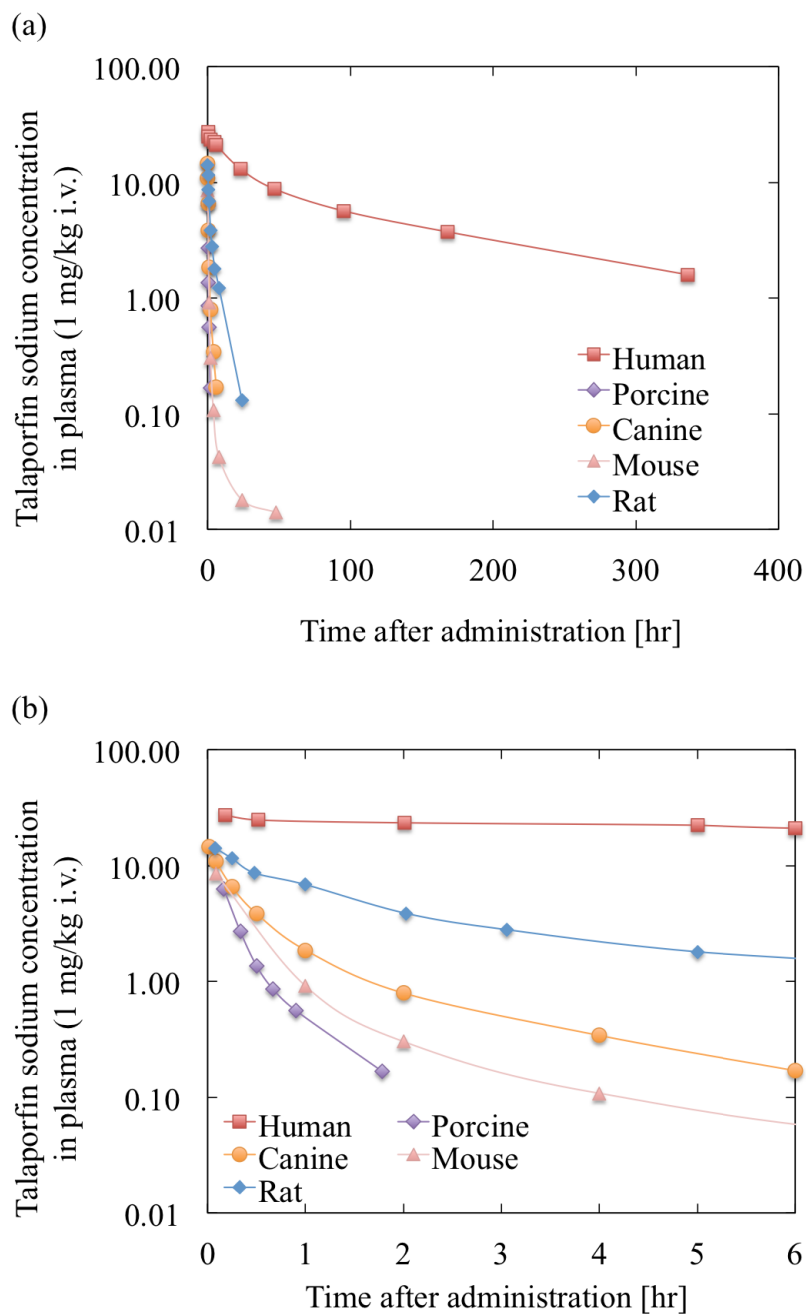


図 4-5 ヒト、ブタ、イヌ、マウス、ラットにおける  
血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移 (文献 [7-10]より引用改変)

(a) 投薬から 0~400 hr までの時間推移

(b) 投薬から 0~6 hr までの時間推移

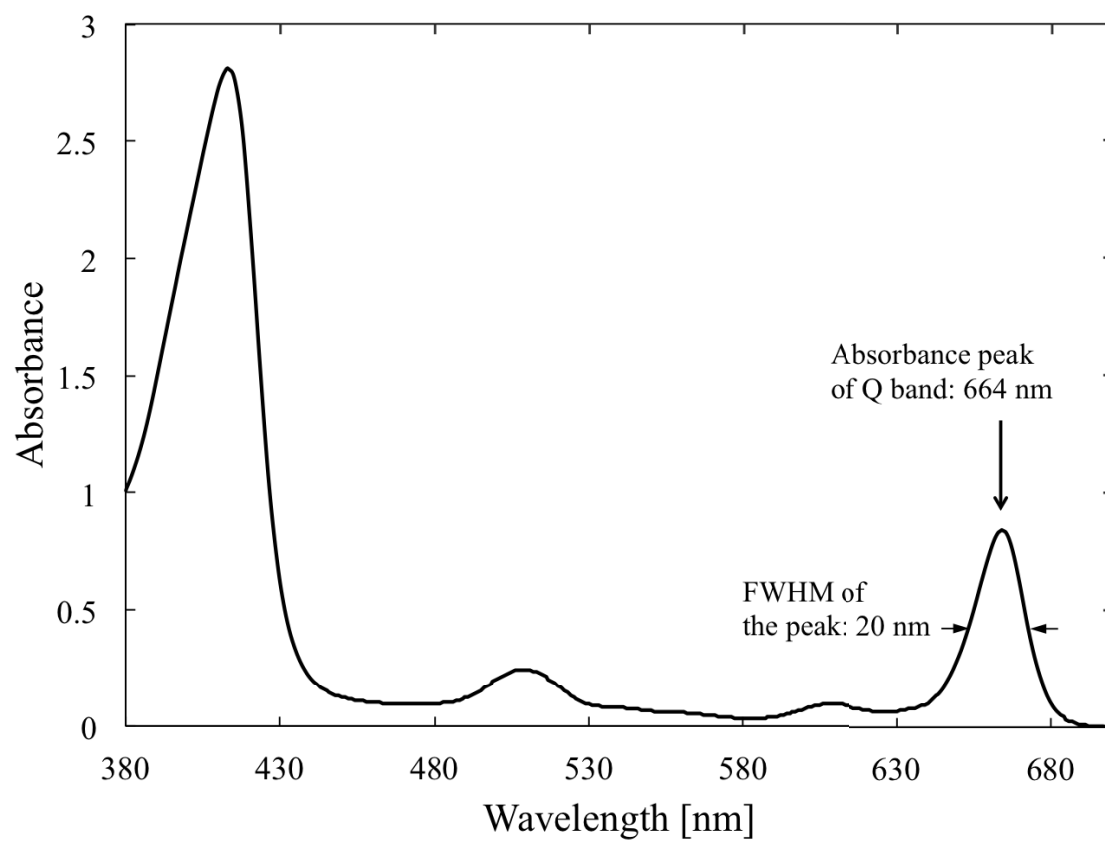


図 4-6 タラポルフィンナトリウムの吸収スペクトル (文献 [13]より引用改変)

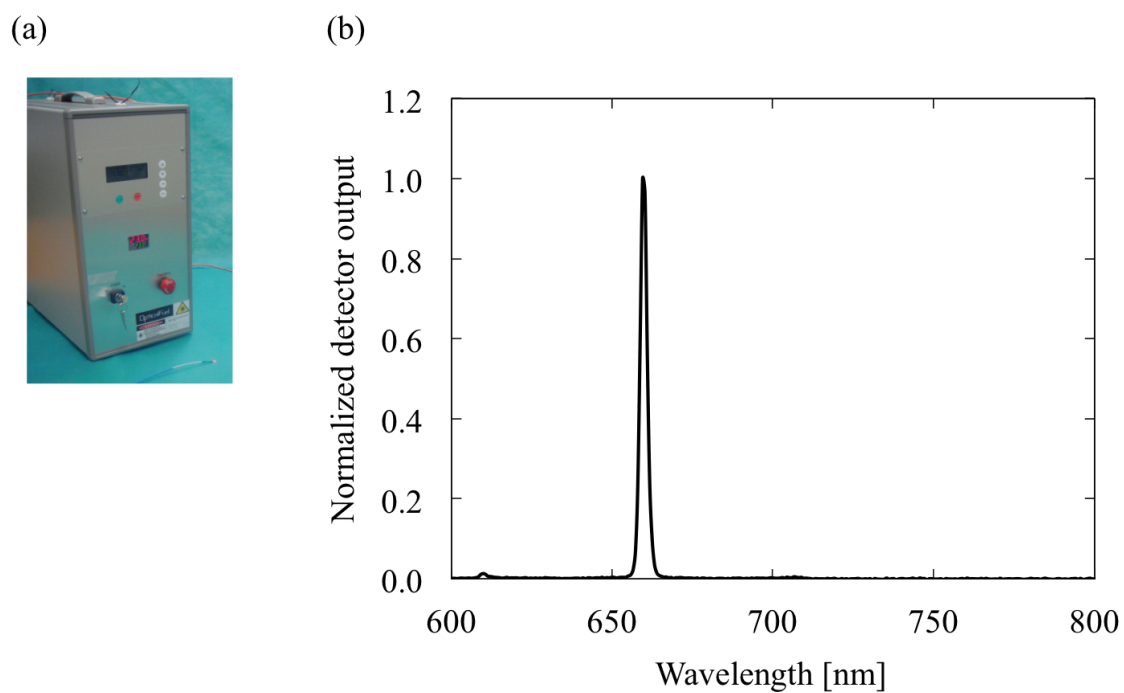


図 4-7 レーザ発振装置 Optical Fuel の外観および発振スペクトル

(a) レーザ発振装置 Optical Fuel の外観

(b) Optical Fuel の発振スペクトル

発振ピーク波長  $663 \pm 2$  nm であり、最大出力は 4 W である。発振ピーク波長における光強度にて正規化して示した。



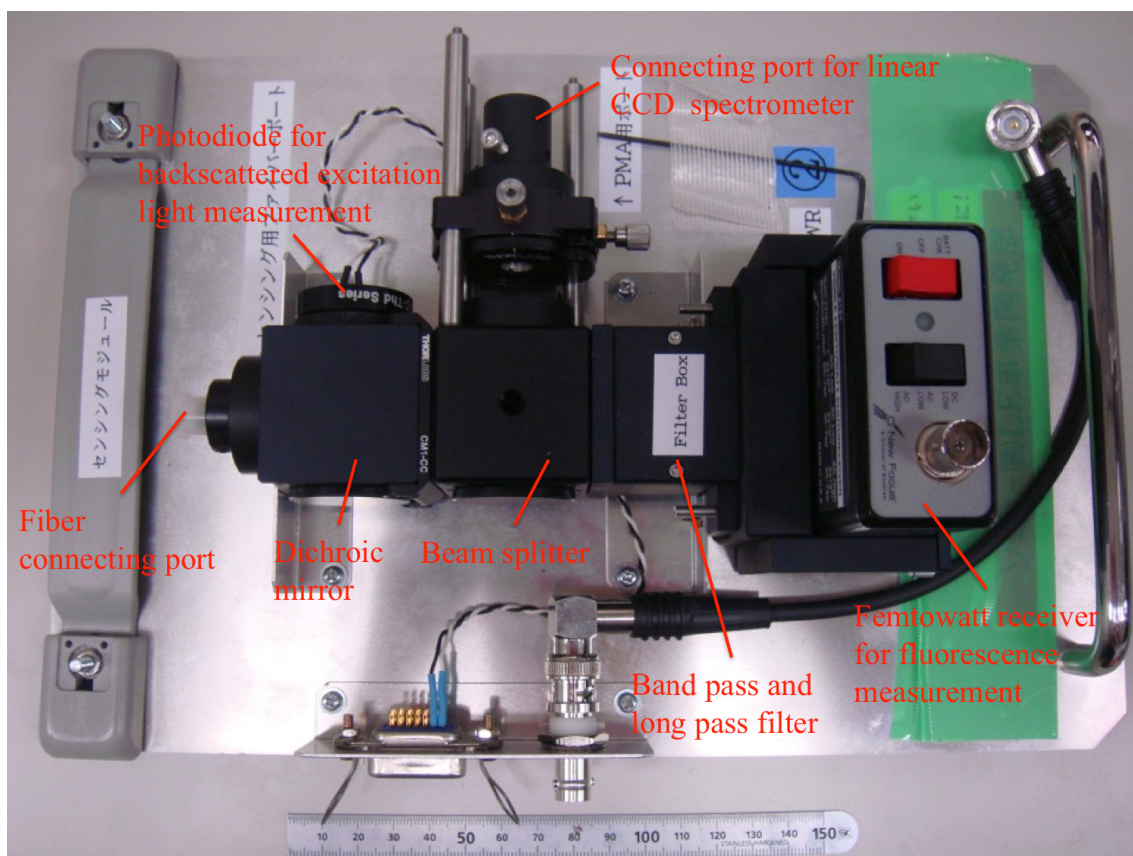


図 4-8 モニター装置光学系の外観

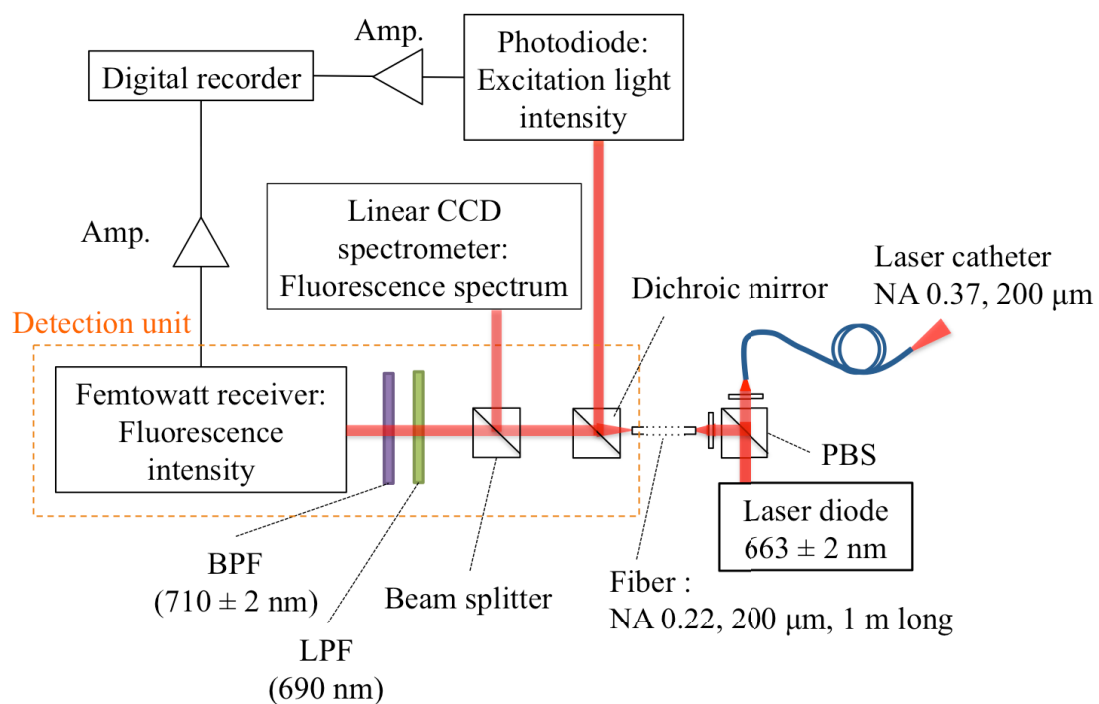


図 4-9 モニター装置光学系の内部構造

モニター装置光学系に内装されたフィルターの特性は図 4-10 に示した。

DM: ダイクロイックミラー

LPF: ロングパスフィルター

BPF: バンドパスフィルター

PBS: 偏光ビームスプリッター

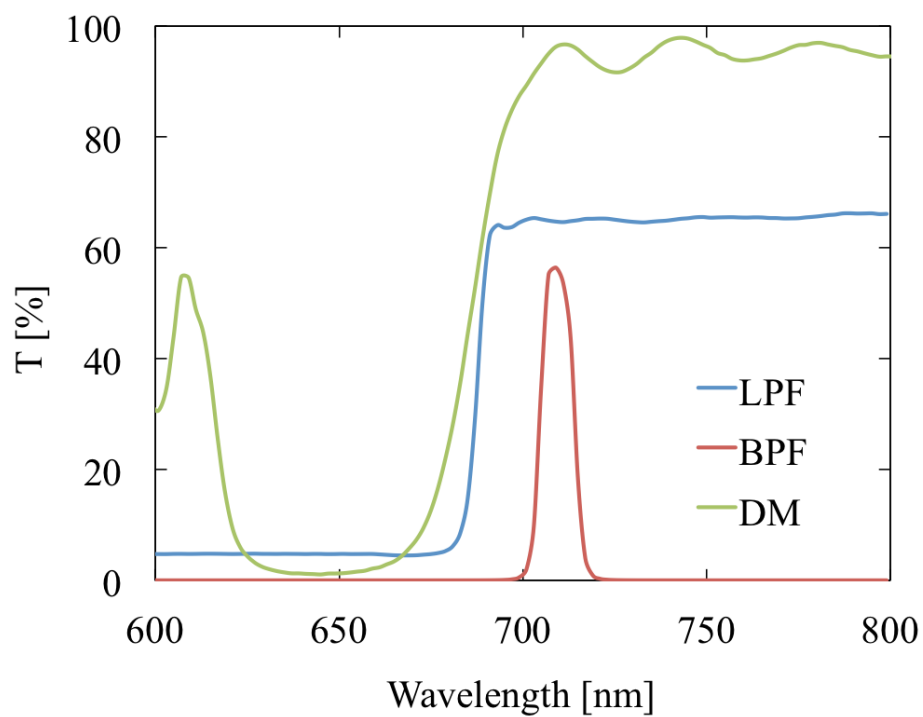


図 4-10 モニター装置光学系に搭載された光学系の透過スペクトル

LPF: ロングパスフィルター (690 nm; XF584, 朝日分光株式会社)

BPF: バンドパスフィルター (710±2 nm; FB710-10, ソーラボジヤパン株式会社)

DM: ダイクロイックミラー (XF2024-690DRLP, Omega Optical, Inc.)



図 4-11 レーザ発振装置、モニター装置、およびカテーテル先端電位表示機能を備えた一体型の光線力学アブレーション装置の外観 (文献 [22]より引用改変)

## 第 5 章 光線力学アブレーションにおける光学モニター技術の提案

### 5.1 緒言

頻脈性不整脈治療においては即時的に治療効果を得られることから、確実かつ安全な治療を実現するために、術者が治療に関する情報を取得しながら施術を行う方式をとる。頻脈性不整脈治療におけるモニターの意義は、術者に治療に関する情報を治療中あるいは治療前に提供し治療成功のための支援を行うこと、また治療後に治療の有効性を確かめたり、経過を観察したりすることにある。現在、臨床で用いられているカテーテルアブレーション治療におけるモニター技術については第 3 章で述べた。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においても、既存のカテーテルアブレーション治療において用いられているモニター技術を利用することは可能であるが、光線力学アブレーションは細胞外光増感反応を利用した治療機序であり現行のカテーテルアブレーション治療における熱作用によるものでないため、光線力学アブレーションの治療原理に立脚した独自のモニター技術を併用することが必要である。本章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において利用可能な光学モニター技術を提案する。光学モニター技術の提案に至った経緯と、光学モニター技術が光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療における意義について説明する。

### 5.2 光学モニター技術の提案

頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーションは、光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムとレーザー光の光増感反応によって心筋を傷害する治療原理に基づいており、レーザー光照射条件変化によって治療を制御することができる。光線力学アブレーション中および施行前後にモニターを運用することで治療制御が可能になり、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療の安全性や有効性、確実性を向上できる可能性があるため、モニター技術を開発する必要がある。よって著者は光線力学アブレーションにおいて光学的手法に基づいた計測により術者に治療に関する情報を提供するモニター技術が必要であると考え、光学モニター技術の提案に至った。

#### 5.2.1 光線力学アブレーションにおいて必要とされる光学モニター

光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において必要とされるモニター対象をモニター機能ごとに図 5-1 にまとめた。図 5-1 において、灰色文字は既存の技術が利用可能なものを示す。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において必要とされるモニター機能は、(i) 治療モニター、(ii) 診断モニター、(iii) 装置モニターに分類される。

(i) の治療モニターの目的は、治療の進行の観測や、治療効果を確認することにある。光線力学アブレーションの進行の観測は、細胞外光増感反応の進行、すなわち心筋傷害をもたらす細胞外光増感反応によって産生された一重項酸素の産生量や産生速度を計測あるいは推定することである。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈の最終的な治療効果は電気伝導遮断線の作成および心内における電気伝導路の変化を確認することであり、現行の電気生理検査によって確認することが可能である。

(ii) の診断モニターは、光線力学アブレーションの術前、術中、術後といった運用のタイミングによって、モニター対象が異なる。術前運用の場合、光線力学アブレーションによる心筋傷害を得るために必要十分な光感受性薬剤や溶存酸素が血中あるいは組織中に分布しているかどうかを確認したり、治療対象部位における血行動態に関する情報を得て、心筋における細胞外光増感反応に必要な持続的な光感受性薬剤および酸素の供給が見込めるかどうかを確認したりする機能が考えられる。組織中あるいは血中に分布する光感受性薬剤量をモニターする技術は既にモニター装置として開発済みであることは第 4 章で述べた通りである [1]。術中に運用するモニターは、心内の組織状態、例えば線維化組織や光線力学アブレーションが無効になる可能性のある浮腫の検出、判別をすることが想定される。術後に運用するモニターは、光感受性薬剤投与後の薬物動態を観測し皮膚に残留する光感受性薬剤量を推定したり、光線力学アブレーションを行った部位における組織状態変化を検出するモニターが考えられる。

(iii) の装置モニターは、有効かつ安全な治療運用のために光線力学アブレーションに用いる各種装置の運用状態を観測することを目的とする。モニターの対象は主にレーザーカテーテルとレーザー発振装置である。光線力学アブレーション中にカテーテルの破損や発熱過程をモニターして安全な運用を支援したり、アブレーション中のカテーテル接触状態を観測して治療の運用をモニターすることが治療運用において有用であると考えられる。また、レーザー装置は光線力学アブレーション実施において投入した光エネルギーを施術中に追跡することによって過剰なアブレーションを回避する為に運用状態をモニターすることが必要である。

### 5.2.2 本研究で取り組む光学モニター

本研究では、光線力学アブレーションを安全かつ確実にを行うために、特に重要度が高いと考えられるモニター技術に関して検討を行うこととし、図 5-1 中に赤字で示した。具体的には、血中でのレーザー光照射によって塞栓症の原因となる血液の熱凝固物の生成過程すなわち血液の熱変性過程を観測し、熱凝固物の発生を未然に防止することを目的とした血液-光学窓界面の血液熱変性モニター (第 6 章)、細胞外光増感反応の進行を観測して光線力学アブレーションによる治療深度を推定し、確実な電気伝導遮断および周辺臓器保全を実現するための細胞外光増感反応進行モニター (第 7 章)、光線過敏症のリスク管理のために皮

膚に残留するタラポルフィンナトリウム濃度を推定する皮膚残留薬剤モニター (第 8 章) を研究対象とした。

### 5.2.2.1 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター

頻脈性不整脈に対する現行の代表的な治療法である高周波カテーテルアブレーションにおいては、組織熱凝固を治療原理としているため、治療に伴う熱作用によりカテーテル先端に血液の熱凝固物が付着する場合があること、またその凝固物が全身循環して塞栓症を生じる危険性があることは第 3 章で述べた。一方、光線力学アブレーションはほとんど熱発生を伴わないその治療原理故に基本的には熱凝固物は生じないが、血液中で光照射を行うため放射照度条件によっては、血液による光吸収によって血液とレーザカテーテル先端の光学窓界面 (以下、血液-光学窓界面とよぶ) において発熱し血液が熱変性して熱凝固物や炭化物を生じる可能性がある [2]。例えば、心室を対象として 5~12 mm の深度の心筋傷害を得るためには [3, 4]、10~80 W/cm<sup>2</sup> の高放射照度にて光照射を行う。これまでの研究で、40 W/cm<sup>2</sup> にて心腔でレーザカテーテルより光照射を行うと、図 5-2 に示すような血液の熱凝固物がレーザカテーテル先端の光学窓に付着する場合がある。いったん光学窓に熱凝固物が付着すると、有効な光照射が阻害されるだけでなく、熱凝固物による光吸収によってさらに過加熱が進むため、熱凝固物の産生増大さらに炭化物の発生も想定される [5]。既存のカテーテルアブレーション治療に対する光線力学アブレーションの優位性は、熱発生を殆ど伴うことなく心筋電気伝導遮断を実現可能な点にあるが、仮に光線力学アブレーションにより血液-光学窓界面に発熱が生じて熱凝固物が生成され、さらに過加熱が進んだ場合には、光線力学アブレーションの利点および治療の安全性は失われてしまう。また、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療は心腔内におけるカテーテル治療であるため、仮にアブレーションに伴う血液や組織の炭化物が発生しカテーテル先端からはがれた場合、血流によって全身に循環し塞栓症を発症する可能性が高いため、栓子となる熱凝固・炭化物の発生を阻止しなければならない。

レーザ光照射による発熱および凝固物の生成および炭化が問題となる例は、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療だけではなく、血中でレーザ光照射を行う方式をとった種々の治療において報告されている。例えば、レーザ外科術やレーザ照射による植え込みカテーテルリード除去術、レーザ血管形成術では、高放射照度でのレーザ光照射によって光照射プローブに血液や組織が熱凝固あるいは炭化し付着する問題があった [6-8]。光照射プローブにおける熱凝固・炭化物による無効な光照射の防止や過加熱による光照射プローブの破壊を防ぐために、発生した炭化物を検知する技術が考案されてきた。これらを表 5-1 にまとめた [9-12]。いずれの技術も光照射プローブに血液あるいは生体組織の炭化物が生じた後に検出するため、その発生を未然に防止することはできない。光線力学アブレーションを安全に運用するためには、熱作用による血液熱凝固物の生成を未然に防止する

必要があり、血液-光学窓界面の発熱過程、すなわち血液-光学窓界面の血液熱変性を観測することが重要であると考え、血液-光学窓界面の血液熱変性モニターを提案し、開発することとした。

#### 5.2.2.2 細胞外光増感反応進行モニター

カテーテルアブレーションによる頻脈性不整脈治療のエンドポイントは心筋組織傷害に伴う電気伝導遮断によって、頻脈性不整脈の原因である電気興奮の伝搬を遮断する電気伝導遮断線の作成にあり [13]、心筋組織を傷害する作用や方法に影響されない [14]。最終的な治療効果は、いずれのカテーテルアブレーション技術においてもカテーテルアブレーション直後に電気生理検査を行い、心内電位を計測することで電気伝導路の変化を確認することで判断することができる [15]。心筋伝導遮断線は切れ目のない心筋電気伝導性の消失部位の作成が不可欠であり、電気伝導可能な部位がないことが絶対条件である。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては、4.3 部で述べたように point-to-point 照射を採用していることから、アブレーションを行う一点ごとに確実に電気伝導遮断を達成する必要がある。よってアブレーション一点ごとにその部位における心筋電気伝導遮断効果を確認することができれば治療の確実性を向上させることが可能になる。また、4.3 部で述べたように光線力学アブレーションによる心筋壊死は光照射開始から数百 s かかることから [15]、術者にとって治療が有効に進められているか否かを電気生理検査によって即時的に判断することは難しい。したがって、光線力学アブレーションの治療原理である細胞外光増感反応の進行をモニターすることによって治療進行に関する情報を術者に提供することができれば、治療支援に有用であると考えた。

頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーションにおいては、確実に心筋電気伝導遮断を達成するために貫壁性の心筋傷害深度を得つつ、治療対象部位近隣に位置する食道や横隔神経といった臓器を保全することが絶対条件である。頻脈性不整脈治療において必要とされる治療深度は心房や心室といった部位によって異なり、1~12 mm の幅がある [16]。また食道や横隔神経は心房細動治療のための左心房後壁や右肺静脈から約 1~3 mm の距離に近接している [17]。そのため、頻脈性不整脈のためのカテーテルアブレーション治療においては mm 単位での治療深度制御が求められる。光線力学アブレーションによる治療深度を制御するためには、治療中に治療深度を推定する必要がある。これまでに、光増感反応を用いた治療におけるモニター技術は種々の検討がなされてきたことについては第 2 章で述べたが、心筋に対して細胞外光増感反応を行う際の傷害深度を推定する技術はこれまでに報告はない。本研究では、施術中に治療深度を推定するために、細胞外光増感反応の進行を観測する細胞外光増感反応進行モニターの開発を目指すこととした。



### 5.2.2.3 皮膚残留薬剤モニター

光線過敏症は光感受性薬剤を用いた治療すなわち細胞外あるいは細胞内光増感反応を用いた治療に共通する主たる副作用の一つであること [18-20]、また光線過敏症発症防止のための対策や判断方法については第 3 章で述べた [21]。早期肺がんおよび原発性悪性脳腫瘍の光線力学的治療にて用いられているタラポルフィンナトリウムの用法用量では、代謝の速い患者においては規定遮光期間よりも早期の退院が可能な場合も少なくない。一方で、頻脈性不整脈に対する高周波カテーテルアブレーションにおいては、患者の平均入院期間はおおよそ 3~5 日であると言われる。遮光入院の長期化は患者の Quality of Life (QOL) を低下させる要因になるとともに医療費の増大にもつながるため、可能な限り早期に退院できることが望ましい。現在、タラポルフィンナトリウムを用いた治療において退院時期の設定は担当医の治療経験に基づいた判断に委ねられているのが現状である。皮膚に残留するタラポルフィンナトリウム量に関する情報を提供することができれば、安全かつ科学的根拠に基づいた早期退院のための医師判断の支援となり得る。そこで本研究では、皮膚残留薬剤濃度を光学計測に基づいて推定可能であり、光線過敏症発症リスクを評価することの可能な、皮膚残留薬剤モニターの開発を目指し、研究を行うこととした。

## 5.3 結言

本章では、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療に応用可能な光学モニター技術を提案した。本論文では、血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、細胞外光増感反応進行モニター、皮膚残留薬剤モニターに関して研究に着手することとした。各種光学モニター技術を確立するために、モニターのための計測および解析手法を基礎検討から探索し、装置の試作、さらには試作装置を用いて動物実験において運用を行い、臨床における実用性を検証する必要がある。

## 参考文献

- [1] K. Tamamura, S. Hakomori, T. Yamaguchi, T. Arai, and A. Ito, “Calculation device and calculation method,” WO patent WO2011114651 A1, 2011.
- [2] W. F. Cheong, S. A. Prael, and A. J. Welch, “A review of the optical properties of biological tissues,” *IEEE J Quantum Elect*, vol. 26, pp. 2166–2185, 1990.
- [3] B. L. Troy, J. Pombo, and C. E. Rackley, “Measurement of left ventricular wall thickness and mass by echocardiography,” *Circulation*, vol. 45, pp. 602–611, 1972.
- [4] A. M. Grandi, A. Venco, F. Barzizza, F. Scalise, P. Pantaleo, and G. Finardi, “Influence of age and sex on left ventricular anatomy and function in normal,” *Cardiology*, vol. 81, pp. 8–13, 1992.
- [5] H. J. Geschwind, J. D. Blair, D. Mongkolsmai, M. J. Kern, J. Stern, U. Deligonul, H. L. Kennedy, and S. Smith, “Development and experimental application of contact probe catheter for laser angioplasty,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 9, pp. 101–107, 1987.
- [6] J. L. Doty, and D. C. Auth, “The laser photocoagulating dielectric waveguide scalpel,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. BME-28, pp. 1–9, 1981.
- [7] C. L. Byrd, B. L. Wilkoff, C. J. Love, T. D. Sellers, and C. Reiser, “Clinical study of the laser sheath for lead extraction: The total experience in the United States,” *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 25, pp. 804–808, 2002.
- [8] H. J. Geschwind, G. Boussignac, B. Teisseire, N. Benhaïem, R. Bittoun, and D. Laurent, “Conditions for effective Nd:YAG laser angioplasty,” *Br Heart F*, vol. 52, pp. 484–489, 1984.
- [9] S. Hessel, and G. Hauptmann, “Surgical laser instrument,” US Patent US005098427A, Mar. 24, 1992.
- [10] J. D. Brown, “Endovascular method and apparatus with electrical feedback,” US Patent US20070167937A1, Jul. 19, 2007.
- [11] J. D. Brown, “Laser delivery apparatus with safety feedback system,” US Patent US20090062782A1, Mar. 5, 2009.
- [12] C. A. Lieber, and S. Shararehm “Optical pyrometric catheter for tissue temperature monitoring during cardiac ablation,” US Patent US20090005771A1, Jan. 1, 2009.
- [13] 奥村謙, 相澤義房, 青沼和隆, 磯辺文隆, 大西哲, 加藤貴雄, 清水昭彦, 新田隆, 萩原誠久, 松本万夫, 笠貫宏, 相澤義房, 大江透, 大西哲, 奥村謙, 加藤貴雄, 新田隆, 松本万夫, 村川裕二, “不整脈の非薬物治療ガイドライン (2011年改訂版),” *Jpn Circ J*, vol. 65 (Supp. IV), pp. 1127–1160, 2001.
- [14] 奥村謙, 相澤義房, 相原直彦, 青沼和隆, 沖重薫, 熊谷浩一郎, 庄田守男, 住友直方, 高橋淳, 内藤滋人, 中村好秀, 野上昭彦, 平尾見三, 松本万夫, 村川裕二, 山根禎一, “カテ

- ーテルアブレーションの適応と手技に関するガイドライン,” *Circ J* 2012, pp. 3–67, 2012.
- [15] E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Immediate response of  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in myocardial cells against oxidation stress by extracellular photosensitization reaction using Talaporfin sodium for the arrhythmia treatment application,” *Proc SPIE*, vol. 8941, pp. 89410U1–89410U7, 2014.
- [16] D. Sanchez-Quintana, J. A. Cabrera, V. Climent, J. Farre, and M. C. Mendonca, S. Y. Ho, “Anatomic relations between the esophagus and left atrium and relevance for ablation of atrial fibrillation,” *Circulation*, vol. 112, pp. 1400–1405, 2005.
- [17] P. G. Macedo, S. Kapa, J. A. Mears, A. Fratianni, and S. J. Asirvatham, “Correlative anatomy for the electrophysiologist: ablation for atrial fibrillation. Part II: regional anatomy of the atria and relevance to damage of adjacent structures during AF ablation,” *J Cardiovasc Electr*, vol. 21, pp. 829–836, 2010.
- [18] R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, and M. Reed, “The history of photodetection and photodynamic therapy,” *Photochem Photobiol*, vol. 74, pp. 656–669, 2001.
- [19] H. Kato, K. Furukawa, M. Sato, T. Okunaka, Y. Kusunoki, M. Kawahara, M. Fukuoka, T. Miyazawa, T. Yana, K. Matsui, T. Shiraishi, and G. Horinouchi, “Phase II clinical study of photodynamic therapy using mono-l-aspartyl chlorin e6 and diode laser for early superficial squamous cell carcinoma of the lung,” *Lung Cancer*, vol. 42, pp. 103–111, 2003.
- [20] Y. Muragaki, J. Akimoto, T. Maruyama, H. Iseki, S. Ikuta, M. Nitta, K. Maebayashi, T. Saito, Y. Okada, S. Kaneko, A. Matsumura, T. Kuroiwa, K. Karasawa, Y. Nakazato, and T. Kayama, “Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors,” *J Neurosurg*, vol. 119, pp. 845–852, 2013.
- [21] J. Akimoto, J. Haraoka, and K. Aizawa, “Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 9, pp. 91–99, 2012.

図表

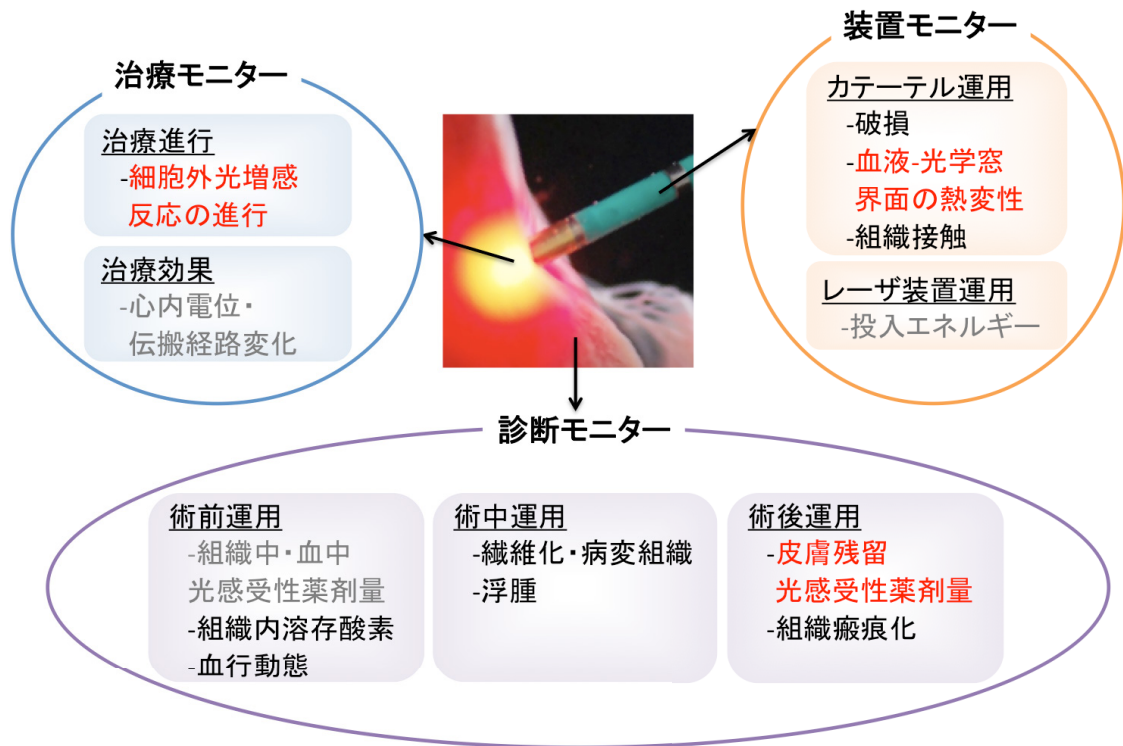


図 5-1 光線力学アブレーションにおいて利用可能なモニターとその観測対象

赤字: 本研究で取り組むモニター

灰色字: 既存のモニターを利用可能なモニター対象



図 5-2 経レーザーカテーテル的にブタ心内腔にて放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にて光線力学アブレーションを行ったときにレーザーカテーテル先端光学窓に付着した血液の炭化物

表 5-1 血中レーザー光照射における炭化物検知技術

<b>Aim of the monitor</b>	<b>Detecting method</b>	<b>Application</b>
To prevent probe destruction <sup>[8]</sup>	Backscattered radiation measurement in visible light wavelength	Laser surgery
To detect overheating and/or burning of the biological tissue <sup>[9, 10]</sup>	Temperature measurement Backscattering light measurement in infrared wavelength	Laser angioplasty
To monitor tissue temperature <sup>[11]</sup>	Blackbody radiation measurement from charring	Laser cardiac ablation

## 第 6 章 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター

### 6.1 緒言

治療深度 5~12 mm を必要とする心室頻拍に対する光線力学アブレーションを行う際には、血中で経レーザカテーテル的に  $40 \text{ W/cm}^2$  以上の放射照度にて光照射を行うことが予想される。このとき、血液-レーザカテーテル光学窓界面において、血液の光吸収に由来する発熱が生じ血液が熱凝固・炭化する可能性がある。レーザカテーテル光学窓界面に付着した血液の熱凝固・炭化物は塞栓症の原因である栓子となる危険性があるため、その発生を未然に防止する必要がある。血液-光学窓界面における発熱に伴う血液熱変性の過程を光照射中に観測し、血液熱凝固物の生成を事前に検出するための光学モニター (血液-光学窓界面の血液熱変性モニター) の開発を目指した。血液-光学窓界面の血液熱変性モニターは術中の運用を想定しているため、レーザ光照射中経カテーテル的に計測することの可能な励起光の拡散反射成分を計測することが望ましい。本章では、血液-光学窓界面における発熱過程において熱凝固物発生までに生じる血液熱変性に伴う光学現象を経時的拡散反射強度計測により調査するとともに、発熱によって生じる熱凝固物に関してその発生前駆状態を検出する方法を検討した。また当該モニターの実用性を *in vivo* および *ex vivo* 実験にて調査した。

### 6.2 拡散反射光経時計測による血液-光学窓界面における発熱過程の光学現象調査 (*ex vivo*)

光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療のために、血中で経カテーテル的にレーザ光照射を行う際の血液-光学窓界面の血液熱変性過程における光学現象を明らかにすることを目的とした。

#### 6.2.1 実験方法

レーザ光照射に伴う発熱によって生じる血液-光学窓界面の血液熱変性光学現象を調査するため、血液凝固因子および血漿蛋白質を除去した血液モデルを試料として採用した。予備実験において、血漿成分のみではレーザ光照射による炭化が発生しなかった知見から、血球成分が血液の熱凝固・炭化に寄与すると考えられたためである。ブタ血液あるいはウサギ血液を回転数 3500 rpm、 $4^\circ\text{C}$ にて 10 min 遠心分離し (テーブルトップ冷却遠心機 2800, 久保田商事株式会社, 東京)、血球成分を採取した。血球成分に付着した凝固因子による凝固作用を防ぐために、血球成分に生理食塩水 (大塚生食, 大塚製薬株式会社, 東京) を加え攪拌し、再度遠心分離を同条件にて行うことで血球成分を洗浄した。洗浄した血球成分に生理食塩水を加え、ヘマトクリット 40%の血液モデルとした。血液モデルの酸素飽和度を可視分光組織酸素計測装置 (C-9183, 浜松ホトニクス株式会社, 静岡) を用いて計測したと

ころ、25°C室温において、酸素飽和度 80%であった。経カテーテル的に心腔内でレーザカテーテルより光照射を行う際の血液-光学窓界面を再現するため、血液モデルを 2 枚のスライドガラス (S1111, 松浪硝子工業株式会社, 大阪) に挟んだ (以下、血液-光学窓界面モデルとよぶ) [1]。このとき、血液モデルは 177 ml, 厚みは 1 mm とした。血液-光学窓界面モデルの模式図を図 6-1 に示した。

血液-光学窓界面モデルにレーザ光を照射し、拡散反射光を経時計測することでレーザ光照射に伴う血液の発熱過程を経時的に調査することの可能な顕微計測系を構築した。レーザ光照射中に、光照射部位の血液-光学窓界面からの拡散反射光を高い開口数 (numerical aperture; NA) の光学系を用いて集光するために、顕微光学系を光照射・計測系に利用した。構築した顕微計測系の模式図を図 6-2 に示した。倒立型顕微鏡 (IX71, オリンパス株式会社, 東京) に内蔵された倍率 60 倍、NA 0.7 の対物レンズ (LUCPLFLN 60X, オリンパス株式会社, 東京) を通して、タラポルフィンナトリウムの Q 帯波長ピークに相当する中心波長  $663 \pm 2$  nm のレーザ光を照射した。予備実験において得られた知見より、確実に血液の炭化物生成が期待できる放射照度  $81 \text{ W/cm}^2$ 、スポット径 0.52 mm にてレーザ光照射を行った。照射光源には最大出力 5 W の赤色半導体レーザ (Optical Fuel, ソニー株式会社, 東京) を用いた。レーザ光照射中、血液-光学窓界面モデルからの拡散反射光を経顕微鏡的に波長 670 nm における反射率 >90% であるダイクロイックミラー (770DCXR, Chroma Technology Corp., Bellows Falls, VT) を通じて検出器である光電子増倍管 (R5070A, 浜松ホトニクス, 静岡) に集光し、経時的に拡散反射光強度を計測した。ダイクロイックミラーの透過スペクトルを図 6-3 に示した。外部光による計測ノイズを抑制するため、ロックインアンプ (LI5640, 株式会社エヌエフ回路設計ブロック, 神奈川) を採用した。ロックイン計測の参照信号として、照射レーザ光を周波数 522 Hz にてチョッピングするよう設置したオプティカルチョッパー (320C, Scitec Instruments Ltd, Wiltshire, UK) からの信号を用いた。ロックインアンプからの出力電圧はデジタルペンレコーダ (DL750, 横河電機株式会社, 東京) により記録した。計測は個体数  $N=5$  にて行った。

レーザ光照射による赤血球の形態変化を調査するため、ウサギ血液を用いて作成した血液モデル 50  $\mu\text{l}$  をスライドガラス (S1111, 松浪硝子工業株式会社, 大阪) に滴下して、直径 5 mm、厚さ 0.3 mm の血液-光学窓界面モデルとした。下方から同レーザ光をスポット系 10 mm、放射照度  $2.3 \text{ W/cm}^2$  にて血液モデル全面に対して血液の熱凝固物が生成されるまで照射した。血液モデルとスライドガラスの界面における赤血球の形態変化を観察するために血液モデル厚みを小さくしたため、予備実験において熱凝固物が光照射開始直後に発生する傾向にあったことから、光照射時間変化に伴う赤血球形態変化を観測するために放射照度を小さく設定した。レーザ光照射後、血液モデル上にカバーガラス (ネオカバーガラス, 松浪硝子工業株式会社, 大阪) を上から被せ、カバーガラスの辺縁に漏出した血液モデルを拭き取った。倒立型顕微鏡 (IX71, オリンパス株式会社, 東京) を用いて倍率 60 倍の対物レ



レンズ (LUCPLFLN 60X, オリンパス株式会社, 東京) にてレーザ光照射後の血液-光学窓界面モデルにおける赤血球の明視野観察を行った。使用した対物レンズの焦点深度は 8.9  $\mu\text{m}$  であり赤血球の大きさとほぼ同程度であることから、光学窓界面における赤血球を観察できる系となっている。

### 6.2.2 実験結果

血液-光学窓界面モデルからの拡散反射光強度経時計測結果として、光照射開始時からの変位を算出しその一例を図 6-4 に示した。図 6-4 の場合では、レーザ光照射開始から 190 s 後に血液モデルの炭化が生じた。血液モデルが炭化するまでの時間は 17.1~194 s と幅がある一方で、炭化までに見られる拡散反射光強度の経時変化傾向は全ての試料において同じであった。すなわち、光照射開始から光強度は連続的に増加した後、減少に転じ、炭化に至った。図 6-4 の場合、光照射開始から 100~150 s に幅広なピークが見られた。このピークの後、拡散反射光強度は 30 s 間徐々に減少し、その後血液モデルは炭化した。

図 6-5 にレーザ光照射後の赤血球明視野観察画像を示した。図 6-5 の場合、光照射開始から 15 s 後に血液モデルの炭化が生じた。光照射開始 5 s で赤血球形状は通常の円盤状から、球状に変化し、凝集した。この赤血球凝集は光照射部位におけるヘモグロビン濃度を増加させたと考えられた。光照射 10 s 後、赤血球は溶血した。これらの結果より、血液-光学窓界面の赤血球形態変化を伴う熱凝固物生成までの血液熱変性過程を励起光の拡散反射光を経時計測することによって検出可能であることがわかった。

## 6.3 双積分球法による血液-光学窓界面発熱過程における血液光学特性経時計測 (*ex vivo*)

6.2 部にて、血液-光学窓界面における熱凝固物生成までの血液熱変性過程を拡散反射光強度経時計測により光照射中にモニター可能であることを明らかにした。本部では、その血液熱変性過程において血液-光学窓界面の血液に生じる現象の詳細を、レーザ光照射に伴う血液光学特性経時変化の観点から調査し、拡散反射光強度経時変化との対応関係を明らかにすることを目指した。血液-光学窓界面の血液光学特性を、双積分球法によりレーザ光照射中経時的に計測した。

### 6.3.1 実験方法

6.2 部で使用した波長  $663\pm 2$  nm のレーザ光を照射中に、経時的に血液-光学窓界面の血液光学特性を調査するために、光学特性計測に一般的に用いられる手法である双積分球系を採用した [2-3]。図 6-6 に構築した双積分球系の模式図を、図 6.7 に全体像を示した。血液-光学窓界面モデルを 6.2.1 節と同様の手法にて作成し、2 つの内径 50 mm の積分球 (IS-020, labsphere, North Sutton, NH, USA) 間に設置して下方から光照射を行い、拡散反射光および拡

散透過光、コリメート透過光を受光径 11.3 mm のフォトダイオード (S2281, 浜松ホトニクス, 静岡) により同時計測する配置とした。前述の赤色レーザ光をコア径 200  $\mu\text{m}$ 、開口数 0.37 のマルチモード光ファイバー (WF200/220P37, Ceram Optec, Massachusetts, MA, USA) より出射し、3 枚の平凸レンズ (40 mm $\Phi$ , FL= 50 mm; 30 mm $\Phi$ , FL= 70 mm; 20 mm $\Phi$ , FL= 20 mm) (SLB-40-50P; SLB-30-70P; SLB-20-20P, シグマ光機, 東京) を用いてスポット径 2 mm の平行光とした。血液-光学窓界面モデルに照射するレーザ光は放射照度 40 W/cm<sup>2</sup> とし、血液モデルが炭化するまで光照射および計測を行った。レーザ光照射および計測記録の開始および停止はシャッターシステム (SSH-C, シグマ光機株式会社, 東京) を用いて同期した。拡散反射光強度および拡散透過光強度計測用のフォトダイオードは各積分球開口部に設置し、コリメート透過光強度計測用のフォトダイオードはコリメート光のみを取得するため、上部積分球から 60 cm 離して設置した [4]。積分球の開口部径は、直径 12.7 mm とし、コリメート透過率計測用開口部のみ散乱光の侵入を防ぐため直径 3 mm とした。フォトダイオードに 5 V の逆電圧を印加して、血液-光学窓界面モデルからの拡散反射光、拡散透過光、コリメート光を受光しこれらの強度を計測した。6.2 部と同様に、外部光による計測ノイズを抑制するために、レーザ光を 522 Hz にてチョッピングし (320C, Scitec Instruments Ltd, Wiltshire, UK)、その出力信号を参照信号としてロックインアンプ (LI5640, 株式会社エヌエフ回路設計ブロック, 神奈川) に入力し計測を行った。ロックインアンプからの出力電圧をデジタルペンレコーダ (DL750, 横河電機株式会社, 東京) を用いて記録し、拡散透過率  $T_d$ 、拡散反射率  $R_d$ 、コリメート透過率  $T_c$  を算出した。計測は個体数  $N=5$ 、サンプル数=25 にて行った。

生体組織の光学特性は、一般に吸収係数  $\mu_a$ 、等価散乱係数  $\mu'_s$  で記述される [2-3]。Inverse adding doubling 法を用いて、実測した  $T_d$ 、 $R_d$ 、 $T_c$  より  $\mu_a$  および  $\mu'_s$  を計算した。Inverse adding doubling 法の計算過程については付録 A に記載した。計算には、Oregon Medical Laser Center の Prahl 氏によって公開されているプログラムを利用した [5]。このプログラムは、C 言語で書かれたシミュレーションコードであり、 $T_d$ 、 $R_d$ 、 $T_c$  を入力して  $\mu_a$  および  $\mu'_s$  を求めるのに使用される。生体光学特性の計測値の処理に数多く利用されており定評がある [2, 3, 6]。

### 6.3.2 実験結果

図 6-8 に計測した  $T_d$ 、 $R_d$ 、 $T_c$  の経時変化における光照射開始時からの変位の一例を示した。同血液-光学窓界面モデルにおける  $\mu_a$  および  $\mu'_s$  の経時変化を図 6-9 に示した。 $T_d$ 、 $R_d$ 、 $T_c$  および  $\mu_a$ 、 $\mu'_s$  の経時変化は全 25 試料において同じ傾向を示した。レーザ光照射前の血液モデル光学特性は、 $\mu_a = 0.48 \pm 0.04 \text{ mm}^{-1}$ 、 $\mu'_s = 1.65 \pm 0.13 \text{ mm}^{-1}$  であった。本実験で得られた血液モデルの光学特性は、報告値と同じオーダーであった。例えば、波長 665 nm にて  $\mu_a = 0.13 \text{ mm}^{-1}$ 、 $\mu'_s = 0.61 \text{ mm}^{-1}$  [2]、波長 633 nm にて  $\mu_a = 0.13$ 、 $1.2 \sim 1.4 \text{ mm}^{-1}$ 、 $\mu'_s = 0.61$ 、 $1.8 \sim 2.2 \text{ mm}^{-1}$  である [7-8]。これより、本実験で使用した双積分球計測系および Inverse adding doubling 法

により信頼性ある計測が行えたと考えられる。

図 6-8 および図 6-9 の結果では、血液モデルの炭化はレーザー照射から 68 s 後に生じた。血液モデルが炭化するまでに  $R_d$  は照射開始時点から連続的に 12% 減少した。 $T_d$  および  $T_c$  は照射時間に伴って徐々に減少した後、照射から 53 s 後に  $T_d$  と  $T_c$  は炭化直前まで増加した。一方、光学特性については、 $\mu_a$  は照射開始から 15% 連続的に増加した。 $\mu'_s$  は照射 44 s 後まで 4% 増加し、その後、10% 減少した。

## 6.4 血液-光学窓界面の血液熱変性モニターの実用性検討

本部では、拡散反射光強度経時計測による血液-光学窓界面における熱凝固物生成までの血液熱変性過程を観測する血液熱変性モニターに関して、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈に対する治療時に応用可能であるかどうか、臨床における実用性を検討した。経カテーテル的な拡散反射光強度経時計測の *in vivo* 運用可能性 (6.4.1 節)、血液-光学窓界面における熱凝固物生成に関して、その生成を事前検出する性能 (6.4.2 節)、熱凝固物生成事前検出後にその生成を防止する方法 (6.4.3 節) を検討した。

### 6.4.1 経カテーテル的拡散反射光経時計測による血液-光学窓界面の血液熱変性モニター運用実験 (*in vivo*)

拡散反射光強度経時計測により血液-光学窓界面における熱凝固物生成までの発熱に伴う血液熱変性過程を検出可能であることを *ex vivo* 実験にて明らかにした。本節では、 $10 \text{ W/cm}^2$  以上の放射照度にて照射を行う心室を対象とした光線力学アブレーションを想定した場合に、経カテーテル的拡散反射光強度経時計測により熱凝固物生成までの発熱に伴う血液熱変性過程およびその熱凝固物発生の事前段階を検出可能であるかどうかを *in vivo* 動物実験にて検証した。経レーザーカテーテル的にブタ右心房内の下大静脈と三尖弁輪間の解剖学的狭部に対して光線力学アブレーションを行った。照射中、経カテーテル的に励起光の拡散反射光を経時計測し、レーザーカテーテル先端光学窓に熱凝固物生成されるまでの過程を検出可能であるか調査した。照射終了後にレーザーカテーテルを体外に取り出して、レーザーカテーテル先端光学窓を観察し熱凝固物生成の有無およびその形状や付着状態を調査した。

#### 6.4.1.1 実験方法

本実験は慶應義塾動物実験委員会および理工学部生命倫理委員会の承認を得て、慶應義塾動物実験規定および理工学部生命倫理委員会規定を遵守し行った。実際の手術室と同様の設備が整った動物実験施設にて、医学部循環器内科の医師らの協力の下に行われた。

経カテーテル的に血液-光学窓界面の拡散反射光を計測するために第 4 章で示したモニター装置 (図 4-9) の一部を利用した。本実験で使用した計測光学系を図 6-10 に示した。赤色

半導体レーザ装置内に搭載された偏光ビームスプリッター (PBS-7-6700, シグマ光機株式会社, 東京) によりレーザカテーテルに導光する照射レーザ光と血液-光学窓界面からの拡散反射光を分離した。経カテーテル的に取得した拡散反射光を石英光ファイバー (M29L02, ソーラボジャパン株式会社, 東京) に集光して計測光学系に伝送した。伝送された拡散反射光を凸レンズ (A240TM-B, ソーラボジャパン株式会社, 東京) (FL=8 mm, N.A. 0.30) で平行光にし、透過波長 690 nm のロングパスフィルタ (XF600, 朝日分光株式会社, 東京) を 2 枚、および透過率 5% および 70% の可視光用反射型固定式 ND フィルタ (FND-30C02-5, FND-30C02-70, シグマ光機株式会社, 東京, 日本) を各 1 枚用いて光強度を減衰させた。レンズ (A397TM-B, ソーラボジャパン株式会社, 東京) (FL=11 mm, N.A. 0.50) を用いて集光し、マルチチャンネル検出器 (PMA-11 C8808-01, 浜松ホトニクス株式会社, 静岡) に入射して、積算時間 100 ms にて波長 660.22 nm 光の強度変化を経時計測した。

実験動物は LW 種雌豚 1 頭 (体重約 52.3 kg, 月齢 4 ヶ月) を用いた。塩酸ケタミン注射液 (ケタラール; 第一三共プロファーマ株式会社, 東京) を 2 mg/kg と塩酸キシラジン (セラクタール; バイエル薬品株式会社, 東京) を 2 mg/kg 筋肉注射して鎮静させ、マスクを用いて 5% イソフルラン (フォーレン; アボットジャパン株式会社, 東京) の麻酔ガスを流量 1.5~2.0 L/min で導入して麻酔状態にした。気管挿管を行い、2.5% イソフルランの麻酔混合ガスを流量 1.5~2.0 L/min にて導入して吸入麻酔に切り替え、全身麻酔状態を維持した。実験中は四肢誘導心電図、動脈圧、酸素分圧を記録した。大腿鼠蹊部皮膚を切開して大腿静脈を露出し、8 Fr. のロングシース (Fast-Cath SR0; St. Jude Medical, CA, USA) を挿入した。X 線透視画像を確認しながらレーザカテーテルを右心房内腔に挿入し、レーザ光照射を行う位置を決定した。タラポルフィンナトリウムを生理食塩水 (大塚生食, 大塚製薬株式会社, 東京) に溶解し、7.5 mg/kg の濃度にて約 1 min にて単回静脈投与した。投薬から 15 min 後から 50 min 後まで、レーザカテーテル出射端の放射束を 919 mW、放射照度 60 W/cm<sup>2</sup> の条件にて、一カ所あたり 40 s 間、照射位置を変えて 9 カ所に行った。本実験におけるレーザ光照射条件は、レーザ光照射による血液の熱凝固・炭化物を確実に発生させる目的で選択した。照射終了後、レーザカテーテルを取り出し、熱凝固物付着の有無を確認した。

#### 6.4.1.2 実験結果

全ての光照射終了後、レーザカテーテルを体外へ取り出して先端光学窓を目視にて観察したところ、炭化物の付着が確認された。レーザカテーテル先端光学窓に損傷はみられなかった。また、レーザカテーテルによる励起光の伝送率は実験前と変化がないことを確認した。図 6-11 に示した。計測した拡散反射光強度経時変化の一例として、5 ポイント間の移動平均をとった光照射 8 回目における拡散反射光強度経時変化を図 6-12 に示した。全ての光照射において、類似した周期的な拡散反射光強度の変動が見られた。これは、拍動によりレーザカテーテルの組織接触状態が変化するためであると考えられた。図 6-12 に関し

て、光照射開始から 4 s 間の拡散反射光強度の増加はレーザ装置の立ち上がりであると考えられた。光照射開始から 15 s 後に拡散反射光強度の減少が見られた。この減少は 6.2 部および 6.3 部にて示した *ex vivo* 実験における拡散反射光強度の減少傾向に類似しており、*in vivo* 動物実験においても血液-光学窓界面において同様の血液熱変性過程が進行していること、また *in vivo* カテーテルインターベンション下においてもその過程を検出し得る可能性があることと示唆された。

#### 6.4.2 血液-光学窓界面の発熱過程における血液焦げ付き前駆状態の検出性能調査 (*ex vivo*)

これまで血液-光学窓界面におけるレーザ光照射による熱凝固物生成までの発熱に伴う血液熱変性過程を拡散反射光強度経時計測により追跡可能であることを示してきた。本節では、熱凝固物の生成が生じる前段階を拡散反射光強度計測によって検出する性能を調査し、拡散反射光強度経時計測による熱凝固物生成未然防止の実用性を検討した。6.3 部の光学特性経時計測実験にて得られた拡散反射光強度経時変化計測結果を用いて解析を行った。

##### 6.4.2.1 実験方法

6.3 部に記した双積分球計測系にて計測した赤色レーザ光照射中の拡散反射光強度経時計測結果において、拡散反射光計測によって熱凝固物生成前段階を判定する精度を調査した。血液モデルにおいて光照射による熱凝固物が生じる 5~20 s 前を熱凝固物生成前段階と設定した。測定した拡散反射光強度の時間勾配を  $\Delta t = 5, 10$  s として算出し、その値が設定した閾値  $-2.5 \times 10^{-5} \sim -0.2 \times 10^{-3}$  を下回った場合に熱凝固物生成前段階と判定した。閾値の設定は、検知し得る値を任意に選択した。

臨床において診断や検出の精度を検証する際に一般的に用いられる精度指標である sensitivity、false positive、オッズ比を算出して ROC 曲線 (Receiver Operating Characteristic curve) を描き、熱凝固物生成事前検出の精度を検討することとした [9-11]。本検討においては、sensitivity は熱凝固物生成前段階を正しく判定する確率を、false positive は非熱凝固物生成前段階を誤判定する確率を示す [9, 11]。オッズ比は 2 つの事象における相関の高さを示す指標であり、オッズ比が大きいほど熱凝固物生成前段階とその判別に強い相関があることを示す [11]。ROC 曲線は縦軸に sensitivity を、横軸に false positive をとり、検査の精度を評価する医学分野において一般的な手法である。熱凝固物生成過程における熱凝固物生成事前状態およびその検知は、実際に熱凝固物生成事前状態であるか否か、および熱凝固物生成事前状態を正しく検知したか否か、の組み合わせである計 4 つの事象に分類される。熱凝固物生成事前状態検知の分類表を表 6-1 に示した。表 6-1 中の A~D は、それぞれの事象の発生事象数であり、これらの値を用いて、sensitivity、false positive、オッズ比を以下のように算出できる [10]。

$$\text{Sensitivity} = \frac{A}{A+C} \quad (6.1)$$

$$\text{False positive} = 1 - \frac{D}{B+D} \quad (6.2)$$

$$\text{オッズ比} = 1 - \frac{A/D}{B/C} \quad (6.3)$$

#### 6.4.2.2 実験結果

拡散反射光強度経時計測による熱凝固物生成前段階検出における ROC 曲線を図 6-13 に示した。 $\Delta t=10$  s、閾値  $1.5 \times 10^{-5}$  の場合に最大オッズ比 2.72 をとり、このとき sensitivity: 0.88、false positive: 0.72 であった。これまでの報告では、臨床における診断や検査における検出精度は sensitivity: 0.7 以上、false positive: 0.01~0.4、オッズ比: 1~31 の範囲であることが多い [12-16]。これらと比べて本検討で得られた熱凝固物生成前段階検出の精度は、sensitivity およびオッズ比は劣らないが、false positive が高い点に課題がある。高い false positive 値を示した原因は、多くの場合、血液モデルが炭化するまで連続的に拡散反射光強度が減少をしていたために、実際の熱凝固物生成前段階よりも早期に検知が行われたことにある。熱凝固物生成前段階の検出アルゴリズムの工夫により検出性能の改善は可能であると考えられる。血液-光学窓界面の血液熱変性モニターの目的は、熱凝固物の生成を事前に予知して警報を発する、あるいは生成予防策を講じる、といった安全装置として治療時に運用することにあるため、sensitivity の高さがより重要になると考えられる。光線力学アブレーションを施行するためのレーザー光照射を阻害しない範囲で熱凝固物生成までの発熱に伴う血液熱変性過程を観測しその熱凝固物発生前段階を検出して熱凝固物の生成を防止することができれば、光線力学アブレーションの安全装置として利用可能であると考えられる。

#### 6.4.3 血液-光学窓界面の発熱過程における過熱防止法の運用実験 (*ex vivo*)

6.2 および 6.3 部までに血液-光学窓界面における熱凝固物生成過程はレーザー光照射による発熱に伴う血液熱変性によるものであることが明らかになった。血液-光学窓界面における発熱は単位時間あたりの投入エネルギー、すなわち放射照度に依存すると考えられることから、照射するレーザー光の放射照度を制御することによって発熱過程を制御し、熱凝固物生成を未然防止できる可能性があると考えられる。本節では、熱凝固物生成前段階において照射レーザー光の放射照度を減少することによって熱凝固物生成を防止可能であるか、*ex vivo* 実験にて検証した。

##### 6.4.3.1 実験方法

6.2.1 節にて記した顕微光学系および血液-光学窓界面モデルを用いて、レーザー光照射およ

び拡散反射光強度の経時計測実験を行った。コントロール計測として、血液-光学窓界面モデルに対して放射照度  $81.0 \text{ W/cm}^2$  にて血液モデルの炭化が生じるまで赤色レーザ光照射を行い、経時的に拡散反射光強度を計測した。本計測においては、コントロール計測と同条件にて光照射を行いながら拡散反射光強度を経時計測した。拡散反射光強度の経時変化に基づいて、拡散反射光強度が減少を示す熱凝固物生成前段階を任意に判断し、その時点で放射照度を当初の放射照度の 80%にあたる  $64.8 \text{ W/cm}^2$  に減少させた。熱凝固物生成前段階における拡散反射光強度は、光照射開始時の拡散反射光強度の 91.2~97.1%であった。光照射開始からの照射時間は 600 s または 1000 s とした。光照射終了後、血液-光学窓界面モデルを目視観察し、熱凝固物の生成有無を確認した。計測は N=5 行った。

#### 6.4.3.2 実験結果

コントロール計測と熱凝固物生成前段階判断後に放射照度を減少させたときの、拡散反射光強度変位の経時を図 6-14 に示した。放射照度を 80%に減少させるとレーザ光を 600 s または 1000 s 照射しても血液の炭化は発生せず、熱凝固物の生成は防止されたことがわかった。熱凝固物生成前段階判断後に放射照度を減少させ 600 s ないし 1000 s 光照射を行った際に投入した放射照射量は、コントロール計測において血液モデル炭化までに投入した放射照射量の 2.0~4.0 倍であった。すなわち、熱凝固物生成および血液炭化過程は放射照射量よりも放射照度に依存すると考えられる。放射照度を減少させることによって、血液-光学窓界面における温度上昇が緩やかになるため、熱伝導や光吸収・発熱体である赤血球の対流により、発熱部位の温度上昇が抑制されるためであると考えられる [17-18]。

### 6.5 考察

レーザ光照射中に血液-光学窓界面に存在する血液モデルの光学特性経時変化 (図 6-9) は、図 6-5 に示した赤血球の形態変化によるものであり、また赤血球の形態変化は、レーザ光照射による発熱によると考えられる。表 6-2 にレーザ光照射あるいは温浴による熱作用に伴う赤血球形態変化や光学特性の変化についての報告をまとめた [7, 21-25]。レーザ光照射条件などの加熱の方法が本研究とは異なるものの、熱作用による血液への影響の観点では同様の起きている可能性が高いと推測できることから、表 6-2 に示した報告から得られた知見と本研究にて得られた実験結果を比較して考察する。図 6-9 において光照射開始から 44 s まで  $\mu'_s$  は 4%増加した。この増加は図 6-5 (b) に見られる赤血球の球状化と凝集によるものであると考える。熱作用による赤血球の球状化や凝集は、レーザ光照射によるものと温浴によるものの両方において報告がある。例えば、波長 532 nm のパルスレーザ光を放射照射量 9, 10, 12  $\text{J/cm}^2$  にて照射すると赤血球の球状化が生じるとの報告がある [25]。また、25~55°C の温浴を行うと赤血球の集合および球状化が起こると報告されており [7]、おおよそ 44~46°C にて赤血球の集合および球状化が亢進すると言われている [19, 20]。一方、赤血球

の球状化および凝集による散乱特性の変化は多くの報告があり、各計測における実験条件や波長によって報告値が異なる。例えば、波長 663 nm において赤血球の球状化と凝集による  $\mu'_s$  の  $40 \pm 10\%$  増加 [21]、波長 800 nm において赤血球凝集による  $\mu'_s$  の 4% 減少などである [26]。本研究で得られた  $\mu'_s$  の増加およびその程度の妥当性は明らかでないが、赤血球の球状化および凝集による光学特性変化を検出できたと示唆された。次に、光照射開始から 30~60 s の間の幅広いピーク後から血液モデルの炭化前までの間に  $\mu'_s$  は 10% 減少した。同時に、図 6-8 に示した  $T_c$  は照射開始 53 s から 68 s までの間に 32% の増加を示した。 $\mu'_s$  の減少 (図 6-9) および  $T_c$  の増加 (図 6-8) は赤血球の溶血 (図 6-5 (c)) に関連付けられると考えられる。波長 488, 512 nm の連続レーザー光を 1~3 W にて光照射した場合や [22]、波長 630 nm の赤色光を放射照度  $191 \sim 293 \text{ mW/cm}^2$  にて照射した場合に溶血が起こると報告されており [24]、本実験においても同様の現象が起こったと考えられる。溶血による光学特性の変化については、浸透圧変化に伴う溶血による光学特性の変化を調査した例において、本研究で得られた結果と同様の溶血に伴う  $\mu'_s$  の減少が報告されている [29]。熱作用による溶血の原因は、浸透圧の変化や細胞膜の融解などの形態的变化であると考えられており、体温である  $37^\circ\text{C}$  を超えると徐々に生じ、さらに  $48 \sim 50^\circ\text{C}$  以上になると著しく進行する [18, 19, 26]。細胞膜脂質二重層の相転移温度は  $60 \sim 100^\circ\text{C}$  の範囲にあると言われ、その発生は投入エネルギーに依存する [27]。例えば、レーザー光照射による局所温度上昇を利用して脂質二重層のリン脂質をゲル相から液晶相へ相転移させたり、融解させて遺伝子や薬剤の送達を行う laser poration においては、脂質二重層の相転移は、レーザー光の波長や放射照度、光照射時間に依存する。具体的には、波長 488 nm の Ar レーザを放射照度  $2 \times 10^6 \text{ W/cm}^2$  にて 0.25~0.5 s 照射した場合や、波長 1064 nm の Nd:YAG レーザを放射照度  $1 \times 10^7 \text{ W/cm}^2$  にて 10~100 ms 照射した場合に発生するとの報告がある [27]。Ex vivo 実験における血液-光学窓界面におけるレーザー光照射による発熱に伴う温度上昇は明らかでないが、これらの報告と同様の温度上昇が生じていると考えられる。一方、 $\mu_a$  の変化に関しては、血液モデル炭化前まで連続的に 15% 増加を示しており、これは図 6-5 (b) に見られる赤血球の凝集による光吸収体であるヘモグロビンの密度が局所的に増加したためであると考えられる。血液-光学窓界面モデル内の血液モデル全体面積のうち、レーザー光照射される部分の面積は 1.7% であり、この部分でのみ局所的に発熱に伴う赤血球の凝集が生じると考えられる。レーザー光照射中、光照射部位外から照射部位へ対流によって赤血球が移動すると考えられる。赤血球の凝集はレーザー光照射部位において継続して生じると予想され、それ故に血液-光学窓界面における発熱が加速するものと考えられる。一方、図 6-9 で得られた  $\mu'_s$  の経時変化は、顕微計測系にて得た拡散反射光強度経時変化 (図 6-4)、特に血液モデルの炭化直前に見られる拡散反射光強度減少傾向は類似している。これより、拡散反射光強度は前述した赤血球の形態変化に伴う光学特性変化によるものであると考えられる。以上まとめると、血液-光学窓界面モデルを用いた ex vivo 実験により、レーザー光照射に伴う血液-光学窓界面における熱凝固物生



成過程は、光照射による発熱による赤血球形態変化、すなわち熱変性に由来する光学特性変化に基づいており、拡散反射光強度変化にてその熱変性過程を説明できること、また経時的に拡散反射光強度を計測することにより熱凝固物生成過程を検出しその生成を未然に予測できることを見出した。

6.4.1 節では *ex vivo* 実験で明らかになった拡散反射光強度計測による熱凝固物生成過程検出に関して、カテーテルインターベンション下での *in vivo* 動物実験においても同様に熱凝固物生成過程を検出可能であるか調査した。光照射中に経カテーテル的に拡散反射光強度の経時変化を捉えたが、全 9 回の光照射後にレーザカテーテル先端光学窓に熱凝固物が付着し炭化していることが確認されたため、熱凝固物が生成された時点は本実験からは明らかでない。しかし、図 6-12 に示した *in vivo* 経カテーテル的に取得した拡散反射光強度経時変化は図 6-8 に示した反射率経時変化および図 6-9 の  $\mu_s$  経時変化に類似しており、*in vivo* 光線力学アブレーション運用中に熱凝固物生成過程を捉えていた可能性は否定できない。これより、*in vivo* 心内腔における経カテーテル的な光線力学アブレーション施行時においても血液-光学窓界面において同様の光学現象が生じており、経カテーテル的な拡散反射光強度経時計測によって血液-光学窓界面の熱凝固物生成過程を検出できる可能性が示唆された。しかし、*in vivo* 経カテーテル的な運用下ではカテーテル先端光学窓およびカテーテル内の光ファイバーが伝送路にあるため、*ex vivo* 実験における拡散反射光計測よりも光損失が大きいこと、また拍動する心内腔での光学計測であるのでカテーテル接触位置の変化や血流の影響を受けるため、光照射による熱凝固物生成過程は複雑になるといった困難がある。これらの課題を克服するアルゴリズムが今後必要になると考えられる。

本章で検討を行った血液熱変性モニターは拡散反射光強度経時計測をモニター方法として採用している。拡散反射光計測により生体組織の熱変性を観測する方法は、非侵襲的に生体組織の物理情報を取得可能であることから、多くの応用が検討されてきた。例えば、消化器内視鏡や血管内視鏡による組織観察および分光を利用した組織診断支援や [34, 35]、組織に照射した光と拡散反射光との干渉を利用して組織性状の断面画像を取得する光干渉断層法 (optical coherence tomography; OCT) があり、臨床にて広く利用されてきている [36]。一方、組織の熱変性を観測する方法も多くの報告がある。例えば、組織熱変性に伴って散乱が増加することを利用して、レーザ光照射による網膜の熱変性を拡散反射光強度計測によって観測し、熱変性領域の面積を予測する方法や [37]、レーザ光照射による組織熱変性を反射観察によってイメージングする方法 [38]、コラーゲンの熱変性に伴う複屈折の解消を利用した皮膚における反射偏光計測などがある [39]。一方、血液の熱変性に関しては、過加熱によるレーザ光照射デバイスの破壊を防止することを目的として、発生した組織や血液の炭化物を検知する技術が報告されてきた [30-33]。表 5-1 に示したように、発生した炭化物に可視光あるいは近赤外を光照射してその拡散反射光を計測したり [30-32]、炭化物の黒体放射を検出する [33]、といった光学的手法に基づいて炭化物を観測する方法の報告

がある。しかし、いずれも発生した炭化物を検出する技術であり、事前に炭化物の発生を検出することはできなかった。6.4.2 節において、拡散反射光強度経時計測により臨床応用可能な精度にて熱凝固物生成前段階を検出可能であることが示され、施術中の熱凝固物生成過程を観測する血液熱変性モニターとして実用性を有することが示された。また 6.4.3 節において、熱凝固物生成前段階検出後に放射照度を減少させることにより熱凝固物の生成を防止できることが明らかになった。血液熱変性モニターは、生体におけるモニター法として一般的な拡散反射光強度計測を利用したモニターであるが、熱作用による血液の熱凝固・炭化物を未然に検知できること、また熱凝固・炭化物の事前検知後に放射照度を制御することによってこれまでは不可能であった熱凝固物生成過程を追跡し、その生成を未然に防止できることから、既存の炭化物検知技術に対して優位性があると考えられる。また、血液熱変性モニターは、主に光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療における治療安全運用のためのモニターとしての利用を構想しているが、光線力学アブレーションに限らず、血中雰囲気で行われるレーザー外科術やレーザー血管形成術といったレーザー治療においても広く応用可能であり、安全な血中レーザー光照射を可能にすると考えられる。

## 6.6 本章の適用範囲

本章で提案した拡散反射光強度経時計測による血液-光学窓界面における血液熱変性モニターに実用性があることは 6.5 部で述べた通りであるが、適用可能な範囲に限りがある。第一に、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療におけるモニター運用時に熱凝固物発生前段階を検出可能な精度が不明であることが挙げられる。光線力学アブレーションを行った際の熱凝固物生成過程に関して *ex vivo* 実験では未調査であるため、また 6.4.1 節で述べた *in vivo* 動物実験時の拡散反射光強度経時計測実験においては、どの時点で熱凝固物が発生し炭化したのか不明であるためである。また、血液熱変性モニターは励起光の拡散反射光強度の時間変化に基づいているために、*in vivo* 運用下では種々の外乱の影響を受けやすく、検出精度が低下する可能性も考えられる。第二に、本研究では光線力学アブレーションに使用する中心波長 663 nm の赤色光を使用しているが、照射する光の波長が異なった場合には血液の光学特性も変化するので、血液-光学窓界面の血液と光の相互作用および、拡散反射光強度計測によって取得できる血液熱変性に関する情報は異なると予想される [2]。血液による光散乱が吸収よりも十分に大きい赤色光や近赤外光であれば本法と同様の手法で検出が可能であると考えられるが、吸収が散乱よりも支配的な波長域においてはその限りではないと考えられる。第三に、血液-光学窓界面の形状が変化した場合には、拡散反射光強度およびその変化量も変化する可能性がある。

## 6.7 結言

本章では血液-光学窓界面においてレーザ光照射に伴う発熱によって生じる危険性のある熱凝固物に関して、その生成過程を拡散反射光強度経時計測により検出可能であること、またその拡散反射光強度経時変化は発熱に伴う赤血球形態変化による血液光学特性変化に起因することを明らかにした。提案した血液-光学窓界面の血液熱変性モニターは、*in vivo* 経カテーテル的な運用が可能であり、臨床において十分な実用性を有することを示した。

## 参考文献

- [1] A. Douplik, A. A. Strattonnikov, V. B. Loshchenov, V. S. Lebedeva, V. M. Derkacheva, A. Vitkin, V. D. Romyanceva, S. G. Kusmin, A. F. Mironov, and E. A. Luk'Yanets, "Study of photodynamic reactions in human blood," *J Biomed Opt*, vol. 5, pp. 338–349, 2000.
- [2] W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, "A review of the optical properties of biological tissues," *IEEE J Quantum Elect*, vol. 26, pp. 2166–2185, 1990.
- [3] J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, H. J. C. M. Sterenborg, and M. J. C. van Gemert, "Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue," *Appl Opt*, vol. 32, pp.399–410, 1993.
- [4] J. F. Beek, P. Blockland, P. Posthumus, M. Aalders, J. W. Pickering, H. J. C. M. Sterenborg, and M. J. C. van Gemert, "In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm," *Phys Med Biol*, vol. 42, pp. 2255–2261, 1997.
- [5] Oregon Medical Laser Center, Inverse Adding-Doubling (May, 2014), Available: <http://omlc.ogi.edu/software/iad/index.html>
- [6] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert, and A. J. Welch, "Determining the optical properties of turbid media using the adding-doubling method," *Appl Opt*, vol. 32, pp. 559–568, 1993.
- [7] A. M. K. Nilsson, G. W. Lucassen, W. Verkruyssen, S. Andersson-Engels, and M. J. C. van Gemert, "Changes in optical properties of human whole blood in vitro due to slow heating," *Photochem Photobiol*, vol. 65, pp. 366–373, 1997.
- [8] T. Y. Tsong and E. Kingsley, "Hemolysis of human erythrocyte induced by a rapid temperature jump," *J Biol Chem*, vol. 250, pp. 786–789, 1975.
- [9] P. M. Bossuyt, J. B. Reitsma, D. E. Bruns, C. A. Gastonis, P. P. Glasziou, L. M. Irwig, D. Moher, D. Rennie, H. C. W. de Vet, and J. G. Lijmer, "The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration," *Clin Chem*, vol. 49, pp. 7–18, 2003.
- [10] 有田 清三郎, *医療のための統計学 データ解析の基礎と応用*, 東京: 医歯薬出版株式会社, 1999, pp. 45–61.
- [11] B. C. K. Choi, "Sensitivity and specificity of a single diagnostic test in the presence of work-up bias," *J Clin Epidemiol*, vol. 45, pp. 581–586, 1992.
- [12] K. G. M. Moons, G. van Es, J. W. Deckers, J. D. F. Habbema, and D. E. Grobbee, "Limitations of sensitivity, specificity, likelihood ratio, and bayer's theorem in assessing diagnostic probabilities: a clinical example," *Epidemiology*, vol. 8, pp. 12–17, 1997.
- [13] H. Smith, R. M. Pickering, A. Struthers, I. Simpson, and D. Mant, "Biochemical diagnosis of ventricular dysfunction in elderly patients in general practice: observational study," *Brit Med J*,

- vol. 320, pp. 906–908, 2000.
- [14] M. A. Hilatky, D. B. Pryor, F E. Harrell, R. M. Califf, D. B. Mark and R. A. Rosati, “Factors affecting sensitivity and specificity of exercise electrocardiography,” *Am J Med*, vol. 77, pp. 64–71, 1984.
- [15] 井上 啓史, 執印 太郎, “蛍光膀胱鏡による表在性膀胱癌の光力学的診断,” *日本レーザー医学会誌*, vol. 29, pp. 147–152, 2008
- [16] 福原 秀雄, 井上 啓史, 濱口 卓也, 久野 貴平, 大河内 寿夫, 深田 聡, 辛島 尚, 鎌田 雅行, 執印 太郎, 阪倉 直樹, 笠原 高太郎, 渡邊 裕修, 香西 哲夫, 安田 雅春, 片岡 真一, 谷村 正信, 倉林 睦, 降幡 睦夫, “膀胱癌115例における光線力学的診断 (PDD) の診断精度,” *日本レーザー医学会誌*, vol. 30, pp. 387–393, 2010.
- [17] D. Zhu, Q. Luo, G. Zhu, and W. Liu, “Kinetic thermal response and damage in laser coagulation of tissue,” *Laser Surg Med*, vol. 31, pp. 313–321, 2002.
- [18] N. L. Gershfeld and M. Murayama, “Thermal instability of red blood cell membrane bilayers: temperature dependence of hemolysis,” *J Membr Biol*, vol. 101, pp. 67–72, 1988.
- [19] L. Cordone, A. Cupane, M. Leone, and E. Vitrano, “Optical absorption spectra of deoxy- and oxyhemoglobin in the temperature range 300–20K,” *Biophys Chem*, vol. 24, pp. 259–275, 1986.
- [20] T. H. Ham, R. W. Sayre, R. F. Dunn, and J. R. Murphy, “Physical properties of red cells as related to effects in vivo. II. Effect of thermal treatment on rigidity of red cells, stroma and sickle cell,” *Blood*, vol. 32, pp. 862–871, 1968.
- [21] F. J. Neumann, H. Schmid-Schonbein, and H. Ohlenbusch, “Temperature-dependence of red cell aggregation,” *Eur J Phys*, vol. 408, pp. 524–530, 1987.
- [22] G. S. Abela, F. Crea, W. Smith, C. J. Pepine, and C. R. Conti, “In vitro effects of argon laser radiation on blood: quantitative and morphologic analysis,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 5, pp. 231–237, 1985.
- [23] T. J. Pfefer, B. Choi, G. Vargas, K. M. McNally, and A. J. Welch, “Pulsed laser-induced thermal damage in whole blood,” *J Biomed Eng*, vol. 122, pp. 196–202, 2000.
- [24] F. Fischer, M. Aulmann, W. Maier-Borst, and W. J. Lorentz, “Blood cell damage after in vitro irradiation of fresh whole blood with 630 nm laser light,” *Blood Cells Mol Dis*, vol. 24, pp. 385–395, 1998.
- [25] J. F. Black and J. K. Barton, “Chemical and structural changes in blood undergoing laser photocoagulation,” *Photochem Photobiol*, vol. 80, pp. 89–97, 2004.
- [26] L. S. Sewchand, “Stability ratio of red blood cells; its dependence on temperature and its relationship to the erythrocyte sedimentation rate,” *J Cell Sci*, vol. 52, pp. 341–349, 1981.
- [27] G. Palumbo, M. Caruso, E. Crescenzi, M. F. Tecce, G. Roberti, and A. Colasanti, “Targeted

- gene transfer in eukaryotic cells by dye-assisted laser optoporation,” *J Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 36, pp. 41–46, 1996.
- [28] S. V. Tsinopoulos, E. J. Sellountos, and D. Polyzos, “Light scattering by aggregated red blood cells,” *Appl Opt*, vol. 41, pp. 1408–1417, 2002.
- [29] A. Roggan, M. Friebel, K. Dorschel, A. Hahn, and G. Muller, “Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm,” *J Biomed Opt*, vol. 4, pp. 34–36, 1999.
- [30] S. Hessel and G. Hauptmann, “Surgical laser instrument,” US Patent US005098427A, 1992.
- [31] J. D. Brown, “Endovascular method and apparatus with electrical feedback,” US Patent US20070167937A1, 2007.
- [32] J. D. Brown, “Laser delivery apparatus with safety feedback system,” US Patent US20090062782A1, 2009.
- [33] C. A. Lieber and S. Sharareh, “Optical pyrometric catheter for tissue temperature monitoring during cardiac ablation,” US Patent US20090005771A1, 2009.
- [34] M. F. Grahn, M. L. De Jode, M. G. Dilkes, J. K. Ansell, D. Onwu, J. Maudsley, and N. S. Williams, “Tissue photosensitizer detection by low-power remittance fluoimetry,” *Laser Med Sci*, vol. 12, pp. 245–252, 1997.
- [35] M. C. Pierce, D. J. Javier, and R. Richards-Kortum, “Optical contrast agents and imaging systems for detection and diagnosis of cancer,” *Int J Cancer*, vol. 123, pp. 1079–1090, 2008.
- [36] J. G. Fujimoto, M. E. Brezinski, G. J. Tearney, S. A. Boppart, B. Bouma, M. R. Hee, J. F. Southern, and E. A. Swanson, “Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography,” *Nat Med*, vol. 1, pp. 970–972, 1995.
- [37] W. S. Weinberg, R. Birngruber, and B. Lorenz, “The change in light reflection of the retina during therapeutic laser-photocoagulation,” *IEEE J Quantum Elect*, vol. QE-20, pp. 1481–1489, 1984.
- [38] Y. Yand, M. S. Markow, H. G. Rylander, W. S. Weinberg, and A. J. Welch, “Reflectance as an indirect measurement of the extent of laser-induced coagulation,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 37, pp. 466–473, 1990.
- [39] A. P. Sviridov, D. A. Zimnyakov, Y. P. Sinichkin, L. N. Butvina, A. J. Omelchenko, G. S. Shakh, and V. N. Bagratasgvili, “Attenuated total reflection fourier transform infrared and polarization spectroscopy of *in vivo* human skin ablated, layer by layer, by erbium:YAG laser,” *J Biomed Opt*, vol. 9, pp. 820–827, 2004.
- [40] H. J. Geschwind, G. Boussignac, B. Teisseire, N. Benhaïem, R. Bittoun, and D. Laurent, “Conditions for effective Nd:YAG laser angioplasty,” *Br Heart F*, vol. 52, pp. 484–489, 1984.

## 図表

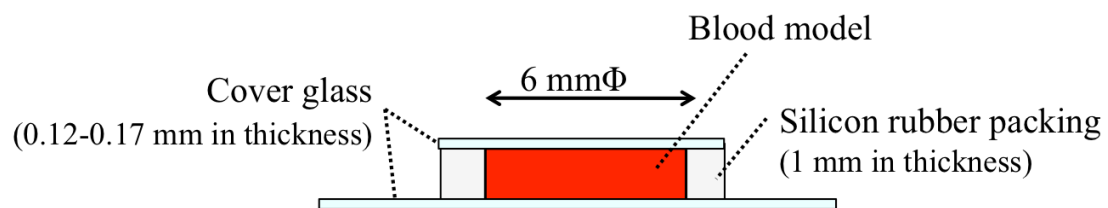


図 6-1 血液-光学窓界面モデルの模式図

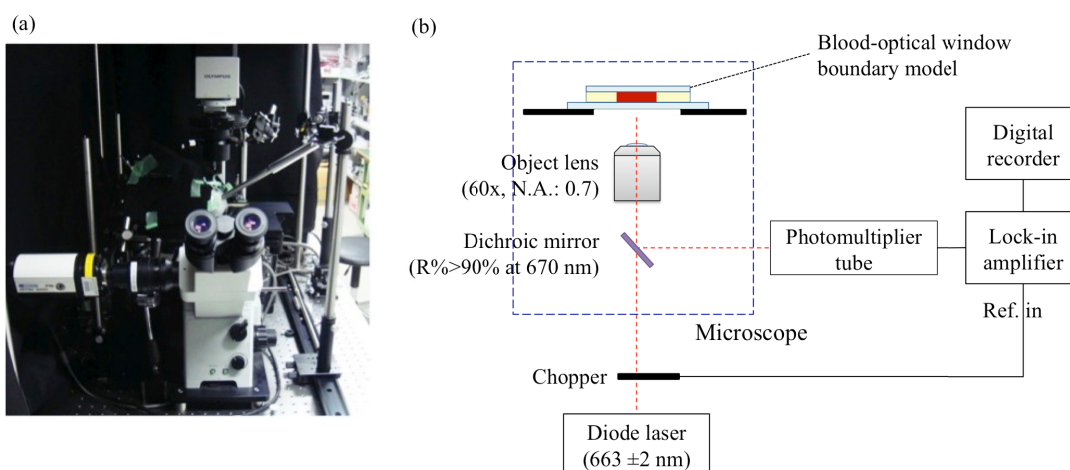


図 6-2 赤色レーザー光照射中の拡散反射光強度経時測定用に構築した顕微計測系

(a) 構築した顕微計測系の外観

(b) 顕微計測系の光学系の概要

顕微計測系内のダイクロイックミラーの透過特性は図 6-3 に示した。



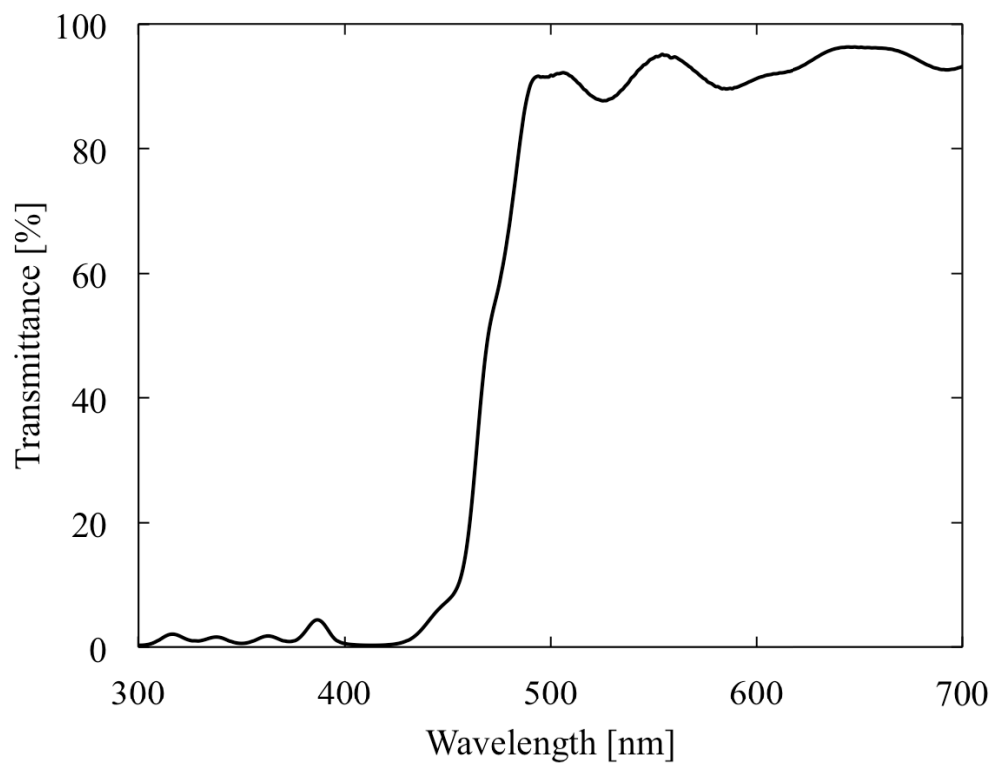


図 6-3 顕微計測系にて使用したダイクロミックミラー (770DCXR, Chroma Technology Corp.) の透過スペクトル

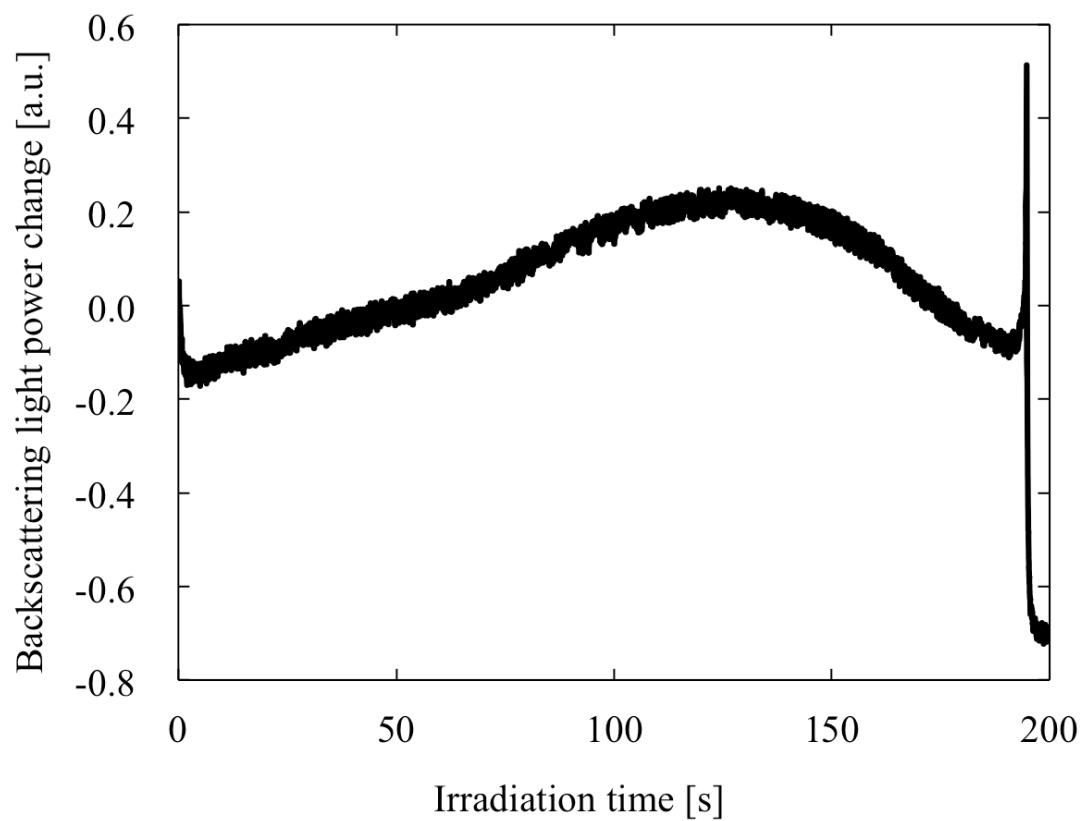


図 6-4 顕微計測系において測定した血液-光学窓界面モデルからの拡散反射光強度変位の経時変化

血液-光学窓界面に経対物レンズにて赤色レーザー光を放射照度  $81.0 \text{ W/cm}^2$  にて照射した。レーザー光照射開始時点を基準として、拡散反射光強度の変化量を算出した。

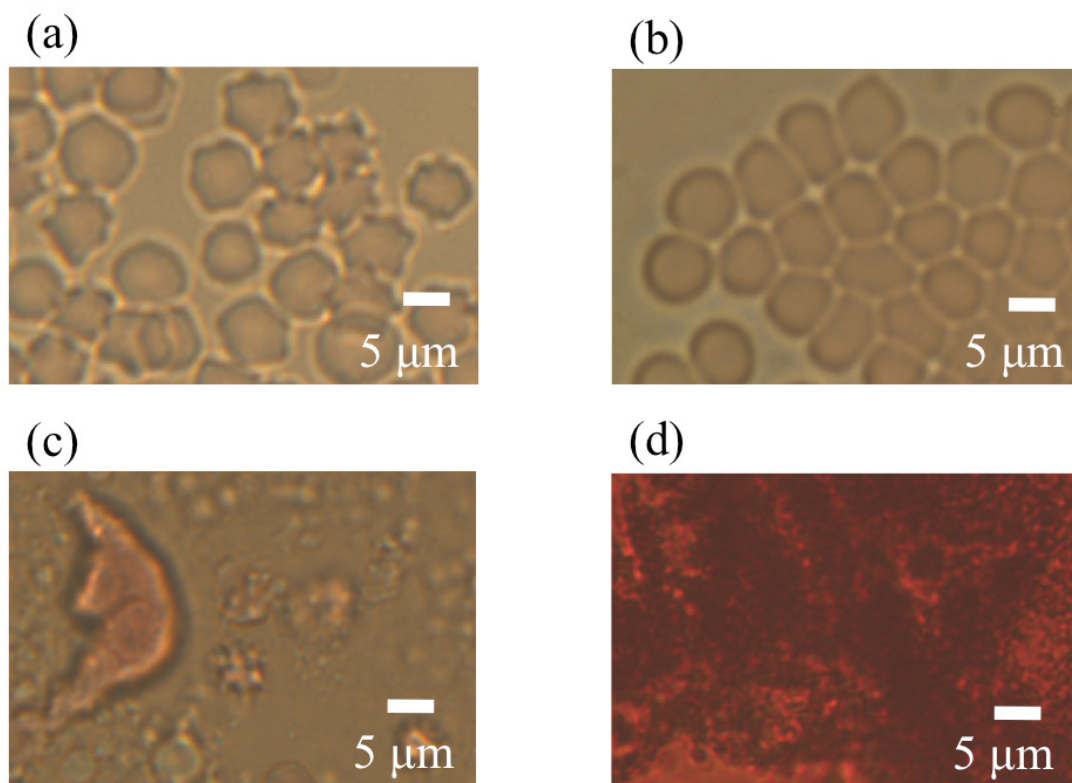


図 6-5 放射照度  $2.3 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射を行った際の赤血球形状  
血液モデルに対して放射照度  $2.3 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射したときの赤血球形状を  
倍率 60 倍の対物レンズにて明視野顕微観察した。

- (a) 光照射前
- (b) 照射 5 s 後、赤血球の球状化および凝集
- (c) 照射 10 s 後、溶血
- (d) 照射 15 s 後、炭化

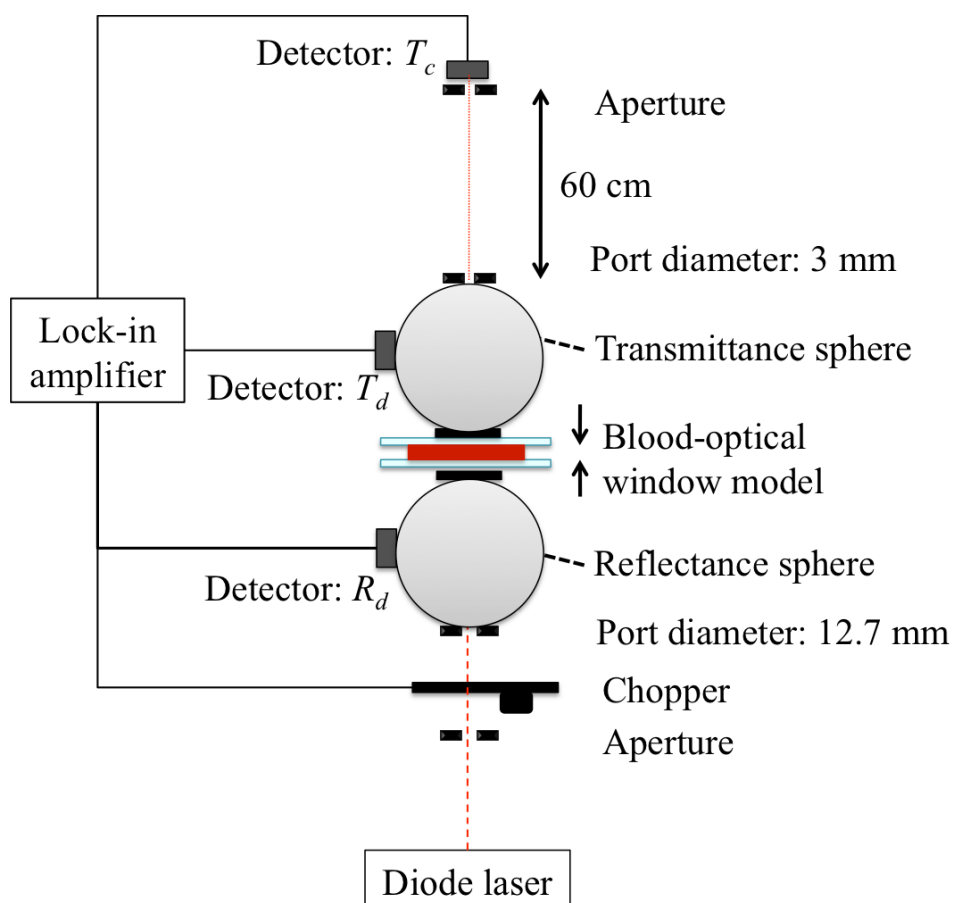


図 6-6 光学特性経時計測のために構築した双積分球系の概要

血液-光学窓界面モデルに対して波長 663 nm のレーザー光を放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にて照射し、経時的に拡散透過率  $T_d$ 、拡散反射率  $R_d$ 、コリメート透過率  $T_c$  を計測した。

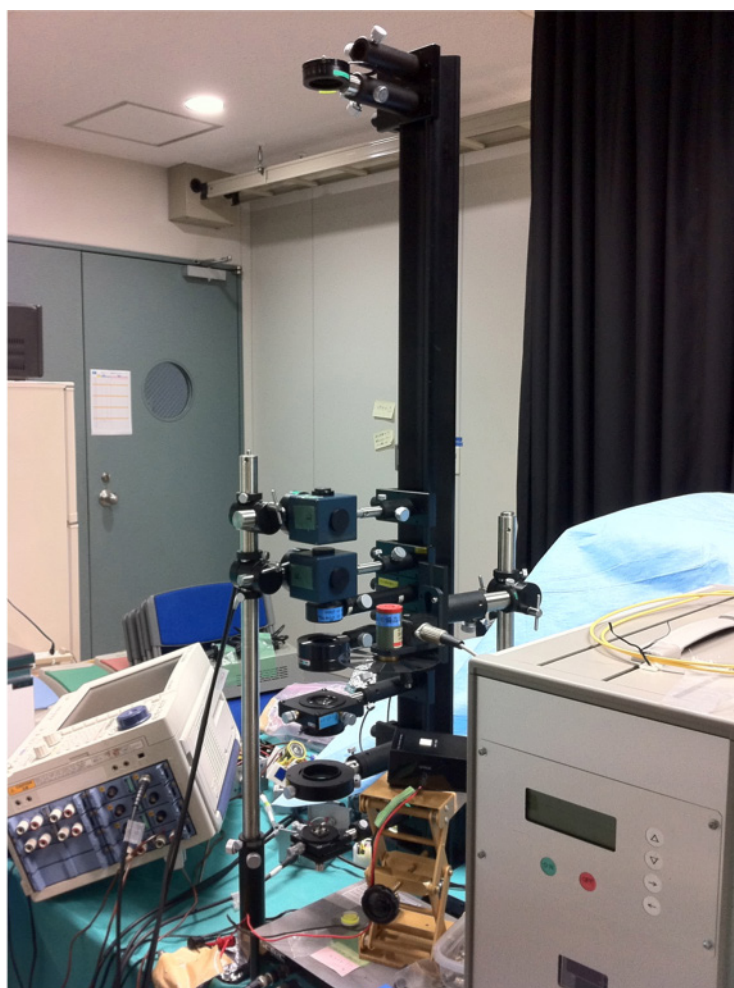


図 6-7 光学特性経時計測のために構築した双積分球系の外観

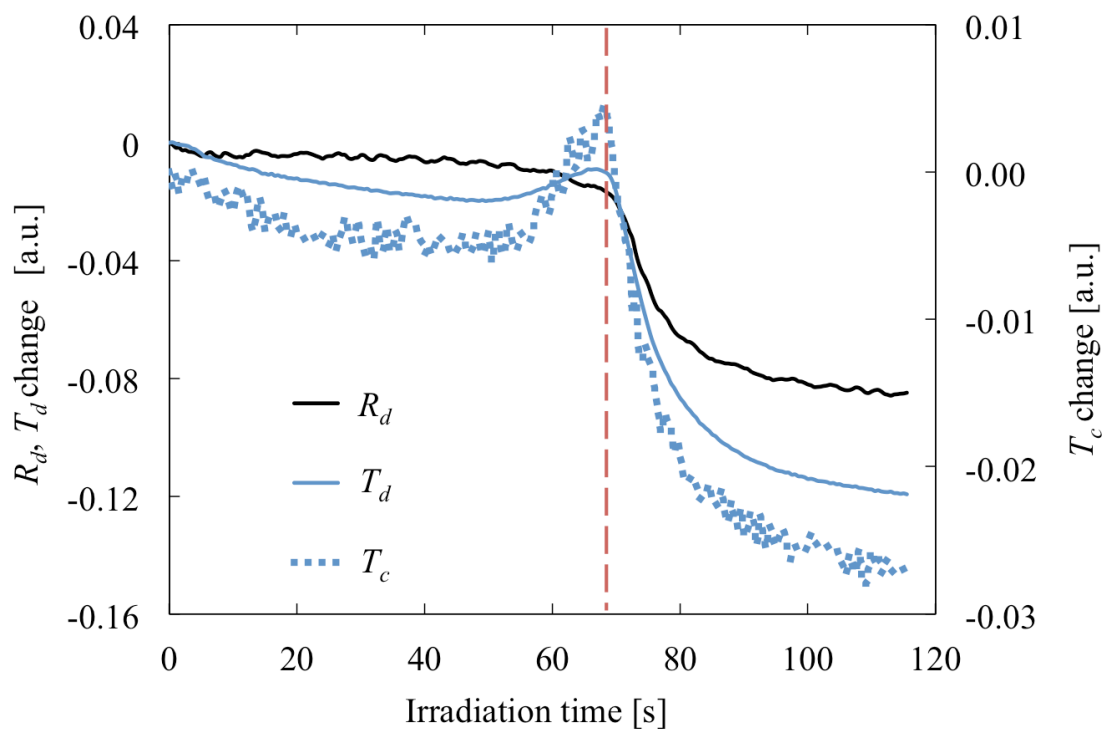


図6-8 血液-光学窓界面モデルに対して放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射を行った際の  $R_d$ 、 $T_d$ 、 $T_c$  の変位の時間変化

構築した双積分球計測系において、血液-光学窓界面モデルに対して放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射を行った。

黒色実線:  $R_d$

青色実線:  $T_d$

青色点線:  $T_c$

赤色点線: 炭化発生時点

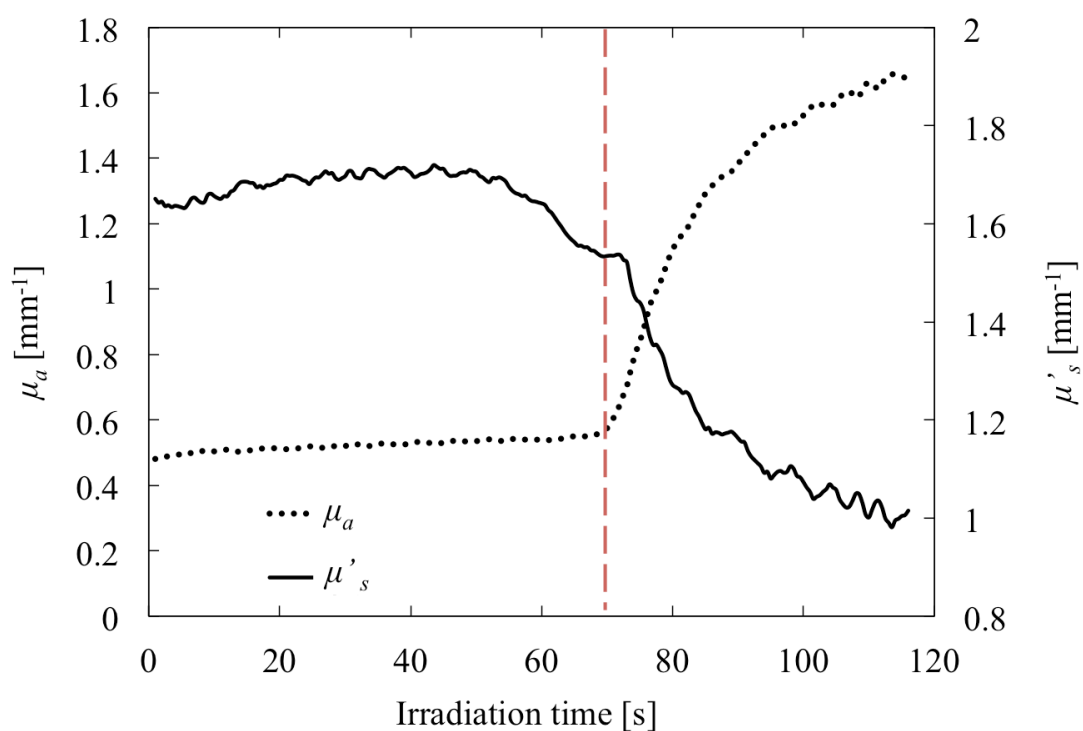


図 6-9 血液-光学窓界面血液に対して放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射を行った際の  $\mu_a$  および  $\mu'_s$  の経時変化

構築した双積分球計測系において、血液-光学窓界面モデルに対して放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にてレーザー光照射を行って取得した図 6-8 に示した  $R_d$ 、 $T_d$ 、 $T_c$  の時間変化を用いて、Inverse adding doubling 法により  $\mu_a$  および  $\mu'_s$  を算出した。赤色点線は炭化発生時点を示す。

点線:  $\mu_a$

実線:  $\mu'_s$

赤色点線: 炭化発生時点

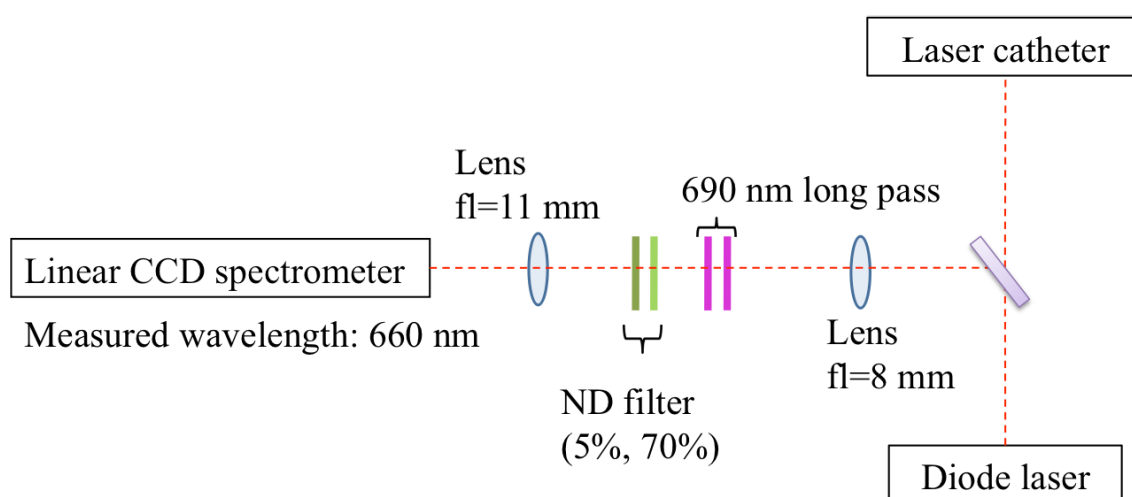


図 6-10 経カテーテル的拡散反射光強度経時計測のための光学系の概要

CCD 分光器への戻り励起光 ( $663 \pm 2$  nm) の強度を減少させるため、2 枚のロングパスフィルタ (690 nm; XF584, 朝日分光株式会社) を利用した。このフィルタの透過特性は図 4-10 に示した。



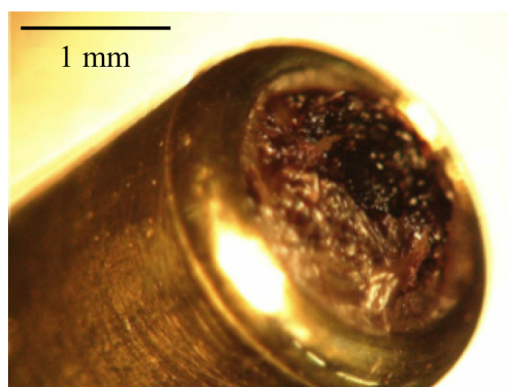


図6-11 ブタ右心房において放射照度  $60\text{W}/\text{cm}^2$  にて光線力学アブレーションを行った際にレーザーカテーテル先端光学窓に付着した熱凝固物  
タラポルフィンナトリウムを  $7.5\text{ mg}/\text{kg}$  投与したブタの下大静脈と三尖弁輪間に存在する解剖学的峽部に対して、放射照度  $60\text{ W}/\text{cm}^2$ 、一カ所あたりの光照射時間  $40\text{ s}$  にて9カ所に光照射を行った後にレーザーカテーテル先端を確認した。

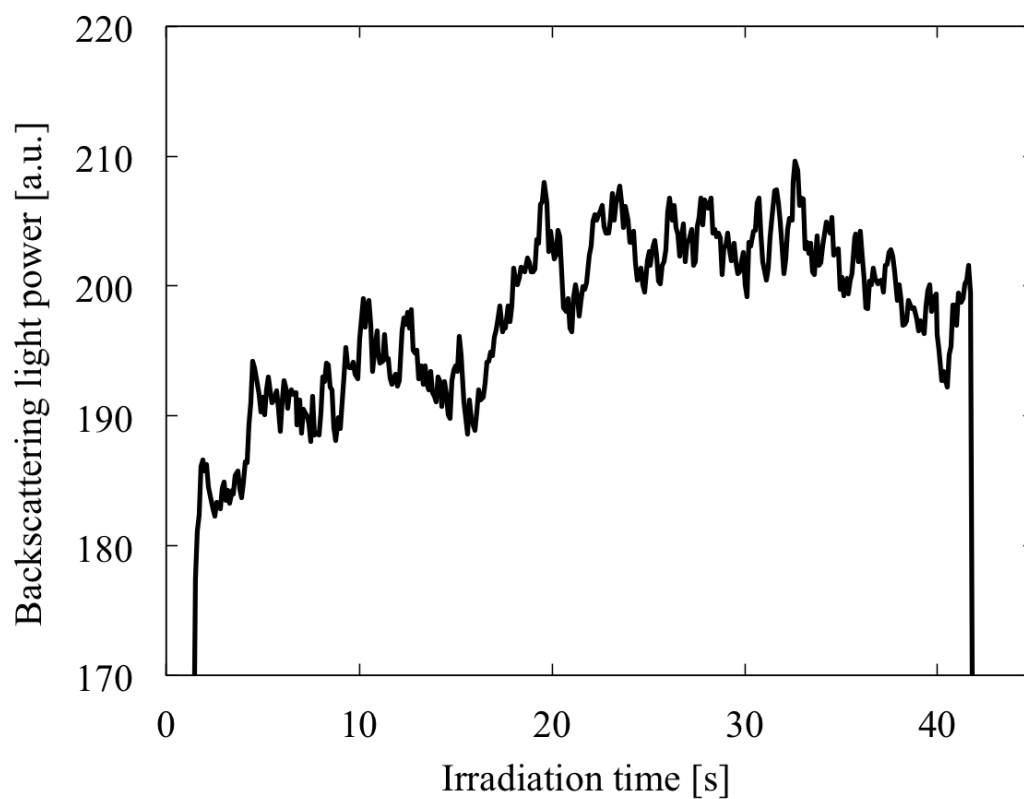


図 6-12 ブタ右心房において放射照度  $60 \text{ W/cm}^2$  にて光線力学アブレーションを行った際に、レーザ光照射 8 回目に計測した経カテーテル的拡散反射光強度経時変化  
ブタ右心房の解剖学的峽部に対して、1 カ所あたり、 $40 \text{ s}$ 、 $60 \text{ W/cm}^2$  にて光線力学アブレーションを計 9 回行った。レーザ光照射中、経時的に励起光の拡散反射光強度を計測した。照射開始から  $15 \text{ s}$  後に拡散反射光強度の減少傾向がみられた。

表 6-1 熱凝固物生成事前検知精度検討のための熱凝固物生成過程の分類表

(文献 [10]より引用改変)

熱凝固物生成過程における熱凝固物生成事前状態およびその検知は、実際に熱凝固物生成事前状態であるか否か、および熱凝固物生成事前状態を正しく検知したか否か、の組み合わせである計 4 つの事象に分類される。分類表中の A~D は、精度指標である sensitivity および false positive を求めるときに利用する(6.1)式および(6.2)式内の A~D に同じである。A~D はそれぞれの事象の発生事象数である。

		Actual state (whether it was actually the precursor state of charring or not)	
		Precursor state	Non precursor state
Judgement result (judgement of the precursor state of charring)	Positive	A	B
	Negative	C	D

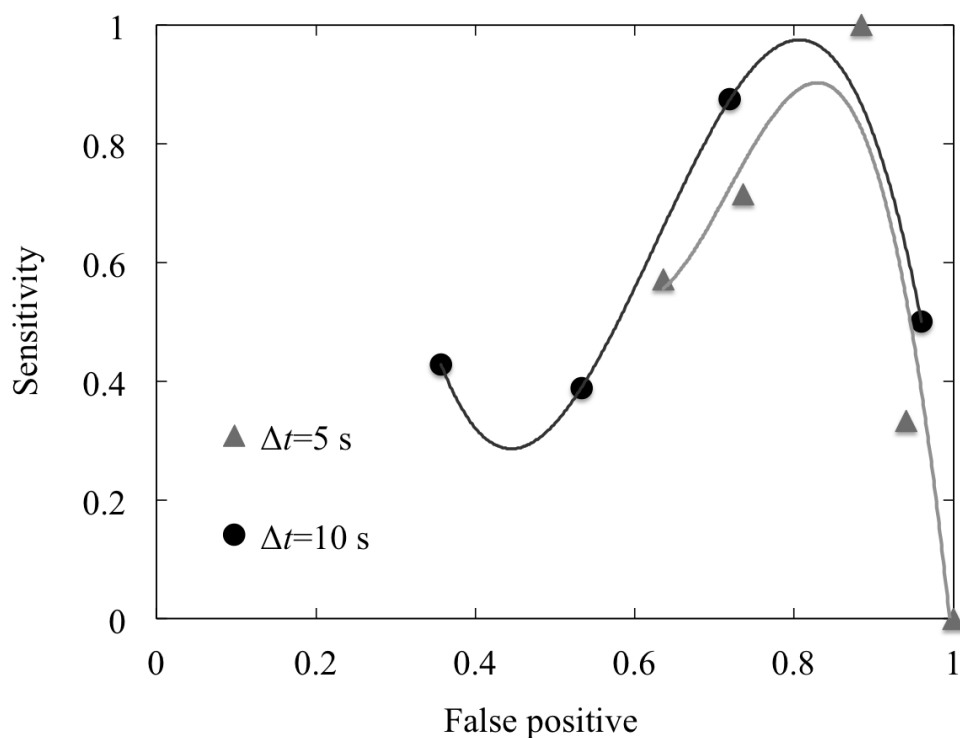


図 6-13 拡散反射光強度経時計測による血液熱凝固物生成前段階検出における ROC 曲線

6.3 部に記した双積分球計測系にて計測した放射照度  $40 \text{ W/cm}^2$  にて赤色レーザー光を光学窓界面モデルに照射したときの拡散反射光強度経時計測結果を使用した。熱凝固物が生じる 5~20 s 前を熱凝固物生成前段階と設定し、任意に定めた閾値にて熱凝固物生成前段階の検出能を調査した。 $\Delta t = 10$  s、閾値  $1.5 \times 10^{-5}$  の場合に最大オッズ比 2.72 をとり、このとき sensitivity: 0.88、false positive: 0.72 であった。

●:  $\Delta t = 10$  s

▲:  $\Delta t = 5$  s

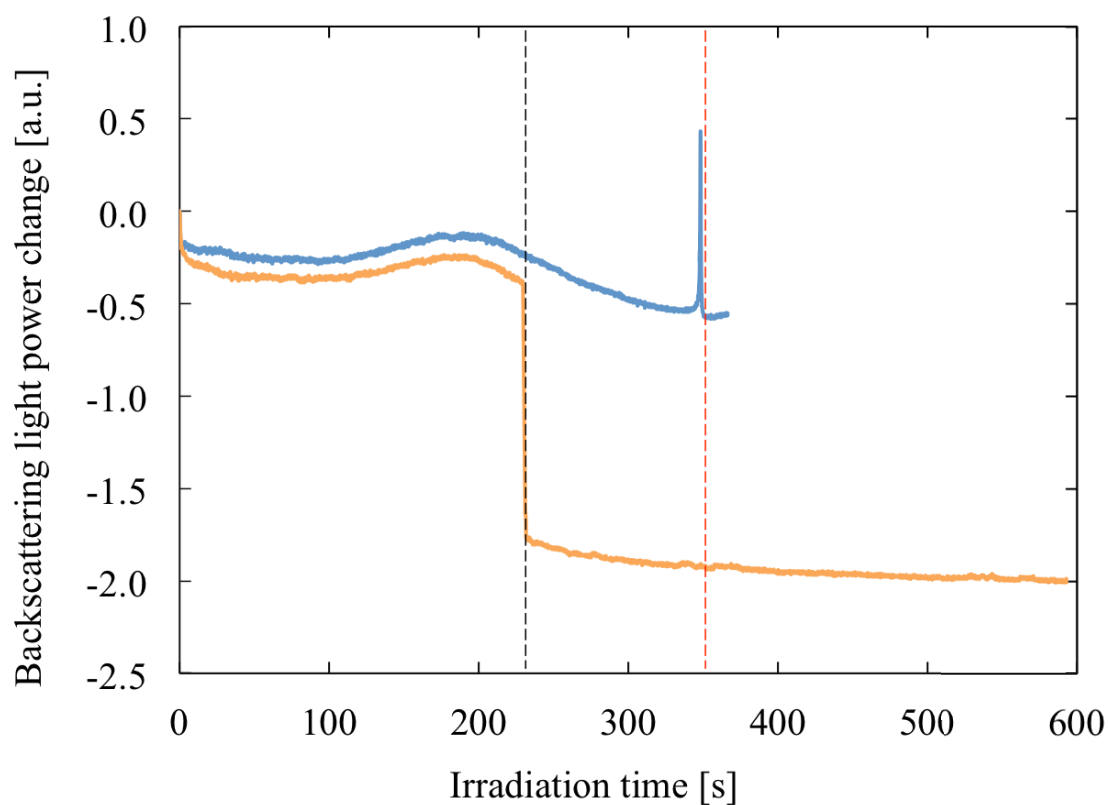


図 6-14 血液熱凝固物生成前段階にて放射照度を減少させたときの拡散反射光強度変位の経時変化

顕微光学系にて光学窓界面モデルに対して、放射照度  $81.0 \text{ W/cm}^2$  にて光照射を開始した。拡散反射光強度の経時変化に基づいて、拡散反射光強度が減少を示す熱凝固物生成前段階を任意に判断し、その時点で放射照度を当初の放射照度の 80%にあたる  $64.8 \text{ W/cm}^2$  に減少させた。

青色実線: 放射照度を減少させずに血液熱凝固物生成まで光照射を行った場合

黄色実線: 拡散反射光強度が減少傾向にある時点で放射照度を減少させた場合

黒点点線: 放射照度を減少させた時点

赤色点線: 血液が炭化した時点

表 6-2 熱作用による赤血球の形態変化および光学特性変化に関する報告

RBCs: 赤血球

CW: 連続光照射

PW: パルス光照射

Sample	Heating Mechanism (Wavelength, CW/PW, input power)	Morphology of RBCs	Optical properties
Washed RBCs <sup>[22]</sup>	Laser irradiation (488, 514 nm, CW, 1~3 W)	Spherocyte formation, Hemolysis	-
Whole blood <sup>[23]</sup>	Laser irradiation (532 nm, PW, 2.5~13 J/cm <sup>2</sup> )	-	Scattering increased after coagulation Transmission decreased due to hemoglobin deoxygenation
Whole blood <sup>[24]</sup>	Laser irradiation (630 nm, CW, 191~293 mW/cm <sup>2</sup> )	Hemolysis	-
Whole blood <sup>[25]</sup>	Laser irradiation (532 nm, PW, 9, 10, 12 J/cm <sup>2</sup> )	Spherocyte formation	Hemoglobin degeneration to met-hemoglobin
Whole blood <sup>[7]</sup>	Bath heating of 25~55°C	Aggregation, Spherocyte formation	Increase in $\mu_a$ by 80±10% and in $\mu'_s$ by 40±10% was found at 633 nm
Whole blood <sup>[21]</sup>	Bath heating of 3~37°C	Aggregation	-

## 第 7 章 細胞外光増感反応進行モニター

### 7.1 緒言

本章では、光線力学アブレーションによる治療深度を推定するための細胞外光増感反応進行モニターを提案し、蛍光計測に基づいて細胞外光増感反応の進行を観測し、細胞外光増感反応をモデル化することで治療深度を推定する方法を検討した。また、*in vivo* において細胞外光増感反応進行モニターを運用する際に治療深度推定に影響を及ぼす可能性のあるカテーテル接触状態に関して、その影響の程度を検証し、細胞外光増感反応進行モニターの実用性に関して論じた。

### 7.2 光線力学アブレーションによる細胞外光増感反応進行モニターの提案

光線力学アブレーションにおける頻脈性不整脈治療においては、治療対象疾患に応じて必要とされる治療深度が 1~12 mm と幅広く、治療対象組織に重要臓器が近接していることから、mm 単位での治療深度制御が必要であることは第 5 章で述べた。また、光線力学アブレーションによる電気伝導遮断効果は現行の電気生理学的検査にて検証することが可能であるが、光線力学アブレーションは現行の熱作用を用いたカテーテルアブレーション治療とは異なり光増感反応による酸化作用を用いて心筋を傷害するため、従来のモニター技術に加えて、治療原理に立脚した、光増感反応による治療深度を推定可能な光学モニター技術が必要である。

光線力学アブレーションによる心筋組織傷害は細胞外光増感反応によって生成された一重項酸素による酸化によって得られる [1, 2]。光増感反応による組織傷害をモニターする手法については第 2 章で述べた通りであるが、細胞外光増感反応による心筋傷害をモニターする方法はこれまでに例がない。経カテーテル的に細胞外光増感反応の進行を *in vivo* にてモニターするためには、 $\mu\text{W}$  オーダーの光学計測が可能なタラポルフィンナトリウム蛍光を計測することが妥当であると考えた。本部では、蛍光計測によって光線力学アブレーションによる治療深度を推定するために、心筋における細胞外光増感反応をモデル化し治療深度推定のための方法を検討した。

心筋に対する光線力学アブレーションの機序の巨視的な概念図を図 7-1 に示した。励起光はレーザカテーテルに内装された光ファイバーを通して、心筋表面に  $I_0 \text{ W/cm}^2$  の放射照度にて照射される。同時に、心筋組織にて拡散反射した励起光  $I_{bs}(t)$  およびタラポルフィンナトリウム蛍光  $fluo(t)$  を同光ファイバーにより受光しその強度を経時計測する。心筋における細胞外光増感反応の微視的な模式図を図 7-2 に示した。励起光照射はタラポルフィンナトリウムが心筋間質中および血中に分布する投与から 15 min 後に開始し、細胞外光増感反応を

起こし心筋を傷害する [3]。血管網が発達した心筋においては、酸素は血管から拡散により迅速に供給されるため、心筋間質中に分布するタラポルフィンナトリウムが細胞外光増感反応の律速段階であると考えられる [4-5]。細胞外光増感反応領域の心筋間質中におけるタラポルフィンナトリウム量は、(i) 血管からの透過による供給と、(ii) 光増感反応による消費、(iii) 間質液の流動やエンドサイトーシスによる心筋細胞内への取り込み、といった反応領域からの流出、のバランスによって記述することができる。光照射を開始してから細胞外光増感反応が定常状態に至るまでの時間  $t_{stat}$  後に、体積  $V$  の心筋間質中におけるタラポルフィンナトリウム量の変化は下式のように記述することができる。

$$V([PS(t_{int})] - [PS(t_{stat})]) = Vt_{stat}(k_{supply} - k_{PR} - k_{outflow}) \quad (7-1)$$

ここで、 $[PS(t_{int})]$  は間質中タラポルフィンナトリウムの初期濃度、 $[PS(t_{stat})]$  は定常状態における間質中タラポルフィンナトリウム濃度、 $k_{supply}$  は血管からの透過によるタラポルフィンナトリウム供給速度、 $k_{PR}$  はタラポルフィンナトリウム消費速度、 $k_{outflow}$  タラポルフィンナトリウムの間質外への流出速度である。 $k_{supply}$  は、タラポルフィンナトリウムと類似した分子構造および特性を有するクロリン系光感受性薬剤である Chroline e6 における  $k_{supply}$  が  $6.8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  であることから、タラポルフィンナトリウムの場合も同様に  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  のオーダーであると考えられる [6-8]。タラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応における  $k_{PR}$  は  $1.2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  であるとの報告がある [7]。 $k_{outflow}$  に関しては、細胞による薬剤の取り込みが  $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、間質液の流動速度は  $6.3 \text{ }\mu\text{m/s}$  であるとの報告があることから、 $k_{outflow}$  は  $k_{supply}$  および  $k_{PR}$  に比べて十分に小さく無視できる [9-10]。また、 $k_{PR}$  は  $k_{supply}$  よりも十分に大きいことから、タラポルフィンナトリウム量の変化は  $k_{PR}$  によって支配されると言える。これより、式 (7-1) は以下のように簡略化することができる。

$$V([PS(t_{int})] - [PS(t_{stat})]) = Vt_{stat}k_{PR} \quad (7-2)$$

細胞外光増感反応による心筋間質中タラポルフィンナトリウム量の変化は、式 (7-2) に示されるように光増感反応の進行、すなわち一重項酸素の産生速度に比例すると言える。光感受性薬剤由来蛍光強度はおおよそ光感受性薬剤量に比例することから [11]、光線力学アブレーション中に経カテーテル的に計測されたタラポルフィンナトリウム蛍光強度は心筋間質中に分布するタラポルフィンナトリウム量を反映すると考えられる。すなわち、光線力学アブレーションに伴うタラポルフィンナトリウム蛍光強度の変化は細胞外光増感反応によって産生された一重項酸素速度を反映すると考えられ、このように心筋における細胞外光増感反応をモデル化することで細胞外光増感反応の進行をモニターできると考えられる。

光線力学アブレーションによる治療深度を推定するための、タラポルフィンナトリウム蛍光強度計測結果から算出する細胞外光増感反応進行指標として、細胞外光増感反応を光照射時間  $t_d$  行ったときに消費されたタラポルフィンナトリウムの概算総量に相当する FA (fluorescence-fall amount) を下式のように定義した。



$$FA = \frac{(fluo(0) - fluo(t_d))}{I'_{bs}(t_d)} t_d \quad (7-3)$$

FA 算出の概念図を図 7-3 に示した。式 (7-3) において、 $fluo(0)$ は光照射開始時点の単位面積あたりの蛍光強度すなわち放射照度、 $fluo(t_d)$ は光照射時間  $t_d$ における蛍光の放射照度、 $I'_{bs}(t_d)$ は心筋組織にて拡散反射した励起光の放射照度  $I_{bs}(t)$ の平均値を示す。式 (7-3) において、励起光の照射状態や心臓の各部位における光学特性差異を補償するために、 $I'_{bs}(t_d)$ で除した。このとき、 $fluo(0)$ 、 $fluo(t_d)$ 、 $I'_{bs}(t_d)$ の単位は放射照度に比例する検出器出力 [V]、あるいは放射照度の絶対値 [ $W/cm^2$ ] であり、全て共通の任意単位をとる。そのため、FA の単位は見かけ上は [s] となる。光線力学アブレーションによって即時的に得られる心筋傷害は、一定薬剤濃度および放射照度条件においては、放射照射量に依存する [12]。図 7-1 のように、心筋表面より経カテーテル的に一定放射照度、一定時間の光照射を行った場合、心筋の深さ方向における放射照射量  $E$  は指数関数的に減衰する [13]。光照射時間  $t_d$ にて心筋に対して光線力学アブレーションを行ったとき、光線力学アブレーションによって治療深度  $d_{nec}$ を得たとすると、 $d_{nec}$ は深さ方向の光伝搬の式と FA を用いて記述できる。すなわち  $d_{nec}$ は FA と対数関数の相関を有することになる。

$$\begin{aligned} d_{nec} &= \frac{1}{\mu_{eff}} \ln\left(\frac{kI_0FA}{E}\right) \\ &= \frac{1}{\mu_{eff}} \left\{ \ln(FA) + \ln\left(\frac{kI_0}{E}\right) \right\} \end{aligned} \quad (7-4)$$

$$E = I_0 t \exp(-\mu_{eff} d) \quad (7-5)$$

$$\mu_{eff} = [3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)]^{1/2} \quad (7-6)$$

ここで  $\mu_{eff}$ 、 $\mu_a$ 、 $\mu'_s$ はそれぞれ心筋における波長 663 nm の実効的な減衰係数、吸収係数、等価散乱係数であり、 $k$ は定数である。

### 7.3 細胞外光増感反応進行モニターの運用実験 (*in vivo*)

本部では、7.2部にて定義したFAを用いた光線力学アブレーションによる心筋治療深度推定の実用性を評価することを目的として、*in vivo*動物実験にて開胸下のイヌ心室筋に対して光線力学アブレーションを行った。光線力学アブレーション中に経カテーテル的に蛍光計測を行ってFAを算出し、組織病理標本から治療深度 $d_{mnc}$ を計測し、両者の相関を調査した。

#### 7.3.1 実験方法

照射励起光およびタラポルフィンナトリウム蛍光を第4章にて記述したモニター装置 (図 4-9) の一部を用いて計測した。本実験において用いた光学系を図7-4に示した。照射励起光と経カテーテル的に取得した拡散反射励起光とタラポルフィンナトリウム蛍光を偏光ビー

ムスプリッター (PBS-7-6700, シグマ光機株式会社, 東京) により分離し、コア径200  $\mu\text{m}$ 、NA 0.22の石英光ファイバー (BFL22-200; ソーラボジャパン株式会社, 東京) を用いて検出系に導光した。ダイクロイックミラー (O32; シグマ光機株式会社, 東京) を用いて、拡散反射励起光とタラポルフィンナトリウム蛍光を分離した。拡散反射励起光強度はフォトダイオード (S2386-44K, 浜松ホトニクス, 静岡) により経時計測した。タラポルフィンナトリウム蛍光計測は励起光との分離を確実にを行うことを目的として波長710 $\pm$ 2 nmにおいて、その光強度を経時計測した。波長690 $\pm$ 5 nmのロングパスフィルター (XF584; 朝日分光株式会社, 東京) と波長710 $\pm$ 2 nmのバンドパスフィルター (FB710-10; ソーラボジャパン株式会社, 東京) を用いて波長選択し、フェムトワットフォトレシーバー (Model 2151; Newport Co., CA, USA) を用いて光強度を計測した。図7-5に細胞用培地Medium I (Dulbecco's modified Eagle's medium/nutrient mixture F-12 [D-MEMF-12] supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  streptomycin; Invitrogen, CA, USA) を溶媒としたときのタラポルフィンナトリウム蛍光スペクトルを示した。拡散反射励起光およびタラポルフィンナトリウム蛍光は、いずれもサンプリング周波数1 kHzにて計測を行った。計測された拡散反射励起光およびタラポルフィンナトリウム蛍光強度をデジタル変換し、解析用のコンピューターに伝送した。光照射時間 $t_d$ 、光照射時間中の拡散反射励起光強度の平均値 $I'_{bs}(t_d)$ 、光照射開始時の蛍光強度 $fluo(0)$ 、光照射終了時間 $t_d$ における蛍光強度 $fluo(t_d)$ を実測値から抽出し、式(7-3)を用いてFAを算出した。

動物実験はヘルシンキ宣言を遵守しており、慶應義塾の動物実験委員会の承認のもとで行った。体重12.4 $\pm$ 0.8 kgの8頭のビーグル犬 (月齢10~14ヶ月)を用いた。導入麻酔として1.0 mg/kgのプロポフォール (1%プロポフォール注; 丸石製薬株式会社, 大阪) を静脈内投与し、鎮静させ、気管内挿管を行った。麻酔の維持には、全身麻酔システム (エクセル110SE; ダーテックス・オメダ株式会社) を使用した。気化器 (Sevotec 5; GEヘルスケア・ジャパン株式会社, 東京) よりイソフルラン (日本薬局方 イソフルラン フォーレン吸入麻酔液; アボットジャパン株式会社, 東京) 1.5~2.5%含有医療用酸素ガス (500 ml/min) を送気し、人工呼吸下 (150~200 mL/stroke, 10~15 strokes/min) にて麻酔の維持を行った。第6肋間を切開し、開胸器を使って術野を確保した。心嚢を切開し、左心室を露出させ、血管を避けるように光照射位置9点を決定した。タラポルフィンナトリウム2.5あるいは5.0 mg/kgを約10 sで静脈内投与した。投薬から15 min後に予め定めた照射部位にレーザカテーテルより接触光照射を5, 10, 20 sの照射時間にて開始した。レーザカテーテルの心筋への接触は心筋表面からの垂線方向に $\pm 30^\circ$ 以内となるようにした。本実験におけるレーザ光照射条件を表7-1にまとめた。レーザ光の放射照度はタラポルフィンナトリウム投与濃度2.5 mg/kgの場合には5, 10, 20 W/cm<sup>2</sup>、5.0 mg/kgの場合には5, 10 W/cm<sup>2</sup>とした。各放射照度におけるカテーテル先端における光強度は順に、77.2, 154, 308 mWであり、光照射を行う前に予めパワーメーター (PM10; Coherent Inc., CA, USA) を用いて調整した。これらの光照射条件は、先行研究にて検討され

た条件をもとに選択した [2, 3, 14]。3点目の光照射終了後、血漿中薬剤濃度を調査するために頸静脈より1 ml採血を行った。採取した血液を遠心分離し (4°C, 3600 rpm, 10 min)、血漿を分取して、高速液体クロマトグラフィー (LC-10ADvp; 株式会社島津製作所, 京都) を用いて血漿中薬剤濃度を測定した。9点の光照射終了後、胸腔内ドレーンを設置し、肋間筋を仮縫合した。ドレーンより胸腔内の浸出液及び気体を吸引した後、肋間筋を完全に縫合し、次いで皮膚を縫合した。これらの外科的処置は光線力学アブレーション施行後から15 min以内に行った。施術後、抗生剤0.1 ml/kg (マイシリンゾル明治; Meiji Seikaファルマ株式会社, 東京) および鎮痛剤10 µg/kg (レペタン注0.2 mg; 大塚製薬株式会社, 東京) を筋肉内注射した。

施術一週間後に、組織病理評価を行うために実験動物を犠牲死させ、心臓を摘出した。鎮静剤プロポフォール (1%プロポフォール注; 丸石製薬株式会社, 大阪) を1.0 ml/kg静脈内投与し、5%イソフルラン (日本薬局方 イソフルラン フォーレン吸入麻酔液; アボットジャパン株式会社, 東京) により吸入麻酔を行った。両側の大腿動脈を切開し放血安楽死後、心摘出を行った。光線力学アブレーション施行部位を中心に心筋を照射方向と平行に切り出した。10%中性緩衝ホルマリン (10%ホルマリン液; 和光純薬工業株式会社, 大阪) に浸漬し固定させた後、パラフィンに包埋した。パラフィン包埋試料を厚さ2 µmに切り出し (REM700; 大和光機株式会社, 宮崎)、hematoxylin-eosin染色 (HE染色)\*を行った。染色標本の顕微観察を行い、光線力学アブレーションによる酸化作用によって得られたと考えられる組織表面から引き続く均一なネクロシス領域深度を治療深度 $d_{mnc}$ とし、各試料において $d_{mnc}$ を計測した。

### 7.3.2 実験結果

施術一週間後の実験動物に何ら身体上の障害は生じていなかった。タラポルフィンナトリウムの血漿中薬剤濃度は、2.5 mg/kg投与の場合には $15.9 \pm 1.7$  µg/ml、5.0 mg/kg投与の場合には $36.2 \pm 6.9$  µg/mlであった。図7-6に蛍光強度経時変化の計測結果の一例を示した。図7-7に倍率4.2倍にて観察したHE染色標本の一例を示した。また、図7-8に倍率40倍で観察した、図7-7と同じHE染色標本画像の健常部位、健常-傷害部位の境界、傷害部位を示した。光線力学アブレーションによる傷害部位においては線維芽細胞が見られる一方で、小動脈の内皮細胞が保存されていることが確認でき、光線力学アブレーションによる血管傷害は生じていないことを確認した。組織病理評価は施術一週間後に行われたため、傷害を受けた心筋の線維化は中途であり施術後長期的には線維化領域は変化する可能性がある。しかし光線力学アブレーションによる微小血管の障害は見られず開存していたことから、治癒過程が比較的早期に進行したために、均一な傷害領域を得られたと考えられる。

\* HE染色は、細胞や組織の全体像を把握するために一般的に用いられる染色法であり、核を紫色に、細胞質を赤色に染める [15]。

組織病理標本より計測した治療深度 $d_{mnc}$ は0.2~7.1 mmの範囲であった。タラポルフィンナトリウム5 mg/kg投与後、5あるいは10 W/cm<sup>2</sup>にて光線力学アブレーションを行った場合の蛍光計測より算出したFAと $d_{mnc}$ の関係を図7-9に示した。式 (7-4) に基づいて、対数関数にてフィッティングを行い、最小二乗法にて相関係数 $R^2$ を算出した。図7-9において、放射照度がFAと $d_{mnc}$ の相関関係に影響を及ぼしていないことから、図7-9の条件においては励起光の放射照度と心筋におけるタラポルフィンナトリウム量は十分に供給されているものと考えられた。そこで、放射照度を区別せず、タラポルフィンナトリウム投与量ごとにFAと $d_{mnc}$ の関係を検討することとし図7-10に両者の関係を示した。図7-9と同様に対数関数にてフィッティングを行い、相関係数 $R^2$ を算出した。タラポルフィンナトリウム投与量2.5 mg/kgの場合には $R^2=0.69$ 、5.0 mg/kgの場合には $R^2=0.80$ であった。FAと $d_{mnc}$ の相関にタラポルフィンナトリウム投与量依存性が見られ、タラポルフィンナトリウムが持続的に供給される細胞外光増感反応を採用する光線力学アブレーションにおいてはタラポルフィンナトリウム濃度が治療進行の律速因子であると考えられた。

#### 7.4 細胞外光増感反応進行モニターに対するレーザカテーテル接触圧力の影響

頻脈性不整脈治療においてカテーテルインターベンション下で光線力学アブレーションを行う際には、複雑な構造かつ拍動する心臓におけるカテーテル手技を行うために、常に安定した接触状態にて光照射を行うことができるわけではない。レーザカテーテルの接触状態によっても、治療領域や治療深度が変化する可能性がある。特に、レーザカテーテル接触圧力は心筋組織の変形を伴うだけでなくタラポルフィンナトリウムの供給や光学特性に変化を生じる可能性があり、治療領域生成に影響を及ぼす可能性が高いと予想される [16, 17]。本部では、経カテーテル的蛍光計測による細胞外光増感反応進行モニター運用に際して、レーザカテーテルの接触圧力に注目し、カテーテル接触圧力がFAを用いた治療深度推定に及ぼす影響を調査した。

##### 7.4.1 レーザカテーテル接触圧力が治療深度に与える影響 (*in vivo*)

本節の目的は、心筋へのレーザカテーテル接触圧力が光線力学アブレーションによる治療領域に影響を与える可能性およびその程度を調査し、蛍光計測およびFA算出による治療深度推定時にレーザカテーテル接触圧力を考慮した補正の必要性の有無を検討することにある。開胸下イヌ心筋においてレーザカテーテル接触圧力を変化させて光線力学アブレーションを行い、治療深度を測定した (*in vivo*)。

###### 7.4.1.1 実験方法

動物実験は慶應義塾動物実験委員会および理工学部生命倫理委員会の承認を得て、慶應義塾動物実験規定および理工学部生命倫理委員会規定を遵守し行った。平均体重23.7 kgの3

頭のハイブリッド種犬（月齢10~14ヶ月）を用いた。施術中、薬剤投与後経過時間に伴って薬剤が代謝され、照射ポイントごとに心筋組織中および血漿中タラポルフィンナトリウム濃度が変化して治療深度に影響を与える可能性が高いことから、薬剤投与後15~90 minの間血漿中薬剤濃度を20~30  $\mu\text{g/ml}$ に維持することを目的としてタラポルフィンナトリウムの持続投与を行った。薬剤投与条件はイヌにおけるタラポルフィンナトリウムの薬物動態に基づいて算出し決定した<sup>†</sup>。導入麻酔として1.0 mg/kgのプロポフォール（1%プロポフォール注；丸石製薬株式会社，大阪）を静脈内投与し、鎮静させ、気管内挿管を行った。イソフルラン（日本薬局方 イソフルラン フォーレン吸入麻酔液；アボットジャパン株式会社，東京）1.5~2.5%含有医療用酸素ガス（500 ml/min）を送気し、人工呼吸下（150~200 mL/stroke、10~15 strokes/min）にて麻酔の維持を行った。タラポルフィンナトリウム持続投与ラインを頸静脈に確保した。7.3.1節と同様の方法にて左心室を露出させた。タラポルフィンナトリウム2.5 mg/kgを単回静脈投与、2.93 mg/kg/hrにて持続静脈投与を行った。投薬から5および10 min、また術中および術後に適宜採血4 mlを行い、血漿を採取した。これを凍結保存し、後日血漿中薬剤濃度を高速液体クロマトグラフィー（LC-10ADvp；株式会社島津製作所，京都）により計測した。レーザカテーテルの心筋組織への接触圧力を計測するために、デジタルフォースゲージ（ZTA-5N；株式会社イマダ，愛知）をレーザカテーテルに固定した。タラポルフィンナトリウム投薬から15 min後に放射照度10  $\text{W/cm}^2$ にて前述の赤色レーザ光を60 s、3~6点に対して照射した。このとき、接触圧力の目標値は、0, 20, 40 gおよび組織から1-2 mm離れた非接触状態の4条件とした。光照射中、デジタルフォースゲージの接触圧力を経時計測し、その計測結果を確認しながらカテーテルの接触状態を調整した。7.3.1節と同様の計測装置および計測方法を用いて、経カテーテル的にタラポルフィンナトリウム蛍光および拡散反射励起光を経時計測し、FAを算出した。光照射終了後の動物の処置は7.3.1節と同様の手法にて行った。

組織病理評価を行うために、施術4週間後に7.3.1節と同様の手法にてイヌを犠牲死させ、心臓を摘出しホルマリン固定を行った。固定から4週間後に光照射部位を切り出してパラフィンに包埋し、厚さ2  $\mu\text{m}$ に切り出した後HE染色およびAZAN染色<sup>‡</sup>を行い、標本を作成した。ボックス型蛍光顕微鏡（FSX100；オリンパス株式会社，東京）を用いて標本観察および撮影を行った。7.3.1節と同様に光線力学アブレーションによる酸化作用によって得られたと考えられる組織表面から引き続く均一なネクロシス領域の中心における深度を治療深度  $d_{mnc}$ とし、各試料において  $d_{mnc}$  を計測した。

<sup>†</sup> イヌにおいて実測した血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の平均値を用いて、薬物動態解析法の一つである2コンパートメントモデルにより、イヌ血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化を計算した。2コンパートメントモデルの詳細は付録に示した。

<sup>‡</sup> AZAN染色はHE染色とならんで一般的に用いられる染色方法であり、膠原線維を青色に、核を赤色に染める [15]。

カテーテル接触圧力変化により圧排部位におけるタラポルフィンナトリウム量が増加するかどうかを検討するため、同様の開胸動物実験を行った。体重25.0および28.2 kgの2頭のハイブリッド種犬（月齢10~14ヶ月）を用いた。光線力学アブレーション施行までの実験動物の準備方法およびタラポルフィンナトリウムの投与条件は上記と同様に行った。タラポルフィンナトリウム薬剤蛍光は蛍光サンプリング領域内のタラポルフィンナトリウム量を反映するので、光増感反応進行によりタラポルフィンナトリウムの退色が生じない光照射条件である放射照度 $26.0 \text{ mW/cm}^2$ にて赤色レーザー光を投薬前および投薬から15 min後に6~13カ所に対して5 s照射した。レーザーカテーテル接触圧力の目標値は0, 20, 40, 60 gとした。接触圧力は光照射中経時的に計測し、その平均値を算出した。タラポルフィンナトリウム蛍光強度の平均値を算出し、接触圧力との相関を調査した。

#### 7.4.1.2 実験結果

タラポルフィンナトリウム持続投与により、血漿中薬剤濃度は術中 $25.1 \pm 5.2 \text{ } \mu\text{g/ml}$ の範囲に維持することができた。図7-11に血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移の一例を示した。タラポルフィンナトリウムの代謝速度は動物個体ごとに異なるため、投薬からの経過時間が同一であっても血漿中および心筋間質中の薬剤濃度が異なる。血漿中薬剤濃度が心筋間質中のタラポルフィンナトリウム濃度を反映すると仮定して、光線力学アブレーションを行った時間範囲における血漿中薬剤濃度の平均値を基準として組織病理標本より計測した $d_{mnc}$ を補正した。図7-12に計測した蛍光強度の経時変化を目標接触圧力0, 40 g、実測にて-27.0, 54.6 gであった例について示した。両者における光照射開始時の蛍光強度、すなわち接触部位に存在するタラポルフィンナトリウム相対量は、圧排によって88.9%に減少した。図7-13に補正した $d_{mnc}$ と光照射中のカテーテル接触圧力の平均値、FAの相関を示した。光線力学アブレーション中、心臓は拍動を続けているためレーザーカテーテルの接触状態を一定に維持することは手技上困難である。そのため、実測した接触圧力は変動が大きい課題が残るが、図7-13より接触圧力と治療深度およびFAに明確な関連は見られなかった。

次に、レーザーカテーテルの接触圧力とタラポルフィンナトリウム量の関係を調査した実験結果について記す。タラポルフィンナトリウム投与前における接触圧力と蛍光強度の関係を図7-14に示した。接触圧力変化による蛍光強度の変化は小さく、有意差は見られなかった。投薬前に得られる蛍光強度は主に励起光の拡散反射光である。図7-15にタラポルフィンナトリウム投薬後の接触圧力と蛍光強度の関係を示した。実測したカテーテル接触圧力に基づいて、図7-15の接触圧力を20 g未満, 20~40 g, 40~60 g, 60 g以上の4つのグループに分類し、各グループにおける蛍光強度平均値を算出し、図7-16に示した。各グループにおける蛍光強度平均値をstudent t検定にて検証したところ、20 g未満と40~60 g、および20 g未満と60 g以上のグループ間に有意差が示された。60 g以上の接触圧力による圧排によって光照射部位にお

けるタラポルフィンナトリウム蛍光強度は、タラポルフィンナトリウム投与前における蛍光強度とほぼ同値となった。すなわち、圧排によって接触部位の心筋組織中タラポルフィンナトリウムが排除されたと考えられる。細胞外光増感反応を採用している光線力学アブレーションにおいては、血流による持続的なタラポルフィンナトリウムの供給が想定される。図7-13において接触圧力と光線力学アブレーションによる治療深度に明確な関連が見られなかった理由を明らかにするためには、光線力学アブレーション治療深度への圧排の影響は光照射初期におけるタラポルフィンナトリウム量だけでなく、供給への影響をも検討する必要がある。

#### 7.4.2 レーザカテーテル接触圧力と心筋血流量の関係 (*in vivo*)

細胞外光増感反応においては、心筋間質中への薬剤分布および持続的なタラポルフィンナトリウム供給が治療進行の律速因子であることを7.3部で明らかにした。また7.4.1節において、レーザカテーテル接触圧力は光線力学アブレーション開始時における心筋間質中におけるタラポルフィンナトリウム量に影響するが、光線力学アブレーションによる治療深度に明確な影響を与えないことが示唆された。本節では、レーザカテーテル接触圧力によるタラポルフィンナトリウムの血流による供給への影響を明らかにすることを目的として、接触圧力が心筋血流量に及ぼす影響に関して調査した。

##### 7.4.2.1 実験方法

本実験は慶應義塾動物実験委員会および理工学部生命倫理委員会の承認を得て、慶應義塾動物実験規定および理工学部生命倫理委員会規定を遵守し行った。実験動物はLW種雌豚4頭(体重 $27.7 \pm 1.1$  kg、月齢2ヶ月)を用いた。実験動物の準備方法は6.4.1.1項に同じである。全身麻酔状態を維持した後、正中開胸し心臓を露出した。相対的な血流量を計測することの可能なレーザドップラー血流計 (PeriFlux System 5000; Perimed AB, Sweden) および先端直径6.0 mmの計測プローブ (PROBE407; Perimed AB, Sweden) を使用した。レーザドップラー血流計は、生体組織にレーザ光を照射し、生体内にて血流により流動している散乱体、すなわち赤血球により散乱されドップラーシフトを受けた散乱光の周波数および強度を測定することで赤血球の移動速度と赤血球数を求め、血流量の相対値を計算できる装置である [18]。今回の実験で使用したレーザドップラー血流計および計測プローブでは波長780 nmのレーザ光をコア径120  $\mu\text{m}$ の石英光ファイバーより照射し、照射用光ファイバーから0.25 mm離れた位置に設置された同石英光ファイバーにより散乱光を受光する [19]。サンプリング領域は幅1 mm、深度0.5~1 mmである。レーザドップラー血流計の計測プローブに接触圧力を計測するためのデジタルフォースゲージ (ZTA-5N; 株式会社イマダ, 愛知) を固定した。レーザドップラー血流計測プローブを左心室および右心室に接触させ、接触圧力を0~100 gの範囲にて変化させるように、接触状態を4段階に任意に変化させて、また計測位

置を変化させて血流量を計測した。血流量の計測時間は約10 sとした。計測は一頭あたり4~23 回行い、全44回の計測を行った。

#### 7.4.2.2 実験結果

血流量および接触圧力の経時変化の一例を図7-18に示した。血流量の経時変化心臓の拍動により計測プローブの固定が困難であるため、計測した血流量の相対値および接触圧力の経時変化は変動が大きかったため、計測時間中の各値の平均値を算出した。図7-19に実測した接触圧力と血流量の関係を示した。接触圧力に伴い血流量が低下する指数関数相関が見られたが、拍動を主とする雑音により変動が大きかった。接触圧力による血流量変化への影響の有無を検討するために、実測した接触圧力を20 g以下、20~40 g、40~60 g、60 g以上の4つのグループに分類し、各グループにおける血流量の平均値を算出し、図7-20に示した。各グループにおける血流量平均値をstudent t検定により検証したところ、20 g以下のグループと、その他の3つのグループとの間、および40~60 gと60 g以上のグループとの間に有意差が示された。すなわち、40 g以上のカテーテル接触圧力を付加することにより血流量は優位に低下し、血流量低下の程度は接触圧力に依存することが示されたと言える。

### 7.5 考察

細胞外光増感反応を採用した光線力学アブレーションは、がんに対する治療法である光線力学的治療に用いられる細胞内光増感反応とは、反応中に光感受性薬剤の供給があるという点で反応環境が異なることは第2章にて説明した。細胞内光増感反応の場合、光感受性薬剤は細胞内小器官に局在するが [21]、細胞外光増感反応の場合は、光感受性薬剤は心筋間質中に分布し、間質液を通じて常に供給される [3, 21]。一方、酸素は細胞内、細胞外光増感反応の両方において血流によって供給される。細胞外光増感反応を用いた光線力学アブレーションにおいては放射照射量が一重項酸素産生総量におおよそ比例することから [22]、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては、放射照射量を適切に調整することで治療深度を制御することが可能である。頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療においては、治療対象組織厚みに部位差や個人差があるなかで、貫壁性の電気伝導遮断線の作成と治療対象部位に近接する組織や臓器の保存を両立する必要がある [24, 25]。具体的には、心房を対象としたカテーテルアブレーション治療においては、1~4 mm の治療深度、心室を対象とする場合には5~12 mm の治療深度が必要とされること、また治療対象部位からの距離が1~2 mm の周囲臓器を保存するためにも、mm 単位での治療深度制御が必要となる [26-28]。細胞外光増感反応特有の反応環境を解釈し、光線力学アブレーションに求められる治療性能を満たす指標として、細胞外光増感反応による一重項酸素産生量に相当し、経カテーテル的蛍光計測によって算出可能なFAを定義した。

7.3 部において、*in vivo* 動物実験結果に基づいて提案したFAと $d_{mnc}$ に対数関数相関を見



出し、光線力学アブレーションによる治療深度の推定に利用可能であることを示した。第4章で記したように、光増感反応の進行や光増感反応による治療効果を推定する手法はこれまでに種々の報告があるが、いずれも細胞内光増感反応を想定しているため持続的な光感受性薬剤の供給は考慮されていなかった [29-31]。一方、本研究において定義した FA は光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムと酸素の間質への供給を考慮している。このような光増感反応環境において治療深度を推定する報告はこれまでにない。本章で提案した細胞外光増感反応進行モニターは、心筋を対象とした細胞外光増感反応に固有の反応環境に則ってその反応進行を観測し、光線力学アブレーションによる治療深度を推定可能なモニターとして利用可能であると考えられる。

図 7-10 に示した FA と  $d_{mnc}$  の相関において、相関係数  $R^2$  値は 0.69 および 0.80 を示した。これより、FA による治療深度推定の精度は、タラポルフィンナトリウム投与量 2.5 mg/kg の場合  $0.4 \pm 0.2$  mm、5.0 mg/kg の場合  $1.0 \pm 0.6$  mm となる。これらの精度は、頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーションにおいて必要とされる mm 単位での治療深度制御を行うための要件を満たしており、細胞外光増感反応進行モニターとして十分実用性を有すると考えられる。一方で FA による治療深度推定の精度を低下させる原因は、主に 2 点考えられる。第一に光線力学アブレーション中の血流量および心筋間質への供給量  $Q$  が一定であると仮定していることである。癌組織に対する細胞内光増感反応によって、血流量が減少することが報告されている一方で [32, 33]、光増感反応による内皮細胞傷害によって血管からの透過性が亢進するとの報告もある [6, 34]。また、7.4 部においてカテーテル接触圧力負荷により血流量が有意に低下することが示唆されたことから、カテーテル接触状態も治療深度推定に影響を与える可能性も否定できない。蛍光計測により算出される FA は、血流量低下により高く、透過性亢進により低く算出されることになる。第二に 7.3 部にて行った組織病理評価は組織線維化が完了していない施術一週間後であったため、光線力学アブレーションによる治療域および治療深度は不安定であった可能性がある [35]。

7.4 部では、臨床における光線力学アブレーションおよび細胞外光増感反応進行モニターに影響を与えられと考えられるレーザカテーテルの接触圧力に関して調査を行った。その結果、臨床において想定されるカテーテル接触圧力の上限 100 g を加えても、治療深度にほぼ影響が見られなかった。一方で、カテーテル接触部位におけるタラポルフィンナトリウムが光照射開始時には 60 g 以上の圧排によって排除されること、また 60 g 程度の圧排により心筋血流量が 33.7% 減少することが示唆された。間質中に供給されるタラポルフィンナトリウムおよび酸素の絶対量は明らかでないが、7.4 部で採用した光照射条件 ( $10 \text{ W/cm}^2$ , 60 s) およびタラポルフィンナトリウム投与条件 (血漿中薬剤濃度  $20.6 \pm 0.1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ) においては、深度 1~6 mm の治療深度を生成するために必要なタラポルフィンナトリウムおよび酸素の両方が十分に心筋間質中に供給されており、光線力学アブレーションが滞りなく進行したと解釈できる。光線力学アブレーションによる組織傷害を起こすのに十分なタラポルフィ

ンナトリウムの心筋間質中への供給がなされる理由は、(i) タラポルフィンナトリウムが水溶性の光感受性薬剤であるためと [7]、(ii) 心臓では他の臓器よりも血管透過性が高いため [36]、であると考えられる。生体における物質透過性に関しては、透過物質の性質、例えば水溶性あるいは脂溶性か、分子の大きさ、などによって変化するが、特に心臓においては毛細血管網が発達しており、単位体積あたりの毛細血管表面積が大きいこと、物質の毛細血管透過性が他の臓器よりも高いことが知られている [37]。毛細血管透過性は親油性物質の場合は、濃度勾配と拡散係数に依存して細胞膜のリン脂質部を介して毛細血管の全面において移動がおこるが、親水性物質の場合は内皮細胞接合部に存在する直径 30~40 Å の孔を経路として拡散によって透過する [38]。そのため、水溶性物質の毛細血管透過性は、物質の分子量が多く、分子半径が大きくなるに連れて透過性が減少する [37, 38]。表 7-2 に心筋組織における代表的な水溶性物質およびタラポルフィンナトリウムの分子量、分子径、毛細血管透過速度を示した [37-42]。タラポルフィンナトリウムは疎水基と親水基の両方を有する両媒性の親水性物質であるが、毛細血管内皮-心筋間質の界面において水分の濾過や吸収が生じない平衡状態を仮定すると、親水性/親油性のいずれの場合にも拡散のみによる血管透過性を議論することができる [37, 38]。分子半径  $a$  の物質における自由拡散係数  $D_{fr}$  は Stokes-Einstein の式から、

$$D_{fr} = \frac{RT}{6\pi\eta aN} \quad (7-7)$$

と書ける [38, 39]。ここで、 $R$ 、 $T$  は気体定数と絶対温度、 $\eta$  は pore 中の水溶液の粘性、 $N$  はアボガドロ数である。式 (7-7) より、毛細血管透過性は分子半径に反比例することが言える。表 7-3 に示した代表的な水溶性物質の毛細血管透過速度と式 (7-7) から見積もったタラポルフィンナトリウムの自由拡散係数を用いてタラポルフィンナトリウムの毛細血管透過速度を推定すると、 $0.69 \times 10^{-5}$  cm/s となる。タラポルフィンナトリウムは水溶性光感受性薬剤であることから、心筋間質へ高い透過性にて供給される可能性が高いが、分子量が大きく、また血液中では血清蛋白質であるアルブミンと結合しているために、心筋における毛細血管透過速度は、本検討の範囲では明らかでない。

一方、心筋における血流量と血管透過性には、生の対数相関があることが示されている。生体において単位表面積あたりの流速を直接測定することはできないことから、ある質量の組織に含まれる毛細血管壁から組織への透過を巨視的にとらえると、血流量と血管透過性の関係は下式で表される [37, 38]。

$$PS = -F \ln(1 - E) \quad (7-8)$$

ここで、 $P$  は溶質の毛細血管からの拡散による透過性 cm/min、 $S$  は物質交換が行われる面積  $\text{cm}^2$  を示す。すなわち  $PS$  は毛細血管表面からの単位質量あたりの透過流量 ml/g/min を表す。 $F$  は単位組織質量あたりの流量 ml/g/min である。 $E$  は追跡物質の fractional extraction と呼ばれ、下式で定義される。

$$E = \lim_{t \rightarrow 0} \left(1 - \frac{c(t)}{C(t)}\right) \quad (7-9)$$

$c(t)$ は静脈血中の毛細血管透過性のある拡散性物質の濃度、 $C(t)$ は静脈血中の毛細血管透過性のない非拡散性物質の濃度である。実験的に求められた、心筋における血流速と血管透過率の関係の報告例を図7-21に示した [37]。図7-21では両者に線形関係が得られており、仮に血流速が10分の1になると血管透過性は約35分の1になる。仮に100gのカテーテル接触圧力が負荷された場合、図7-10の近似式を用いると、血流量は非接触圧力負荷状態時における血流量の32.6%となると見積もられる。図7-21より、血流量が32.6%減少した場合、血管透過性は非接触圧力負荷状態の29.0%となると推定される。7.4.2.1項にて接触圧力を負荷しても光線力学アブレーションによる治療深度  $d_{mnc}$  に影響がほとんどなかったのは、接触圧力負荷によって血流量が低下すると血管透過性も減少してタラポルフィンナトリウムの供給速度が減少するが、反応領域内における光増感反応によるタラポルフィンナトリウムの消費量を上回る供給量が維持されていたためであると考えられる。心筋における細胞外光増感反応では血液中に分布するタラポルフィンナトリウム濃度が20~40  $\mu\text{g/ml}$ と高く、細胞外光増感反応の進行に十分なタラポルフィンナトリウムが心筋間質中に分布したためであると考えられる。

本章における検討の範囲では、光線力学アブレーション時に心筋間質へのタラポルフィンナトリウムおよび酸素の供給速度の絶対量は明らかでないが、持続的な間質へのタラポルフィンナトリウムの供給を仮定して定義したFAの妥当性が、臨床において想定されるカテーテル接触による圧排が行われる場合においても示されたと言える。またFAによる治療深度推定はmm単位での推定精度を有しており、頻脈性不整脈治療において求められる貫壁性の治療深度と近接臓器保存のためのmm単位での治療深度制御という治療必要要件を満たしており実用性を有すると言える。FAは実時間で算出が可能であることから、細胞外光増感反応進行モニターとして光線力学アブレーションによる頻脈性治療中に運用することで、安全かつ確実な治療を実現するための支援となり得ると考えられる。

蛍光計測により、光増感反応を用いた治療の治療進行や治療効果の推定を行う方法論の報告を表7-3にまとめた [43-46]。Robinsonらは、光感受性薬剤としてALA (2.2.2節を参照)を用いた皮膚に対する細胞内光増感反応において、波長550~794nmにおける蛍光強度を光照射時間で積分した値を指標として、施術から28日後における7段階にてスコア化した皮膚組織傷害の程度との比較を行い、両者の間に  $R^2=0.85$  の相関を認めたことを報告している [43]。Shengらは、食道に対してALAを用いて細胞内光増感反応を行い、経時的に拡散反射した波長690nmにおける蛍光強度に励起光の放射照度を乗じて、光照射時間で時間積分した値を指標として、細胞内光増感反応による組織傷害を推定可能であるか調査した [44]。細胞内光増感反応によって生じた浮腫の面積を、治療効果を反映する指標として設定し、蛍光強度時間積分値との関係を比較したところ、両者にほとんど相関がなかったと報告し

ている [44]。Vollet-Filho らは、ポルフィリン系の光感受性薬剤を用いた細胞内光増感反応を肝臓に対して行い、細胞内光増感反応後に組織表面からの蛍光スペクトルを計測した [45]。蛍光強度に組織傷害閾値と組織表面における光強度の比の対数をとった値と光侵達長を乗じて、治療深度を推定した。組織病理標本から計測した治療深度との相関は  $R^2=0.97$  であったと報告している [45]。Zeng らは、皮膚に対してベルテポルフィンに類似した光感受性薬剤を用いて細胞内光増感反応を行い、光照射終了直後に蛍光スペクトル計測を行った。光増感反応によって生成された酸化新生物が発する波長 650 nm の蛍光強度と 4 段階にてスコア化した組織傷害程度との関係に高い相関が得られたと報告している [46]。これらの報告は、いずれも細胞内光増感反応による治療を想定した治療効果推定法であり、細胞外光増感反応による組織傷害を推定する方法についての報告はこれまでない。本章にて提案した細胞外光増感反応進行モニターは、光増感反応を用いた治療におけるモニター法として一般的な手法である蛍光計測を利用したモニターであり計測手法に新規性はない。しかし心筋における細胞外光増感反応をモデル化することによって光線力学アブレーションによる治療深度を推定可能な新しいモニターとして提案できたと考えられる。

## 7.6 本章の適用範囲

光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療応用において、FA を用いた治療深度推定、すなわち細胞外光増感反応進行モニターの運用にはいくつかの適用範囲制限が想定される。第一に、FA は組織に酸素および励起光が十分に存在する反応環境を仮定している。投与する光感受性薬剤量が増加したり、血流量が減少したりして光感受性薬剤量、酸素、および励起光のバランスが崩れた場合には FA と一重項酸素産生総量との相関関係は変化する可能性がある。また、一定速の血流と心筋間質への供給量  $Q$  を仮定しているが、光線力学アブレーションによってこれら変動する場合には算出される FA および推定治療深度は変化する可能性が高い。実際に、ウサギ心筋においてタラポルフィンナトリウムを用いた光線力学アブレーションを血漿中薬剤濃度 20  $\mu\text{g/ml}$ 、放射照度 10  $\text{W/cm}^2$  にて 40 s 行い、光照射前後にて心筋血流量を計測したところ、血流量が光照射前の約 50% に減少した [47]。光線力学アブレーションにおいて血流量の変化が心筋間質へのタラポルフィンナトリウム供給にどの程度の影響を及ぼすのか、心筋間質への供給量  $Q$  がどのように変化するのか、一重項酸素産生量はどのように変化するのか、の詳細は明らかでないが、治療深度への影響は否定できない。本研究の範囲では、FA による細胞外光増感反応進行の観測および治療深度推定は利用可能であると考えられるが、その他の光増感反応においてどのような反応環境で適用可能であるかは、適宜確認する必要がある。

第二に FA と光線力学アブレーションによる治療深度  $d_{mnc}$  との関係を調査した実験 (7.3 部) では、心筋傷害に伴う治癒過程が一般的には中途である施術一週間後に  $d_{mnc}$  を計測した。本研究で得られた治療深度  $d_{mnc}$  が細胞外光増感反応進行モニターの精度に影響してい

る可能性がある。また、施術 1 週間後の治療深度  $d_{mnc}$  が臨床において必要とされる即時的かつ永続的な心筋電気伝導遮断効果を得るために必要な治療深度に対応しているかどうかは明らかでない。

第三に、光線力学アブレーションにおける蛍光強度の経時変化は、光照射開始から数  $s$  で急激に減少した後定常状態に至るが、FA の算出は定常状態に至ってからの算出を仮定している点に課題がある。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においては、一点あたり少なくとも 60~90  $s$  の光照射を行うため、光照射開始から数  $s$  の非定常状態は無視することが可能であると考えられるが、FA による治療深度推定の誤差要因となる可能性は否定できない。

第四に、本章で行った実験においては健常心筋を対象組織として光線力学アブレーションを行ったことに課題がある。臨床では、例えば慢性不整脈において見られる心筋組織の気質的变化、すなわち組織線維化や、炎症に伴う血行動態の悪化が想定され [48]、これらは光線力学アブレーションの治療効果に影響を及ぼす可能性がある。そのため、7.3 部で得た FA と  $d_{mnc}$  の対数のフィッティングカーブを治療深度推定に適用することはできないと考えられる。

第五に、本研究で示した FA は検出器の出力を元に算出した相対値であるため、光線力学アブレーションによる治療深度推定のために細胞外光増感反応進行モニターを一般化して使用するためには校正を行う必要がある。校正は使用する計測装置ごとに、また対象とする組織ごとに行う必要があると考えられる。

第六に、FA を用いた治療深度推定は細胞外光増感反応を用いた治療においてモニターとして運用可能であり、連続的な光感受性薬剤の供給のない細胞内光増感反応においては、治療深度推定のための指標を FA ではなく新たに設定する必要がある。細胞内光増感反応の場合は、光感受性薬剤の供給がないため、治療部位に分布する光感受性薬剤の初期濃度から光増感反応終了時の濃度の差分が一重項酸素産生量に相当すると考えられる。すなわち光増感反応開始時と終了時の蛍光強度の差分が一重項酸素産生量を反映し、治療深度推定の指標になると考えられる。

## 7.6 結言

光線力学アブレーションによる治療深度と経カテーテル的に経時計測したタラポルフィンナトリウム蛍光の減少総量に対数関数相関を見出し、心筋における光線力学アブレーションをモデル化することでこの相関を説明でき、細胞外光増感反応進行モニターに应用可能であることを明らかにした。この細胞外光増感反応進行モニターにより光線力学アブレーションによる治療深度を  $1.0 \pm 0.6$  mm の精度にて推定可能であり、貫壁性の治療深度を得つつ近接する重要臓器を保全するために必要な mm 単位での治療深度制御性能を有することがわかった。

## 参考文献

- [1] A. Ito, T. Kimura, S. Miyoshi, S. Ogawa, and T. Arai, “Photosensitization reaction-induced acute electrophysiological cell response of rat myocardial cells in short loading periods of talaporfin sodium or porfimer sodium,” *Photochem Photobiol*, vol. 87, pp. 199–207, 2011.
- [2] T. Kimura, S. Takatsuki, S. Miyoshi, K. Fukumoto, M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Arai, S. Ogawa, and K. Fukuda, “Non-thermal cardiac catheter ablation using photodynamic therapy,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 1025–1031, 2013.
- [3] A. Ito, S. Hosokawa, S. Miyoshi, K. Soejima, S. Ogawa, and T. Arai, “The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 57, pp. 488–495, 2010.
- [4] J. B. Bassingthwaight, T. Yipintsoi, and R. B. Harvey, “Microvasculature of the dog left ventricular myocardium,” *Microvasc Res*, vol. 7, pp. 229–249, 1974.
- [5] R. K. Dash and J. B. Bassingthwaight, “Simultaneous blood-tissue exchange of oxygen, carbon dioxide, bicarbonate, and hydrogen ion,” *Ann Biomed Eng*, vol. 34, pp. 1129–1148, 2006.
- [6] S. Mitra and T. H. Foster, “In vivo confocal fluorescence imaging of the intratumor distribution of the photosensitizer mono-L-aspartylchlorin-e6,” *Neoplasia*, vol. 10, pp. 429–438, 2008.
- [7] J. D. Spikes and J. C. Bommer, “Photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e<sub>6</sub> (NPe6): a candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors,” *J Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 17, pp. 135–143, 1993.
- [8] H. Mojzisoava, S. Bonneau, C. Vever-Bizet, and D. Brault, “Cellular uptake and subcellular distribution of chlorin e6 as functions of pH and interactions with membranes and lipoproteins,” *Biochim Biophys Acta*, vol. 1768, pp. 2748–2756, 2007.
- [9] A. Ferrario, D. Kessel, and C. J. Gomer, “Metabolic properties and photosensitizing responsiveness of mono-L-aspartyl chlorin e<sub>6</sub> in a mouse tumor model,” *Cancer Res*, vol. 52, pp. 2890–2893, 1992.
- [10] C. P. Ng, B. Hinz, and M. A. Swartz, “Interstitial fluid flow induces myofibroblast differentiation and collagen alignment in vitro,” *J Cell Sci*, vol. 118, pp. 4731–4739, 2005.
- [11] D. J. Robinson, H. S. Bruijn, N. van der Veen, M. R. Stringer, S. B. Brown, and W. M. Star, “Fluorescence photobleaching of ALA-induced protoporphyrin IX during photodynamic therapy of normal hairless mouse skin: the effect of light dose and irradiance and the resulting biological effect,” *Photochem Photobiol*, vol. 67, pp. 140–149, 1998.

- [12] E. Ogawa, A. Ito, and T. Arai, “Detailed in vitro study of the photosensitization reaction of extracellular talaporfin sodium in rat myocardial cells,” *Laser Surg Med*, vol. 60, pp. 660–667, 2013.
- [13] V. V. Tuchin, S. R. Utz, and I. V. Yaroslavsky, “Tissue optics, light distribution, and spectroscopy,” *Opt Eng*, vol. 33, pp. 3178–3188, 1994.
- [14] A. Ito, S. Miyoshi, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, K. Fukuda, and T. Arai, “Myocardial electrical conduction block induced by photosensitization reaction in exposed porcine hearts in vivo,” *Laser Surg Med*, vol. 45, pp. 984–990, 2011.
- [15] 野上晴雄, *新組織学*, 東京: 文光堂, 2011, pp. 4–5.
- [16] K. Yokoyama, H. Nakagawa, D. C. Shah, H. Lambert, G. Leo, N. Aeby, A. Ikeda, J. V. Pitha, T. Sharma, R. Lazzara, and W. M. Jackman, “Novel contact force sensor incorporated in irrigated radiofrequency ablation catheter predicts lesion size and incidence of steam pop and thrombus,” *Circ Arrhythmia Electrophysiol*, vol. 1, pp. 354–362, 2008.
- [17] E. K. Chan, B. Sorg, D. Protsenko, M. O’Neil, M. Motamedi, and A. J. Welch, “Effects of compression on soft tissue optical properties,” *IEEE J Sel Top Quant Electron*, vol. 2, pp. 943–950, 1996.
- [18] M. J. Leahy, F.F.M. de Mul, G. E. Nilsson, and R. Maniewski, “Principles and practice of laser-Doppler perfusion technique,” *Technol Health Care*, vol. 7, pp. 143–162, 1999.
- [19] Parimed AB, Laser Doppler probes for PeriFlux System5000 カタログ, Article no. 44-00018-03.
- [20] L. Osterloh and M. G. H. Vicente, “Mechanisms of porphyrinoid localization in tumors,” *J Porphyr Phthalocya*, vol. 6, pp. 305–324, 2002.
- [21] C. J. Gomer and A. Ferrario, “Tissue distribution and photosensitizing properties of mono-l-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model,” *Cancer Res*, vol. 50, pp. 3985–3990, 1990.
- [22] A. Ito, S. Hosokawa, S. Miyoshi, K. Soejima, S. Ogawa, and T. Arai, “The myocardial electrical blockade induced by photosensitization reaction,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 57, pp. 488–495.
- [23] P. G. Macedo, S. Kapa, J. A. Mears, A. Fratianni, and S. J. Asirvatham, “Correlative anatomy for the electrophysiologist: ablation for atrial fibrillation. Part II: regional anatomy of the atria and relevance to damage of adjacent structures during AF ablation,” *Cardiovasc Electr*, vol. 21, pp. 829–836, 2010.
- [24] S. Y. Ho, D. Sanchez-Quintana, J. A. Cabrera, and R. H. Anderson, “Anatomy of the left atrium: implications for radiofrequency ablation of atrial fibrillation,” *J Cardiovasc Electr*, vol. 10, pp. 1525–1533, 1999.

- [25] S. Y. Ho, J. A. Cabrera, V. H. Tran, J. Farré, R. H. Anderson, and D. Sánchez-Quintana, “Architecture of the pulmonary veins: relevance to radiofrequency ablation,” *Heart* vol. 86, pp. 265–270, 2001.
- [26] H. Heidbüchel, R. Willems, H. van Rensburg, J. Adams, H. Ector, and F. Van de Werf, “Right atrial angiographic evaluation of the posterior isthmus: relevance for ablation of typical atrial flutter,” *Circulation*, vol. 101, pp. 2178–2184, 2000.
- [27] J. J. Langberg, M. Gallagher, S. A. Strickberger, and O. Amirana, “Temperature-guided radiofrequency catheter ablation with very large distal electrodes,” *Circulation*, vol. 88, pp. 245–249, 1993.
- [28] J. Ferreira, L. T. Moriyama, C. Kurachi, C. Sibata, O. C. Silva, S. Zucoloto, and V. S. Bagnato, “Experimental determination of threshold dose in photodynamic therapy in normal rat liver,” *Laser Phys Lett*, vol. 4, pp. 469–475, 2007.
- [29] H. Zeng, M. Korbelik, D. I. McLean, C. MacAulay, and H. Lui, “Monitoring photoproduct formation and photobleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfin-like photosensitizer,” *Photochem Photobiol*, vol. 75, pp. 398–405, 2002.
- [30] C. Sheng, P. J. Hoopes, T. Hasan, and B. W. Pogue, “Photobleaching-based dosimetry predicts deposited dose in ALA-PpIX PDT of rodent esophagus,” *Photochem Photobiol*, vol. 83, pp. 738–748, 2007.
- [31] V. H. Fingar, T. J. Wieman, S. A. Wiehle, and P. B. Cerrito, “The role of microvascular damage in photodynamic therapy: the effect of treatment on vessel constriction, permeability, and leukocyte adhesion,” *Cancer Res*, vol. 52, pp. 4914–4921, 1992.
- [32] M. W. R. Reed, T. J. Wieman, K. W. Doak, C. G. Pietsch, and D. A. Schuschke, “The microvascular effects of photodynamic therapy: evidence for a possible role of cyclooxygenase products,” *Photochem Photobiol*, vol. 50, pp. 419–423, 1989.
- [33] W. G. Roberts and T. Hasan, “Role of neovasculature and vascular permeability on the tumor retention of photodynamic agents,” *Cancer Res*, vol. 52, pp. 924–930, 1992.
- [34] S. Y. Ho, R. H. Anderson, and D. Sanchez-Quintana, “Atrial structure and fibres: morphologic bases of atrial conduction,” *Cardiovasc Res*, vol. 54, pp. 325–336, 2002.
- [35] O. A. Alvarez and D. L. Yudilevich, “Heart capillary permeability to lipid-insoluble molecules,” *J Physiol*, vol. 202, pp. 45–58, 1969.
- [36] T. Yipintsoi, P. D. Scanlon, and J. B. Bassingthwaighe, “Density and water content of dog ventricular myocardium,” *Proc Soc Exp Biol Med*, vol. 141, pp. 1032–1035, 1972.
- [37] S. R. Bergmann, K. A. Fox, A. L. Rand, K. D. McElvany, M. J. Welch, J. Markham, and B. E. Sobel, “Quantification of regional myocardial blood flow *in vivo* with  $H_2^{15}O$ ,” *Circulation*, vol.



- 70, pp. 724–733, 1984.
- [38] 東健彦, 神谷瞭, “微小循環 医学と理工学の接点” 東京; コロナ社, 1983, pp. 94–113.
- [39] 藤井達三, 寺田弘, 野村靖幸, “薬物作用と生体膜” 東京; 南江堂, 1987, pp. 160–161.
- [40] E. M. Renkin, “Multiple pathways of capillary permeability,” *Circ Res*, vol. 41, pp. 735–743, 1977.
- [41] W. N. Duran and D. L. Yudilevich, “Estimate of capillary permeability coefficients of canine heart to sodium and glucose,” *Microvasc Res*, vol. 15, pp. 195–205, 1978.
- [42] D. Yudilevich and O. Alvarez, “Water, sodium, and thiourea transcapillary diffusion in the dog heart,” *Am J Physiol*, vol. 213, pp. 308–313, 1967.
- [43] D. J. Robinson, H. S. de Bruijn, N. van der Veen, M. R. Stringer, S. B. Brown, and W. M. Star, “Fluorescence photobleaching of ALA-induced protoporphyrin IX during photodynamic therapy of normal hairless mouse skin: the effect of light dose and irradiance and the resulting biological effect,” *Photochem Photobiol*, vol. 67, pp. 140–149, 1998.
- [44] C. Sheng, P. J. Hoopes, T. Hasan, and B. W. Pogue, “Photobleaching-based dosimetry predicts deposited dose in ALA-PpIX PDT of rodent esophagus,” *Photochem Photobiol*, vol. 83, pp. 738–748, 2007.
- [45] J. D. Vollet-Filho, P. F. C. Menezes, L. T. Moriyama, C. Grecco, C. Sibata, R. R. Allison, O. Castro e Silva Jr., and V. S. Vagnato, “Possibility for a full optical determination of photodynamic therapy outcome,” *J Appl Phys*, vol. 105, pp. 102038-1–7, 2009.
- [46] H. Zeng, M. Korbelik, D. I. McLean, C. MacAulay, and H. Lui, “Monitoring photoproduct formation and photobleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfin-like photosensitizer,” *Photochem Photobiol*, vol. 75, pp. 398–405, 2002.
- [47] 伊藤亜莉沙, “光増感反応の経カテーテル的心房性不整脈治療への応用に関する研究,” 慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻 博士論文, 2011 年度.
- [48] C. Chimenti, M. A. Russo, A. Carpi, and A. Frustaci, “Histological substrate of human atrial fibrillation,” *Biomed Pharmacother*, vol. 64, pp. 177–183, 2010.

## 図表

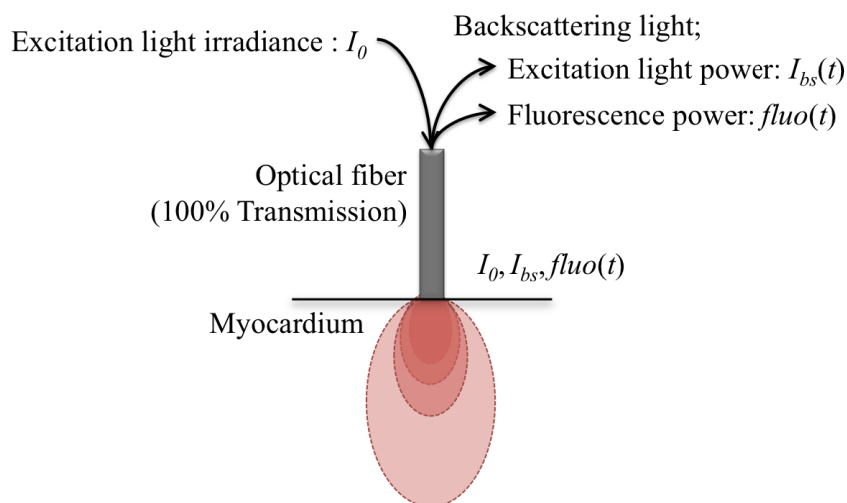


図 7-1 心筋組織に対する光線力学アブレーションの概念

放射照度  $I_0$  にて励起光をレーザカテーテルに内装された光ファイバーにより照射する。心筋組織からの拡散反射励起光およびタラポルフィンナトリウムの蛍光を同光ファイバーより導光する。簡単のため、光ファイバーの透過率は 100% と仮定する。心筋組織に照射された励起光の放射照度は組織深さ方向に指数関数的に減衰する。

$I_0$ : 心筋組織表面における励起光の放射照度

$I_{bs}$ : 心筋組織にて拡散反射し経ファイバー的に検出した励起光強度

$fluo(t)$ : 心筋組織に分布し経ファイバー的に検出したタラポルフィンナトリウムの蛍光強度

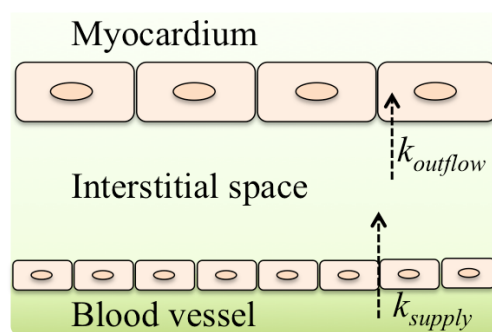


図 7-2 心筋細胞における細胞外光増感反応の概念

心筋における細胞外光増感反応においては、心筋間質中のタラポルフィンナトリウムが細胞傷害に関与する。タラポルフィンナトリウムは速度  $k_{supply}$  にて血管からの透過性により間質中へ供給され、速度  $k_{outflow}$  にて間質外へ流出する。

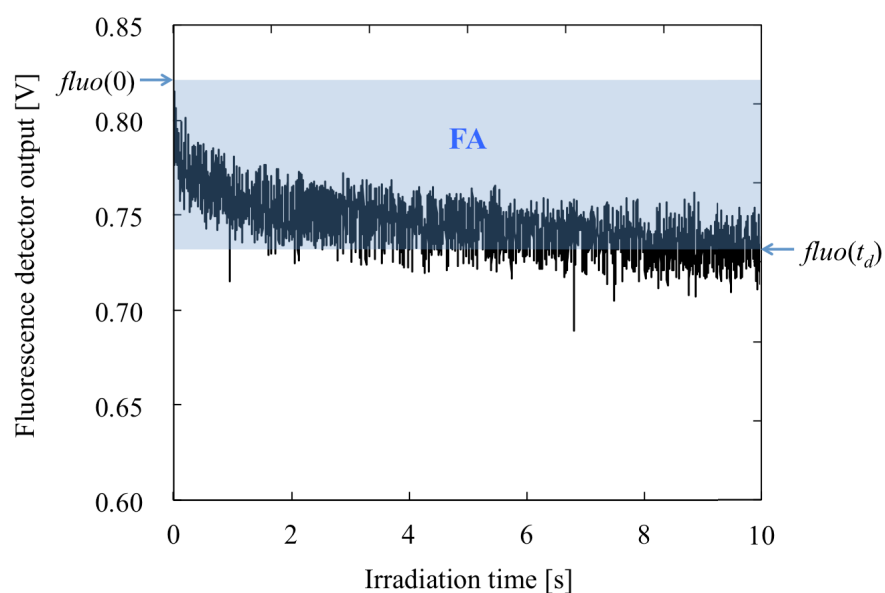


図 7-3 経カテーテル的蛍光計測から算出する細胞外光増感反応の進行指標である FA の概念

一例として、光照射開始時における蛍光強度を基準に規格化した蛍光強度経時変化を示した。FA は光照射開始時と終了時における蛍光強度の差分に光照射時間を乗じて算出する。

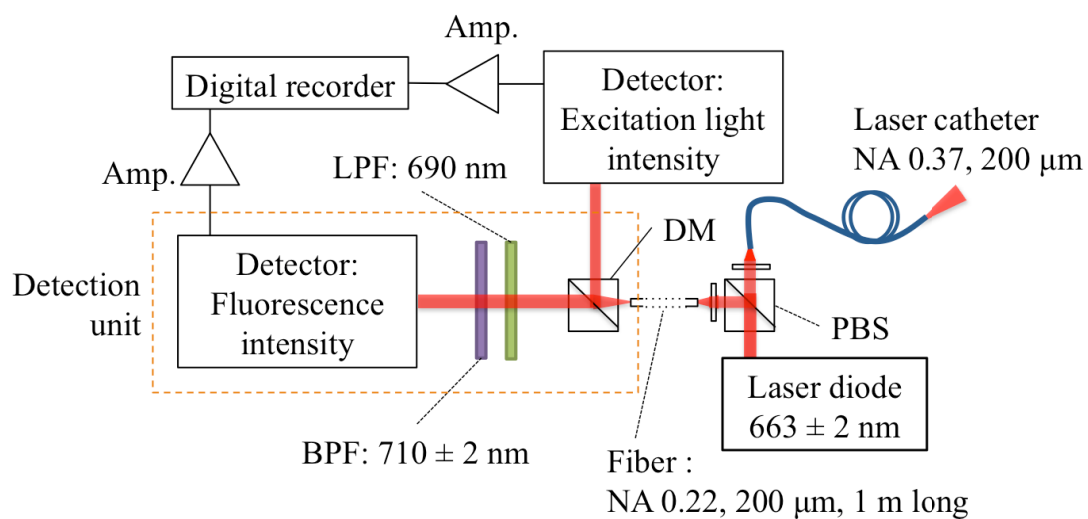


図 7-4 経カテーテル的タラポルフィンナトリウム蛍光および拡散反射励起光経時計測のための光学系の概要

光学系に使用したフィルターの特性は図 4-10 に示した。

DM: ダイクロイックミラー

LPF: ロングパスフィルター

BPF: バンドパスフィルター

PBS: 偏光ビームスプリッター

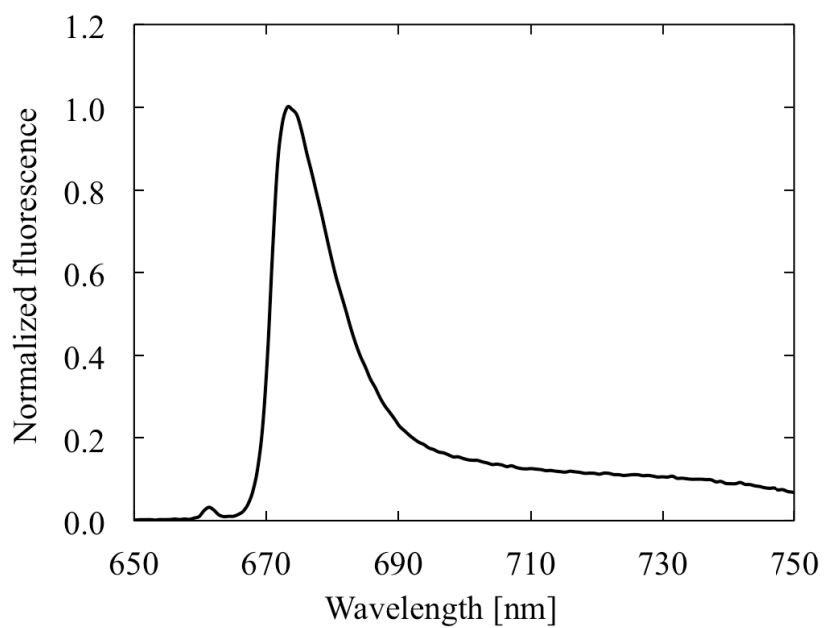


図 7-5 タラポルフィンナトリウムの蛍光スペクトル

細胞用培地 Medium I (Dulbecco's modified Eagle's medium/nutrient mixture F-12

[D-MEMF-12] supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin, 100

$\mu\text{g/ml}$  streptomycin; Invitrogen, CA, USA) を溶媒としたときのタラポルフィンナト

リウム蛍光スペクトルを露光時間 200 ms にて計測した。蛍光ピーク波長は 673 nm

であった。

表 7-1 開胸下イヌ心筋における経カテーテル的光線力学アブレーションによる治療深度調査のための投薬および光照射条件

<b>Talaporfin sodium</b> <b>[mg/kg]</b>	<b>Irradiance</b> <b>[W/cm<sup>2</sup>]</b>	<b>Duration</b> <b>[s]</b>
<b>2.5</b>	5	
	10	
	20	5, 10, 20
<b>5.0</b>	5	
	10	

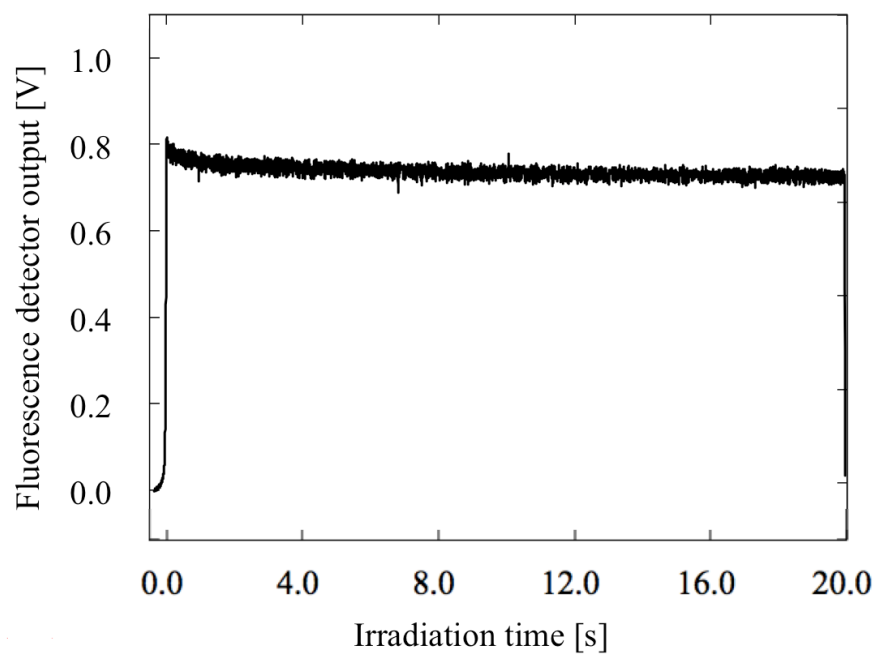


図 7-6 タラポルフィンナトリウムを 2.5 mg/kg 投与したイヌの開胸下心室に、放射照度  $10 \text{ W/cm}^2$ 、20 s にて光線力学アブレーションを行ったときの経カテーテル的蛍光経時変化



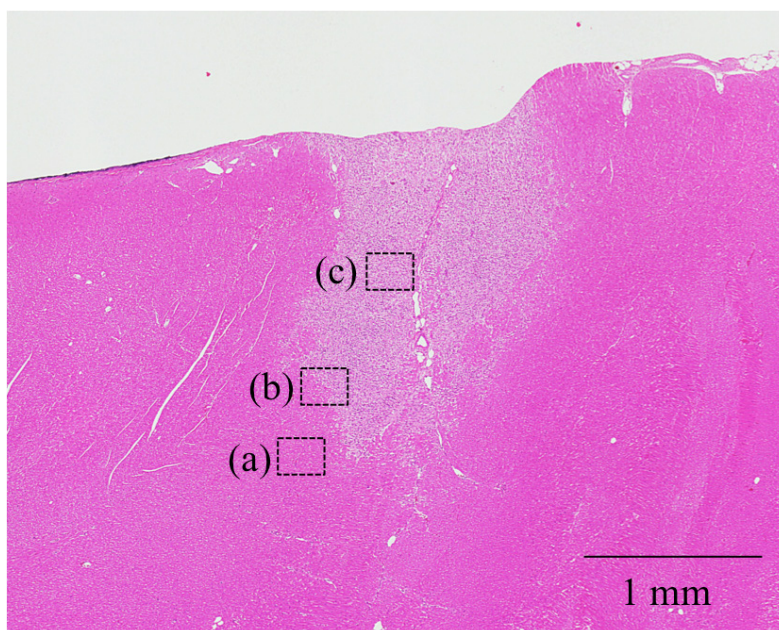


図 7-7 タラポルフィンナトリウムを 2.5 mg/kg 投与したイヌの開胸下心室に、放射照度 10 W/cm<sup>2</sup>、20 s にて光線力学アブレーションを行った際の HE 染色標本の顕微画像 (倍率: 4.2 倍)

- (a) 健全部位
- (b) 健全-傷害部位の境界
- (c) 傷害部位

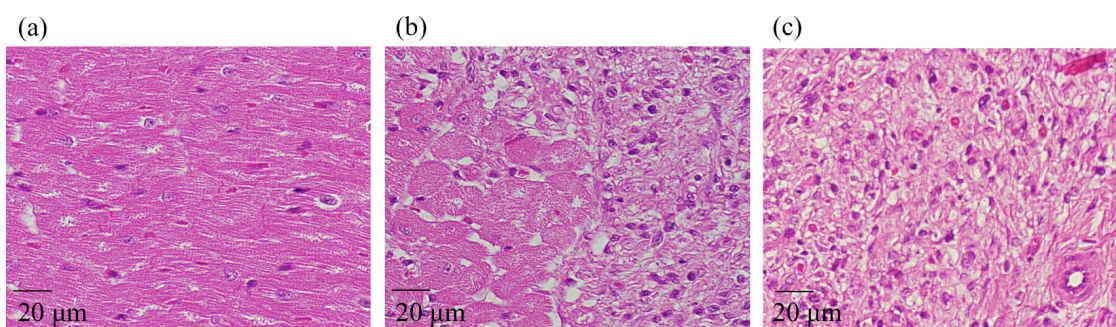


図 7-8 タラポルフィンナトリウムを 2.5 mg/kg 投与したイヌの開胸下心室に、放射照度  $10 \text{ W/cm}^2$ 、20 s にて光線力学アブレーションを行った際の HE 染色標本の顕微画像 (倍率: 40 倍)

図 7-7 と同じ標本を倍率を変更して観察した。図 7-7 中の (a)~(c) の拡大像である。

- (a) 健常部位
- (b) 健常-傷害部位の境界
- (c) 傷害部位

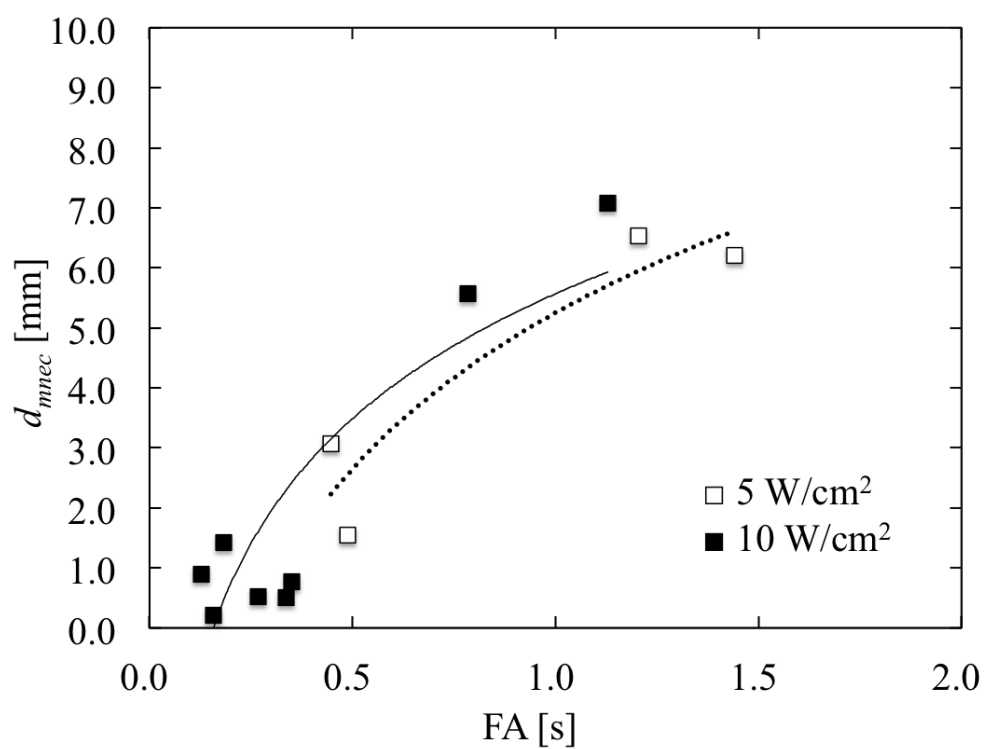


図 7-9 タラポルフィンナトリウム 5 mg/kg を投与したイヌ開胸下心室において、放射照度 5, 10 W/cm<sup>2</sup> にて光線力学アブレーションを行った際の FA と  $d_{mnec}$  の関係  
□: 放射照度 5 W/cm<sup>2</sup>  
■: 放射照度 10 W/cm<sup>2</sup>

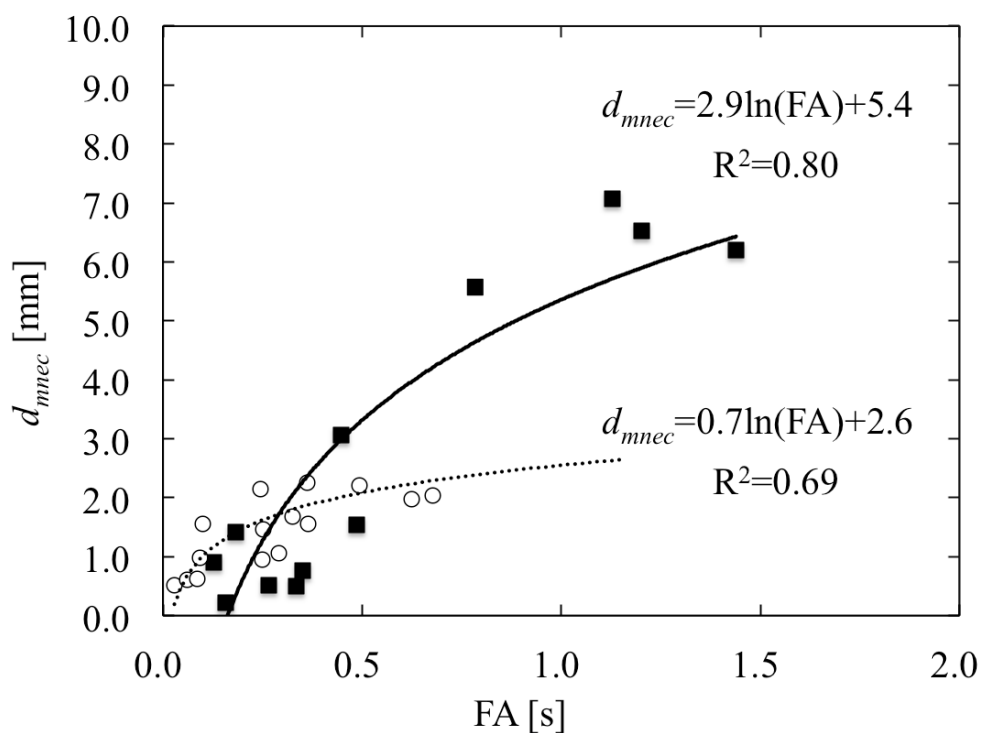


図7-10 タラポルフィンナトリウム2.5, 5 mg/kg 投与したイヌ開胸下心室において、放射照度 5, 10, 20 W/cm<sup>2</sup>にて光線力学アブレーションを行った場合の FA と  $d_{mnec}$  の関係

■および実線: 5.0 mg/kg タラポルフィンナトリウム投与群

○および点線: 2.5 mg/kg タラポルフィンナトリウム投与群

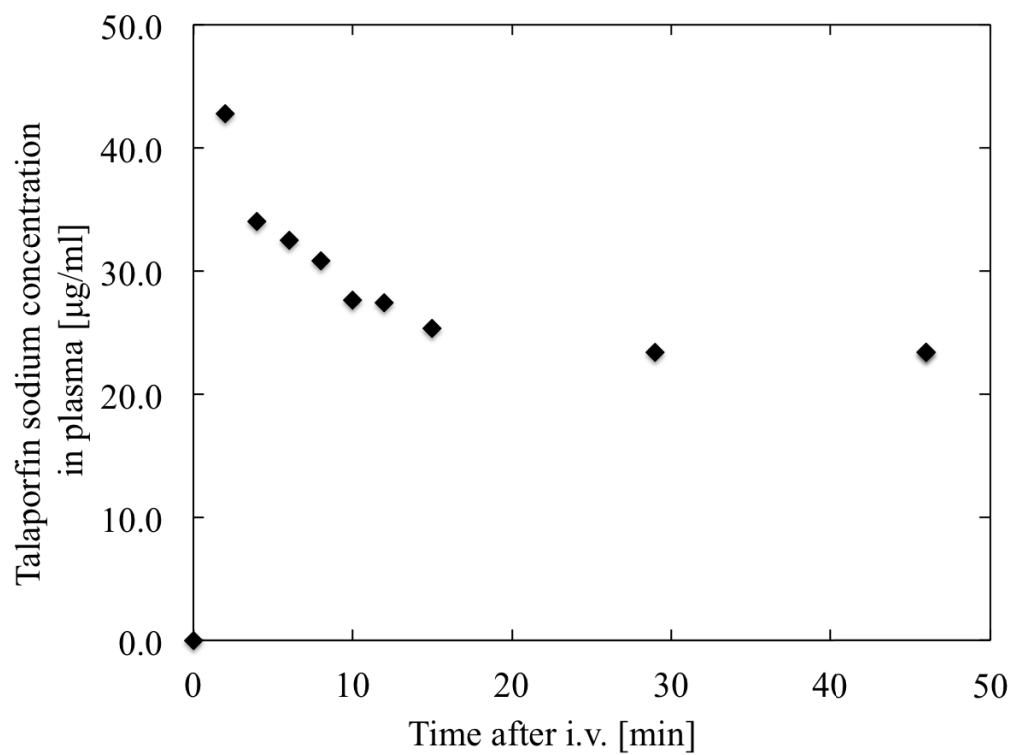


図 7-11 イヌにタラポルフィンナトリウムを 2.5 mg/kg を単回静脈投与し、2.93 mg/kg/hr にて持続静脈投与した際の実測血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移

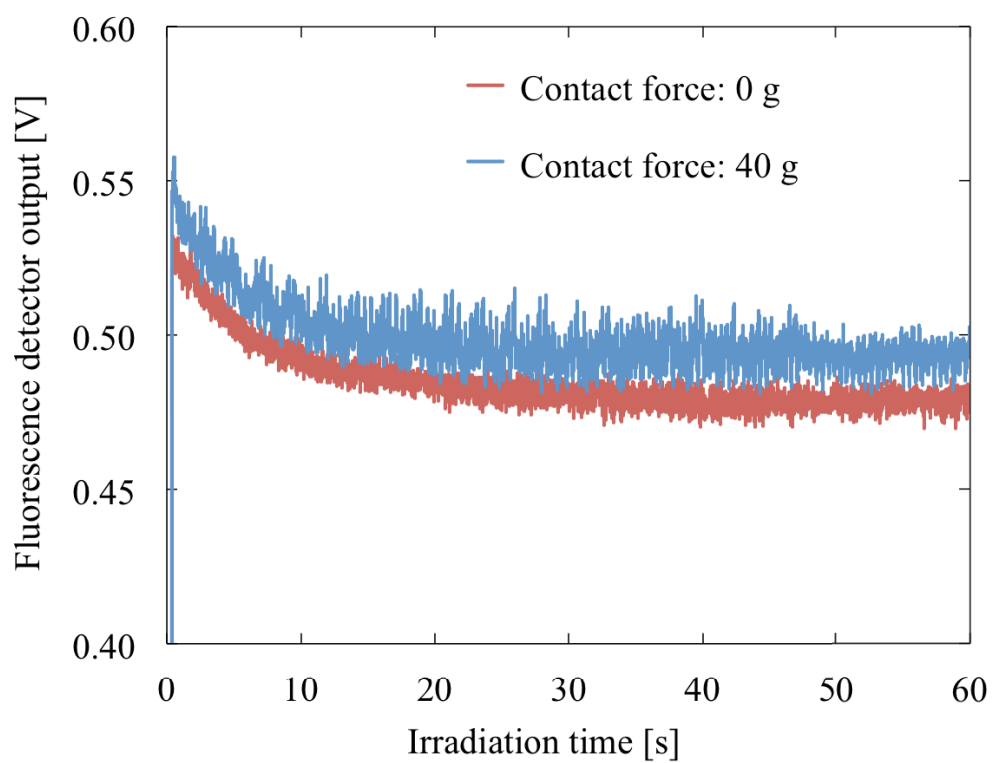


図 7-12 イヌ心筋に接触圧力 0, 40 g を負荷して光線力学アブレーションを行った際の経カテーテル的蛍光強度経時変化

赤: 接触圧力 0 g

青: 接触圧力 40 g

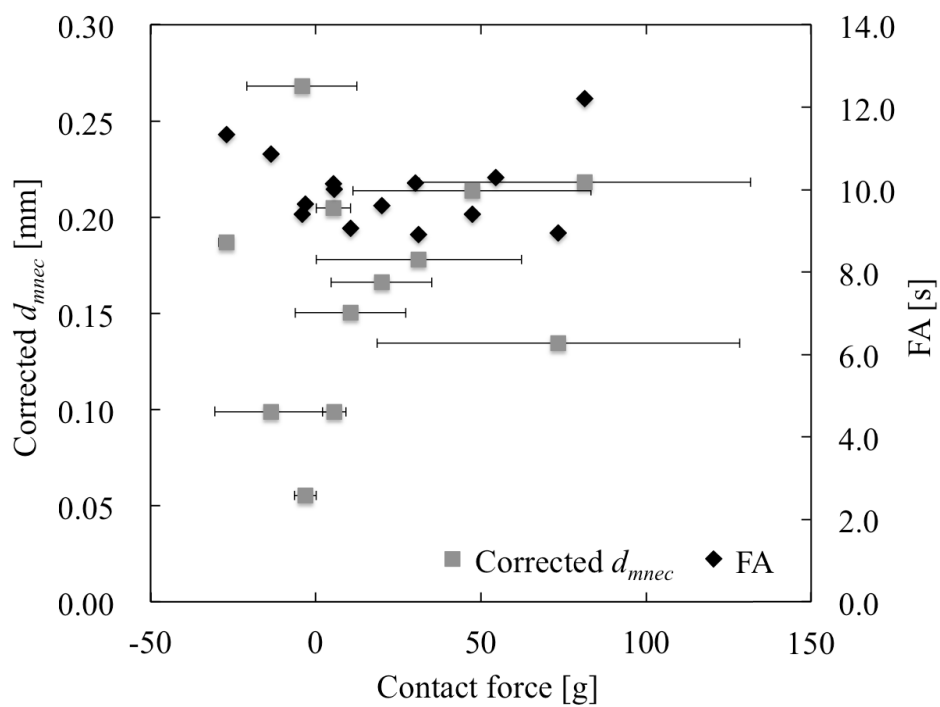


図 7-13 カテーテル接触圧力と血漿中薬剤濃度で補正した  $d_{mnec}$  および FA の関係

■: 実測した血漿中薬剤濃度で補正した  $d_{mnec}$

◆: 経カテーテル的に計測した蛍光強度経時変化から計測した FA

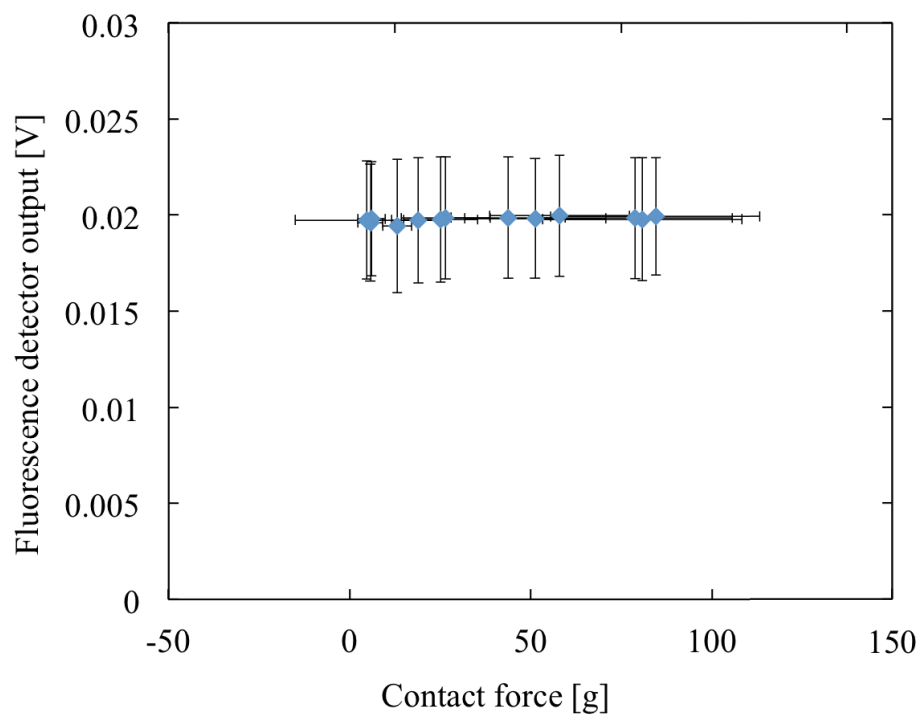


図 7-14 タラポルフィンナトリウム投薬前に経カテーテル的に  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行ったときのカテーテル接触圧力と蛍光強度



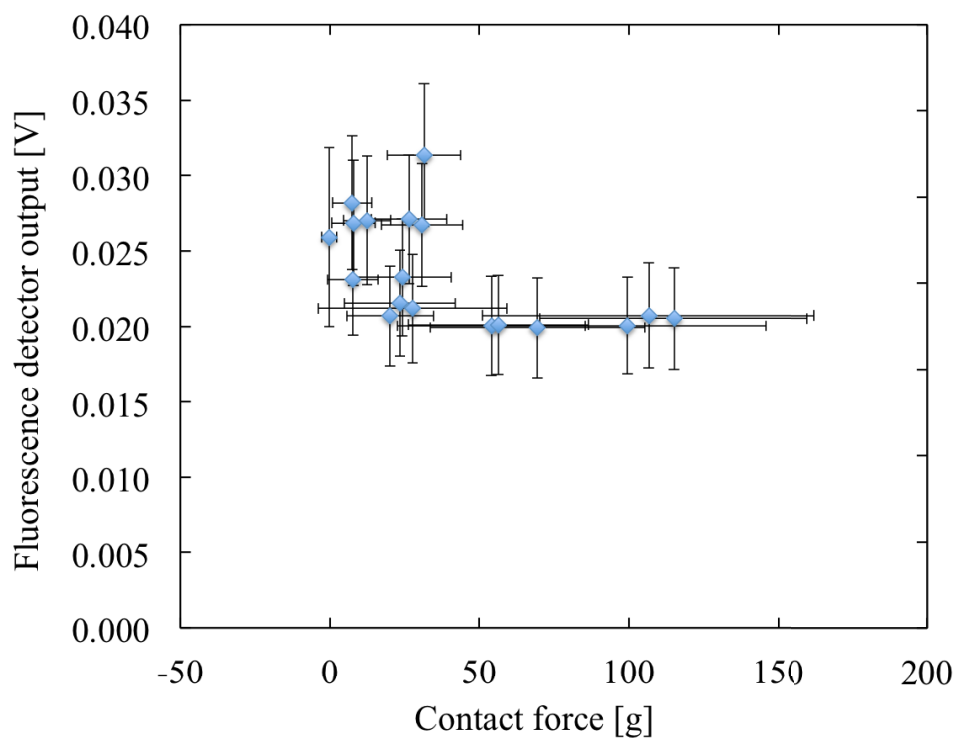


図 7-15 タラポルフィンナトリウム投薬から 15 分後に経カテーテル的に放射照度  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行ったときのカテーテル接触圧力と蛍光強度

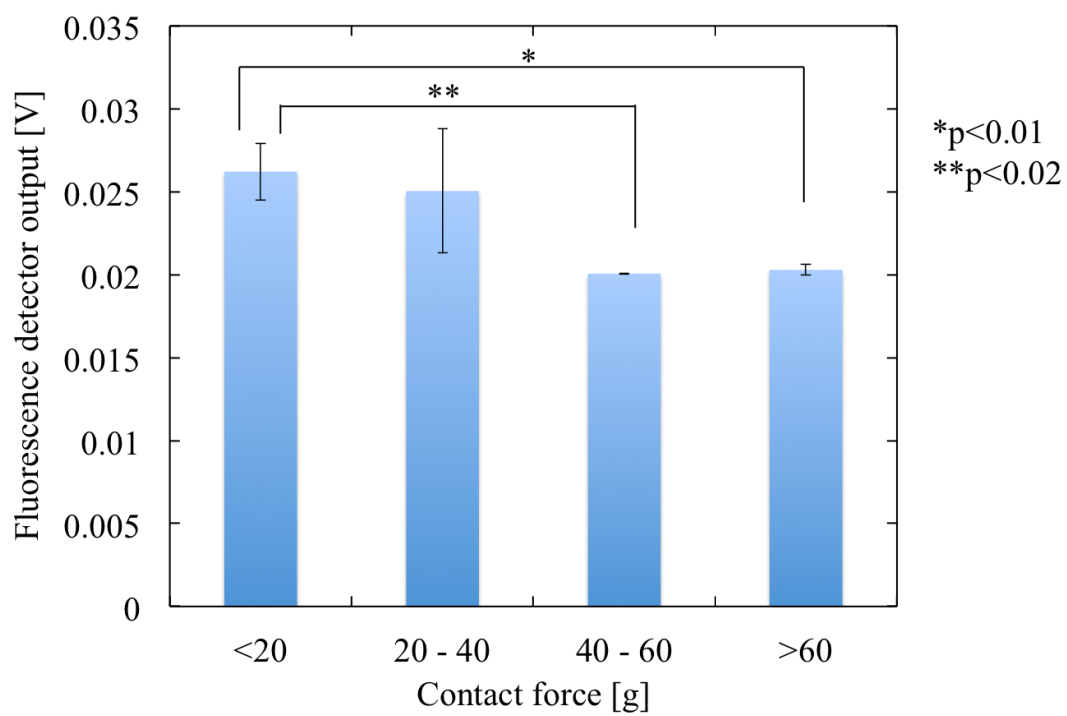


図7-16 タラポルフィンナトリウム投薬から15分後に経カテーテル的に放射照度  $26.0 \text{ mW/cm}^2$  にて光照射を行った際の、分類したカテーテル接触圧力と蛍光強度



図 7-17 デジタルフォースゲージを装着したレーザドップラー血流計を用いたブタ開胸下心筋における血流速計測

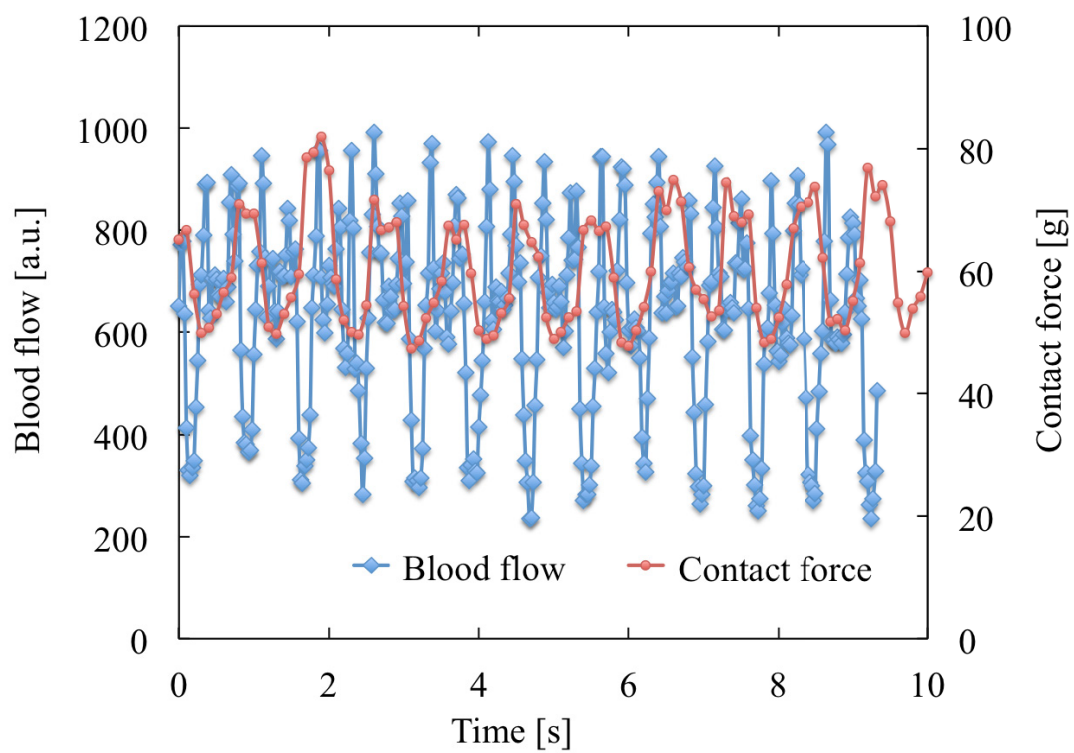


図 7-18 血流量の相対値とカテーテル接触圧力の経時変化

赤: カテーテル接触圧力

青: 相対血流量

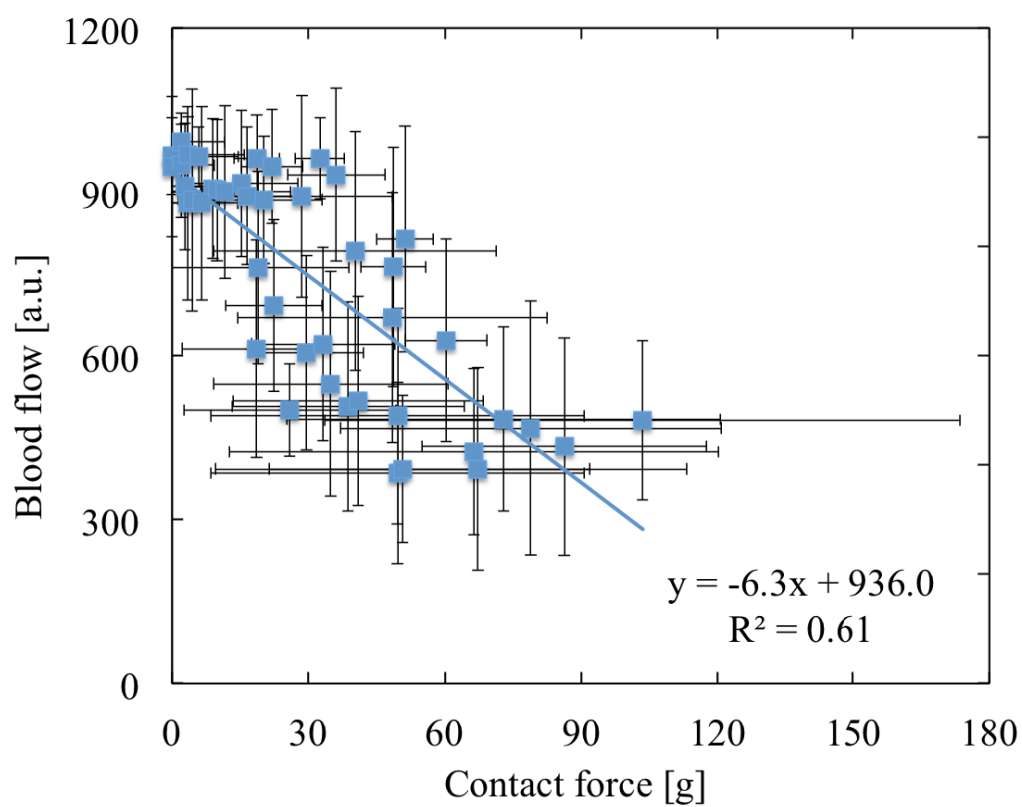


図 7-19 カテーテル接触圧力と心筋血流量相対値の関係

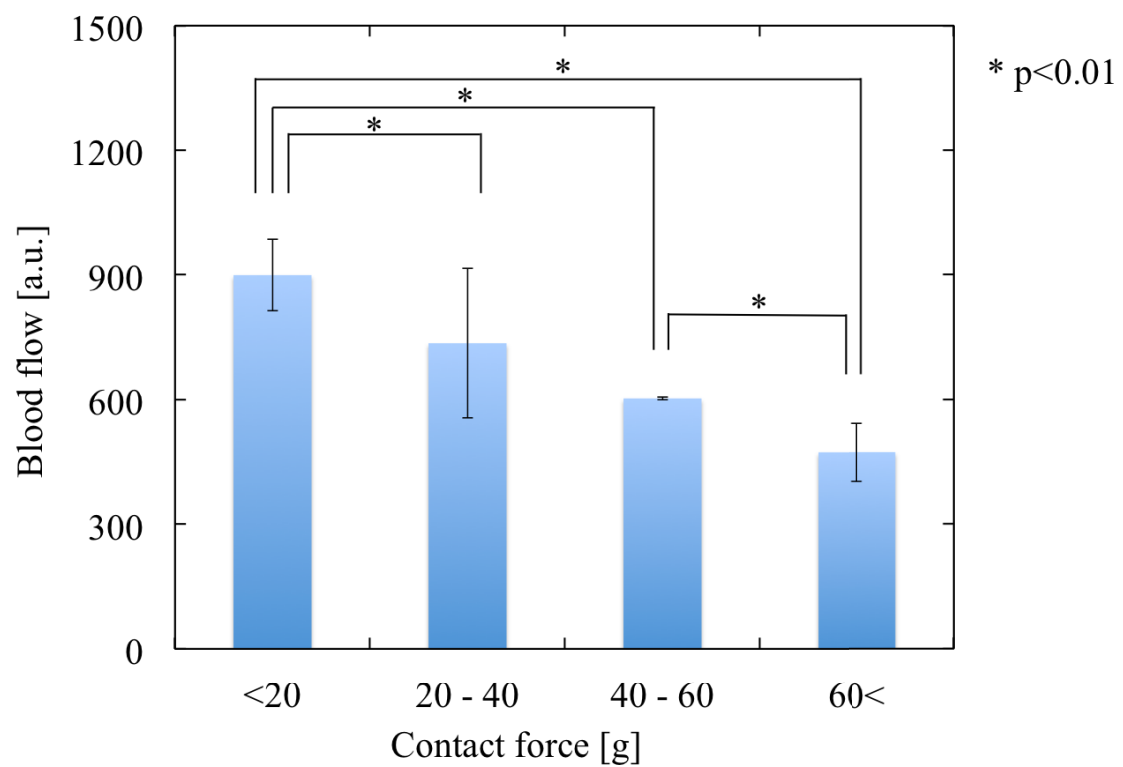


図 7-20 分類したカテーテル接触圧力と血流量の相対値の関係

表 7-2 心筋における水溶性物質の毛細血管透過性

<b>Solute</b>	<b>Molecular weight [g/mol]</b>	<b>Molecular radius [Å]</b>	<b>Permeability [cm/s]</b>
<b>Glucose</b>	180	3.7 <sup>[41]</sup>	$1.0 \times 10^{-5}$ <sup>[41, 42]</sup>
<b>Sucrose</b>	342	4.7 <sup>[41]</sup>	$0.8 \times 10^{-5}$ <sup>[38]</sup>
<b>Inulin</b>	5500	15.0 <sup>[40]</sup>	$0.2 \times 10^{-5}$ <sup>[37]</sup>
<b>Albumin</b>	67000	35.5 <sup>[40]</sup>	$0.3 \times 10^{-7}$ <sup>[39]</sup>
<b>Talaporfin sodium</b>	799.69	-	$0.7 \times 10^{-5}$ (Estimated)

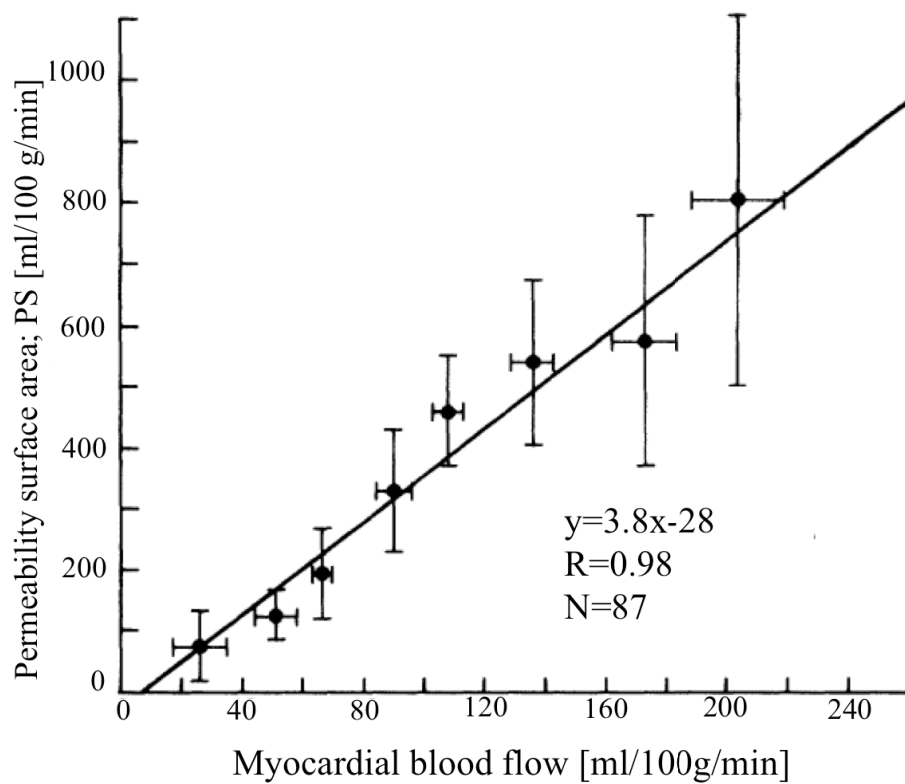


図 7-21 心筋血流と血管透過性の関係 (文献 [36]より引用改変)



表 7-3 蛍光計測を用いた光増感反応による治療効果を推定する方法の報告例

<b>Photosensitizer</b>	<b>Target tissue</b>	<b>Prediction target</b>	<b>Prediction method</b>
ALA	Skin	Damage score	Irradiation time integration of photosensitizer fluorescence irradiance ( $\lambda=550\sim794$ nm) <sup>[43]</sup>
ALA	Esophagus	Edema lesion area	Irradiation time integration of photosensitizer fluorescence irradiance ( $\lambda=690$ nm) multiplied by excitation light irradiance <sup>[44]</sup>
Photogen	Liver	Damage depth	Photosensitizer fluorescence irradiance multiplied by penetration depth and logarithm of the ratio between damage threshold irradiance and irradiance on the tissue surface <sup>[45]</sup>
Verteporfin-like photosensitizer	Skin	Damage score	Irradiance of fluorescence from photoproduct due to photosensitization reaction ( $\lambda=650$ nm) <sup>[46]</sup>

## 第 8 章 皮膚残留薬剤モニター

### 8.1 緒言

光増感反応を用いた治療における最大の副作用である光線過敏症は光感受性薬剤投与後皮膚に残留する光感受性薬剤と日光曝露によって生じる。本章では、光線過敏症の発症リスクを管理することを目的とした、皮膚に残留する光感受性薬剤量を推定する皮膚残留薬剤モニターを構築することを目指す。本章では皮膚残留薬剤モニターの運用構想を述べ、計測装置の試作を行って *in vivo* 動物実験においてその性能を調査した。

### 8.2 皮膚残留薬剤モニターの運用構想

光増感反応を用いた治療における最大の副作用は光線過敏症であり、細胞外光増感反応を利用した頻脈性不整脈に対する光線力学アブレーションにおいても光感受性薬剤タラポルフィンナトリウム投与するため、光線過敏症発症の危険性は避けられない。現在、タラポルフィンナトリウムを用いた早期肺癌および原発性悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療においては光線過敏症発症回避のために設定されている 2 週間の遮光期間および発症リスク判断方法は薬剤代謝の最も遅い例に対して定められたものであり、不要な遮光入院を強いられる場合や、遮光入院期間の設定が医師の判断によって管理されているといった課題が残ることを 2.5.1 節で述べた。一方で、頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療においては、入院期間はおよそ 3~5 日である。タラポルフィンナトリウムを用いた光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療においても、通常のアブレーション治療と同等あるいはそれ以下の入院期間であることが望ましい。タラポルフィンナトリウムの代謝速度は患者によって大きく異なることから、薬剤代謝が速く早期に光線過敏症発症のリスクがなくなる患者群に不要な遮光入院を強いる必要はなく、代謝の速い患者に対しては医師判断に基づいて早期退院を指示することで入院期間を短縮できる可能性がある。光線過敏症は表皮に残留する光感受性薬剤による光増感反応によるものであるから、表皮に残留する光感受性薬剤量に関する情報を提供できれば、安全な早期退院の医師判断の支援になり得る。本研究ではタラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応を用いた治療において運用可能な、経皮的な光学計測を利用した皮膚残留薬剤モニターの開発を目指した。皮膚残留薬剤モニターは退院判断の評価指標として利用する構想である。

タラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による治療において皮膚残留薬剤モニターを運用するために必要とされる性能は、

1. 光線過敏症が生じる閾値の血漿中タラポルフィンナトリウム濃度 0.6~2.9  $\mu\text{g/ml}$  を検出可能 [1]
2. 厚さ 65~130  $\mu\text{m}$  の表皮に残留するタラポルフィンナトリウム量を検出可能 [2]

3. 計測部位のばらつきを補償可能
4. タラポルフィンナトリウム代謝の個人差を補償可能
5. 非侵襲的な計測および評価が可能
6. 簡易的な計測および評価が可能

である。1. のタラポルフィンナトリウム投与による光線過敏症発症閾値については、血漿中タラポルフィンナトリウム濃度  $0.6\sim 2.9\ \mu\text{g/ml}$  であることが報告されている [1]。光線過敏症発症の表皮におけるタラポルフィンナトリウム閾値濃度は明らかでないが、皮膚組織中タラポルフィンナトリウム濃度は血漿中薬剤濃度に対して、投薬から 12 hr 後には約 2.2 倍、24 hr 後には約 2.5 倍、48 hr 後には約 7.0 倍になることから、皮膚残留薬剤モニター運用時には少なくとも  $2.9\ \mu\text{g/ml}$  のタラポルフィンナトリウムを検出することが必要になる [3]。

2. に関して、光線過敏症は主に表皮で生じる光増感反応によるものであるから、表皮に残留するタラポルフィンナトリウムを評価する必要がある。表皮の厚みは  $65\sim 130\ \mu\text{m}$  であるため [2]、光学計測の際には表皮厚みと同等の光侵達長を有する光源を用いることが妥当である。3. の計測部位のばらつきを補償については、皮膚表面には、汗孔や黒子、毛根などが存在しており光学特性が均一ではないため、光学計測時には影響がある可能性がある [4]。

光感受性薬剤量は蛍光強度に関連することから、皮膚残留薬剤モニターでは上腕内側にて経皮的に Soret 帯励起を用いた蛍光計測を行う方式とした。上腕内側は、日焼けをしていないこと、角層が薄いことから蛍光計測に適すること、また計測プローブを血圧計のカフにより設置することが容易であるため選定した [5]。蛍光計測のための励起光源には、タラポルフィンナトリウムの Soret 帯ピークに相当する波長  $400\ \text{nm}$  帯の青色光を採用した [6]。皮膚における  $400\ \text{nm}$  帯光の光侵達長は  $90\sim 300\ \mu\text{m}$  であることから、表皮に残留するタラポルフィンナトリウム量の評価が可能であると考えられる [7-9]。また、タラポルフィンナトリウムの Soret 帯吸収ピークは Q 帯吸収ピークよりも約 2 倍大きくモル吸光係数が  $1.8\times 10^5\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  であることから [10]、微量の皮膚残留タラポルフィンナトリウムの検出が可能であると考えた。皮膚表面から受光する蛍光の光学特性による影響を補償し、蛍光計測を平均化して行うために、光照射および受光素子として長さ  $5\ \text{cm}$  のプラスチック光ファイバーから成る拡散チップを採用し、サンプリング長さを大きくする設計とした。

拡散チップより受光したタラポルフィンナトリウム蛍光を分光器によりスペクトル計測し、タラポルフィンナトリウム相対濃度を推定する構想である。皮膚残留薬剤モニターの運用は、個人差の大きいタラポルフィンナトリウム代謝速度を補償するために、投薬前および直後、術後の複数回を想定している。タラポルフィンナトリウム投薬直後のスペクトル計測結果を用いてタラポルフィンナトリウム代謝の個人差を補償する構想である。

### 8.3 皮膚残留薬剤モニターの試作

本部では、8.2部で述べた皮膚残留薬剤モニターの運用構想に基づいて、経皮的なタラポ

ルフィンナトリウム蛍光計測が可能な計測プローブおよび計測光学系を試作した。試作した皮膚残留薬剤モニターの光放射および受光強度分布を調査した。

### 8.3.1 試作皮膚残留薬剤モニターの構成

試作した皮膚残留薬剤モニターは、計測プローブと計測光学系から成る。図8-1に試作した計測プローブの外観を、図8-2に皮膚残留薬剤モニターのシステム全体の設計図を示した。光照射および受光素子として、外径1 mm、全長1.7 mのプラスチック光ファイバー (PGU FB1000; 東レ株式会社, 東京) の先端から5 cmをサンドペーパー (#280, #1000) にてクラッドを研磨した拡散チップを採用した。光ファイバーの研磨は拡散長5 cmが均一な光放射分布となるように、目視確認下で研磨加工が施されている。2本の拡散チップはそれぞれ励起光照射と蛍光受光のためのものである。計測時にプローブが皮膚に密着するよう、厚さ $1.0\pm 0.1$  mmのウレタンゲルに拡散チップを両面テープにより接着した。皮膚残留薬剤モニター運用時の皮膚表面における血流の維持を確認するために、皮膚温度を熱電対 (TH-8162-2; 株式会社スリーハイ, 神奈川) を用いて計測する構成とした。計測時における外乱光の混入を防ぐため、拡散チップおよび熱電対を覆うように遮光テープを貼った。励起光源には、タラポルフィンナトリウムのSoret帯吸収ピークに相当する、中心波長409 nm、半値全幅16 nmの青色LED光源 (LLS-405; Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL) を用いた。受光用拡散チップを通じて、受光したタラポルフィンナトリウム蛍光を計測光学系に導光した。計測光学系には、皮膚組織の自家蛍光および励起光の影響を抑制するために波長600 nmのロングパスフィルター (FEL0600; ソーラボジャパン株式会社, 東京) が設置されており、波長400~800 nmの範囲にて蛍光スペクトルを分光器 (FL4000; Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL) により計測する構成である。図8-3に青色LED光のスペクトルとロングパスフィルターの透過スペクトルを示した。

### 8.3.2 性能評価

本節では、試作した皮膚残留薬剤モニター計測プローブの蛍光分光性能を明らかにすることを目的として、光照射性能と受光性能の観点で調査を行った。試作した皮膚残留薬剤モニターの光照射性能を評価するため、計測プローブに内装するプラスチック光ファイバー製拡散チップの透過率および光照射強度分布を実測により調査した。励起光照射と同様に、蛍光の受光も拡散チップより行う。拡散チップは5 cmの長さを有しており、計測する蛍光の由来およびその構成を明らかにする必要がある。拡散チップより外部光を受光する際の拡散チップ長軸方向における受光効率分布を調査した。

### 8.3.2.1 実験方法

皮膚残留薬剤モニターに内装する拡散長5 cm、全長1.7 mのプラスチック光ファイバー製拡散チップの透過率を、内径3 inchの積分球 (3P-GPS-040-SF; Labsphere Inc., North Sutton, NH) を用いた実験系にて計測した。実験系の模式図を図8-4に示した。拡散チップを積分球内に挿入し、12.6 mWの青色光を入射、光照射を行い、パワーメーター (PowerMax-USB UV/VIS, コヒレントジャパン株式会社, 東京) を用いて放射光強度を全10本において計測した。積分球内での光損失を考慮するため、積分球に直接入射した光強度と、同光強度を積分球に入射して受光した光強度の校正直線を取得した。

試作した計測プローブからの励起光放射分布を、励起光照射用拡散チップおよび蛍光受光用拡散チップの両方において計測した。計測系を図8-5に示した。計測プローブに内装された各拡散チップに11 mWの青色光を導光し、拡散チップからの放射光分布をコア径200  $\mu\text{m}$ 、NA 0.53の石英光ファイバー (WF200/220HT53; CeramOptec Industries, Inc., East Longmeadow, MA) により受光した。放射光受光用光ファイバーは長軸方向には200  $\mu\text{m}$ 単位にて、短軸方向には100  $\mu\text{m}$ 単位にて、自動ステージ (SGSP20-85; シグマ光機株式会社, 東京, 日本) を用いて移動させた。放射光受光用光ファイバーと計測プローブの距離は約1 mmであった。放射光受光用光ファイバーから導光した放射光の強度をパワーメーター (OP-2 VIS; コヒレントジャパン株式会社, 東京) を用いて計測した。

皮膚に残留するタラポルフィンナトリウム由来蛍光は等方に放射される組織による散乱を受ける拡散光であることから、皮膚残留薬剤モニター計測プローブの外部から拡散光を照射したときの拡散チップ長軸方向における受光強度分布を調査した。均一な拡散光を放射することの可能な、表面に拡散板を有した白色LED光源 (WTD-C1012; 日進電子工業株式会社, 東京) を外部光源として用いた。この白色LED光源の発光強度分布をビームプロファイラ (L11059; オフィールジャパン株式会社, 埼玉) で計測した。使用したビームプロファイラは、CCDを受光素子として光強度の分布をピクセルサイズ9.0 $\times$ 9.0  $\mu\text{m}$ 、受光面寸法36.1 $\times$ 24.0 mm、フレームレートは3.1 fpsにて計測し、相対光強度を出力する光学機器である。計測結果を図8-7に示した。拡散チップの長軸方向における受光効率分布を調査するため、拡散チップ先端から1 cmごとに遮光テープによりマスキングを行い、受光可能な拡散長さを変化させた。計測プローブを白色光源に固定し、波長660 nmにおける光強度95  $\mu\text{W}$ にて光照射を行い、計測光学系を用いて計測プローブから受光した白色光のスペクトルを積算時間100 msにて計測した。計測に用いた実験系の模式図を図8-8に示した。励起光照射による受光性能への影響を調査するため、計測プローブ内拡散チップより青色LED光を10 mW入力して光照射した場合にも同様の計測を行った。

### 8.3.2.2 実験結果

計測プローブに内装した拡散チップの透過率は $61.4 \pm 1.8\%$ であった。実測した長軸方向および短軸方向における光放射分布の一例を図8-6に示した。短軸方向における光放射分布は、拡散チップの長軸方向中点において計測した結果である。計測プローブの長軸方向に放射強度のばらつきがあり、励起光照射用拡散チップからの平均放射光強度は $69.2 \pm 25.5$  nW、蛍光受光用拡散チップからの平均放射光強度は $53.4 \pm 31.0$  nWであった。短軸方向の放射は拡散チップを中心として線対称であり、放射光強度の半値幅は0.8 mmであった。これより、試作した計測プローブにおける蛍光サンプリング領域は縦5 cm、幅 1.6 mm寸法、 $0.8$  cm<sup>2</sup>の長方形であるとわかった。

皮膚残留薬剤モニター計測プローブにより受光した白色LED光源のスペクトルと、波長400~900 nmにおけるピーク面積に対する拡散チップ長さの関係を図8-9に示した。拡散長と受光ピーク面積は線形関係にあることから、拡散チップの単位長さあたりの受光効率は均一であることが確認できた。これは、青色LED光を照射した場合にも同様であった。

## 8.4 皮膚残留薬剤モニターの運用実験 (*in vivo*)

試作した皮膚残留薬剤モニターの実用性を調査することを目的として、*in vivo*動物実験にて経皮的タラポルフィンナトリウム蛍光計測を行った。計測した蛍光スペクトルの解析方法を検討した。実験動物には、タラポルフィンナトリウムの代謝速度がヒトよりも約50倍速いブタを用いることで [11]、タラポルフィンナトリウムによる光増感反応を用いた治療において想定される術中および術後の光線過敏症が発症しなくなる血漿中薬剤濃度の全範囲、おおよそ2.5~35  $\mu\text{g/ml}$ を網羅するねらいである [12]。

### 8.4.1 実験動物の準備

本実験は慶應義塾動物実験委員会および理工学部生命倫理委員会の承認を得て、慶應義塾動物実験規定および理工学部生命倫理委員会規定を遵守し行った。実験動物はLW種雌豚3頭 (体重 $27.7 \pm 1.1$  kg, 月齢2ヶ月) を用いた。6.4.1節と同様の手技にて深麻酔状態を維持した。施術中は四肢誘導心電図、動脈圧、酸素分圧、体温を記録した。タラポルフィンナトリウム静脈投与ラインとして、頸静脈に5 Fr.シース (スーパーシース, メディキット株式会社, 東京) を留置した。タラポルフィンナトリウムを生理食塩水 (大塚生食, 大塚製薬株式会社, 東京) に溶解し、濃度2.5 mg/kg, 全量4 mlにて約1 minで単回静脈投与した。

### 8.4.2 皮膚残留薬剤モニターを用いた経皮的蛍光計測

試作した皮膚残留薬剤モニターを用いて、ブタ皮膚において経皮的蛍光計測を行った。

計測した蛍光スペクトルの処理法を検討し、皮膚に残留する薬剤量の評価方法を検討した。

#### 8.4.2.1 実験方法

試作した皮膚残留薬剤モニターの計測プローブを背中に2カ所、および両下肢に各1カ所ずつ設置し、サージカルテープを用いて固定した。計測プローブを設置した様子を図8-10に示した。計測プローブのうち、右下肢に設置したものにのみ接触面積15 cm<sup>2</sup>にて3 kgの重りを乗せて200 g/cm<sup>2</sup> (147 mmHg) の圧力を負荷し、圧排による蛍光計測への影響を調査した。計測プローブ内の励起光照射用拡散チップに青色LED光を11.0 mW入射し、拡散チップ表面において放射照度4.3 mW/cm<sup>2</sup>にて光照射を行った。蛍光計測は積算時間2 s、繰り返し計測5回にて計10 sの計測を行った。蛍光計測はタラポルフィンナトリウム投与前および投与後5 min間隔にて最大120 minまで繰り返し行った (N=3)。蛍光計測による組織温度上昇あるいは組織血行動態のモニターを行うために、計測プローブに内装した熱電対により蛍光計測中の組織表面温度を計測し、デジタルペンレコーダー (DL750; 横河電機株式会社, 東京) により記録した。全計測終了後、計測プローブを皮膚から取り外し、皮膚組織に炎症反応がないかどうか目視で観察を行った。また、可視分光組織酸素計測装置 (C9183; 浜松ホトニクス株式会社, 静岡) を用いて、蛍光計測部位における組織酸素化度の相対値を計測し、計測プローブ設置および蛍光計測による組織への影響を調査した。

経皮的蛍光計測においては、タラポルフィンナトリウム蛍光はサンプリング領域内の皮膚組織の色素沈着や表面構造によって影響を受ける。受光した蛍光スペクトルのうちタラポルフィンナトリウム蛍光のピークを含む波長660~690 nmの範囲におけるピーク面積をベースライン法により算出し、解析対象とした。計測した蛍光スペクトルにおいて、波長660 nmと690 nmを通る2点を結ぶ直線をベースライン $f(\lambda)$ とすると、 $f(\lambda)$ は下式のように書ける。

$$f(\lambda) = \left( \frac{fluo_{690} - fluo_{660}}{690_{nm} - 660_{nm}} \right) (\lambda - 660_{nm}) + fluo_{660} \quad (8-1)$$

ここで、 $fluo_{690}$ と $fluo_{660}$ は、波長660および690 nmにおける蛍光強度である。波長660~690 nmにおけるタラポルフィンナトリウム蛍光のピーク面積 $S_{fluo}$ は下式で算出できる。

$$S_{fluo} = \int_{660nm}^{690nm} (fluo_{\lambda} - f(\lambda)) d\lambda \quad (8-2)$$

計測した各蛍光スペクトルにおいて $S_{fluo}$ を算出し、 $S_{fluo}$ の経時変化を調査した。

#### 8.4.2.2 実験結果

計測結果の一例として図8-11に、背中に設置した皮膚残留薬剤モニターにて計測した蛍光スペクトルを最大強度にて正規化して示した。蛍光スペクトル計測中、フォトブリーチングは見られなかった。タラポルフィンナトリウム投与から最大120 min後まで、波長667 nm

にタラポルフィンナトリウム由来の蛍光ピークを得た [10]。タラポルフィンナトリウム投与後 5 min における  $S_{fluor}$  を基準として正規化し、 $S_{fluor}$  の経時変化をプロットした。図 8-12 に示した。 $S_{fluor}$  の正規化は、 $S_{fluor}$  は皮膚組織表面の非均一性や皮膚色などの個体ごとの光学特性の違いに基づく影響を抑制し補償するねらいである。タラポルフィンナトリウム投薬からの経過時間に伴って蛍光スペクトルのピーク強度は徐々に減少傾向が見られ、 $S_{fluor}$  は指数関数的に減衰した。これより、タラポルフィンナトリウムの代謝を経皮的蛍光計測によりモニターすることができたと言える。

皮膚表面における温度は蛍光計測中  $34.2 \pm 0.6$  °C に保たれていた。施術中の動脈圧は 75~155 mmHg、静脈圧は 23~79 mmHg であり、多くの例で動脈血管圧排を行えた。但し 1 例目 (Fig 1) においては不完全な動脈血管圧排であった場合があると思われた。全ての蛍光計測終了後、計測プローブ設置部位の皮膚表面には炎症などの症状は何ら見られなかった。皮膚酸素飽和度は、経皮的蛍光計測を行った部位では  $9.0 \pm 1.9$  であったのに対し、蛍光計測を行わなかった部位では  $9.8 \pm 3.4$  であり、有意差は見られなかった。これより、皮膚残留薬剤モニターによる経皮的蛍光計測による血行動態の低下や急性期組織傷害は生じないと考えられた。

#### 8.4.3 光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムの薬物動態調査

皮膚残留薬剤濃度モニターによる経皮的蛍光計測結果を解釈することを目的として、皮膚組織中のタラポルフィンナトリウム濃度を明らかにするために、タラポルフィンナトリウムの薬物動態を調査した。経時的に経皮的蛍光計測と組織中タラポルフィンナトリウム濃度測定を *in vivo* において両立することはできないため、時間変化を追跡することの可能な血漿中薬剤濃度を実測し、薬物動態解析法の一つである 2 コンパートメントモデルを併用することにより、皮膚組織中薬剤濃度の時間推移を推定した。

##### 8.4.3.1 実験方法

タラポルフィンナトリウム投薬前および投薬後 5 min 間隔にて最大 120 min まで、左頸静脈より採血 4 ml を行った。採取した全血を採血管 (ベノジェクト II 真空採血管; テルモ株式会社, 東京) に入れ、3000 rpm、10 min にて遠心分離 (テーブルトップ冷却遠心機 2800; 久保田商事株式会社, 東京) を行い、血漿を採取した。血漿の吸収スペクトルを分光光度計 (UV3600; 島津製作所株式会社, 京都) にて波長 350~750 nm の範囲で計測した。タラポルフィンナトリウムの吸収ピーク面積を波長 624~691 nm において算出し、予め高速液体クロマトグラフィーにより取得した校正曲線を用いて血漿中のタラポルフィンナトリウム濃度に換算した。

皮膚組織中のタラポルフィンナトリウム濃度の時間推移を推定するために、薬物動態を



解析するための数学モデルとして一般的な2コンパートメントモデルを利用した [13, 14]。2コンパートメントモデルでは薬剤を静脈投与した場合の血漿中および組織中の薬物動態を二重指数関数にて記述する [13]。2コンパートメントモデルについての詳細は付録Bに示した。タラポルフィンナトリウムの血漿中薬剤濃度時間推移 $P(t)$ および皮膚組織中濃度時間推移 $Q(t)$ は下記のように書ける。

$$P(t) = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t) \quad (8-3)$$

$$Q(t) = \frac{D(A\beta + B\alpha)}{V_1(A+B)} (-\exp(-\alpha t) + \exp(-\beta t)) \quad (8-4)$$

ここで、 $A$ ,  $B$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ は定数であり $\alpha > \beta$ の関係がある。 $D$ はタラポルフィンナトリウム投与量、 $V_1$ は血中におけるタラポルフィンナトリウム分布体積である [13, 14]。実測した血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移を最小二乗法により二重指数関数にてフィッティングし、 $P(t)$ を算出して各定数を導出し、 $Q(t)$ を推定した。

#### 8.4.3.2 実験結果

実測した血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移 $P(t)$ および推定した組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移 $Q(t)$ を図8-13に示した。血漿中タラポルフィンナトリウムは最大 $21.6 \pm 0.8 \mu\text{g/ml}$ 、最小 $2.5 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ であり、臨床において想定される血漿中薬剤濃度範囲および光線過敏症が発症する血漿中薬剤濃度閾値に相当する薬剤濃度まで経皮的蛍光計測を行ったことを確認した [1, 12]。

#### 8.4.4 皮膚の組織病理学的評価

皮膚残留薬剤モニターにより経皮的蛍光計測を行った皮膚の組織構造を把握し、また蛍光計測による組織傷害の有無を調査するため、組織病理学的評価を行った。

##### 8.4.4.1 実験方法

経皮的蛍光計測および薬物動態調査のための計測が終了した後、皮膚残留薬剤モニターを取り外し、計測を行った下肢および背中 of 皮膚組織 $7 \text{ cm}^2$ を切り出した。10%中性緩衝ホルマリン (10%ホルマリン液; 和光純薬工業株式会社, 大阪) に3週間浸漬し固定させた後、パラフィンに包埋した。厚さ $6 \mu\text{m}$ に薄切し、HE染色標本を作成した。ボックス型顕微鏡 (FSX100, オリパス株式会社, 東京) を用いて、倍率40倍にて明視野観察を行い、皮膚組織構造および組織傷害の有無を観察した (N=12)。

#### 8.4.4.2 実験結果

ブタ背中皮膚におけるHE染色標本の観察画像の一例を図8-14に示した。皮膚における炎症反応や血管閉塞は見られなかったことから、皮膚残留薬剤モニターによる経皮的蛍光計測は急性期における皮膚傷害を何ら及ぼさないことがわかった。組織病理標本観察画像より、表皮の厚さを計測したところ $90.6 \pm 21.3 \mu\text{m}$ であり、報告の範囲内であった [2]。細動脈および細静脈は組織表面から深さ $256.6 \pm 62.5 \mu\text{m}$ に存在することを確認した。

### 8.5 考察

皮膚残留薬剤モニターでタラポルフィンナトリウム励起に用いる青色光の皮膚における光侵達長は  $90 \sim 300 \mu\text{m}$  であるが、8.4.4.2 項における組織病理評価により、表皮厚みは  $90.6 \pm 21.3 \mu\text{m}$  であり、細動脈および細静脈は組織表面から深さ  $256.6 \pm 62.5 \mu\text{m}$  に存在することが確認された。すなわち、皮膚残留薬剤モニターにて計測したタラポルフィンナトリウム蛍光は表皮に分布するタラポルフィンナトリウムのみでなく、血中に分布するタラポルフィンナトリウムからの蛍光も含んでいる可能性が高い。図 8-15 に  $S_{fluo}$  の時間変化と 8.4.3 節にて得られた実測血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化および推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化をそれぞれ最大値にて規格化して示した。これらの計測結果の絶対値およびその相関を示すため、図 8-16 に  $S_{fluo}$  の時間変化の一例と実測血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化、および推定した組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化を規格化した値および絶対値の両方を示した。図 8-15 および図 8-16 より、 $S_{fluo}$  の時間変化は血漿中タラポルフィンナトリウム濃度と組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移の間にあり、皮膚残留薬剤モニターにより得られたタラポルフィンナトリウム蛍光は皮膚組織と血漿に分布するタラポルフィンナトリウム由来であることが示唆された。これより、計測したタラポルフィンナトリウム蛍光のピーク面積の時間変化  $S_{fluo}(t)$  は血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化  $P(t)$  と組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間変化  $Q(t)$  の合成関数として表記できると考えられる。

$$S_{fluo}(t) = aP(t) + bQ(t) \quad (8-5)$$

ここで  $a$  および  $b$  は定数であり、式 (8-5) に基づいて計測した  $S_{fluo}$  の時間変化を  $P(t)$  および  $Q(t)$  を用いてフィッティングすることにより得られる。皮膚残留薬剤モニターにて計測したタラポルフィンナトリウム蛍光の血漿由来タラポルフィンナトリウムと組織由来タラポルフィンナトリウムの構成比率は、 $a$  と  $b$  の比率、 $a/b$  に等しい。各蛍光計測部位および動物個体における  $a/b$  を算出し、図 8-16 に示した。ブタ No. 3 において得られた  $a/b = 2.0$  以上の極端に高い値を除けば、 $a/b$  は  $0.25 \sim 0.76$  の範囲にあり、その平均は  $0.61 \pm 0.17$  であった。すなわち、タラポルフィンナトリウムの蛍光はおおよそ血漿：組織中 = 3 : 5 の割合で構成されていることがわかった。皮膚残留薬剤モニターによる蛍光サンプリング領域は表皮と毛細

血管や細動脈、細静脈を含む真皮から成る。受光した蛍光のうち組織由来の蛍光は表皮から、血漿由来の蛍光は真皮からと考えることができる。すなわち、皮膚残留薬剤モニターを用いて計測した蛍光強度のうち 60%以上が表皮由来であることがわかった。また、皮膚残留薬剤モニターによる経皮的蛍光計測とタラポルフィンナトリウムの薬物動態解析を併用することによって、皮膚に残留するタラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定可能であることが示唆された。しかし、構成比率  $a/b$  の値は安定せず、時として極端に大きな値をとった。これは皮膚残留薬剤モニターのサンプリング領域内に大きな血管が存在したためであると予想される。一方で、経皮的蛍光計測を行う際に  $200 \text{ g/cm}^2$  の圧排を行うことによって、 $a/b$  が減少する傾向が見られた。動脈圧以上の圧力を加えることにより、蛍光サンプリング領域における血液の排除や毛細血管の血流障害が起こるためであると考えられる。皮膚残留薬剤モニター運用時にはサンプリング領域内の血管分布は不明であるから、圧排下で蛍光計測を行うことにより血漿中タラポルフィンナトリウム由来の蛍光を抑制することができ、表皮に分布するタラポルフィンナトリウム相対量を推定できると考えられる。

皮膚残留薬剤モニターを用いた経皮的蛍光計測は、最小血漿中タラポルフィンナトリウム濃度  $2.5 \pm 0.2 \text{ } \mu\text{g/ml}$  まで計測を行うことができた。この血漿中タラポルフィンナトリウム濃度はヒトにタラポルフィンナトリウムを静脈投与した場合の投薬から 336 h 後のタラポルフィンナトリウム濃度に相当し、光線過敏症を示さなくなる閾値である [1, 12, 15]。これより、皮膚残留薬剤モニターはタラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による治療を臨床にて行う際に、光線過敏症の発症リスクを検証可能な感度を有しており実用性を有すると言える。

血漿中タラポルフィンナトリウム濃度は実験動物個体間でのばらつきはほぼなかったのに対して、皮膚残留薬剤モニターによる蛍光計測から得られた  $S_{flu}$  の時間推移は実験動物個体間でばらつきが見られた。このばらつきは、皮膚に残留するタラポルフィンナトリウム濃度に個体差があるためであると考えられる。皮膚組織は末梢組織であること、またブタにおけるタラポルフィンナトリウム代謝が速いことから、個体間の薬剤代謝能の違いが強調されやすいためであると考えられる [16]。皮膚残留薬剤モニターによる蛍光計測によって、末梢組織におけるタラポルフィンナトリウム代謝の個人差を判別できることが予想され、臨床においても個々人の皮膚におけるタラポルフィンナトリウム代謝の解析に役立つと考えられる。

皮膚残留薬剤モニターを用いた経皮的蛍光計測の安全性は、8.4.4 節の組織病理評価だけでなく、光増感反応による皮膚組織傷害の観点からも検討する必要がある。皮膚残留薬剤モニターにおいては、青色光の放射照射量は  $43 \text{ mJ/cm}^2$  である。一方、皮膚における光増感反応に関して、組織傷害が生じる放射照射量はおよそ  $2.0 \text{ J/cm}^2$  であると報告されている [15]。すなわち、皮膚傷害閾値の 100 分の一の放射照射量にて計測が行えており、光増感反応による皮膚傷害は皮膚残留薬剤モニターによる蛍光計測においては生じないと考えられ

る。加えて、皮膚残留薬剤モニターによる蛍光計測時には、蛍光強度の減少すなわちフォトブリーチングは見られなかったことから、光増感反応による一重項酸素産生はほぼないと考えられる [17]。したがって、皮膚残留薬剤モニターを用いた蛍光計測では、皮膚組織傷害が生じる可能性は低く、安全性を有すると言える。一方、皮膚残留薬剤モニターの医療機器としての応用を考えた際には、使用者の立場からの安全性も検討する必要がある。皮膚残留薬剤モニターで採用した青色 LED 光は、網膜傷害のリスクを有することから使用条件に関して安全性の評価指標が日本工業規格 JIS7550「ランプ及びランプシステムの光生物学的安全性」において定められている [18]。皮膚残留薬剤モニターにて照射する青色光の放射照度及び放射照射量は、この規格に定められたリスクグループのうち、何らの光生物学的傷害も起こさない、免除グループに属する [19]。これより、皮膚残留薬剤モニター運用における安全性は保証されたとと言える。加えて、皮膚残留薬剤モニターを臨床にて運用する際には、上腕内側にてプローブを設置し、プローブ背面は遮光および圧排下での計測を行うために血圧計用カフで覆って計測を行う構想であるため、計測中に青色光が術者や患者の目に入る可能性は考えにくい。そのため、皮膚残留薬剤モニターによる光照射に伴う網膜傷害のリスクはほぼないといつてよいと考えられる。

皮膚残留薬剤モニター運用における利点は、プラスチック光ファイバーを計測プローブに採用している点にある。プラスチック光ファイバーは柔軟性があり、許容曲げ半径が 9 mm であり、計測プローブに使用したプラスチック光ファイバー径と同じクラッド径 1 mm の石英光ファイバーの許容曲げ半径 150 mm よりも有意に小さいので、臨床において利用しやすいと考えられる。また、プラスチック光ファイバーは安価であることも利点の一つである。これらの特性や、皮膚残留タラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定できる性能から、皮膚残留薬剤モニターは光増感反応を用いた治療における光線過敏症発症リスク管理に有用であり、臨床において十分な実用性を有すると考えられる。

光感受性薬剤の蛍光強度は光感受性薬剤濃度を反映することは広く知られており、蛍光計測は光増感反応を用いた治療において光感受性薬剤濃度推定法として一般的手法である。この方法により光感受性薬剤濃度を計測する装置についての報告を表 8-1 にまとめた [21-24]。蛍光計測による光感受性薬剤濃度推定を行う装置についての論文報告は、ほとんどない状況であるので、特許を引用して本章で検討を行った皮膚残留薬剤モニターとの比較を行った。表 8-1 に示した既存技術と本章で提案した皮膚残留薬剤モニターは、蛍光計測により組織中の薬剤濃度を推定するという点で同一である。しかし皮膚残留薬剤モニターは、(i) 光過敏症発症リスクを管理することを目的とする、(ii) 皮膚表面の不均一な光学特性を補償するために 5 cm のサンプリング長を有する、(iii) 薬物動態解析を併用することで表皮あるいは血漿に分布する光感受性薬剤相対濃度を別々に推定可能である、という点で既存技術と異なり、優位性があると考えられる。

## 8.6 本章の適用範囲

皮膚残留薬剤モニターの有効性および安全性が確認できた一方で、現状の皮膚残留薬剤モニターの場合には、適用可能な範囲に限りがある。第一に、皮膚残留薬剤モニターによる経皮的蛍光計測では、光線過敏症を起こす表皮に残留するタラポルフィンナトリウム濃度の絶対値を知ることはできないことが挙げられる。絶対濃度を明らかにするためには、絶対値校正を行うための計測が別途必要になる。絶対値校正を行わずに現状の皮膚残留薬剤モニターを運用し退院の医師判断の支援を行うためには、タラポルフィンナトリウム投薬前および投薬直後の計測が必須である。投薬直後の計測値を基準として計測結果を規格化し、タラポルフィンナトリウム投薬前と退院判断時の計測値を比較することで、皮膚に残留する薬剤濃度を相対評価することが可能になる。第二に、5 cm 長の拡散チップによる大きいサンプリング長さ、タラポルフィンナトリウム投与直後の  $S_{flu}$  の規格化の併用により、皮膚表面における色素や肌色の分布を補償できる可能性が示唆された一方で、肌色が濃く吸収係数が非常に大きい場合には蛍光計測は困難である可能性が高く、皮膚残留薬剤モニターを利用できる患者が限られる可能性がある [9, 20]。第三に、本研究で提案した皮膚残留薬剤モニターに搭載された光学系および蛍光計測結果解析の波長域は、タラポルフィンナトリウムを投与した場合に利用可能であり、異なる光感受性薬剤を投与する場合には、当該装置をそのまま使用して皮膚に残留する光感受性薬剤相対濃度を正しく推定することはできない。光感受性薬剤の特性に応じて励起光波長や算出する蛍光スペクトル面積の波長域を適切に選択し変更することで、いかなる光増感反応を用いた治療においても光線過敏症の発症リスク管理に利用可能であると考えられる。

## 8.7 結言

本章では、タラポルフィンナトリウム投薬後に日光曝露によって発症する光線過敏症の発症リスクを管理するために、皮膚に残留するタラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定する皮膚残留薬剤モニターを提案し、装置の試作を行って *in vivo* 動物実験にてその実用性を検討した。皮膚残留薬剤モニターを用いた経皮的蛍光計測によって、光線過敏症発症閾値の血漿中タラポルフィンナトリウム濃度まで皮膚に残留するタラポルフィンナトリウムを検出可能であることを示した。皮膚残留薬剤モニターにより光線過敏症発症リスクを評価可能であり、医師の退院判断の支援に有益である可能性が示唆された。

## 参考文献

- [1] E. Bromley, B. Briggs, L. Keltner, and S. S. Wang, “Characterization of cutaneous photosensitivity in healthy volunteers receiving talaporfin sodium,” *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, vol. 27, pp. 85–99, 2011.
- [2] W. Meyer, J. Kacza, N. H. Zschemisch, S. Godynicki, and J. Seeger, “Observations on the actual structural conditions in the stratum superficiale dermidis of porcine ear skin, with special reference to its use as model for human skin,” *Ann Anat*, vol. 189, pp. 143–156, 2007.
- [3] A. Ferrario, D. Kessel, and C. J. Gomer, “Metabolic properties and photosensitizing responsiveness of mono-l-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model,” *Cancer Res*, vol. 52, pp. 2890–2893, 1992.
- [4] W. Montagna, A. M. Kligman, and K. S. Carlisle, “Atlas of normal human skin,” vol. 1, pp. 8–24, 1992.
- [5] Z. Ya-Xian, T. Suetake, and H. Tagami, “Number of cell layer of the stratum corneum in normal skin – relationship to the anatomical location on the body, age, sex, and physical parameters,” *Arch Dermatol Res*, vol. 291, pp. 555–560, 1999.
- [6] J. D. Spikes, and J. C. Bommer, “Photobleaching of mono-l-aspartyl chlorin e6 (NPe6): A candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors,” *Photochem Photobiol*, vol. 58, pp. 346–350, 1993.
- [7] R. R. Anderson and J. A. Parrish, “The optics of human skin,” *J Invest Dermatol*, vol. 77, pp. 13–19, 1981.
- [8] W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, “A review of the optical properties of biological tissues,” *IEEE J Quant Electron*, vol. 26, pp. 2166–2185, 1990.
- [9] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, and V. V. Tuchin, “Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm,” *J Phys D: Appl Phys*, vol. 38, pp. 2543–2555, 2005.
- [10] D. Kessel, “Pharmacokinetics of N-aspartyl chlorin e6 in cancer patients,” *J Photochem Photobiol B: Biol*, vol. 39, pp. 81–83, 1997.
- [11] K. Kondo, T. Miyoshi, H. Fujino, H. Takizawa, S. Imai, N. Kobayashi, K. Kenzaki, S. Sakiyama, and A. Tangoku, “Photodynamic therapy using a second generation photosensitizer, Talaporfin,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 4, pp. 269–274, 2007.
- [12] Meiji Seika ファルマ株式会社, 注射用レザフィリン® 100 mg, 医薬品インタビューフォーム, 2013 年 12 月改訂 (改訂第 6 版).
- [13] K. Yamaoka, T. Nakagawa, and T. Uno, “Statistical moments in pharmacokinetics,” *J Pharmacokinetic Biopharm*, vol. 6, pp. 547–558, 1978.

- [14] R. A. Weersink, J. E. Hayward, K. R. Diamond, and M. S. Patterson, "Accuracy of noninvasive *in vivo* measurements of photosensitizer uptake based on a diffusion model of reflectance spectroscopy," *Photochem Photobiol*, vol. 66, pp. 326–335, 1997.
- [15] M. M. Tsoukas, G. C. Lin, M. S. Lee, R. R. Anderson, and N. Kollias, "Predictive dosimetry for threshold phototoxicity in photodynamic therapy on normal skin: Red wavelengths produce more extensive damage than blue at equal threshold doses," *J Invest Dermatol*, vol. 108, pp. 501–505, 1997.
- [16] J. Akimoto, J. Haraoka, and K. Aizawa, "Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas," *Photodiagn Photodyn*, vpl. 9, pp. 91–99, 2012.
- [17] V. H. Fingar and B. W. Henderson, "Drug and light dose dependence of photodynamic therapy: a study of tumor and normal tissue response," *Photochem Photobiol*, vol. 46, pp. 837–847, 1987.
- [18] D. H. Sliney, "Optical radiation safety of medical light sources," *Phys Med Biol*, vol. 42, pp. 981–996, 1997.
- [19] 日本規格協会, "ランプ及びランプシステムの光生物学的安全性," JIS C 7550, 2011.
- [20] H. F. Kuppenheim, and R. R. Heer, "Spectral reflectance of white and negro skin between 440 and 1000 m $\mu$ ," *J Appl Physiol*, vol. 4, pp. 800–806, 1952.
- [21] S. G. Vari and W. S. Grundfest, "Method for determining the biodistribution of substances using fluorescence spectroscopy," US Patent US005377676A, Jan. 3, 1995.
- [22] W. S. Friauf, P. D. Smith, J. W. Cole, J. F. Fessler, R. E. Solomon, and E. F. Bernstein, "Surface fluorescent monitor," US Patent US005435307A, Jul. 25, 1995.
- [23] R. D. Black and N. Bolik, "In vivo fluorescence sensors, systems, and related methods operating in conjunction with fluorescence analysis," US Patent US007510699B2, Mar. 31, 2009.
- [24] K. M. Irion, A. Ehrhardt, and P. Solleder, "Apparatus for fluorescence diagnosis," US Patent US20100259656A1, Oct. 14, 2010.

図表

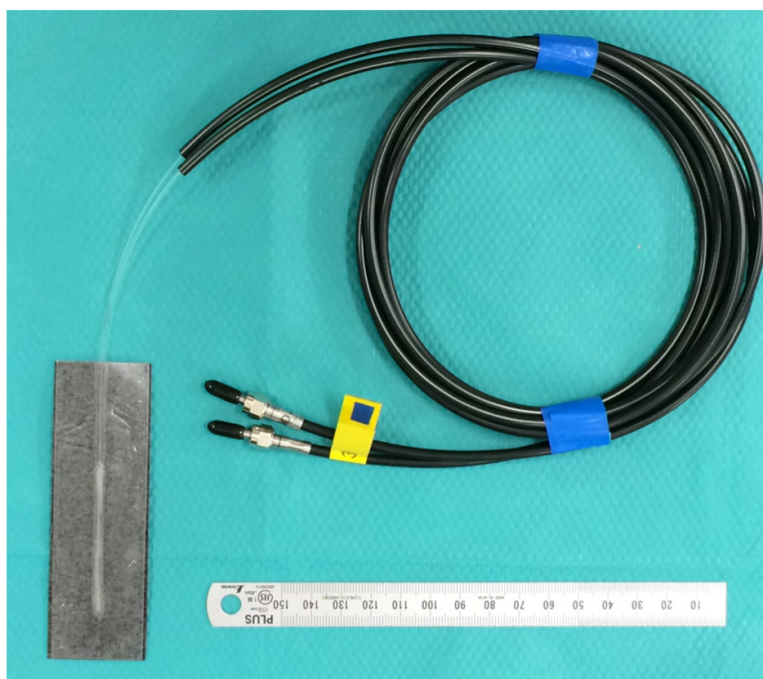


図 8-1 試作した皮膚残留薬剤モニター計測プローブの外観



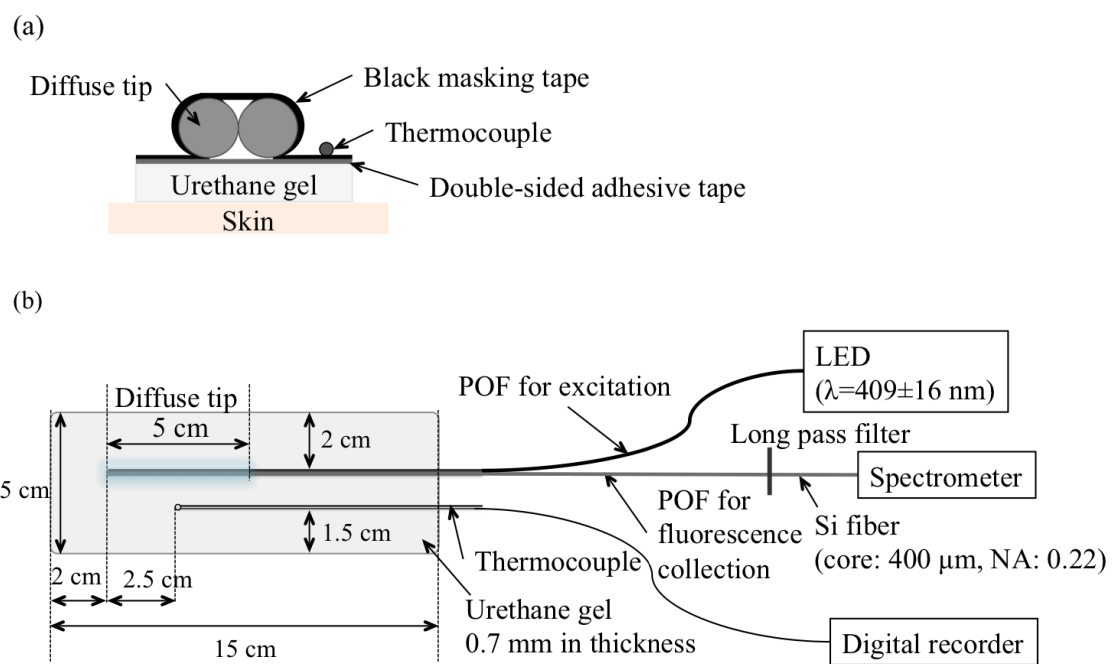


図 8-2 試作した皮膚残留薬剤モニター計測プローブの設計図

(a) 断面図

(b) 鳥瞰模式図

POF: プラスチック光ファイバー

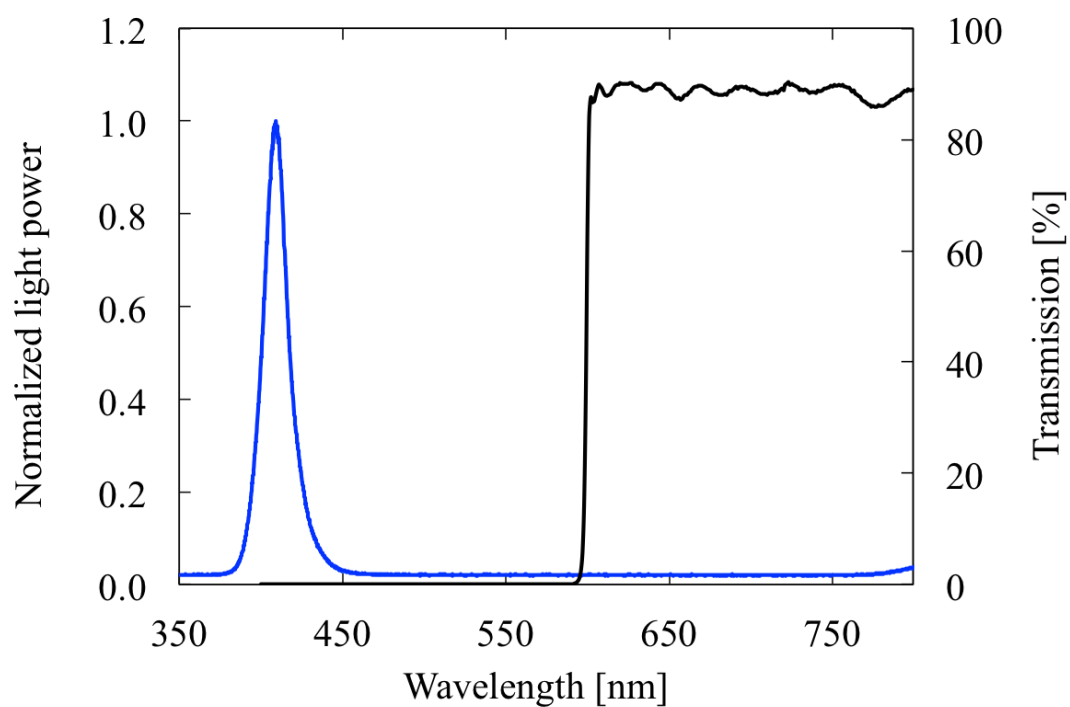


図 8-3 青色 LED 光源からの発光スペクトルとロングパスフィルターの透過スペクトル

青線: 青色 LED 光 (LLS-405; Ocean Optics, Inc., Dunedin) の発光スペクトル

黒線: ロングパスフィルター (FEL0600; ソーラボジャパン株式会社) の透過スペクトル

青色 LED 光は中心波長 409 nm, 半値全幅 16 nm であった。

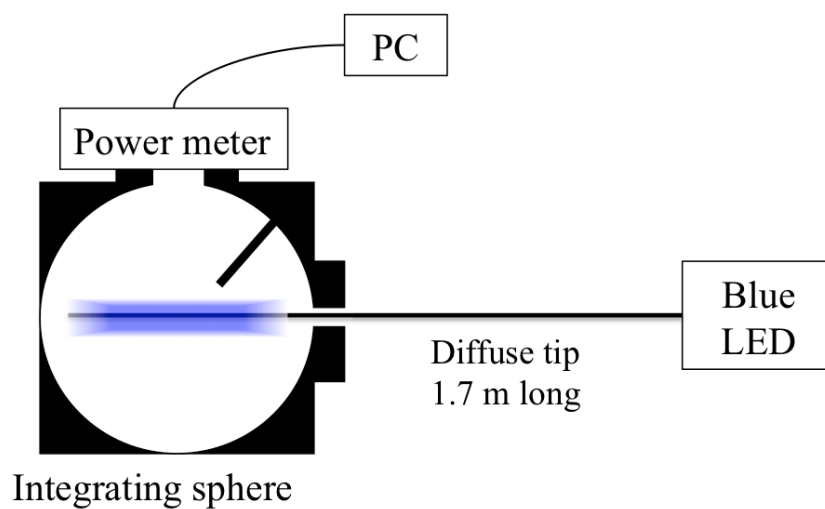


図 8-4 拡散チップの透過率計測のための積分球系の模式図

内径 3 inch の積分球 (3P-GPS-040-SF; Labsphere Inc.) を使用した。

拡散チップを積分球内に挿入し、12.6 mW の青色光を入射して光照射を行い、パワーメーターにより光強度を計測した。

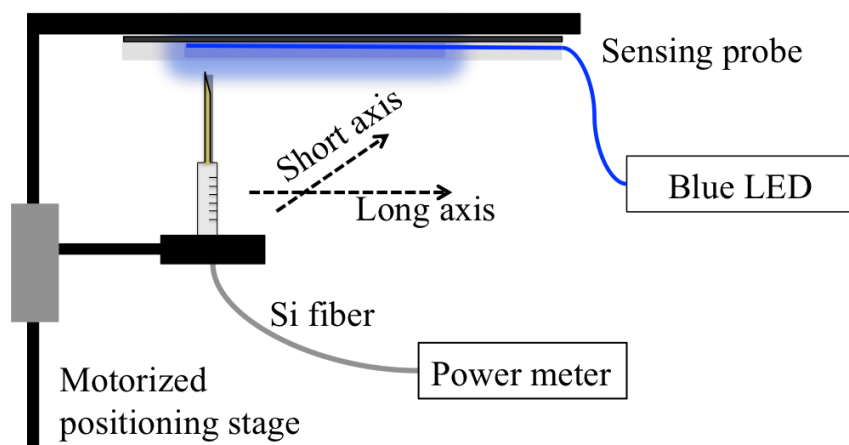


図 8-5 皮膚残留薬剤モニター計測プローブからの照射強度分布計測系の模式図  
 皮膚残留薬剤モニター内の拡散チップに 11 mW の青色光を導光した。皮膚残留薬剤モニター計測プローブからの放射光をプローブから 1 mm 離れた距離からコア径 200  $\mu\text{m}$ 、NA 0.53 の石英光ファイバー (WF200/220HT53; CeramOptec Industries, Inc.) により受光した。放射光受光用光ファイバーは長軸方向には 200  $\mu\text{m}$  単位にて、短軸方向には 100  $\mu\text{m}$  単位にて、自動ステージを用いて移動させた。

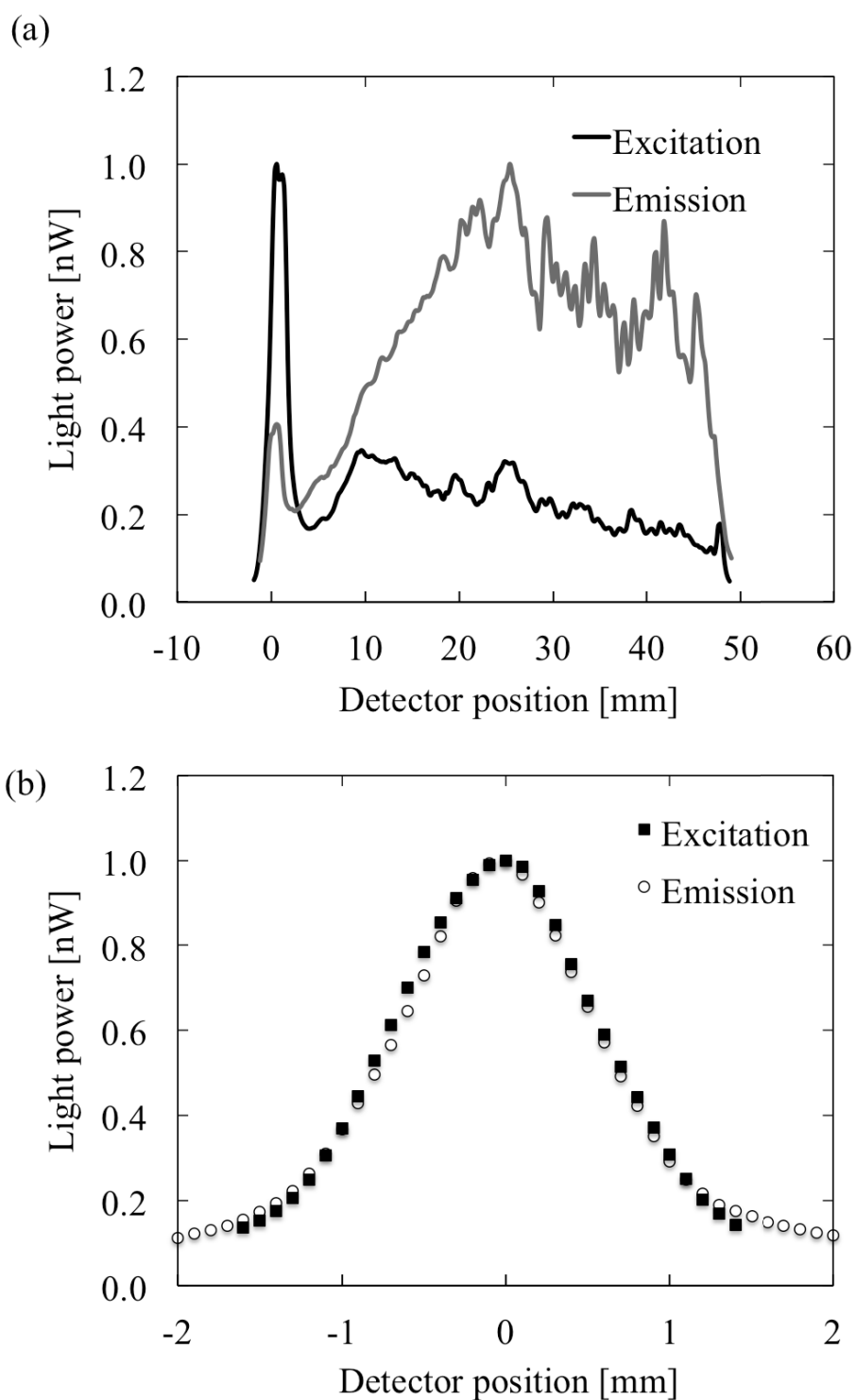


図 8-6 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの光照射強度分布

(a) 長軸方向

(b) 短軸方向

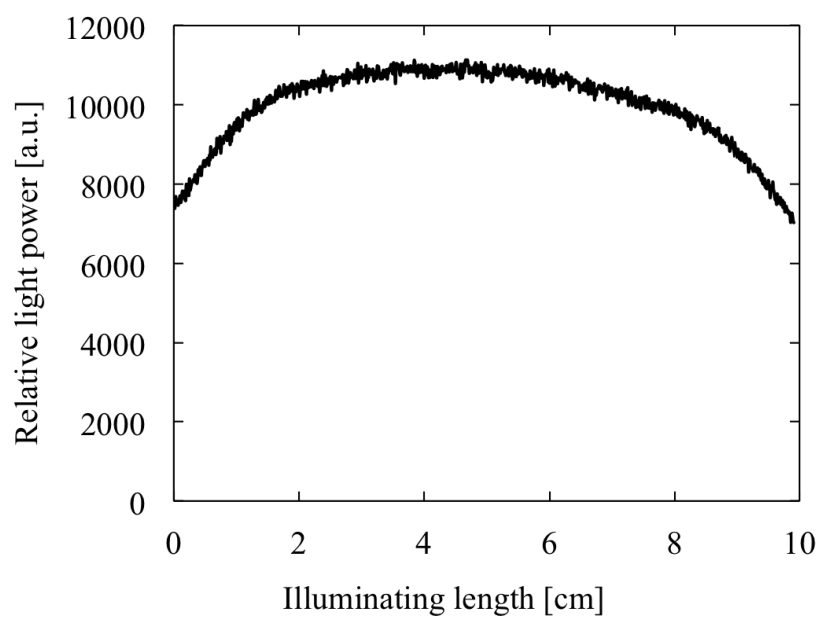


図 8-7 白色 LED 光源の光放射強度分布

白色 LED 光源の長さ方向の相対光強度分布をビームプロファイラーにて計測した。

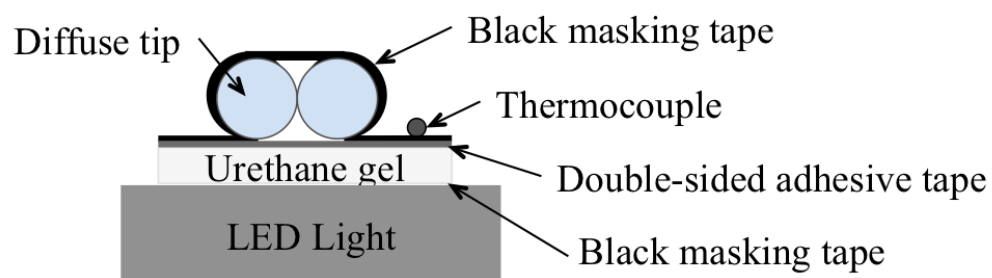


図 8-8 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの受光分布計測系の模式図  
白色 LED 光源の発光面上に皮膚残留薬剤モニター計測プローブを設置し、拡散チップより白色光を受光した。

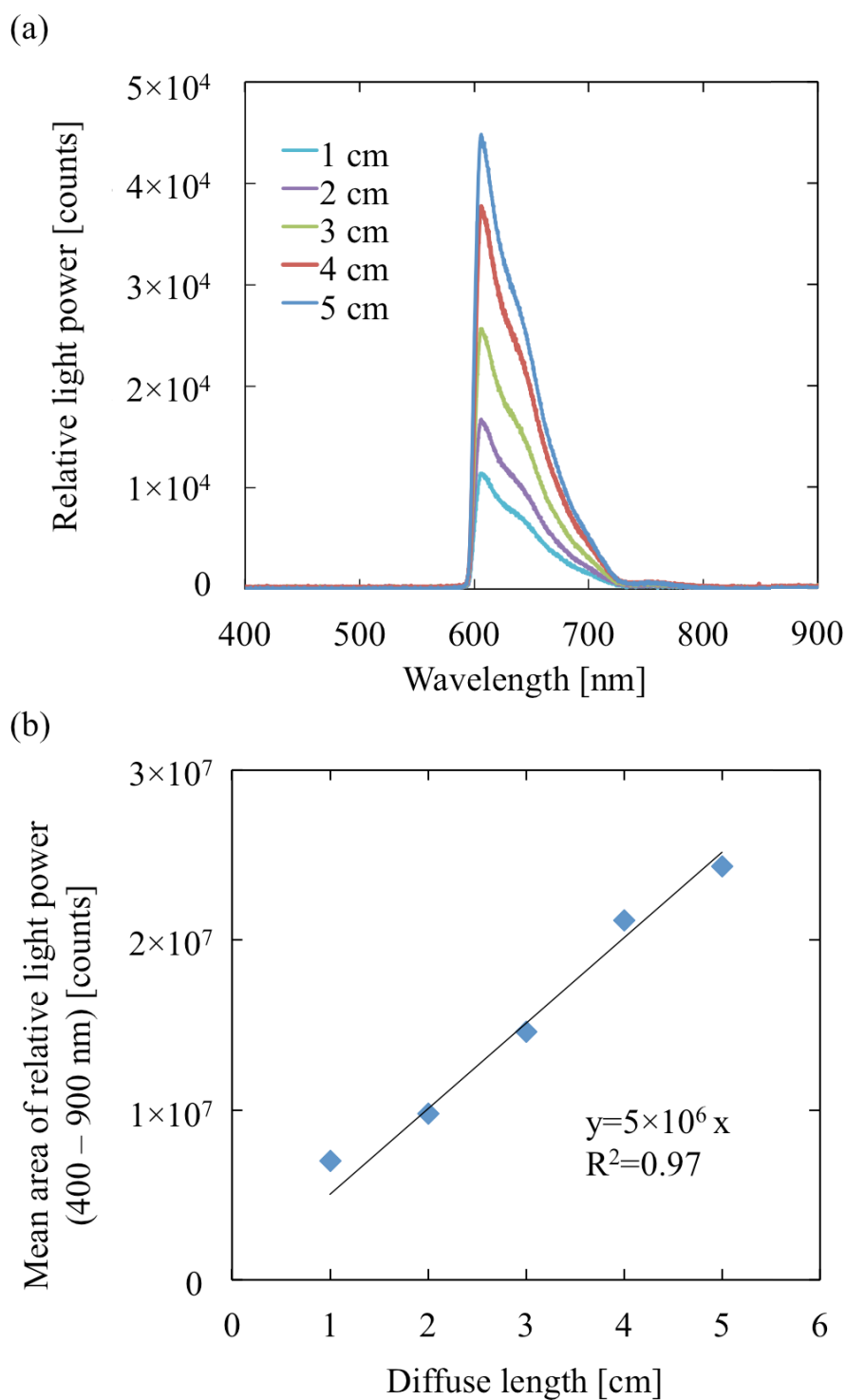


図 8-9 皮膚残留薬剤モニター計測プローブの受光強度分布

(a): 受光した白色光のスペクトル

(b): 受光した白色光のピーク面積と拡散チップ拡散部長さの関係



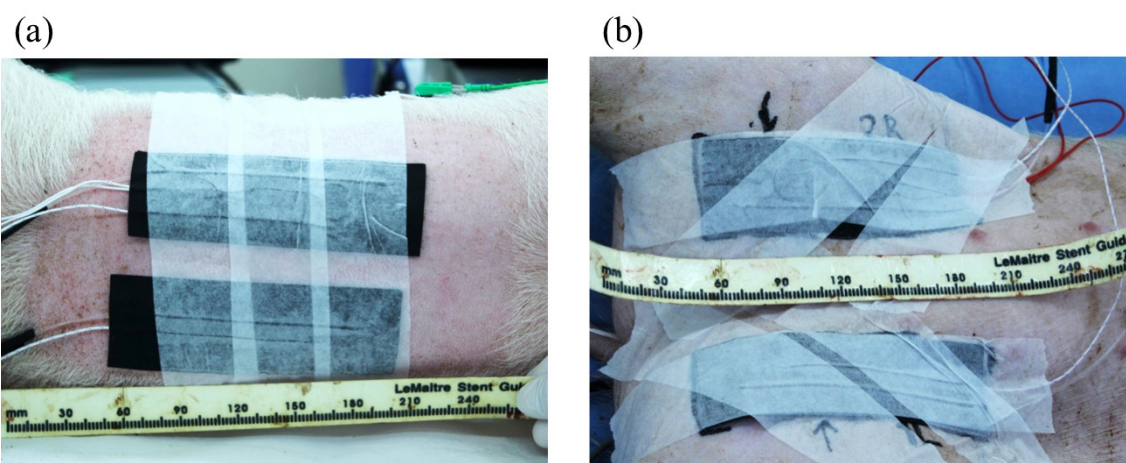


図 8-10 皮膚残留薬剤モニター計測プローブをブタに設置した様子

- (a) 背中
- (b) 下肢

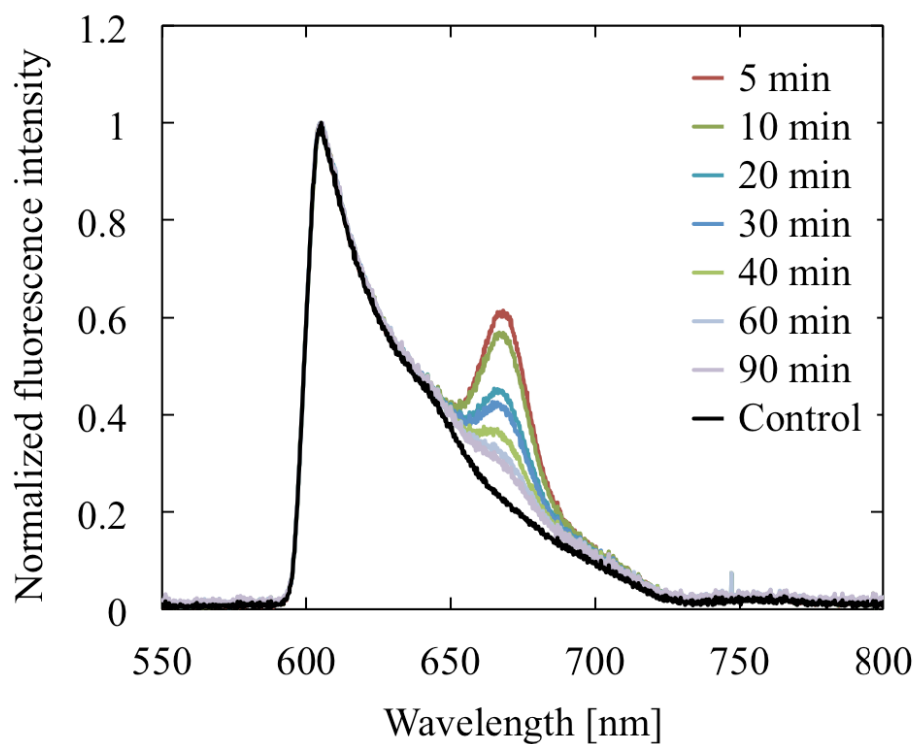


図 8-11 皮膚残留薬剤モニターによりブタ皮膚において計測した蛍光スペクトルの経時変化

波長 667 nm にタラポルフィンナトリウムの蛍光ピークが見られた。各測定時刻における蛍光スペクトルを比較するため、蛍光強度の最大値を基準として規格化して示した。薬剤投与前に見られる波長 600 nm 以降の蛍光は、組織自家蛍光および励起光の長波長成分である。

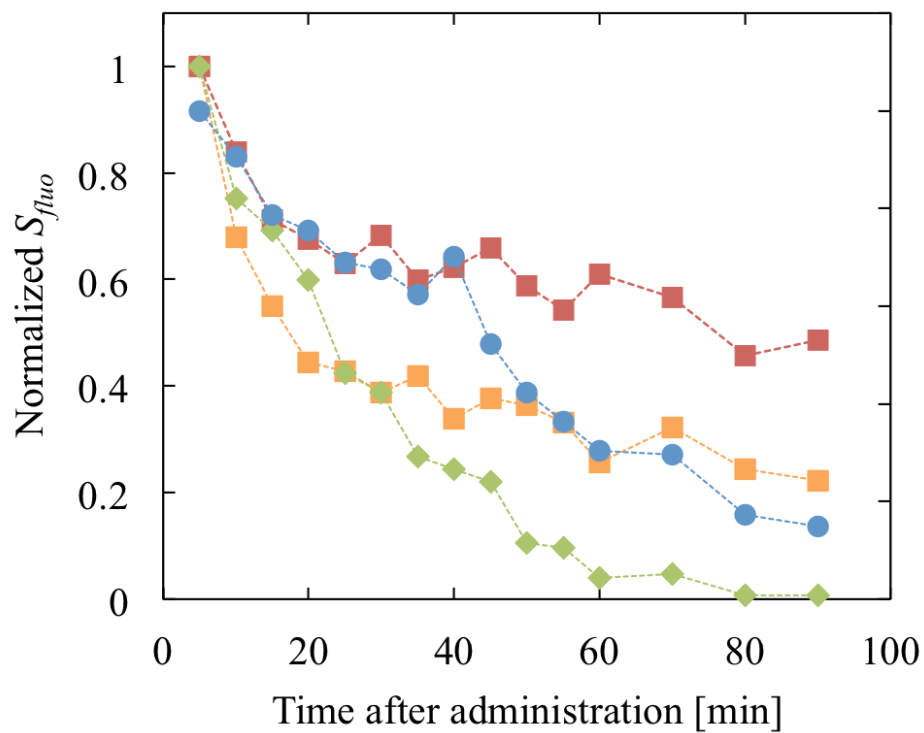


図 8-12 ブタ皮膚において計測・算出した  $S_{fluo}$  の経時変化  
 タラポルフィンナトリウム投与 5 min 後の  $S_{fluo}$  にて正規化した。

- : ブタ No.3 下肢において圧排を行わなかった場合
- : ブタ No.3 下肢において  $200 \text{ g/cm}^2$  の圧排を行った場合
- ◆: ブタ No.3 背中において自体重による圧排がかかった場合
- : ブタ No. 2 背中において自体重による圧排がかかった場合

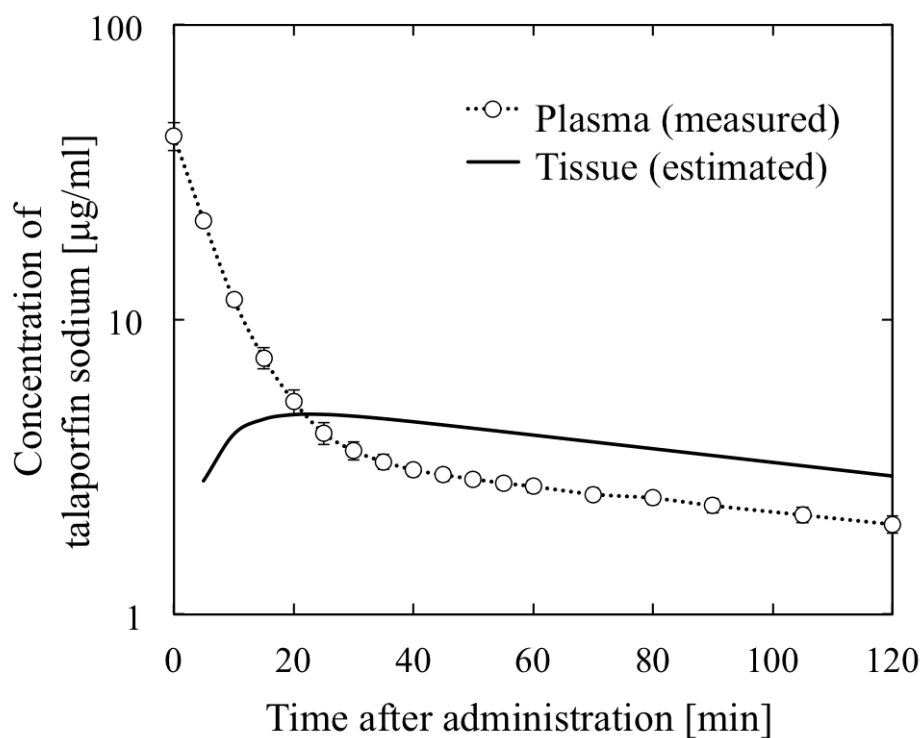


図 8-13 実測したブタ血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移および推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移

点線およびプロット: 実測した血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の平均値

実線: ブタ No. 3 における推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度

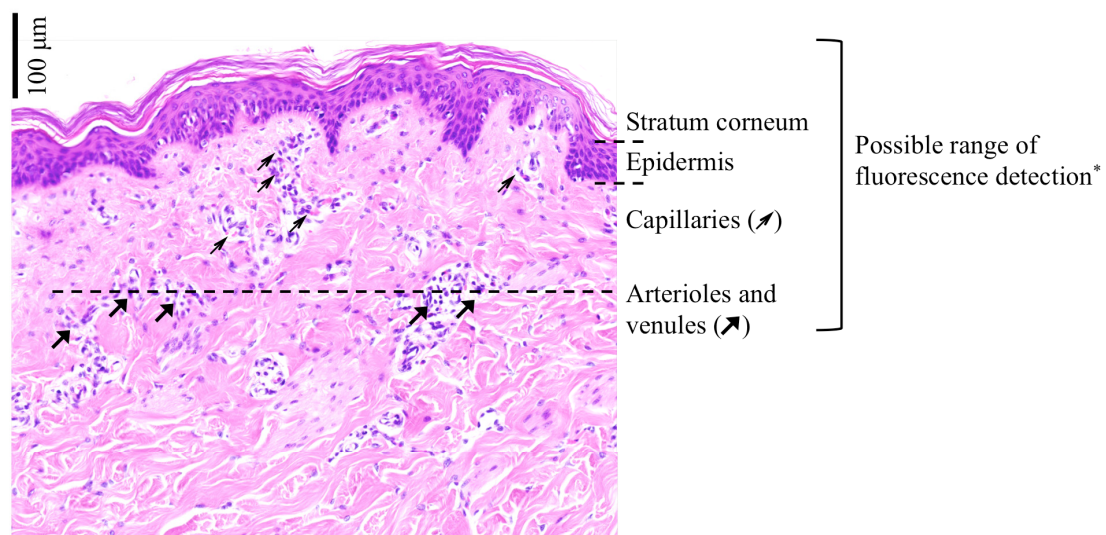


図 8-14 皮膚残留薬剤モニター計測プローブを設置したブタ皮膚の HE 染色標本の倍率 40 倍における観察画像

皮膚における炎症反応や血管閉塞は見られなかった。表皮の厚さは  $90.6 \pm 21.3 \mu\text{m}$  であった。細動脈および細静脈は組織表面から深さ  $256.6 \pm 62.5 \mu\text{m}$  に存在した。蛍光計測のサンプリング深さは、青色 LED 光の光侵達長  $90 \sim 300 \mu\text{m}$  と同等と考えられる。

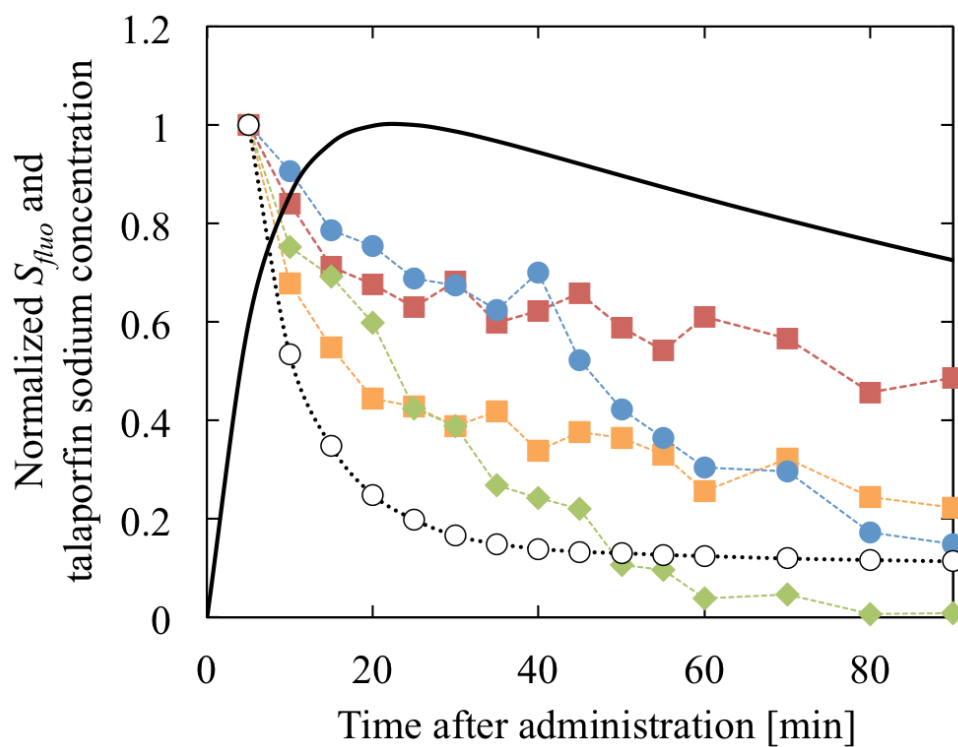


図 8-15 種々の蛍光計測条件における  $S_{fluo}$  と血漿中、および組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移

実測した平均血漿中タラポルフィンナトリウム濃度および推定した組織中タラポルフィンナトリウム濃度は、図 8-13 の再掲である。

■: ブタ No.3 下肢において圧排を行わなかった場合

■: ブタ No.3 下肢において 200 g/cm<sup>2</sup> の圧排を行った場合

◆: ブタ No.3 背中において自体重による圧排がかかった場合

●: ブタ No. 2 背中において自体重による圧排がかかった場合

○: 実測した平均血漿中タラポルフィンナトリウム平均濃度 (再掲)

実線: ブタ No. 3 における推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度 (再掲)

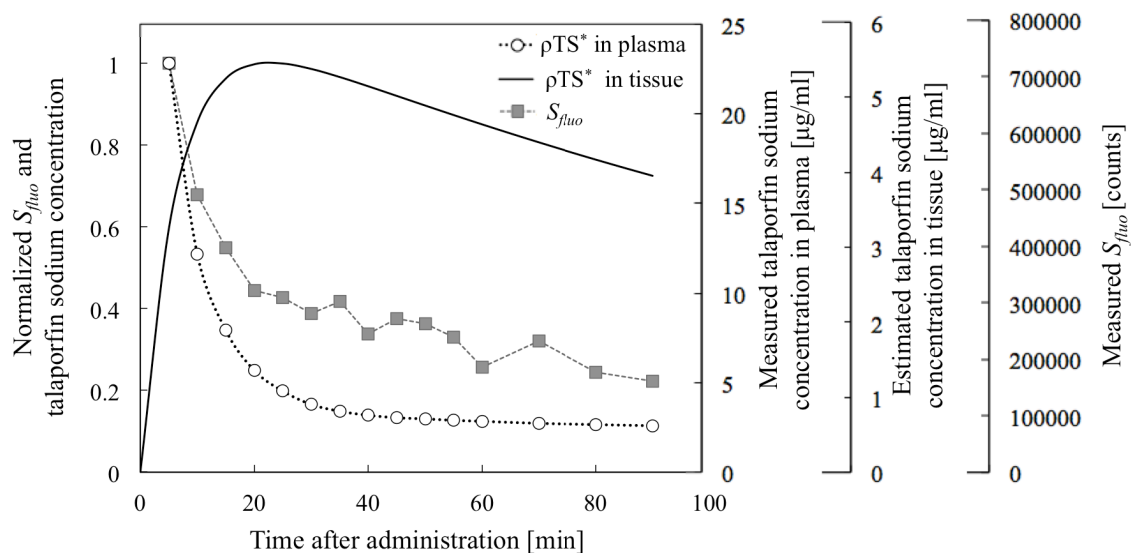


図 8-16  $S_{fluo}$  の一例と血漿中、組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移  
 実測した平均血漿中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移および推定した組織中タラポルフィンナトリウム濃度の時間推移は、図 8-13 の再掲である。

各プロットは経時的な変化傾向を示すために最大値で規格化してあり、左軸に対応する。各プロットの絶対値は右軸に対応する。

○: 実測した平均血漿中タラポルフィンナトリウム濃度

実線: ブタ No. 3 における推定組織中タラポルフィンナトリウム濃度

■: ブタ No.3 下肢において圧排を行わなかった場合の  $S_{fluo}$

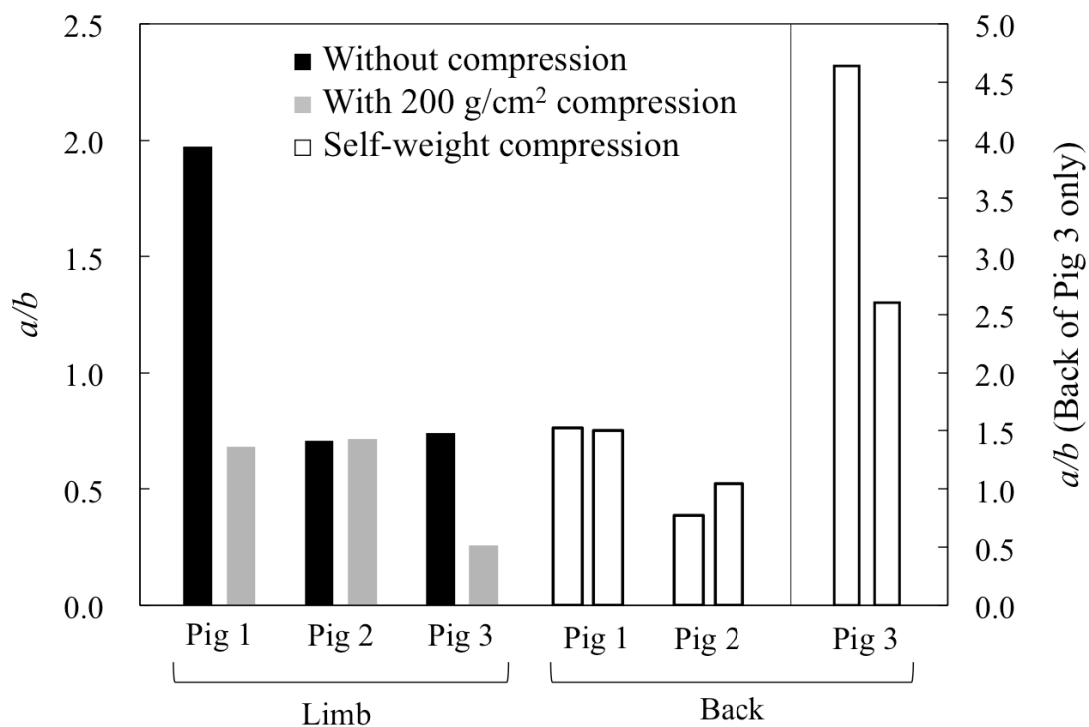


図 8-17  $S_{flu0}$  の構成比率  $a/b$  と皮膚残留薬剤モニター設置部位および圧排の有無との関係

- : 圧排を行わなかった場合
- : 200 g/cm<sup>2</sup> の圧排を行った場合
- : 自体重による圧排がかかった場合



表 8-1 蛍光計測により光感受性薬剤分布を推定する方法および装置の報告例

Purpose	Photosensitizer	Prediction method
To determine photosensitizer distribution in tissue for photosensitization reaction optimization <sup>[21]</sup> .	Phorofrin, Benzoporphyrin derivative	Fluorescence spectrum measurement by a fiber-optic probe. Intensity ratio (S1/S2), S1 for fluorescence of photosensitizer, S2 for autofluorescence from tissue.
To provide relative amount of the photosensitizer in tissue for photosensitization reaction optimization <sup>[22]</sup> .	Dihematoporphyrin ethers/esters	Percutaneous fluorescence irradiance measurement by a hand-held fluorometer.
To evaluate pharmacokinetics of therapeutic antibodies in cancer treatment <sup>[23]</sup> .	Therapeutic antibodies, such as Herceptin, Rituxan, and Zevalin	Fluorescence irradiance measurement, excitation light measurement by implanted sensor.
To provide fluorescence and/or bright-field image for detecting a tumor <sup>[24]</sup> .	-	Fluorescence imaging by an endoscope to provide the photosensitizer distribution.

## 第9章 光学モニター技術に関する総括的討論

### 9.1 光学モニター技術の位置づけ

治療におけるモニター技術の役割は、治療器のもたらす効果効能を最大限活用し、かつ安全な治療を実現するための支援を行うことにある。具体的には、治療指針の決定や、装置の安全運用、治療前後における対象部位の組織性状判断を目的として、術者に対して物理的あるいは生化学的な情報を画像表示や定量表示、あるいは警報として提供することである。本章では、本研究で提案した3種類の光学モニター技術である (i) 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、(ii) 細胞外光増感反応進行モニター、(iii) 皮膚残留薬剤モニターに関して、(i) 技術的優位性、(ii) 社会的な有効性、の観点から総合的に論じる。(i) の技術的優位性に関しては、提案光学モニター技術の計測および検討手法と、得られる情報に関して、既存の技術や報告例と比較してその優位性を検討する。(ii) の社会的な有効性については、一般的な光学モニター技術と本研究で提案した光学モニター技術を費用対効果の面で比較し、医療経済的観点で評価を行う。

#### 9.1.1 技術的優位性

本研究で提案した光学モニター技術である、(i) 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、(ii) 光線力学アブレーションにおける細胞外光増感反応進行モニター、(iii) 皮膚残留薬剤モニターに関して、各モニターの効果効能をまとめ、技術的優位性について検討する。

(i) の血液-光学窓界面の血液熱変性モニターは血液雰囲気では  $40 \text{ W/cm}^2$  以上の高い放射照度にてレーザー光照射を行う際の発熱により発生する可能性のある熱凝固物に関して、拡散反射光強度経時計測によって血液-光学窓界面における発熱および熱凝固物生成過程を経時的に追跡し熱凝固物生成を事前に検知、防止できる性能を有することは第6章で述べた。血液熱変性モニターを運用することによって得られる効果は、(i) 治療の進行を維持しつつ過加熱や塞栓症発症リスクを抑制し治療の安全性を担保できる、(ii) レーザカテーテルをはじめとする光照射装置の過熱による破壊などを防止し、安全な装置運用を可能にする、ことである。血液熱変性モニターは励起光拡散反射光強度の時間変化の計測を利用した光学モニター技術であり、高度な光学技術を必要としないが、計測結果とその解釈を併用したことで安全装置として実用的な機能を得たことに技術的価値があると考えられる。血液熱変性モニターにおいては、レーザー光照射によって生じる血液、特に赤血球の形態学的現象と拡散反射光強度時間変化との間に対応関係を示し、系統的に説明した。これまでにレーザー光照射をはじめとする熱作用による血液熱変性およびそれに伴う光学変化について総括的に調査した例はなく、本研究が初めての報告である。一方で、拡散反射光強度の時間変化に基づいた技術である故に、生体内では種々の外乱の影響を受けて適切な熱凝固物・炭

化物の事前検知が可能かどうか、が血液熱変性モニターの課題である。本研究では理想的なカテーテル運用状態での実用性は示されたが、臨床における検出精度およびその安定性は明らかでない。これまで、レーザー治療においてレーザー光照射に伴う発熱によって血液や組織の熱凝固物生成や炭化発生によって、治療の妨害や治療装置の破壊が問題となり、装置の安全運用を実現するために発生した炭化物を検知する種々の技術が開発されてきたことは第 5 章で述べた通りである。いずれの既存技術もレーザー光照射による発熱過程すなわち熱凝固物や炭化物の生成過程を観測しておらず、その発生を未然に防止できるものではなかった [1-4]。本研究で提案した血液熱変性モニターは未然に熱凝固物や炭化物の生成を検知できる点で既存技術に対して技術的優位性を有すると考えられる。また、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療への応用を想定した場合、現行の標準的な高周波アブレーションに対する光線力学アブレーションの優位性の 1 つは、治療に伴う熱発生が殆どないために血栓生成リスクが低いことにあることから、血液熱変性モニターを併用することで光線力学アブレーションの安全性をさらに高めることができると考えられる。

(ii) の細胞外光増感反応進行モニターは、経レーザーカテーテル的にタラポルフィンナトリウム蛍光を経時計測し、細胞外光増感反応によって生成した一重項酸素産生量に相当するフォトリーチング量の総量に比例する指標 FA を算出することにより、光線力学アブレーションによる心筋ネクロシス深度を mm 単位で推定可能であることを第 7 章で示した。光増感反応を用いた治療においては種々の光学モニター技術が報告されているが、タラポルフィンナトリウムを用いた心筋における細胞外光増感反応を仮定して治療進行をモニター可能な技術は他にない。細胞外光増感反応進行モニターは経カテーテル的な蛍光計測に基づいて、心筋における細胞外光増感反応をモデル化して解釈することで、実用的なモニターとして機能する。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において、細胞外光増感反応進行モニターを運用することによって得られると考えられる効能は、(i) 所望の治療深度を得るための放射照射量あるいは光照射時間の調整および決定の指針となる、(ii) 治療対象部位周囲に近接する重要臓器の傷害を起こさない安全な光線力学アブレーションの運用を可能にする、ことである。頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療において、治療深度を推定するための検討がなされているが [5]、未だ治療装置に搭載されたものはない。治療進行および治療深度に資する情報を提供することができれば、安全かつ確実な光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療の実現の一助となると考えられる。但し、治療運用の全ての判断は医師が行うべきものであるため、治療進行や治療指針をモニター技術あるいは装置が判断したり、指示したりすることは禁止されている。したがって、細胞外光増感反応進行モニターを臨床にて利用する場合には、推定した治療深度を情報提供するのではなく、治療進行の目安となる情報を提供して医師判断の支援とすることが望ましいと考えられる。一方で、第 7 章で示した FA と光線力学アブレーションによる治療深度の相関は、心筋組織に対するレーザーカテーテルの接触が理想的な状態での結果

である。臨床においてはカテーテルの接触状態は一定ではなく理想的な接触状態での運用は困難であることから、細胞外光増感反応進行モニターによる治療深度推定の再現性や安定性に影響する可能性がある、という課題がある。

(iii) の皮膚残留薬剤モニターは、タラポルフィンナトリウム静脈投与後、表皮に残留するタラポルフィンナトリウムの相対濃度を経皮的蛍光計測によって最小血漿中薬剤濃度 2.5  $\mu\text{g/ml}$  まで検出・推定可能であり、施術後の光線過敏症発症リスクを評価可能であることを第8章で示した。2.5.1 節で述べたように、現在のタラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による治療においては、光線過敏症発症リスクは患者ごとに異なる薬剤代謝速度によって大きく異なるため、現行の光線過敏症リスクの判断方法では個別の光線過敏症発症リスク評価を定量的に行えない課題があった。また、光線過敏症発症リスクを非侵襲的かつ簡便に評価できる技術はこれまで開発されていなかった。皮膚残留薬剤モニターは、(i) タラポルフィンナトリウムの Soret 帯吸収ピークに相当し皮膚における光侵達長が 90~300  $\mu\text{m}$  である青色光を採用したことで、表皮におけるタラポルフィンナトリウム相対量を推定可能である、(ii) 長さ 5 cm の拡散チップを用いた設計により皮膚の不均一性を補償可能である、という点において臨床のニーズにあった性能を有する。皮膚残留薬剤モニターは光増感反応による治療における最大の副作用である光線過敏症の発症リスクを患者ごとに非侵襲的に定量評価できる技術として初めての報告であり、技術的優位性を十分に有すると考えられる。

本研究で提案した光学モニター技術である (i) 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、(ii) 光線力学アブレーションにおける細胞外光増感反応進行モニター、(iii) 皮膚残留薬剤モニターの特長は、いずれも拡散反射光あるいは蛍光の強度計測といった簡単な計測から得られた結果を工学的に妥当な手法で解釈し解析を行って治療に有用な情報を提供できる点にあると考えられる。各モニター技術における計測手法および計測結果の解釈および解析方法と得られる情報に関して、表 9-1 にまとめた。(i) の血液-光学窓界面の血液熱変性モニターは、光線力学アブレーションにおいて励起光である波長  $664\pm 2 \text{ nm}$  の赤色レーザ光の血液-光学窓界面からの拡散反射光強度を経時的に計測することで血液の熱凝固・炭化物生成過程の観測ができることを明らかにした。加えて、レーザ光照射による光学窓界面血液の熱変性過程を経時的な光学特性計測および赤血球形態観察により明らかにし、拡散反射光強度経時計測結果から得られる光学現象を説明することができた。(ii) の細胞外光増感反応進行モニターは、光増感反応を用いた治療において治療効果を推定する手法として一般的な蛍光計測に基づくが、光線力学アブレーションすなわち心筋における細胞外光増感反応をモデル化することによって、細胞外光増感反応治療機構に基づいた独自のモデル指標 FA を提案した。また、光線力学アブレーションによる治療深度と FA を関係づけ、細胞外光増感反応進行モニターによって mm 単位での治療深度推定が出来る可能性を示した。(iii) の皮膚残留薬剤モニターは、光線過敏症が発症する表皮に残留するタラポルフィンナトリウム

に関する情報を取得するために、計測装置の光学設計および運用方法に工夫を施したことと、得られた計測結果をタラポルフィンナトリウムの薬物動態をモデル化することによって解釈したことに工学的意義があると考えられる。皮膚残留薬剤モニター的设计においては、皮膚における光侵達長が短く浅部に限局した計測が可能な Soret 帯励起による経皮的蛍光計測を採用したり、皮膚表面の光学特性不均一性を補償するために長いサンプリング長さを有する拡散チップを光照射・蛍光受光デバイスに採用した。蛍光計測結果の解析方法に関しては、実測した血漿中薬剤濃度時間推移から薬物動態解析法である 2 コンパートメントモデルを用いて組織中薬剤濃度時間推移を推定し、得られた蛍光ピーク面積  $S_{fluor}$  から表皮に残留するタラポルフィンナトリウムに関する情報の取得性能を評価し、タラポルフィンナトリウム相対濃度とその時間変化を観測できることを示した。以上のように、本研究で提案した 3 つの光学モニター技術は、種々の課題に関して工学的に妥当な方法で治療に有用な情報を導くことができたと考えられる。

本研究で提案した 3 種類の光学モニター技術は、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療への応用を目的としている。本研究で提案した 3 種類の光学モニター技術を光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療に利用した場合に想定される効能に関して考察する。光線力学アブレーションにおいて、血液熱変性モニター、細胞外光増感反応進行モニター、皮膚内残留薬剤モニターの全てを利用することで見込まれる治療運用における効果は、以下の通りである。

#### 1. 治療の確実性向上

- 1-1 アブレーションを行う 1 点ごとに治療深度制御を行うことで貫壁性の心筋電気伝導遮断線を作成可能である (細胞外光増感反応進行モニター)。
- 1-2 治療の進行を妨げる可能性のある血液-光学窓界面における熱凝固物に関して、生成過程を観測してその発生を未然に防止するので、治療の進行が妨げられない (血液熱変性モニター)。

#### 2. 治療の安全性保証

- 2-1 mm 単位での治療深度推定により、治療部位近傍の重要臓器の傷害を防止できる (細胞外光増感反応進行モニター)。
- 2-2 レーザ光照射による熱凝固物生成を未然防止し、塞栓症発症リスクを抑制できる (血液熱変性モニター)。
- 2-3 施術後の光線過敏症発症を回避できる (皮膚残留薬剤モニター)。
- 2-4 タラポルフィンナトリウム代謝の速い患者群においては医師による早期退院指示を得られる可能性が高く、現行治療法である高周波カテーテルアブレーションにおける平均入院期間 3~5 日と同等あるいはそれ以下の入院期間にて光線力学アブレーションを運用可能にする (皮膚残留薬剤モニター)。

以上のように、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において本研究で提案

した光学モニター技術を利用することによって、安全かつ確実な治療運用の支援として大いに有効であると考えられる。頻脈性不整脈は第3章で述べたように、患者数が年々増加傾向にある疾患であるとともに [6]、心室性頻脈性不整脈のように致死性が高い重篤な疾患であったり、心房性頻脈性不整脈の場合は、致死性は高くないが生命予後の悪化や生活の質 (quality of life; QOL) の低下が問題となる疾患である [7]。このような重大疾患に対する根治治療を安全かつ確実に運用することができれば、国民医療に与えるインパクトは大きく、社会的な有効性を有すると考えられる。加えて、光学モニター技術の併用によって、頻脈性不整脈に対する新しいカテーテル治療方法である光線力学アブレーションに、現行のカテーテルアブレーションに匹敵する競争力を付与することが可能であると考えられる。

### 9.1.2 社会的な有効性

光学計測に基づいたモニター、すなわち光学モニター技術はその計測方法や計測の物理的原理が多様であり、また情報提供の形式も様々である [8-10]。種々の光学モニター技術と本研究で提案した光学モニター技術を (i) 方法論としての複雑性・高度性、(ii) 医療における有効性、を軸として医療経済的観点から費用対効果について検討した。本評価対象は、代表的な光学モニター技術あるいは光学モニター技術を併用する治療に関して、現在臨床で用いられているものや、研究開発中のものを採用した。光学モニター技術の評価軸 (i) の方法論としての複雑性・高度性は、モニター技術の基盤技術および装置構成の観点から科学技術における価値を評価することを目的とすることから、各光学モニター技術の装置価格を指標として採用した。高度な技術を必要とする場合には、高価な計測装置を必要としたり開発に費用がかかると考えられ、装置の価格が方法論としての複雑性・高度性を反映すると考えたためである。臨床応用されている技術に関しては販売元が設定した小売価格を、研究開発中の技術は当該技術に利用される光学装置や解析装置を含むシステム一式の価格を、本研究で提案した光学モニター技術の場合は材料価格とした。もう一方の評価軸 (ii) の医療における有効性は、我が国の国民医療を考えたときに患者つまり社会に対して安心・安全な医療サービスを提供可能であるかどうか、という社会的な意義を問うことを目的として、診療報酬点数を評価指標に採用した。臨床応用されている技術については規定の診療報酬点数を、臨床応用されていない技術に関しては、当該技術が利用される医療行為に付与された診療報酬点数を参考に設定した。診療報酬点数についての解説および本研究で提案した光学モニター技術に対して推定した診療報酬点数とその推定方法の詳細、比較対象とする他光学モニター技術についての説明は付録に示した。

本研究で提案した光学モニター技術および他光学モニター技術を、縦軸に光学モニター技術の装置価格、横軸に実際のあるいは推定した診療報酬点数をとってプロットし、図9-1に示した。図9-1の両軸はいずれも経済的観点から種々の治療を評価するものであるので、光学モニター技術の装置価格と診療報酬点数の間にほぼ比例関係が見られるのは当然の結

果であるが、診療報酬点数が医療における有効性を反映することを考えると各光学モニター技術のプロットと原点を結ぶ直線の傾きが、各光学モニター技術の費用対効果に相当する指標となると考えられる。図9-1において、既存の光学モニター技術においてはおよそ、診療報酬点数1点あたりの装置価格は約3,800円となる。一方で、本研究で提案した光学モニター技術においては診療報酬点数1点あたり、装置価格はおよそ100円である。したがって、本研究で提案した光学モニター技術は既存の光学モニター技術および現在開発中の光学モニター技術に比べて、安価な装置にてより高い診療報酬点数を得られる、費用対効果に優れた光学モニター技術であると考えられることができる。

## 9.2 本研究で提案した光学モニター技術の総括

本研究で提案した光学モニター技術である (i) 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、(ii) 光線力学アブレーションにおける細胞外光増感反応進行モニター、(iii) 皮膚残留薬剤モニターは、いずれも拡散反射光あるいは蛍光の強度計測といった簡単な計測技術に基づく。そのため特殊な計測装置や光学素子を必要としないため簡易かつ安価な構成が可能である。一方、これらの光学モニター技術は臨床において重要度の高い頻脈性不整脈治療における応用を目的としている。本光学モニター技術は治療を行わずその支援を行うに過ぎないが、重大疾患を確実に安全に治療するための支援装置としてその存在意義は小さくないと考えられる。医療におけるモニター技術は、物理的な測定精度や学問的価値を追求するのではなく、臨床現場における医学的実用性に立脚したものでなければならない。すなわち、日本の医療に貢献しうる機能および応用性をもって多くの患者のベネフィットとなるものであるべきである。また、経済的であって臨床現場に導入しやすいものであることが望ましい。本研究で提案したモニターはいずれも革新的な計測技術を有するものではなく、また高度な光源や検出器、および光学系も必要としないため、理工学的観点における技術的なインパクトは他の光学モニター技術に比べて低い。しかし、各モニター技術の目的に沿った計測結果の解釈や解析を併用したことで、治療現場において有用な治療に関する情報を提供することが可能になった。本研究は、高度な計測や原理に基づいた光学モニター技術でなくとも得られた計測結果を適切に処理し解釈することによって、医療現場におけるモニター装置として十分な利用価値や実用性を付与することができることを示したといえる。

## 参考文献

- [1] S. Hessel, and G. Hauptmann, “Surgical laser instrument,” US Patent US005098427A, Mar. 24, 1992.
- [2] J. D. Brown, “Endovascular method and apparatus with electrical feedback,” US Patent US20070167937A1, Jul. 19, 2007.
- [3] J. D. Brown, “Laser delivery apparatus with safety feedback system,” US Patent US20090062782A1, Mar. 5, 2009.
- [4] C. A. Lieber, and S. Shararehm “Optical pyrometric catheter for tissue temperature monitoring during cardiac ablation,” US Patent US20090005771A1, Jan. 1, 2009.
- [5] D. Holmes, J. M. Fish, I. A. Byrd, J. D. Dando, S. J. Fowler, H. Cao, J. A. Jensen, H. A. Puryear, and L. A. Chinitz, “Contact sensing provides a highly accurate means to titrate radiofrequency ablation lesion depth,” *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 22, pp. 684–690, 2011.
- [6] 奥村謙, 相澤義房, 相原直彦, 青沼和隆, 沖重薫, 熊谷浩一郎, 庄田守男, 住友直方, 高橋淳, 内藤滋人, 中村好秀, 野上昭彦, 平尾見三, 松本万夫, 村川裕二, 山根禎一, “カテーテルアブレーションの適応と手技に関するガイドライン,” *Circ J* 2012, pp. 3–67, 2012.
- [7] 早川弘一, 笠貫宏, 心房細動・粗動・頻拍, 東京: 医学書院, 1999, pp. 6–73, 158–240, 304–394.
- [8] V. V. Tushin, *Handbook of optical biomedical diagnostics*, Bellingham Washington USA: SPIE Press, 2002, pp. 357–487.
- [9] G. D. Luker and K. E. Luker, “Optical imaging: Applications and future directions,” *J Nucl Med*, vol. 49, pp. 1–4, 2008.
- [10] G. L. Cote, “Noninvasive and minimally-invasive optical monitoring technologies,” *J Nutr*, vol. 131, pp. 1596S–1604S, 2001.



## 図表

表 9-1 本研究で提案した光学モニター技術の計測方法、解釈・解析方法、および得られる結果

	<b>Blood denaturation monitor at the blood-optical window boundary</b>	<b>Extracellular-photosensitization reaction progression monitor</b>	<b>Residual skin photosensitizer monitor</b>
<b>Measurement</b>	Diffuse reflected light irradiance with time	Fluorescence intensity with time	Fluorescence spectra
<b>Scientific consideration</b>	Clot formation process was analyzed by - Morphology - Optical property	- Modeling of photodynamic ablation to derive monitor index - Modeling of treatment depth and monitor index	- Optical design to obtain photosensitizer amount in epidermis - Modeling of pharmacokinetics
<b>Information</b>	To detect precursor state of clot formation	To predict treatment depth during ablation	To assess photosensitivity risk quantitatively

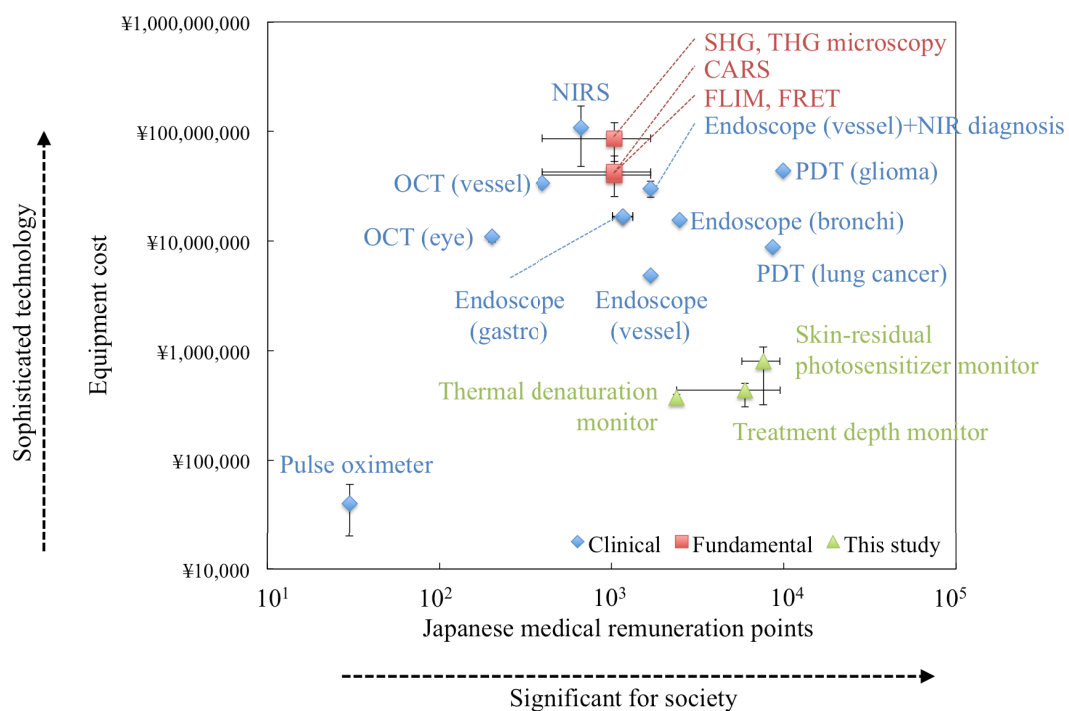


図 9-1 本研究で提案した光学モニター技術および治療用光学モニター技術の医療経済的評価

縦軸に方法論としての複雑性・高度性、横軸に医療における有効性をとって評価した。方法論としての複雑性・高度性の指標として光学モニター技術の装置価格を採用した。医療における有効性の指標として我が国における診療報酬点数を採用した。

- ◆: 臨床にて使用されている光学モニター技術
- : 未臨床使用の光学モニター技術
- ▲: 本研究で提案した光学モニター技術

## 第 10 章 結論

本論文では、第 1 章において、細胞外光増感反応を利用した光線力学アブレーションにおいて運用可能な光学モニター技術を提案するに至った背景を述べ、本論文全体の構成をまとめた。第 2 章では、細胞外あるいは細胞内光増感反応を用いた治療に関して、その原理やモニター技術、治療における課題をまとめた。第 3 章では、頻脈性不整脈およびその治療指針に関して述べ、現行の治療方法であるカテーテルアブレーション治療とその課題、またカテーテルアブレーション治療に用いられているモニター技術についてまとめた。第 4 章では、細胞外光増感反応を応用した光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療に関して、治療原理や治療に用いる装置、運用構想について記した。光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療は、光増感反応によって産生される一重項酸素の酸化作用による細胞傷害効果を利用したものであり、光照射条件によって治療を制御することが可能であることから、光学計測に基づいたモニター技術が必要であると考え、第 5 章では光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において運用可能な光学モニター技術を提案し、血液-光学窓界面における血液熱変性モニター、細胞外光増感反応進行モニター、皮膚残留薬剤モニターの研究に取り組んだ。血液熱変性モニターは  $40 \text{ W/cm}^2$  以上の放射照度にて光照射を行う 5~12 mm の治療深度を必要とする心室を対象とした光線力学アブレーションにおいて [1, 2]、血液とレーザカテーテル先端光学窓界面における発熱による熱凝固・炭化物の生成過程を観測し、その発生を未然に防止することを目的とした。経カテーテル的な拡散反射光強度経時計測によって、施術中に血液-光学窓界面の発熱に伴う血液の熱変性過程をモニター可能であること、また、熱凝固物の生成を事前に検知し放射照度を減少することによってその生成を防止できることを第 6 章で示した。血液熱変性モニターは、血液の熱凝固物発生の前段階を sensitivity: 0.88, false positive: 0.72, オッズ比: 2.72 にて検出可能であり、光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療における塞栓症発症防止のための安全装置として実用的な精度を有することが明らかになった。血液熱変性モニターは血液-光学窓界面の発熱過程を観測し、血液の熱凝固・炭化を未然に検出できることから、発生した炭化物を検出する既存の技術に比べて大いに優位性を有すると考えられた [3-6]。加えて、熱変性モニターを利用することで頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療における重大な副作用の 1 つである塞栓症発症の抑制が可能になると考えられた。細胞外光増感反応進行モニターは光線力学アブレーションによる治療深度を施術中に mm 単位で推定することを目的とした。経カテーテル的な蛍光計測によって一重項酸素産生量に相当する蛍光ブリーチング総量から算出される評価指標 Fluorescence-fall amount (FA) を算出し、心筋における細胞外光増感反応をモデル化することによって、光線力学アブレーションによる治療深度を  $1.0 \pm 0.6 \text{ mm}$  の精度にて推定可能であることを第 7 章にて明らかにした。

頻脈性不整脈に対するカテーテルアブレーション治療において、治療深度を推定可能な機能は治療装置に未だ搭載されていない。細胞外光増感反応進行モニターは光線力学アブレーションによる頻脈性不整脈治療において、施術中に治療深度を推定することで貫壁性の電気伝導遮断線を作成しつつ、治療部位に近接する重要臓器の傷害を防ぐことを可能にする支援技術として有益であると考えられる。皮膚残留薬剤モニターは、光感受性薬剤投与後、表皮に残留する光感受性薬剤と日光曝露によって発生する光線過敏症の発症リスクを管理することを目的とした [7, 8]。皮膚に残留する光感受性薬剤タラポルフィンナトリウムの相対濃度を光線過敏症が発症する閾値の血漿中薬剤濃度 2.5  $\mu\text{g/ml}$  まで検出・推定可能であり、光線過敏症発症リスクを評価できることを第 8 章で示した。光線過敏症は光増感反応を用いた治療における最大の副作用であるが、これまでに患者ごとに異なる薬剤代謝速度を鑑みて光線過敏症発症リスクを評価できる技術はなかった。タラポルフィンナトリウムを用いた光増感反応による治療に皮膚残留薬剤モニターを利用することで、光線過敏症発症リスクに関する情報を提供し、安全かつ科学的根拠に基づいた早期退院のための医師判断の支援となり得ると考えられた。第 9 章では、治療におけるモニター技術、特に光学モニター技術のうち、提案した 3 種類の光学モニター技術、すなわち (i) 血液-光学窓界面の血液熱変性モニター、(ii) 細胞外光増感反応進行モニター、(iii) 皮膚残留薬剤モニター、の位置付けを技術的優位性と社会的な有効性の観点から検討した。本研究で提案した 3 種類の光学モニター技術は、各モニター技術の目的に沿って光学計測結果に沿った解析を行って臨床現場で必要とされる有益な情報を提供可能な新規技術であって、技術的優位性および社会的な有効性の両観点で、既存の光学モニター技術に劣らないと考えられた。

提案した 3 つの光学モニター技術は、光線力学アブレーションを用いた頻脈性不整脈治療に対して、(i) レーザ光照射による発熱に伴う血液熱変性過程を観測し血液熱凝固物・炭化物の生成を防ぎ、塞栓症発症を抑制する、(ii) 治療深度を mm 精度で推定することにより、貫壁性の心筋傷害と近接臓器保全を両立する、(iii) 表皮に残留するタラポルフィンナトリウムの相対濃度を推定することで光線過敏症の発症リスクに関する情報を医師に提供することができ、薬剤代謝の速い患者群に早期の遮光措置解除を指示可能にする、という効果をもたらすと考えられる。これにより、光線力学アブレーションを用いた頻脈性不整脈治療の安全性や有効性を高めることができると考えられる。

本研究で提案した光学モニター技術は、重大疾患の 1 つである頻脈性不整脈に対する治療を安全かつ確実に行うために有用な情報を提供することができ、費用対効果に優れると考えられる。この光学モニター技術がもたらす効果は、頻脈性不整脈患者へのベネフィットのみならず、国民医療に対しても有益であり、社会における有効性を有する技術であると考えられる。

## 参考文献

- [1] B. L. Troy, J. Pombo, and C. E. Rackley, “Measurement of left ventricular wall thickness and mass by echocardiography,” *Circulation*, vol. 45, pp. 602–611, 1972.
- [2] A. M. Grandi, A. Venco, F. Barzizza, F. Scalise, P. Pantaleo, G. Finardi, “Influence of age and sex on left ventricular anatomy and function in normal,” *Cardiology*, vol. 81, pp. 8–13, 1992.
- [3] S. Hessel, and G. Hauptmann, “Surgical laser instrument,” US Patent US005098427A, Mar. 24, 1992.
- [4] J. D. Brown, “Endovascular method and apparatus with electrical feedback,”. US Patent US20070167937A1, Jul. 19, 2007.
- [5] J. D. Brown, “Laser delivery apparatus with safety feedback system,” US Patent US20090062782A1, Mar. 5, 2009.
- [6] C. A. Lieber, and S. Shararehm “Optical pyrometric catheter for tissue temperature monitoring during cardiac ablation,” US Patent US20090005771A1, Jan. 1, 2009.
- [7] E. Bromley, B. Briggs, L. Keltner, and S. S. Wang, “Characterization of cutaneous photosensitivity in healthy volunteers receiving talaporfin sodium,” *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, vol. 27, pp. 85–89, 2011.
- [8] J. Akimoto, J. Haraoka, and K. Aizawa, “Preliminary clinical report on safety and efficacy of photodynamic therapy using talaporfin sodium for malignant gliomas,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 9, pp. 91–99, 2012.

## 付録

## A Inverse adding doubling (IAD) 法

Inverse adding doubling (IAD) 法は、放射伝達方程式の近似解の一つであるadding doubling法の逆問題であり、実測した拡散反射率 $R_d$ 、拡散透過率 $T_d$ 、コリメート透過率 $T_c$ を用いて吸収係数 $\mu_a$ および等価散乱係数 $\mu'_s$ 、異方性パラメータ $g$ を反復計算により算出する [1, 2]。本節ではadding doubling法について記す。Adding doubling法は、有限厚みで均一な光学特性を有する無限平板試料に対して一定の放射照度で光照射を行う際に、仮想的な薄層を想定して反射率および透過率を推定し、その層を重ねたり (doubling)、異なる層を重ねたり (adding) して反射率および透過率を算出する、という計算を所望の厚みとなるまで繰り返すことで、試料の反射率と透過率を推定する解析手法である [1, 2]。

図A-1に示すように、ある一層 (以下、第一層とよぶ) の薄層に $\nu'$ の角度から入射した光が $\nu$ の角度に反射率 $R_{(\nu', \nu)}$ にて反射、透過率 $T_{(\nu', \nu)}$ にて透過するとき、第一層の反射率 $R^0$ および透過率 $T^0$ は、

$$R^0 = \int_0^1 \int_0^1 R_{(\nu', \nu)} 2\nu' d\nu' 2\nu d\nu \quad (\text{A-1})$$

$$T^0 = \int_0^1 \int_0^1 T_{(\nu', \nu)} 2\nu' d\nu' 2\nu d\nu \quad (\text{A-2})$$

と書ける。次に、図A-2にあるように第一層と同じ層を重ねるdoublingを行う。均一な層を仮定しているため、どの方向から光照射しても反射率と透過率は同じであるため、第一層と第二層における反射率および透過率は等価である。第二層 (Boundary 1) からの下向きの光束 $L^{1+}$ は、

$$L^{1+} = T^{01}L^{0+} + R^{10}L^{1-} \quad (\text{A-3})$$

第一層 (Boundary 0) からの上向きの光束 $L^{0+}$ は、

$$L^{0+} = R^{01}L^{0+} + T^{10}L^{1-} \quad (\text{A-4})$$

となる。更に第三層を重ねた場合 (Boundary 2)にも式 (A-3) と式 (A-4) は同様に適用可能であるから、Boundary 1およびBoundary 2における光束の流入出は、

$$L^{2+} = T^{12}L^{1+} + R^{21}L^{2-} \quad (\text{A-5})$$

$$L^{1-} = R^{12}L^{1+} + T^{21}L^{2-} \quad (\text{A-6})$$

となる。Boundary 0およびBoundary 2における光束は、

$$L^{2+} = T^{02}L^{0+} + R^{20}L^{2-} \quad (\text{A-7})$$

$$L^{0+} = R^{02}L^{0+} + T^{20}L^{2-} \quad (\text{A-8})$$

と書ける。各層における反射率および透過率を用いて成層の上下すなわちBoundary 0およびBoundary 2における光束の流入出を記述すると、

$$L^- = (E - R^{12}R^{10})^{-1}(R^{12}T^{01}L^{0+} + T^{21}L^{2-}) \quad (\text{A-9})$$

$$L^+ = (E - R^{10}R^{12})^{-1}(T^{01}L^{0+} + R^{10}T^{21}L^{2-}) \quad (\text{A-10})$$

$$L^{2+} = [T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}T^{01}]L^{0+} + [T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}R^{10}T^{21} + R^{21}]L^{2-} \quad (\text{A-11})$$

式 (A-8) と式 (A-11) より下記の4つの関係式が得られ、これらの式で成層の反射率 $R_d$ 、透過率 $T_d$ が記述される。

$$R^{20} = T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}R^{10}T^{21} + R^{21} \quad (\text{A-12})$$

$$T^{02} = T^{12}(E - R^{10}R^{12})^{-1}T^{01} \quad (\text{A-13})$$

$$R^{02} = T^{10}(E - R^{12}R^{10})^{-1}R^{12}T^{01} + R^{01} \quad (\text{A-14})$$

$$T^{20} = T^{10}(E - R^{12}R^{10})^{-1}T^{21} \quad (\text{A-15})$$

以上の計算を試料の厚さに達するまで繰り返し行うことで、最終的な試料の $R_d$ と $T_d$ を算出することができる [2]。

## B 薬物動態解析のための 2 コンパートメントモデル

コンパートメントモデルは生体あるいは生体内の各臓器を 1 つの箱 (コンパートメント) とみなし、薬剤投与後の薬物動態を解析するために用いられる解析モデルである。薬剤投与後、生体内での薬剤分布は均一ではない場合には、投薬後速やかに薬剤が分布するコンパートメントと、分布がゆっくりとおこるコンパートメントの 2 つのコンパートメントから成るモデルである 2 コンパートメントモデルを用いることが多い。前者のコンパートメントを体循環血コンパートメントあるいは血漿コンパートメントと呼び、後者を末梢コンパートメントあるいは組織コンパートメントと呼ぶ [3]。ここでは、単回静注による薬剤投与の場合の 2 コンパートメントモデルについて説明する。2 コンパートメントモデルの概念図を図 B-1 に示した [4, 5]。静注投与された薬剤は体循環血コンパートメントを経て、末梢コンパートメントへの薬剤供給および排泄される。体循環血コンパートメントにおける薬物量を  $X_1$ 、末梢コンパートメントにおける薬物量を  $X_2$  とする。また体循環血コンパートメントの分布容積を  $V_1$ 、体循環血コンパートメント内の薬物濃度を  $C_p$ 、とし、末梢コンパートメントの分布容積を  $V_2$  とすると、各コンパートメント内における薬物量は、

$$X_1 = C_p V_1 \quad (\text{B-1})$$

$$X_2 = C_p V_2 \quad (\text{B-2})$$

と書ける。また、各コンパートメントにおける薬物量の変化速度は下記のようなになる [4, 5]。

$$\frac{dX_1}{dt} = k_{21}X_2 - (k_{12} + k_{10})X_1 \quad (\text{B-3})$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad (\text{B-4})$$

ここで、 $k_{21}$  は末梢コンパートメントから体循環血コンパートメントへの薬物移行定数、 $k_{12}$  は体循環血コンパートメントから末梢コンパートメントへの薬物移行定数、 $k_{10}$  は体循環血コンパートメントからの薬物消失速度定数である。式 (B-3) と式 (B-4) を解くと、各コンパートメント内における薬物量は、

$$X_1 = \frac{D(\alpha - k_{21})}{\alpha - \beta} e^{-\alpha t} + \frac{D(k_{21} - \beta)}{\alpha - \beta} e^{-\beta t} \quad (\text{B-5})$$

$$X_2 = \frac{Dk_{12}}{\beta - \alpha} e^{-\alpha t} + \frac{Dk_{12}}{\alpha - \beta} e^{-\beta t} \quad (\text{B-6})$$

となる。ここで、 $D$  は薬剤投与量、 $\alpha$  および  $\beta$  は  $\alpha > \beta$  の関係である定数であり、

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_{10} \quad (\text{B-7})$$

$$\alpha\beta = k_{21}k_{10} \quad (\text{B-8})$$

の関係がある。

式 (B-1) および式 (B-5) より、体循環血コンパートメントの薬剤濃度  $C_p$  は、

$$C_p = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t) \quad (\text{B-9})$$



と書ける。但し、式 (B-5) および式 (B-6) より、

$$A = \frac{D(\alpha - k_{21})}{V_1(\alpha - \beta)} \quad (\text{B-10})$$

$$B = \frac{D(k_{21} - \beta)}{V_1(\alpha - \beta)} \quad (\text{B-11})$$

の関係がある。薬剤投与前の体循環血コンパートメントの薬剤濃度  $C_p(0)=A+B$  より、 $V_1$  が算出できる。

$$V_1 = \frac{D}{A+B} \quad (\text{B-12})$$

式 (B-7)~(B-11) より、そのほかのパラメータは以下のように計算できる。

$$k_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A+B} \quad (\text{B-13})$$

$$k_{10} = \frac{\alpha\beta(A+B)}{A\beta + B\alpha} \quad (\text{B-14})$$

$$k_{12} = \frac{AB(\alpha - \beta)^2}{(A+B)(A\beta + B\alpha)} \quad (\text{B-15})$$

$$V_2 = \frac{k_{12}}{k_{21}} V_1 \quad (\text{B-16})$$

## C 本研究で提案した光学モニター技術の医療経済的評価法

### C.1 診療報酬点数

診療報酬点数とは、医療行為の対価として計算される報酬であり、医師の報酬、医療行為を行った医療機関や薬局の医業収入の総和である [6]。診療報酬点数は診療の内容によって個々に報酬点数が定められた国のシステムであり、診療報酬 1 点あたり 10 円である。図 C-1 に診療報酬点数の構成を模式的に示した。医科における診療報酬は、基本診療料と特掲診療料から成り、基本診療料は初診料や再診料、および入院料を含み、基本的な診療行為を一括評価する [6]。一方、特掲診療料は基本診療料として包括的に報酬を評価することが妥当でない診療行為に対して、個々に点数を設定し評価を行うものであり、その構成は薬剤量や特定保険医療材料料、調剤料、処方料などがある [6]。診療報酬点数のうち医療機器に関連する項目が特定保険医療材料料であり、診療にかかる装置の製造あるいは輸入原価と販売費および管理費、営業利益、各種税金の総和から算出される基準材料価格に、医療機器の画期性や有用性、市場の大きさに応じて、補正加算を行うことで決定される [7]。補正価格は例えば、新規医療機器が臨床上有用な新規の機序を有する医療機器であって、既収載品に比べて高い有効性や安全性を有し、対象疾患または負傷の治療方法の改善が見込める場合には、基準材料価格の 50~100% の加算がなされる (画期性加算) [7]。また、希少疾病用医療機器である場合には、基準材料価格の最大 10% が加算される (市場性加算) [7]。

### C.2 本研究で提案した光学モニター技術に対する診療報酬点数の推定方法

本研究で提案した 3 種類の光学モニター技術の診療報酬点数推定方法に関して説明する。本研究で提案した光学モニター技術はいずれも臨床応用されていないことから、当然診療報酬点数は決定できないが、各光学モニター技術の臨床における機能と類似した機能を有する既に診療報酬点数が定められた技術と比較したり、モニターを使用することによって得うる患者のベネフィットを定量的に推定したりすることによって、診療報酬点数を推定した。具体的には、頻脈性不整脈治療において使用される治療器であるカテーテルや治療にかかる入院費用に注目し、定められた特定保険医療材料料を参考にして本研究で提案した光学モニター技術の診療報酬点数を推定することとした。表 C-1 に診療報酬推定において参照した頻脈性不整脈治療機器に対して定められた特定保険医療材料料を、入院にかかる診療報酬点数を表 C-2 にまとめた [7-9]。第 6 章にて提案した血液熱変性モニターは、光線力学アブレーションに伴う発熱過程を追跡し、治療の安全性を高める機能を有する。この機能は、現行の頻脈性不整脈治療におけるカテーテルアブレーション治療において用いられている温度モニターと同等であると考えることができる。特定保険医療材料料として項目 114 体外式ペースメーカー用カテーテル電極において定められた、心臓電気生理学的検査機能付加型のカテーテル電極に対する価格は、温度センサー付きのカテーテルに対して 90,200 円、温度センサーを持たないカテーテルに対しては 66,200 円が定められている [8]。

温度モニターの特定保険医療材料料はこれらの差額に相当すると考えると、血液熱変性モニターの特定保険医療材料料は 24,000 円、すなわち診療報酬点数 2400 点と推定できる。第 7 章にて提案した細胞外光増感反応進行モニターは、光線力学アブレーションによる治療深度を推定可能なことから、治療効果を確認できる機能を持つとともに、周囲組織への傷害を防止するための安全装置としての機能も持つ。したがって、細胞外光増感反応進行モニターは、頻脈性不整脈治療におけるカテーテルアブレーション治療において用いられているカテーテル接触モニターと温度モニターと類似の機能を有すると考えられる。カテーテル接触モニターの特定保険医療材料料は、接触モニター機能の有無による特定保険医療材料料の差額として算出できる。接触モニター機能を有するカテーテルの特定保険医療材料料は 388,000 円、接触モニター機能を持たないカテーテルの場合は 292,000 円と定められていることから、接触モニターの特定保険医療材料料は 96,000 円と推定できる。上述のように温度モニターの特定保険医療材料料は 24,000 円であることから、細胞外光増感反応進行モニターの特定保険医療材料料は 24,000~96,000 円の範囲、すなわち推定診療報酬点数は 2400~9600 点となる。第 8 章で提案した皮膚残留薬剤モニターは、患者ごとに異なるタラポルフィンナトリウムの代謝特性を評価することができる機能を有する。現在定められている光線過敏症回避のための遮光措置は、実際的には遮光入院であること、また薬剤代謝の最も遅い患者を基準にして定められていることに課題があることは第 3 章で述べた通りである。皮膚残留薬剤モニターを運用することで、光線過敏症発症リスクを示さなくなった代謝の速い患者については、医師は規定の遮光期間よりも早期に退院指示を出すことが可能になると考えられる。したがって、皮膚残留薬剤モニターの価値は、不要な遮光入院期間の短縮および患者の負担する入院費用を削減することが可能になる点あると考える。原発性悪性脳腫瘍に対するタラポルフィンナトリウムを用いた光線力学的治療の臨床治験において、患者の 77.8%が投薬から 8 日後に光線過敏反応を示さなくなった [10]。この結果より、代謝の速い患者群における遮光入院期間は規定の 2 週間よりも少なくとも 6 日間は短縮できると考えられる。一般病棟への入院に対する診療報酬点数は 960~1591 点が定められていることから [8]、皮膚残留薬剤モニター運用によって入院期間が 8 日に短縮できた場合に削減できる入院費用は 95,460~159,100 円と推定できる。薬剤残留薬剤モニターの機能はこの削減可能な入院費用に相当すると考えられることから、すなわち、9546~15910 点と推測できる。

### C.3 比較対象とする他光学モニター技術

本研究で提案した 3 種類の光学モニター技術の比較対象として採用した既存のあるいは現在開発中の光学モニター技術について説明する。現在臨床で用いられている光学モニター技術として、光干渉断層法 (optical coherence tomography; OCT)、近赤外分光分析法 (near-infrared spectroscopy; NIRS)、光線力学的診断 (photodynamic diagnosis; PDD)、パルスオ

キシメーター、消化管内視鏡、気管支内視鏡および血管内視鏡を例に挙げた。OCT は、光の干渉を利用した光学モニター技術であり、組織への光照射を行って取得した反射光と参照光との干渉光の強度を計測しフーリエ変換によりその組織内深度分布を得て画像に再構築するもので、 $\mu\text{m}$  オーダーにて組織性状の断面画像を取得することができる [11]。近赤外光波長域における単一波長照射による計測が当初行われていたが、現在は、波長可変レーザーや広帯域光源を用いて波長分解計測を併せた Fourier-domain OCT; FF-OCT や Swept-source OCT; SS-OCT が開発されている [11]。今日では、眼底や血管、消化管、循環器などの画像診断法として広く利用されている。NIRS は、脳機能画像診断法として知られ、脳表面に位置する大脳皮質の神経活動に伴って変化する血流変化および酸化ヘモグロビンおよび還元ヘモグロビンの相対的変化量を 2 次元画像化する [12]。約 30 mm 離れた光源と検出器の 1 組を多点において設置し 1.2~3.3 kHz に変調した波長 660~850 nm 帯の近赤外あるいは可視光のうち 2 波長のレーザー光を照射および検出する。使用波長域における酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの吸収係数差を利用して、それぞれの相対濃度を算出し、2 次元画像に再構築する [11]。パルスオキシメーターも NIRS と同様に酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの吸収係数差を利用した分光解析に基づいた光学モニター装置であり、経皮的な吸収分光計測によって動脈血の酸素飽和度を算出・表示する光学モニター装置である [12]。波長約 660、940 nm の 2 波長を発振する LED が光源として用いられ、それぞれの光を数 100 回/s の頻度で交互に照射、拡散反射光を受光する [12]。脈動による光路長の変化に伴う吸光度の変化をもとに動脈と静脈を判別し、各波長における拡散反射光強度から動脈血由来の成分を抽出して、酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの相対量から酸素飽和度を算出する [12]。パルスオキシメーターは手指に装着して簡易的に計測可能であり、モニター装置として臨床において最も普及しているものの一である。PDD は細胞内光増感反応を用いた治療を行う際に、光感受性薬剤の集積部位すなわち腫瘍組織を可視化して治療対象部位決定のための指針として用いられる光学モニターである [13]。光感受性薬剤の Soret 帯あるいは Q 帯吸収ピークに相当する励起光を数  $\text{mW}/\text{cm}^2$  の放射照度にて照射し、光感受性薬剤由来蛍光を受光し画像表示する [14]。内視鏡は、胃や十二指腸、胆管、膵管などを観察対象とする消化管内視鏡と、気管支を対象とした気管支内視鏡に大別される。対象組織を観察し腫瘍の検出および鉗子等での切除や焼灼などを行って治療を行う。内視鏡は先端部に撮像素子を搭載したスコープと光源装置やイメージングシステムを含む本体から成る。腫瘍組織の検出力を高めるために、(i) 組織粘膜表面の毛細血管を強調表示する狭帯域光観察機能 (Narrow band imaging; NBI) や (ii) 組織自家蛍光を計測して腫瘍組織の判別に利用可能な蛍光観察機能 (Autofluorescence imaging; AFI)、(iii) 組織粘膜深部の血管や血流情報を強調表示する赤外光観察機能 (Infrared imaging; IFI) などの光学技術に基づいたイメージングモニター技術が搭載されている [15]。血管内視鏡は、血管内壁の性状を色調から診断するために用いられる装置であり、光源や CCD 撮像素子からなる本体と、画像転送用および照

明伝送用のファイバーバンドルから成るスコープで構成される [16]。一方、現在研究開発がなされている生体組織に対する光学モニター技術として、非線形光学に基づいた分光法や蛍光分光法、がある [17-23]。非線形光学に基づいた分光法として、ラマン散乱を利用したコヒーレント反ストークスラマン散乱 (Coherent anti-Stokes Raman scattering; CARS) [18-20]、第2次高調波 (second harmonic generation; SHG) や第3次高調波 (third harmonic generation; THG) を用いた分光法を例に挙げた [21]。蛍光分光法としては、蛍光寿命計測に基づいたイメージング法である fluorescence lifetime imaging; FLIM [22]、近接する分子間において励起エネルギーが電子共鳴により移動することで蛍光消光が起こることを利用したイメージング法である fluorescence resonance energy transfer; FRET などが挙げられる [23]。いずれも、組織表面近傍の組織構造を分子レベルで明らかにする手法であり、光源のみならず検出器をはじめとして高度な光学系および装置が必要とされる。CARS や FLIM は経内視鏡的なモニター装置としての応用を、その他は生検後の組織病理解析法としての応用を目指した検討が行われているが、臨床における応用は未だなされていない。

## D 用語および略語説明

### D.1 光照射および光計測に関する用語および記号説明

#### D.1.1 用語説明

本論文では、レーザー光の光照射条件は以下に定義する Irradiance および Radiant exposure を用いて表記した。光生物学および光化学の分野において光照射および光計測で使用する用語に関して国際照明委員会 (International Commission on Illumination; CIE) の推奨する定義を示す [24]。単位は SI 単位系ではなく慣用表現を用いた。

用語	定義
放射照度 [ $\text{W}/\text{cm}^2$ ]	ある面に対して単位面積あたり垂直に入射する、単位時間に伝播する光エネルギーの量
放射照射量 [ $\text{J}/\text{cm}^2$ ]	放射照度の時間積分値

#### D.1.2 記号説明

Symbol	Definition	Unit
$\mu_a$	吸収係数 (Absorption coefficient)	$\text{mm}^{-1}$
$\mu_s$	散乱係数 (Scattering coefficient)	$\text{mm}^{-1}$
$\mu_s'$	等価散乱係数 (Reduced scattering coefficient)	$\text{mm}^{-1}$
$\mu_{eff}$	減衰係数 (Attenuation coefficient)	$\text{mm}^{-1}$
$g$	異方性パラメータ (anisotropic factor)	-
$\delta$	光侵達長 (Penetration depth)	mm
$T$	透過率 (Transmittance)	%
$T_d$	拡散透過率 (Diffuse transmittance)	%
$T_c$	コリメート透過率 (Collimated transmittance)	%
$R$	反射率 (Reflectance)	%
$R_d$	拡散反射率 (Diffuse reflectance)	%
$E$	モル吸光係数 (Molar absorption coefficient)	$\text{M m}^{-1}$
$\Phi_{\Delta}$	一重項酸素産生収率 (Quantum yield of singlet oxygen generation)	-

## 参考文献

- [1] W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, “A review of the optical properties of biological tissues,” *IEEE J Quantum Electron*, vol. 26, pp. 2166–2185, 1990.
- [2] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert, and A. J. Welch, “Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method,” *Appl. Opt.*, vol. 32, pp. 559–568, 1993.
- [3] 西垣隆一郎, 堀江利治, 伊藤智夫, 薬学教科書シリーズ 薬物動態学, 丸善株式会社: 東京, 1998, pp. 65–73.
- [4] R. A. Weersink, J. E. Hayward, K. R. Diamond, and M. S. Patterson, “Accuracy of noninvasive *in vivo* measurements of photosensitizer uptake based on a diffusion model of reflectance spectroscopy,” *Photochem Photobiol*, vol. 66, pp. 326–335, 1997.
- [5] K. Yamaoka, T. Nakagawa, and T. Uno, “Statistical moments in pharmacokinetics,” *J Pharmacokinet Biopharm*, vol. 6, pp. 547–558, 1978.
- [6] 池上直己, 医療問題 第4版, 東京: 日本経済新聞出版社, 2010, pp. 84–114.
- [7] 厚生労働省, “特定保険医療材料の保険償還価格の改定について,” 保発 0212 第 11 号, 2014 年 2 月 12 日.
- [8] 厚生労働省, “特定保険医療材料及びその材料価格 (材料価格基準) の一部を改正する件,” 厚生労働省告示第 62 号, 2014 年 3 月 5 日.
- [9] 厚生労働省, “診療報酬の算定方法の一部を改正する件,” 厚生労働省告示第 57 号, 2014 年 3 月 5 日.
- [10] Y. Muragaki, J. Akimoto, T. Murayama, H. Iseki, S. Ikuta, M. Nitta, K. Maebayashi, T. Saito, Y. Okada, S. Kaneko, A. Matsumura, T. Kuroiwa, K. Karasawa, Y. Nakazato, and T. Kayama, “Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors,” *J Neurosurg*, vol. 119, pp. 845–852, 2013.
- [11] J. G. Fujimoto, M. E. Brezinski, G. J. Tearney, S. A. Boppart, B. Bouma, M. R. Hee, J. F. Southern, and E. A. Swanson, “Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography,” *Nat Med*, vol. 1, pp. 970–972, 1995.
- [12] H. Koizumi, T. Yamamoto, A. Maki, Y. Yamashita, H. Sato, H. Kawaguchi, and N. Ichikawa, “Optical topography: Practical problems and new applications,” *Appl Opt*, vol. 42, pp. 3054–3062, 2003.
- [13] C. M. Alexander, L. E. Teller, and J. B. Gross, “Principles of pulse oximetry: Theoretical and practical considerations,” *Anesth Analg*, vol. 68, pp. 368–376, 1989.
- [14] D. Jocham, H. Stepp, and R. Waidelich, “Photodynamic diagnosis in urology: State-of-the-art,” *Eur Urol*, vol. 53, pp. 1138–1150, 2008.

- [15] M. F. Grahn, M. L. De Jode, M. G. Dilkes, J. K. Ansell, D. Onwu, J. Maudsley, and N. S. Williams, "Tissue photosensitizer detection by low-power remittance fluoimetry," *Laser Med Sci*, vol. 12, pp. 245–252, 1997.
- [16] M. C. Pierce, D. J. Javier, and R. Richards-Kortum, "Optical contrast agents and imaging systems for detection and diagnosis of cancer," *Int J Cancer*, vol. 123, pp. 1079–1990, 2008.
- [17] J. W. Towne and V. M. Bernhard, "Vascular endoscopy: Useful tool or interesting toy," *Surgery*, vol. 82, pp. 415–419, 1977.
- [18] R. R. Alfano, S. G. Demos, P. Galland, S. K. Gayen, Y. Guo, P. P. Ho, X. Liang, F. Liu, L. Wang, Q. Z. Wang, and W. B. Wang, "Time-resolved and nonlinear optical imaging for medical applications," *Ann NY Acad Sci*, vol. 1, pp. 14–28, 1998.
- [19] C. L. Evans and X. S. Xie, "Coherent anti-stokes raman scattering microscopy: Chemical imaging for biology and medicine," *Annu Rev Anal Chem*, vol. 1, pp. 883–909, 2008.
- [20] E. O. Potma and X. S. Xie, "CARS microscopy for biology and medicine," *Opt Photonics News*, vol. 15, pp. 40–45, 2004.
- [21] C. Sun, S. Chu, S. Chen T. Tsao, T. Liu, C. Lin, and H. Tsai, "Higher harmonic generation microscopy for developmental biology," *J Struct Biol*, vol. 147, pp. 19–30, 2004.
- [22] D. Elson, J. Requejo-Isidro, I. Munro, F. Reavell, J. Siegel, K. Suhling, P. Tadrous, R. Benninger, P. Lanigan, J. McGinty, C. Talbot, B. Treanor, S. Webb, A. Sandison, A. Wallace, D. Davis, J. Lever, M. Neil, D. Phillips, G. Stamp, and P. French, "Time-domain fluorescence lifetime imaging applied to biological tissue," *Photochem Photobiol Sci*, vol. 3, pp. 795–801, 2004.
- [23] J. Szollosi, S. Damjanovich, and L. Matyus, "Application of fluorescence resonance energy transfer in the clinical laboratory: routine and research," *Cytometry*, vol. 34, pp. 159–179, 1998.
- [24] E. R. Cohen, T. Cvitas, J. G. Frey, B. Holmstrom, K. Kuchitsu, R. Marquardt, I. Mills, F. Pavese, M. Quack, J. Stohner, H. L. Strauss, M. Takami, and A. J. Thor, 物理化学で用いられる量・単位・記号, 日本化学会監修, 産業技術総合研究所計量標準総合センター訳, 東京: 講談社サイエンティフィク, 2007, pp. 41–47.



図表

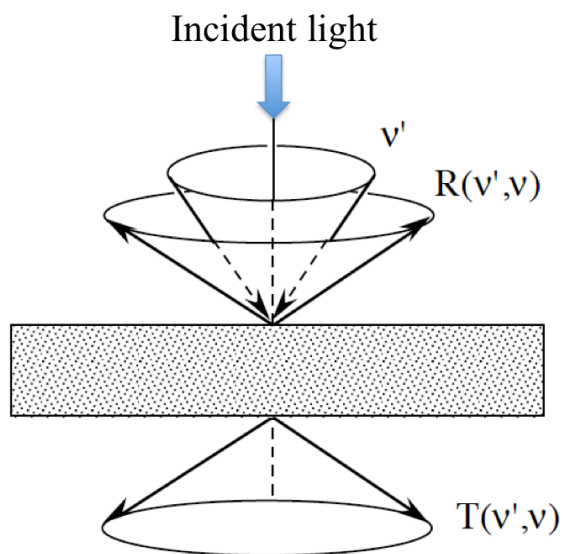


図 A-1 Adding doubling 法; ある一層の薄層に  $\nu'$  の角度から入射した光が  $\nu$  の角度に反射率  $R(\nu', \nu)$  にて反射、透過率  $T(\nu', \nu)$  にて透過する場合の概念図 (文献 [2]より引用改変)

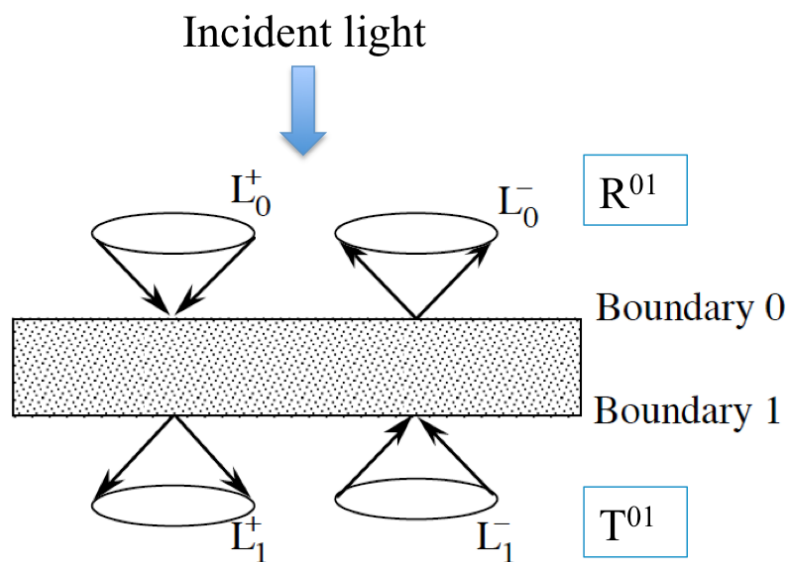


図 A-2 Adding doubling 法; 第一層と同じ層を重ねる doubling を行った場合の光束の出入りの概念図 (文献 [2]より引用改変)

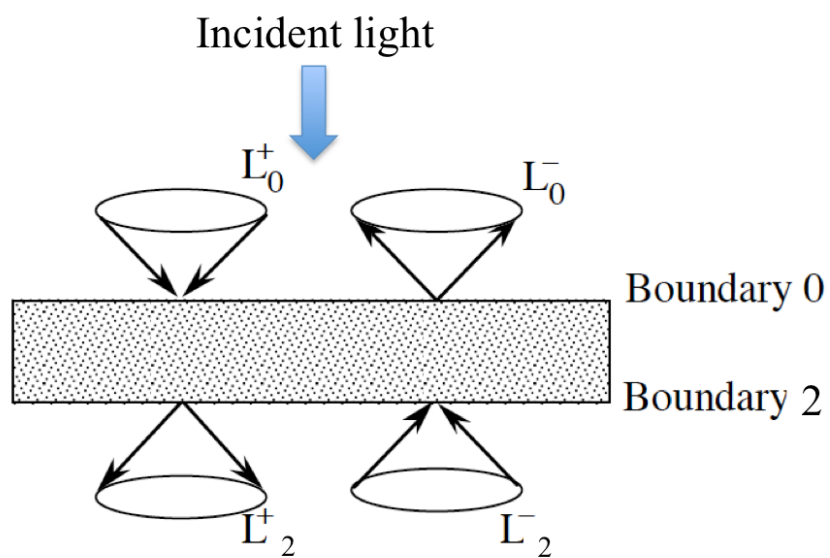


図 A-3 Adding doubling 法; 第三層を重ねた場合の光束の流入出の概念図  
(文献 [2]より引用改変)

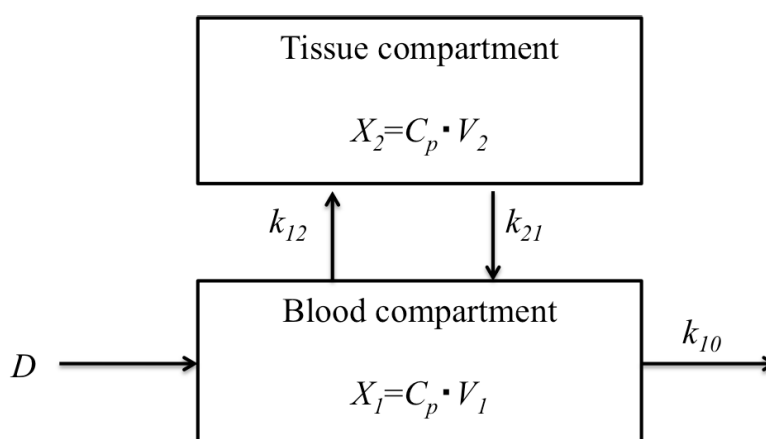


図 B-1 単回静脈投与における 2 コンパートメントモデル

(文献 [3]より引用改変)

$D$ : 投与量 [mg]

$X_1$ : 体循環血コンパートメント内の薬物量 [mg]

$X_2$ : 末梢コンパートメント内の薬物量 [mg]

$C_p$ : 体循環血コンパートメント内の薬物濃度(血漿中薬物濃度) [mg/ml]

$V_1$ : 体循環血コンパートメントの分布容積 [l]

$V_2$ : 末梢コンパートメントの分布容積 [l]

$k_{10}$ : 体循環血コンパートメントからの薬物消失速度定数

$k_{12}$ : 体循環血コンパートメントから末梢コンパートメントへの薬物移行定数

$k_{21}$ : 末梢コンパートメントから体循環血コンパートメントへの薬物移行定数

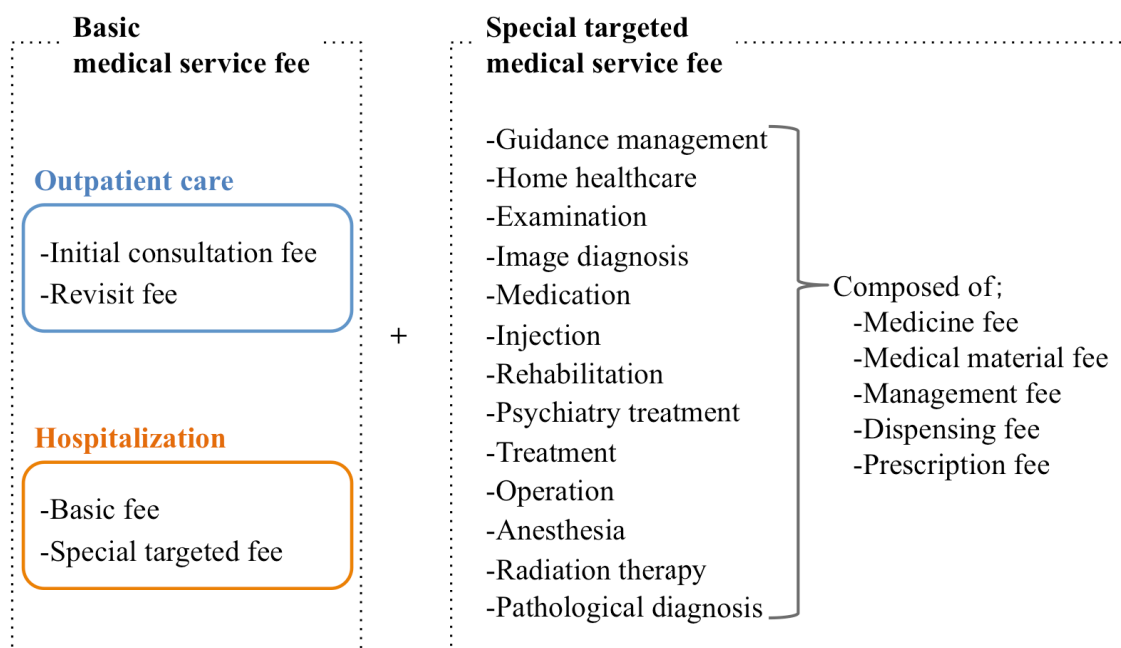


図 C-1 医科診療報酬点数の構成 (文献 [6]より引用改変)

表 C-1 頻脈性不整脈治療に関する医療機器に定められた特定保険医療材料の材料価格 (文献 [7]より引用改変)

Classification		Material price		
		Standard type	¥66,200	
Catheter electrode for pacemaker	With cardiac electrophysiological diagnosis function	With ablation	Standard type	¥292,000
		function	With contact sensing function	¥388,000
		With thermal sensor		¥90,200
Catheter for cardiac ablation	Standard type		¥149,000	
	With irrigation function		¥175,000	

表 C-2 1日あたりの一般病棟入院基本料 (文献 [8]より引用改変)

<b>Capacity of a ward</b>	<b>Japanese medical remuneration points</b>
7 patients	1591 points
10 patients	1332 points
13 patients	1121 points
15 patients	960 points

## 著者論文目録

## 1 原著論文

## 1.1 本研究に関連する論文

- (1) M. Takahashi, A. Ito, S. Miyoshi, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukuda, and T. Arai, “Study of blood charring precursor states using backscattering at 663 nm from blood and optical window boundary,” *Lasers Surg Med*, vol. 44, pp. 508–513, 2012.
- (2) M. Takahashi, A. Ito, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukuda, and T. Arai, “Myocardial necrosis depth prediction during extracellular photosensitization reaction of talaporfin sodium by defined index using fluorescence measurement,” *Lasers Med Sci*, vol. 29, pp. 1173–1181, 2014.
- (3) M. Takahashi and T. Arai, “Fluorescence sensing system by Soret-band LED light excitation for estimating relative talaporfin sodium concentration in skin,” *Photodiagn Photodyn*, vol. 11, pp. 586–594, 2014.

## 1.2 その他の論文

- (1) T. Kimura, S. Takatsuki, S. Miyoshi, K. Fukumoto, M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Arai, S. Ogawa, and K. Fukuda, “Nonthermal cardiac catheter ablation using photodynamic therapy,” *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 6, pp. 1025–1031, 2013.

## 1.3 国際会議論文 (査読付きの full-length paper)

- (1) M. Takahashi, E. Ogawa, S. Motohashi, T. Nakamura, H. Kawakami, N. Machida, A. Ito, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, S. Miyoshi, K. Fukuda, and T. Arai, “Electrophysiological and histological effects on canine right atrium by photosensitization reaction under catheterization *in vivo*,” *Proc SPIE*, vol. 8565, pp. 85654A-1–6, 2013.
- (2) M. Takahashi, E. Ogawa, T. Nakamura, H. Kawakami, N. Machida, M. Yajima, M. Kurotsu, A. Ito, T. Kimura, and T. Arai, “Prediction of myocardial damage depth induced by extracellular photosensitization reaction using fluorescence measurement *in vivo*,” *Proc SPIE*, vol. 8926, pp. 89262X-1–7, 2014.
- (3) E. Ogawa, M. Takahashi, and T. Arai, “Study of photosensitization reaction progress in a 96 well plate with photosensitizer rich condition using Talaporfin sodium,” *Proc SPIE*, vol. 8579, pp. 85790D-1–6, 2013.
- (4) H. Kawakami, E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Detection of singlet oxygen luminescence generated in photosensitization reaction excited by CW laser *in vitro*,” *Proc SPIE*, vol. 8798, pp. 879815-1–4, 2014.



- (5) M. Yajima, H. Kawakami, E. Ogawa, M. Takahashi, and T. Arai, “Photosensitization reaction along depth of a culture well with high concentration of talaporfin sodium for extra-cellular photodynamic therapy study,” *Proc SPIE*, vol. 8941, pp. 89410V-1–6, 2014.
- (6) M. Kurotsu, T. Nakamura, M. Takahashi, E. Ogawa, and T. Arai, “Comparison of human serum and bovine serum albumins on oxidation dynamics induced by talaporfin sodium photosensitization reaction with albumin rich conditions: solution experiments,” *Proc SPIE*, vol. 8941, pp. 89410F-1–6, 2014.
- (7) E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Immediate response of  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in myocardial cells against oxidation stress by extracellular photosensitization reaction using Talaporfin sodium for the arrhythmia treatment application,” *Proc SPIE*, vol. 8941, pp. 89410U-1–7, 2014.

## 2 学会

### 2.1 国際会議発表

- (1) M. Takahashi, E. Ogawa, S. Motohashi, T. Nakamura, H. Kawakami, N. Machida, A. Ito, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, S. Miyoshi, K. Fukuda, and T. Arai, “Electrophysiological and histological effects on canine right atrium by photosensitization reaction under catheterization *in vivo*,” *SPIE BiOS2013* (San Francisco, USA, 2013.2.2).
- (2) M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, and T. Arai, “Estimation of photosensitization-induced myocardial damage depth by a talaporfin sodium fluorescence measurement via a laser catheter,” *European Conference on Biomedical Optics (ECBO 2013)* (Munich, Germany, 2013.5.15).
- (3) M. Takahashi, E. Ogawa, A. Ito, T. Kimura, S. Takatsuki, K. Fukumoto, S. Miyoshi, K. Fukuda, and T. Arai, “Electrophysiological effect on canine myocardium after photosensitization reaction *in vivo*,” *The 14th world congress of the International Photodynamic Association (IPA 2013)* (Seoul, the Republic of Korea, 2013. 5.28-31).
- (4) M. Takahashi, E. Ogawa, T. Nakamura, H. Kawakami, N. Machida, M. Yajima, M. Kurotsu, A. Ito, T. Kimura, and T. Arai, “Prediction of myocardial damage depth induced by extracellular photosensitization reaction using fluorescence measurement *in vivo*,” *SPIE BiOS2014* (San Francisco, USA, 2014.2.1).
- (5) E. Ogawa, M. Takahashi, and T. Arai, “Study of photosensitization reaction progress in a 96 well plate with photosensitizer rich condition using Talaporfin sodium,” *SPIE BiOS2013* (San Francisco, USA, 2013.2.4).
- (6) H. Kawakami, E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Detection of singlet oxygen luminescence generated in photosensitization reaction excited by CW laser *in vitro*,” *European Conference on Biomedical Optics (ECBO 2013)* (Munich, Germany, 2013.5.15).

- (7) M. Yajima, H. Kawakami, E. Ogawa, M. Takahashi, and T. Arai, “Photosensitization reaction along depth of a culture well with high concentration of talaporfin sodium for extra-cellular photodynamic therapy study,” *SPIE BiOS2014* (San Francisco, USA, 2014.2.4).
- (8) M. Kurotsu, T. Nakamura, M. Takahashi, E. Ogawa, and T. Arai, “Comparison of human serum and bovine serum albumins on oxidation dynamics induced by talaporfin sodium photosensitization reaction with albumin rich conditions: solution experiments,” *SPIE BiOS2014* (San Francisco, USA, 2014.2.3).
- (9) E. Ogawa, M. Takahashi, A. Ito, and T. Arai, “Immediate response of  $Ca^{2+}$  concentration in myocardial cells against oxidation stress by extracellular photosensitization reaction using Talaporfin sodium for the arrhythmia treatment application,” *SPIE BiOS2014* (San Francisco, USA, 2014.2.4).

## 2.2 国内学会発表

- (1) 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “血中レーザ光照射時の光学窓-血液界面における血液光学特性変化,” 第 51 回日本生体医工学会 (福岡, 2012.5.12).
- (2) 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “光増感反応の血中運用におけるレーザカテーテル光学窓界面血液の光学特性変化,” 第 22 回日本光線力学学会 (茨城, 2012.7.6).
- (3) 高橋芽意, 小川恵美悠, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “経カテーテル的血中レーザ照射に伴う血液の経時的光学特性変化による焦げ付き事前検知,” 第 33 回日本レーザー医学会 (大阪, 2012.11.11).
- (4) 高橋芽意, 小川恵美悠, 伊藤亜莉沙, 木村雄弘, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた細胞外光増感反応: 経カテーテル的測定による心筋ネクロシス深度の推定,” 第 34 回日本レーザー医学会 (東京, 2013.11.10).
- (5) 高橋芽意, 矢島正大, 竹ノ谷洋海, 松崎亮太, 伊藤亜莉沙, 大谷圭志, 池田徳彦, 白田実男, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた PDT における皮膚内残留薬剤評価: Soret 帯 LED を用いた経皮的蛍光計測,” 第 24 回日本光線力学学会 (浜松, 2014.6.28).
- (6) 河上裕重, 本橋沙彌佳, 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “連続光励起を用いた光増感反応系の一重項酸素発光計測,” 第 22 回日本光線力学学会 (茨城, 2012.7.6).
- (7) 中村哲也, 河上裕重, 本橋沙彌佳, 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “経カテーテル的な心筋偏光情報の取得,” 第 22 回日本光線力学学会 (茨城, 2012.7.6).
- (8) 本橋沙彌佳, 高橋芽意, 小川恵美悠, 荒井恒憲, “アルブミンに対する Talaporfin sodium の血清蛋白結合率: 温度依存性の検討,” 第 22 回日本光線力学学会 (茨城, 2012.7.6).
- (9) 小川恵美悠, 高橋芽意, 荒井恒憲, “96 well plate を使用した in vitro 実験系における Talaporfin sodium 溶液の光増感反応,” 第 33 回日本レーザー医学会 (大阪, 2012.11.11).
- (10) 河上裕重, 本橋沙彌佳, 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “薬剤静注早期に

- 対応する *in vitro* 系における連続光励起光増感反応の一重項酸素発光計測,” 第 33 回日本レーザー医学会 (大阪, 2012.11.11).
- (11) 中村哲也, 河上裕重, 本橋沙彌佳, 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “線維化心筋組織の反射偏光測定,” 第 33 回日本レーザー医学会 (大阪, 2012.11.11).
- (12) 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 木村雄弘, 三好俊一郎, 福本耕太郎, 高月誠司, 福田恵一, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた 細胞外光増感反応: 心筋細胞の急性応答,” 第 23 回日本光線力学学会 (旭川, 2013.6.8).
- (13) 木村雄弘, 高橋芽意, 小川恵美悠, 伊藤亜莉沙, 福本耕太郎, 三好俊一郎, 高月誠司, 福田恵一, 荒井恒憲, “PDT による心臓カテーテルアブレーション: 不整脈治療への適応拡大,” 第 23 回日本光線力学学会 (旭川, 2013.6.7).
- (14) 黒津真璃子, 中村哲也, 高橋芽意, 小川恵美悠, 木村雄弘, 福本耕太郎, 三好俊一郎, 高月誠司, 福田恵一, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた細胞外光増感反応: 反応進行に与える albumin/Talaporfin sodium 濃度比の影響,” 第 23 回日本光線力学学会 (旭川, 2013.6.8).
- (15) 矢島正大, 河上裕重, 小川恵美悠, 高橋芽意, 木村雄弘, 福本耕太郎, 三好俊一郎, 高月誠司, 福田恵一, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた細胞外光増感反応: *In vitro* 実験系における反応中の酸素動態,” 第 23 回日本光線力学学会 (旭川, 2013.6.8).
- (16) 矢島正大, 河上裕重, 小川恵美悠, 高橋芽意, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた細胞外光増感反応: 細胞培養 Well 中の反応進行分布,” 第 34 回日本レーザー医学会 (東京, 2013.11.9).
- (17) 小川恵美悠, 高橋芽意, 伊藤亜莉沙, 荒井恒憲, “細胞外光増感反応による心筋細胞の即時的障害,” 第 34 回日本レーザー医学会 (東京, 2013.11.9).
- (18) 黒津真璃子, 中村哲也, 高橋芽意, 小川恵美悠, 荒井恒憲, “Talaporfin sodium を用いた細胞外光増感反応の蛍光進行モニタに対するアルブミン種の影響: *in vitro* 実験,” 第 34 回日本レーザー医学会 (東京, 2013.11.10).
- (19) 松崎亮太, 矢島正大, 小川恵美悠, 高橋芽意, 荒井恒憲, “心筋内光増感反応治療の基礎検討: 拡散光デバイスを用いた心筋内光強度分布の実測と Monte-Carlo モデルの構築,” 第 24 回日本光線力学学会 (浜松, 2014.6.28).

### 3 特許

- (1) 荒井恒憲, 伊藤亜莉沙, 高橋芽意, “治療進行度モニタ装置及びその方法,” 特願 2013-101609 (2013.5.13).

他 1 件

## 謝辞

本研究は、著者が慶應義塾大学大学院 理工学研究科基礎理工学専攻 後期博士課程在学中に、同大学理工学部荒井恒憲教授の指導のもとに行ったものである。本研究を進めるにあたり、多大なご指導とご支援を賜りました荒井恒憲教授に心より感謝申し上げます。研究や学会発表・聴講の機会をくださったとともに、医工連携・産学連携の一端に携わらせていただき、幅広い経験や知識を得ることができました。

本学位論文をまとめるにあたり、頻脈性不整脈治療の専門的な内容や医学的観点から医療機器開発についてご指導とご意見をいただきました小川聡教授、理工学的な観点から多くのご指導、ご意見をくださいました、内山孝憲教授、塚田孝祐先生、寺川光洋先生に深く感謝申し上げます。

慶應義塾大学医学部循環器内科の木村雄弘先生、高月誠二先生、三好俊一郎先生には、動物実験や医学的観点での研究討論に際して、多くのご指導とご支援を賜りました。感謝申し上げます。

本研究実施にあたり大変充実した装置および実験環境を整えてくださった、多数の企業の方々に感謝いたします。特に、株式会社アライ・メッドフoton研究所の皆様には、治療器の開発過程を見せていただき、多くの学びの機会を提供いただきました。感謝申し上げます。

同じ研究グループとして研究に関する討論を行い、多くの場面で支えてくださった、小川恵美悠さん、黒津真璃子さん、矢島正大さん、竹ノ谷洋海さん、松崎亮太さん、土井万理香さん、片桐渉さん、浜田梨沙さん、森永謙二郎さん、また既に社会でご活躍中の荒井研究室卒業生の伊藤亜莉沙さん、梶原拓郎さん、本橋沙彌佳さん、河上裕重さん、中村哲也さん、町田直樹さんに感謝しています。これまで荒井研究室での研究生活をともに過ごした全ての先輩方、同期の方、後輩に感謝しています。特に、同期として荒井研究室に入室してから現在まで、いつも刺激を与えてくれ、共に切磋琢磨してきた國尾美絵さんに感謝しています。

荒井恒憲教授秘書の鈴木れいさんには、研究を行うためのご支援をいただいたとともに、日頃からあたたかなご配慮をくださり、研究生活を支えていただきました。心より感謝申し上げます。

最後に、いつもあたたかく見守り、苦しいときには激励の言葉をかけて応援してくれた家族と友人に心から感謝しています。研究生活を送るにあたり、大きな励みとなったことをここに記し、深い感謝の意を表して謝辞といたします。

2014年12月