

2024 年度 医療技術研究開発助成 成果報告書

[萌芽・探索型]

所 属 京都大学医学部附属病院呼吸器外科

氏 名 豊 洋次郎

[研究テーマ]

気胸リーク部位同定を可能とする革新的ナビゲーションと超低侵襲治療開発に関する研究

[分野]

- ☐ ① 日常生活における健康無関心層の疾病予防、重症化予防に資する医療機器
- ☐ ② 予後改善につながる診断の一層の早期化に資する医療機器
- ☐ ③ 臨床的なアウトカムの最大化に資する個別化医療に向けた診断と治療が一体化した医療機器
- ☐ ④ 高齢者等の身体機能の補完・向上に関する医療機器
- ☐ ⑤ 医療従事者の業務の効率化・負担軽減に資する医療機器
- ☒ ⑥ 次世代の医療機器開発・生産に資する要素技術・部品・部材の開発、製造基盤

1. 背景と目的

＜背景＞

気胸は肺に穴が開いて、穴から漏れた空気が胸腔に溜り肺が膨らまず、呼吸が苦しくなる疾患である。罹患年齢は 10 代の若年者から高齢者に到るまで幅広い年齢層に発症する。気胸の発生原因は不明で、再発症例も多い。胸部外科学会によると 2019 年の呼吸器外科領域での手術は 90,000 件で、肺癌手術 48,000 件に次いで、気胸手術数は 15,000 件と多い。

治療は、胸腔にドレナージチューブを留置することで貯留した空気を排気し、自然治癒を待つが、自然治癒しない約4割で胸腔鏡手術が行われる。気腫部位はCT/MRIなどの画像検査で同定できないため、全身麻酔下に胸腔内で肺を水没させ漏れ出る気泡を観察し、責任病変を含む正常肺組織の切除を行うが、根治的手術までの治療期間延長、肺機能ロスの面で患者負担が大きい。現在の気胸治療の課題は、責任病変の同定が難しいことに加え、根治的な外科治療後の再発率が 5～15%程度と高いことである。従って、初期治療は胸腔ドレナージを行って、胸腔内の空気を排気し安静にして自然治癒を待つことが選択される。これによって約半数程度の患者さんでは一旦は治癒するものの、残りの患者では、治癒せず入院期間が長期化するため、様々な方法で病変の同定や治療が試みられる。治療に難渋する場合は最終的に全身麻酔下に胸腔鏡手術が行われ、空気が漏れている肺損傷部位(リーク部位・気腫部位)を周囲の正常肺を含めて切除する。そこで我々は、胸腔ドレナージチューブから責任病変を可視化し、直接ピンポイントに気腫部位を閉鎖する医療機器を開発する。新しい治療方法と用いる試薬・機器をパッケージ開発し、従来は入院治療が常識であった気胸治療を、日帰り治療に置き換える「超低侵襲気胸治療」の実現を目指す。肺切除不要で良好な肺機能温存と、医療費削減が期待できる。

### ＜目的＞

気嚢部位は CT などの従来の画像検査では同定できず、全身麻酔・挿管下において加圧された患側肺から胸腔内に満たされた生理食塩水中に漏れ出る気泡発生部位を確認する方法(水封テスト)でのみ同定可能であった。そこで、ネブライザー吸入させた蛍光色素が肺から漏れだす部位を同定可能とする直径 1.0mm の極細径カメラを搭載した胸腔ドレナージシステムを開発し、初期治療として局所麻酔下に行われる胸腔ドレナージの時点で、短時間のうちに気嚢部位を同定し、ピンポイントに気嚢閉鎖を行う新しい治療を提供する。本研究目的は、胸腔ドレナージチューブから責任病変を可視化し、直接ピンポイントに気嚢部位を閉鎖する医療機器を開発し、治療日数の削減、医療費削減が可能な「超低侵襲気胸治療」を提案するものである

### ＜研究の現状＞

気胸の原因部位となる気嚢部位を可視化させるためには蛍光試薬の利用を想定している。具体的にはリボフラビンやフルオロセイン、インドシアニングリーンなどを用いることができる。リボフラビンはビタミン B2 欠乏症、フルオロセインは眼底血管診断、インドシアニンググリーンは肝機能・循環機能検査、乳癌・悪性黒色腫のセンチネルリンパ節同定、リンパ流・血流の可視化に用いられている。特に、リボフラビンなどの水溶性ビタミン類は、「人の健康を損なうおそれがないことがあきらかであるものとして厚生労働大臣が定める物質：除外物質」に指定されており、過剰摂取しても尿から排泄されることが知られている。既に、インドシアニンググリーンの蛍光を用いてビーグル犬の肺に設けた人工気胸を検出する研究(Yokota. et. al. Ann Thorac Surg. 2021 Feb;111(2):436-439.)や、フルオロセインを用いた研究(Vandermeulen. et. al. Respiration. 2010; 80(3):228-35)などがあるが、先行特許も論文も、いずれも胸腔鏡を用いて気嚢箇所を可視化するのみに留まっており、胸腔鏡手術の際の水封テストの代替手段と言えるが、臨床応用には至っていない。気嚢の可視化に関して、どの蛍光色素が良いか比較検討はされておらず、候補に挙げた蛍光試薬を肺に吸引させた際の人体への影響と、検出に必要な量と安全な量の範囲などについては、動物などを用いた試験によって十分な確認が必要である。一方、全身麻酔あるいは気管内挿管を行わずに気胸治療を試みた報告も存在する(Fukui. et al. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2020 Oct;68(10):1148-1155.)が、気嚢部位の同定が困難となることを指摘している。

我々が提案する新しい気胸診断と治療方法は、胸腔ドレナージの初期治療の段階で、ドレナージチューブに搭載した極細径カメラで責任病変を検出し、その場でフィブリン糊などの硬化物質を患部に滴下して迅速治療するものである。全身麻酔が不要で、入院期間の大幅な短縮、痛みを伴わない超低侵襲治療である。

## 2. 研究方法・計画

① 至適蛍光色素の選定と使用薬剤濃度の決定を行う。リボフラビンと、ICG を候補薬剤としているが他の薬剤も含めて検証する。候補としては、フルオロセインや他の水性ビタミン類が候補として挙げられる。前述したように、蛍光試薬は蛍光が強くなる最適の濃度があり、励起光と蛍光の波長の差(ストークスシフト)も様々である。ストークスシフトが大きな試薬ほど、蛍光に励起光の影響が出にくいと観察しやすいといった側面もある。肺に吸収された試薬の健康への影響

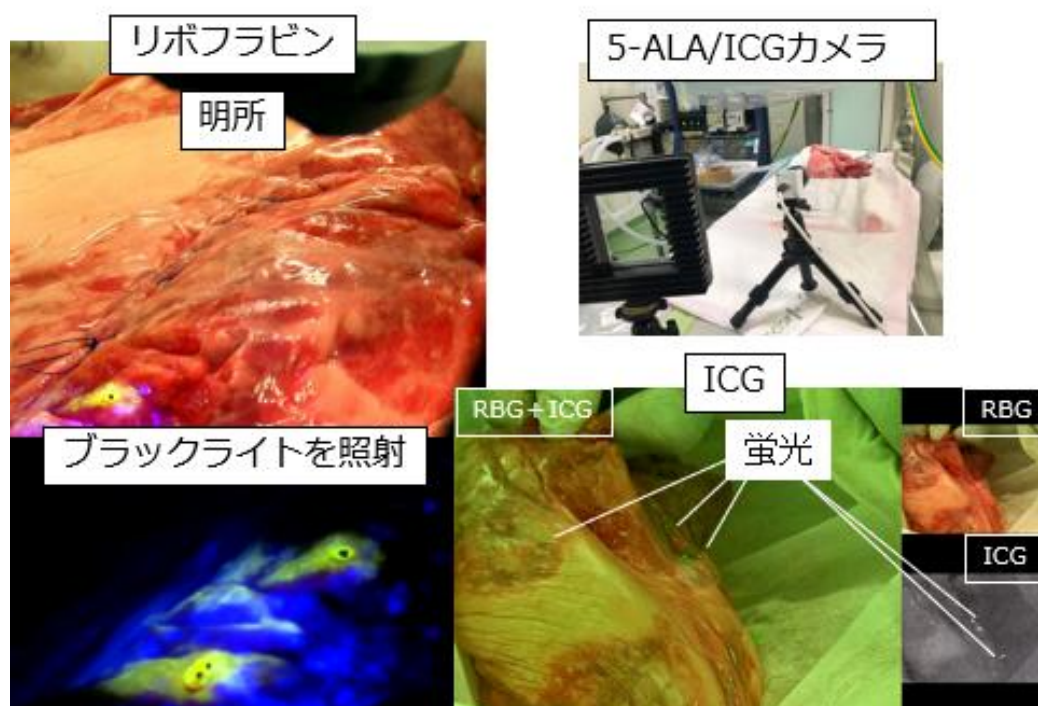
など、小動物を用いた調査も実施して選定する。

② リボフラビン、インドシアニングリーンの気道内投与は、肺癌術前の微小病変に対するマーキング方法として、臨床的に散見されるものの、ともに適応外使用となるため、小動物(マウス・ラット)を用いた安全性試験の確認を行う。気管内吸入による短期的・長期的な副作用として薬剤による気道、肺実質への影響、と全身への影響として気管内投与後の薬剤吸収率などを検証する。

③ 胸腔内を模した環境下で蛍光色素観察を可能とする極細径カメラの光学的改良を行う。励起光の影響を小さくする光学的改良を行う。具体的にはカメラに光学フィルター等を実装する。励起光の反射の影響を小さくするには、紫外線励起光の波長や励起光に可視光カットフィルタを挿入するなど、改良のアイデアは様々あるが、最も簡単で安定した観察が可能な方法を検討する。

④ 改良極細径カメラを搭載した胸腔ドレナージシステムを試作し、実際の使用感と、蛍光色素同定に関する実験結果をフィードバックし、カメラおよびドレナージシステムの改良を行う。

### 3. 研究成果及び考察



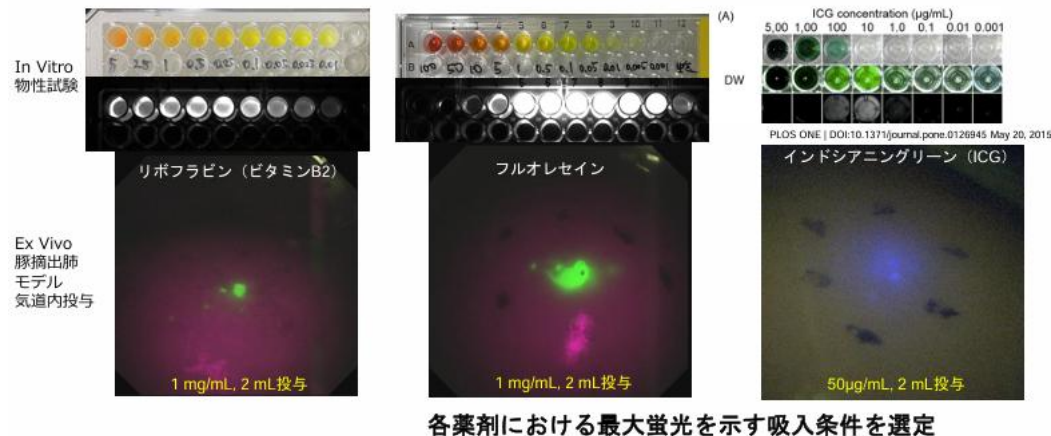
#### ①至適吸入色素の選定と条件検討 と ブタ Ex vivo 肺モデルにおける気腫部位同定実験

＜方法＞最適な蛍光試薬を探索するためリボフラビン、フルオレセイン、インドシアニングリーン (ICG) の3種類の色素を候補として選定した。それぞれにおいていくつかの濃度において色素のみ、摘出豚肺に吸入させた場合で蛍光強度が十分強く、肺腫に局限する濃度を探索した。肺腫は22G注射針で作成した。

＜結果＞色素のみの物性試験ではリボフラビンが0.25mg/mL、フルオレセインが1mg/mLで最大の蛍光強度であった。ICGは過去の文献(※)から10μg/mLが最大強度と判明している。豚摘出

肺での実験ではリボフラビンとフルオレセインは 1mg/mL、ICG は 50  $\mu$ g/mL とやや濃い濃度で最適であった。最適濃度より濃い濃度では肺瘻と関係ない箇所でも蛍光の沈着が見られた。

＜結論＞ 蛍光色素は高すぎる濃度では濃度消光により強度が減弱した。ICG では輪郭がぼやけるため、不適と考えられた。リボフラビンとフルオレセインを比較するとフルオレセインの<sup>※</sup><sub>光</sub>が强かったが、生体への安全性を考慮してリボフラビンで以降の実験を進めることとした。



※過去文献より(文献紹介)

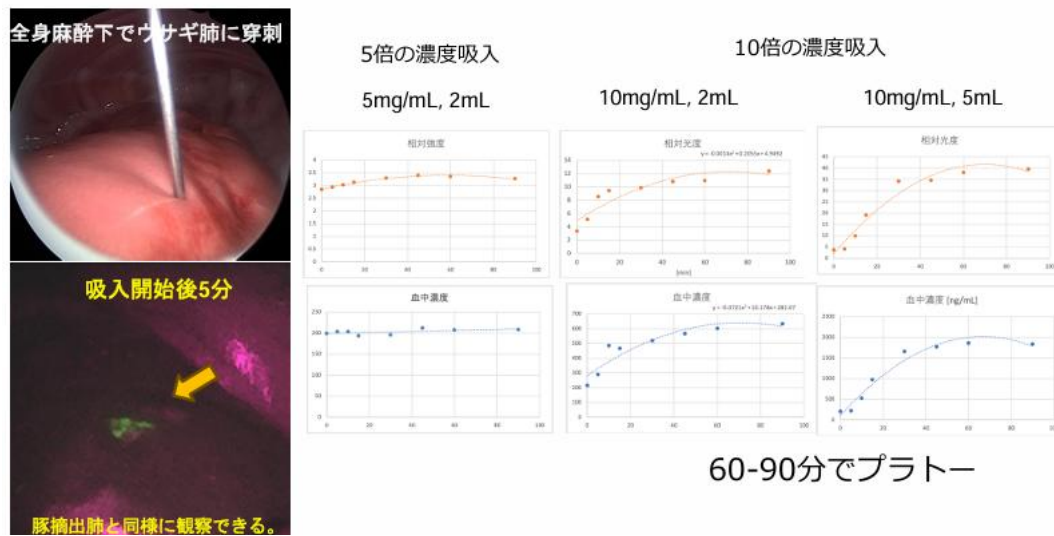
H. Wada et al. Minimally Invasive Electro-Magnetic Navigational Bronchoscopy-Integrated Near-Infrared-Guided Sentinel Lymph Node Mapping in the Porcine Lung. PLoS ONE 10(5): e0126945. doi:10.1371/journal.pone.0126945

## ②ウサギ生体肺におけるリボフラビン吸入後の血中濃度変化と安全性

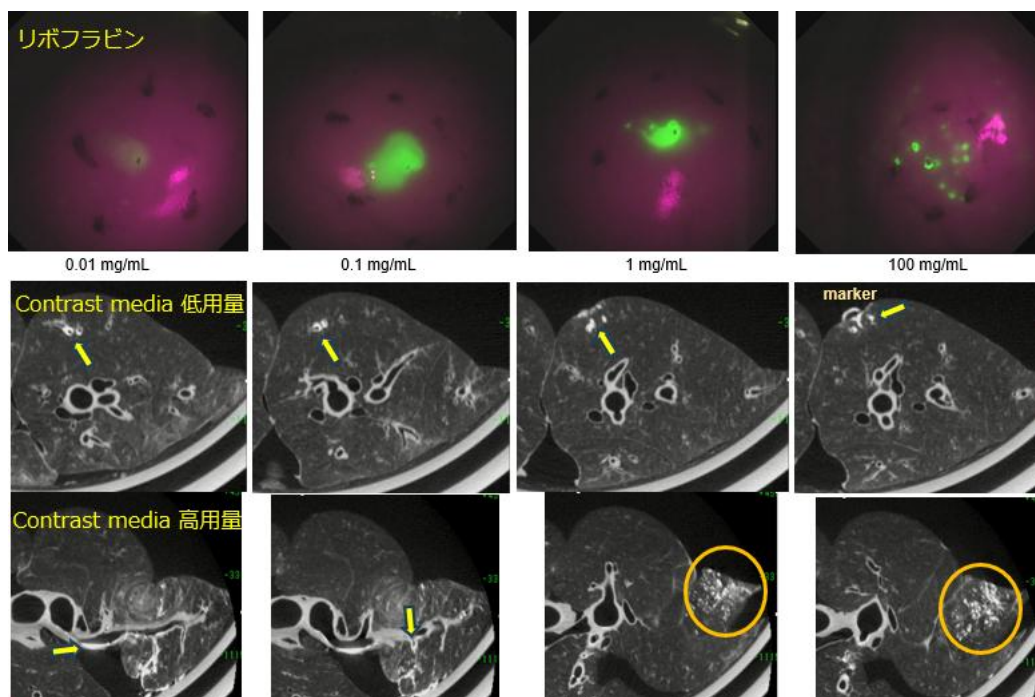
＜方法＞ 生体でもリボフラビン吸入により蛍光が肺瘻部位に現れるか確認するためウサギを用いて検討した。また、リボフラビン吸入による影響を検討するため、リボフラビン吸入後の血中濃度を検討した。

＜結果＞ 豚摘出肺のときと同様、肺瘻部位に吸入したリボフラビンの沈着を確認できた。吸入後の血中濃度は観察に用いる 5 倍量ではほぼ変化なく、10 倍以上の量で血中濃度の上昇が確認できたが、90 分程度でほぼプラトーとなった。

＜結論＞ 生体でもリボフラビンを吸入すると肺瘻部位を描出することができた。リボフラビンの血中濃度への移行はかなり高濃度でのみ見られ、観察に必要な濃度では影響は少ないと考えられた。



### ③吸入容量と気腫部位同定感度の関係



＜方法＞①において、吸入させる物質の量が適量であれば肺痿部位に沈着し、過量だと他の部位にも沈着したため、造影剤を豚摘出肺に低容量と高用量吸入させた場合の分布の違いを観察した。

＜結果＞低用量では肺痿部とそこに続く細気管支に、高用量では中枢気道や末梢の肺痿と関係ない箇所にも広く分布した。

＜結論＞吸入においては適切な量を吸入させることが肝要である。

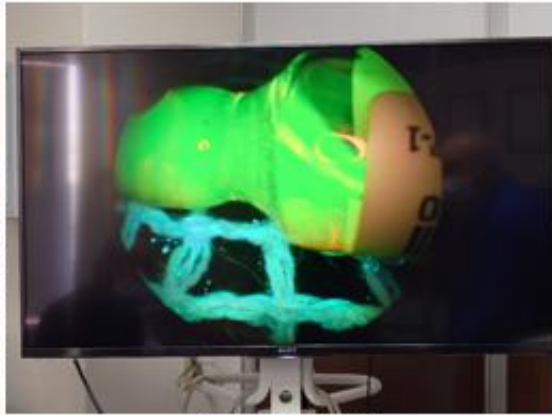
### ④ 極細径カメラの光学的改良

直径1mmの可視光カメラを第1候補としたが、励起光の反射による感度劣化の問題や、軟性鏡

では視野の操作性の課題など開発ハードルが高いと判断した。そのため、システム全体の構築を優先し、実験検証済みの 5-ALA カメラを、ICGおよび、ビタミン B2 対応にカスタマイズ開発し、内視鏡は直径 5.4mm の斜視硬性鏡でシステムを構築している。

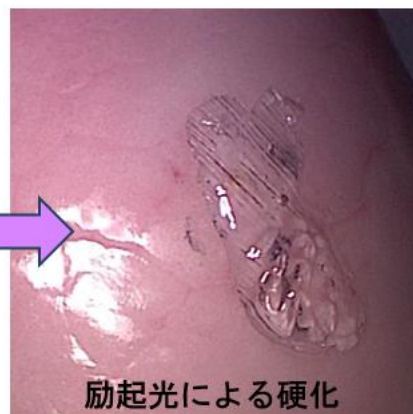
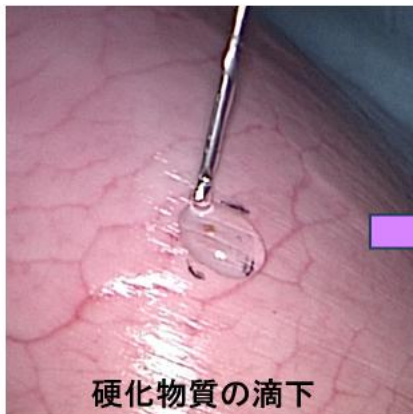


暗箱の中をiPhoneで撮影



φ5.4内視鏡映像

#### ⑤気瘻部位閉鎖デバイスの開発



＜方法＞気瘻部位閉鎖に用いることができる紫外線硬化剤を開発した。硬化剤 A に粘稠度を調節する薬剤を加えて使用する。自家蛍光内視鏡(400-500nm)による物性変化の確認粘度を調節しながら、気瘻部位に滴下して紫外線を照射した。

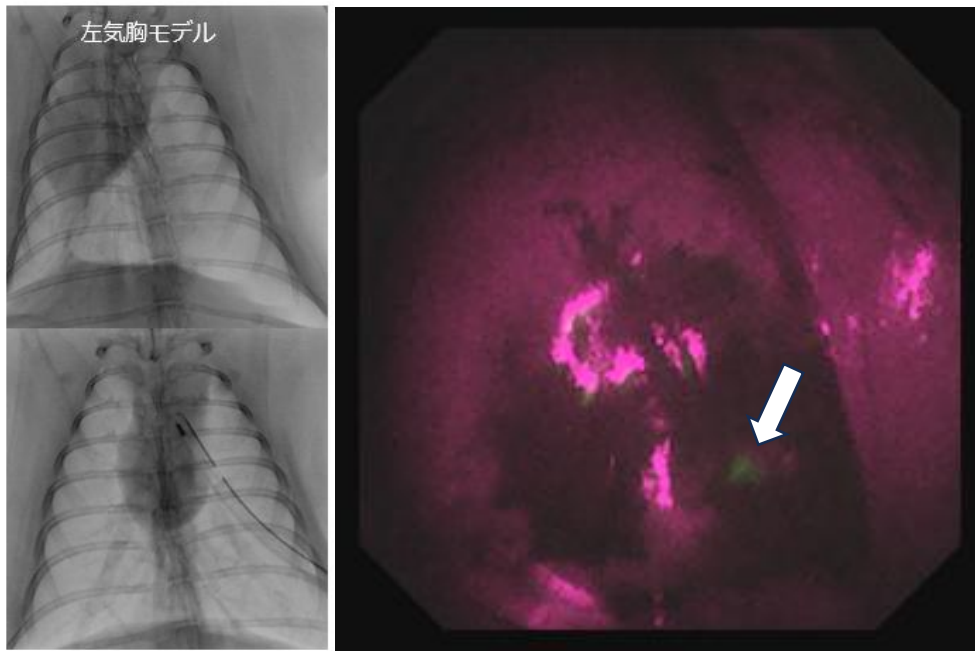
＜結果＞耐圧試験では最大気道内圧 20 cmH<sub>2</sub>O までの起圧が可能であった。

＜結論＞硬化剤の生体適合性が課題である。

#### ⑥吸入～同定までの POC 確認

＜方法＞全身麻酔導入後、ウサギ気胸モデルを作成し、挿管チューブよりリボフラビンを吸入させ、気瘻部位が確認できるかどうかを確認した。

＜結果＞従来の水封テストしてリークを認める部位に一致して、蛍光色素が確認できた。ただし、長期の虚脱などが原因で、無気肺を生じている部分(ドレナージにてリークが確認できない場合)は、末梢肺組織まで蛍光色素の到達が不十分となり、蛍光色素が確認できない可能性がある。



#### 4. まとめ

本研究助成事業において、現在の気胸治療の問題点を解決する低侵襲な気腫部位同定方法、および気腫閉鎖デバイスの開発を行った。胸腔ドレナージの初期治療の段階で、ドレナージチューブに搭載した 1.0mm 極細径軟性カメラで責任病変を検出し、同時に硬化物質を患部に滴下して迅速治療するものであるが、まずは 5mm 細径斜視硬性鏡によるシステム構築を目指している。全身麻酔、人工呼吸器治療下における気道内吸入、気腫部位同定、瘻孔閉鎖までの治療コンセプトにおける POC は得られており、今後自発呼吸下における POC の確認を行う。実験に使用できる 5mm 細径斜視硬性鏡の試作が順次進んでおり、引き続き動物実験を継続する予定である。

#### 5. 倫理面への配慮

実験動物を要する場合においては、「動物の愛護及び管理に関する法律」やそれに関連する施設内の規定や指針に則り、人道的に動物を扱うように配慮する。また臨床試験の際は、院内の倫理委員会に申請を行った上で安全性に配慮し行う。

#### 6. 研究業績

##### 1. 記載事項なし

助成期間終了後の開発構想

2024 年度の研究助成期間に、胸腔ドレナージチューブから責任病変を可視化し、直接ピンポイントに気瘻部位を閉鎖する医療機器を開発に必要な、試薬吸入から気瘻同定・気瘻部位閉鎖までをパッケージ開発するための POC を動物実験にて確認できた。

本助成期間により得られた結果は、2025 年度の国内学会で発表予定、治療コンセプトに関しても特許申請を考慮している。また、本研究は、2024 年度から国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 橋渡し研究戦略的推進プログラム シーズ A の研究助成も受けており、2025 年も継続予定である。

2024 年度の本助成期間中の課題として、1.0mm 径の極細径カメラを含むドレナージシステムでは、励起光の反射による同定感度低下の問題や、軟性鏡では視野の操作性の課題など開発ハードルが高いと判断したため、まずはシステム全体を見直し、5mm 細径斜視硬性鏡カメラシステムの開発を優先した。

そのため、カメラ開発の要求事項として、

1. リボフラビン蛍光モード、可視光観察モード、ICG 蛍光観察モード、3つの切り替えが可能
2. 胸腔ドレナージチューブ (20Fr=6.68 mm) に挿入できる細径斜視硬性鏡であること
3. 胸腔挿入部は滅菌対応であること

をあげ、細径斜視硬性鏡カメラシステムの開発を進めている。

本カメラシステム完成後、引き続き実験を進めていく予定である。

今後の確認事項として

1. 自発呼吸下での POC 確認

まずは、自発呼吸下での POC 確認が優先される。現在、全身麻酔、挿管でのネブライザー吸入で POC を確認済であるが、臨床使用時と同様、自発呼吸、局所麻酔下での同定実験も必要となる（投与量、濃度の確認）。また、蛍光部位を内視鏡で増強し、検知可能とするシステムを搭載する。

2. 硬化剤開発の推進

気瘻閉鎖剤に関しては、紫外線硬化剤として、MeTro prepolymer, Wyss Institute Metro (Engineering a highly elastic human protein-based sealant for surgical applications. Sci Transl Med. 2017 Oct 4;9(410):eaai7466.) が報告されているが、本製品と、我々の開発品において、気瘻閉鎖剤の粘性、膨張肺への追従性、硬化スピード、生体適合性の比較検討を行う。

3. ヒトにおける臨床試験

試薬使用、気瘻閉鎖デバイスの安全性を考慮し、まずは全身麻酔下の肺癌手術患者、気胸手術患者における気瘻部位同定、および気瘻部位閉鎖に使用し、瘻孔部位同定、閉鎖成功の条件を確認する。その後、最終的に、意識下、局所麻酔下の気胸患者において気瘻閉鎖を実施する (First in Human)。