

抗がん剤調製トレーニングにおける蛍光液と発光液の輝度及び視認性の検討

石渡俊二,^{*,a} 多賀 淳,^b 佐野裕之,^c 小林正隆,^c 野見山 淳,^c
原田士郎,^c 喜多綾子,^a 高田充隆,^d 杉浦麗子^a

Evaluation of Brilliance and Visibility of Fluorescence and Chemiluminescence Solution for Training of Preparing Injections

Shunji ISHIWATA,^{*,a} Atsushi TAGA,^b Hiroyuki SANO,^c
Masataka KOBAYASHI,^c Jun NOMIYAMA,^c Shiro HARADA,^c
Ayako KITA,^a Mitsutaka TAKADA,^d and Reiko SUGIURA^a

^aLaboratory of Molecular Pharmacogenomics, ^bLaboratory of Pharmaceutical Analytical Chemistry,
^dDivision of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Kinki University, 3-4-1 Kowake,
Higashi-Osaka, Osaka 577-8502, Japan, and ^cLumica Corporation, 65 Itogaura,
Koga, Fukuoka 811-3136, Japan

(Received March 1, 2011; Accepted June 18, 2011; Published online June 22, 2011)

Personnel who prepare and administer chemotherapeutic agents have been reported to develop untoward effects. The use of appropriate techniques for preparing these agents is encouraged, and educational training systems that involve the use of a fluorescent or chemiluminescence reagent as placebos have been established to minimize potential exposure to these agents. However, the optimum conditions for the use and visibility of these placebos remain obscure. In this study, our results indicated that the fluorescence intensity of fluorescent reagent decreased when it was used at a concentration greater than 0.01%. Because drops created due to splashes and leaks are extremely small and easily evaporate, it is possible that the fluorescence resulting from such drops readily disappears despite using an anti-evaporation reagent. We also developed a method to evaluate the visibility of the small drop; using this method, we determined the distance at which the drop present on the pin could be seen by the observer. The distance at which the drop was clearly recognized as a pinpoint by using the fluorescence method was almost comparable to that for the chemiluminescence method. In the chemiluminescence method, the drop on the pin was faintly visible as a slightly bright area because of low background when observed at a certain distance that was much greater than that at which the drop was clearly visible; however, such an area was not observed in the fluorescence method. The results of our study will help in the selection of a training method depending on the situation.

Key words—chemiluminescence; fluorescein; training; chemotherapeutic agent; occupational exposure

緒 言

がん患者においては、がんを治療するメリットが有害反応によるデメリットより大きい。一方、職業として抗がん剤を取り扱う医療従事者にとっては抗がん剤に曝露されることによるメリットはないのに対し、多くのがん患者の抗がん剤の調製や投与を行うため、有害反応によって健康被害を受ける危険性は高くな

る。特に注射剤は液状のため、混合の際に周囲に飛散しやすく、抗がん剤汚染の原因となりやすい。実際に抗がん剤の調製や投与に携わる医療従事者において、めまいや吐き気などの急性の症状や流産や発がんなどの症状が発現することが報告されている。¹⁻³⁾ また、抗がん剤を取り扱う医療従事者の尿中から抗がん剤が検出されることが報告されており、取り扱う医療従事者の体内に抗がん剤が吸収され得ることは間違いない。⁴⁾

このような抗がん剤による汚染に対しては、取扱者の手技の向上や閉鎖式混合器具の使用が有効な防止対策となり得る。⁵⁾ Harrison らは、抗がん剤の模擬液としてフルオレセイン水溶液を用い、調製中に

^a近畿大学薬学部分子医療・ゲノム創薬学研究室, ^b同薬品分析学研究室, ^c株式会社ルミカ, ^d近畿大学薬学部臨床薬学部門臨床薬剤情報学分野

*e-mail: ishiwata@phar.kindai.ac.jp

起こる液の飛散を蛍光として検出する方法を報告している。⁶⁾ また、中尾らはフルオレセイン水溶液を用いたトレーニングを薬剤師に行うことによって、取扱手技が向上することを報告している。⁷⁾ しかし、フルオレセイン水溶液を用いたトレーニングにおいて、飛散した液滴の検出感度についての検討は行われてこなかった。⁶⁻⁸⁾ また、注射剤の調製の際に飛散する液滴は小さいために蒸発しやすく、乾固するとフルオレセインは蛍光を発しなくなるため、⁶⁾ 使用するフルオレセイン水溶液の濃度は重要であるが、フルオレセインの至適濃度についても検討は行われていない。一方、化学発光を用いる検出法は蛍光を用いる方法より高い感度を得られることが多いため、⁹⁾ 化学発光を用いたトレーニングシステムは検出感度に優れると予想されるが、具体的なエビデンスは乏しいままである。そこで、蛍光あるいは化学発光を用いる抗がん剤調製トレーニングシステムの輝度と視認性について検討を行ったので報告する。

方 法

1. フルオレセイン溶液の蛍光特性の検討 これまでの報告で使用されたフルオレセイン溶液の濃度を参考に、⁶⁻⁸⁾ フルオレセインナトリウムを0.0016%、0.0063%、0.025%、0.1%の濃度になるようにエタノールに溶解し、波長352 nmの励起光による蛍光スペクトルを測定した。フルオレセイン溶液を1 cm×1 cmの四面透明な石英セルにいれ、HITACHI F-4500により蛍光を測定した。

2. 輝度計による発光輝度の測定 ブラックライト（東芝、352 nm, 20 W）を照射した蛍光液4 mlの輝度を輝度計（LUMINO METER LS-100, ミノルタ）にて計測した。また、化学発光液として、抗がん剤調製トレーニングシステム「ルフテック」（ルミカ）に含まれる蛍光液：酸化液：希釈液を体積比1：1：2にて混合した液（以下、発光液とする）を調製し、同様にして輝度を計測した。

3. 視認性の検討

3-1. 蛍光液と発光液の調製 蛍光液と発光液の溶媒の組成を共通にするため、フルオレセインナトリウムを少量のエタノールに溶解した後に、クエン酸トリエチルとアセチルクエン酸トリブチルにて希釈し、0.01%フルオレセイン水溶液を波長352

nmの光で励起した場合の蛍光輝度と同等の輝度を有する濃度（0.0122%）に調製した。

発光液は、輝度測定に用いたものと同じ組成のものを用いた。

3-2. 液滴の作製 直径0.8 mmの金属棒の先端部に蛍光液あるいは発光液を触れる程度に接触させ付着させた後に倒立させることにより、金属棒とほぼ同等の径で金属棒の先端に液滴を載せた。20倍の対物レンズを装着した光学顕微鏡（PMS, ニコン）にデジタルカメラを接続し、Microscale Slide（177-401C, ワトソン）上の目盛りを撮影した。画面上のピクセル数と実際のMicroscale Slideの目盛りを比較することにより、ピクセル数から実際の大きさを求める算出式を導出した。同じ拡大率で液滴を撮影し、ピクセル数から液滴の厚さを換算した。なお、測定は独立に10回行い、平均値と標準偏差を算出した。

3-3. 目視による視認性の検討 先端部に蛍光液あるいは発光液の液滴が付着した金属棒を、それぞれ1 cm間隔で5本ずつ支持体に固定した。暗室中で金属棒の先端を測定者に向けて（金属棒の線上に測定者の眼があるように）暗室に設置した（Fig. 1）。蛍光液の場合は、より実際の使用状態に近づくため、「そこに液滴があることが予見できている」場合のブラックライトの照射方法（予見モード）と「広範囲から液滴を探している」場合のブラックライトの照射方法（探索モード）の2モードを設定した。予見モードでは、金属棒の先端とブラックライト表面の距離を3 cmあるいは15 cmに、ブラックライト中心から金属棒上面への入射角が30度になるように固定した。観察者が遠くから液滴に徐々に近づき、金属棒上の5個の蛍光液滴を「輪郭として

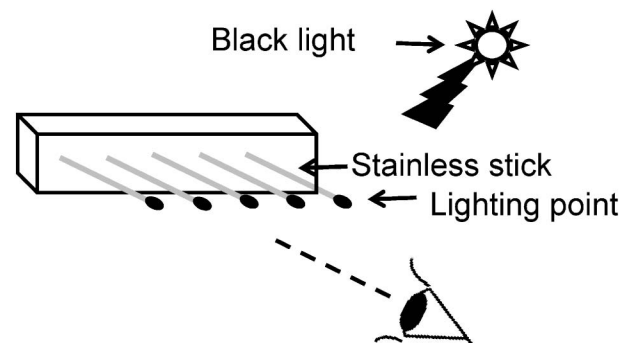


Fig. 1. Detection Method of Fluorescence Drop by Observer

明瞭に確認できる」あるいは「不明瞭な輪郭ながら発光を認識できる」距離を測定した。探索モードでは、金属棒のみを固定し、測定者が胸の高さで体前面から約 10 cm 離れた位置にブラックライトを持ちながら液滴に徐々に近づき、金属棒上の 5 個の液滴を視認できる距離を測定した。一方、発光液の場合は、ブラックライトを用いずに、同様に液滴を視認できる距離を測定した。なお、同一の測定者 5 人が蛍光液と発光液のすべての測定を行った。

結 果

1. フルオレセイン溶液の蛍光特性 0.0016% から 0.1% の濃度のフルオレセイン溶液の蛍光スペクトルを測定した結果、蛍光スペクトルは濃度によって大きく変化した [Fig. 2(A)]. そこで、フルオレセインの濃度と極大蛍光波長における蛍光強度及び極大波長との関連性を検討したところ、フルオレセインの濃度が 0–0.0125% の範囲では、極大波長における蛍光ピークの強度は濃度依存的に増加したが、0.0125% 以上の濃度では逆に濃度依存的に減少した [Fig. 2(B)]. 一方、蛍光極大波長は、0–0.1% の範囲においてフルオレセイン濃度が高いほど長波長側にシフトした [Fig. 2(C)]. 蛍光ピーク強度の 2 相性の原因を検討するため、最も強い蛍光強度を示したフルオレセイン濃度である 0.0125% 溶液及び蛍光強度が比較的弱い 0.1% 溶液の上方よりブラックライトを照射した [Fig. 2(D)]. 0.0125% 溶液では溶液全体が蛍光を発しているのに対し、0.1% 溶液では上面のみが強く蛍光を発し、溶液下部からの蛍光は弱くなっていた。

以上の検討を基に、発光輝度の測定においては、蛍光強度が強い 0.01% フルオレセインナトリウム溶液を蛍光液として用いた。

2. 輝度計による発光輝度の計測 照射するブラックライトと 0.01% フルオレセイン溶液との距離を変えて、発光輝度を測定した (Table 1). フルオレセイン溶液の輝度は、ブラックライトとの距離が大きくなるにしたがって減少した。

同様に、発光液の輝度も測定した (Table 1). 発光液調製直後の輝度は 700.3 cd/m² であったが、5 分後までに急激に減少した。しかし、その後の減少は緩やかであり、発光液調製 15 分後の輝度は蛍光液に 15 cm の距離からブラックライトを照射した

Table 1. Brilliance of Fluorescence and Chemiluminescence Solutions

| Time (min) | Fluorescence solution* (cd/m ²) | | | | Chemiluminescence Solution (cd/m ²) |
|------------|---------------------------------------------|--------|--------|--------|-------------------------------------------------|
| | Distance between solution and black light | | | | |
| | 1 cm | 5 cm | 10 cm | 15 cm | |
| 0 | 262.6 | 134.0 | 96.9 | 68.6 | 700.3 |
| 5 | n.d.** | n.d.** | n.d.** | n.d.** | 103.5 |
| 10 | n.d.** | n.d.** | n.d.** | n.d.** | 79.0 |
| 15 | n.d.** | n.d.** | n.d.** | n.d.** | 65.8 |

* Fluorescence solution contained 0.01% of fluorescein. ** n.d.: not determined.

場合の輝度と同等であった。

3. 目視による視認性の検討 金属棒の先端部に付着させた蛍光液あるいは発光液の画像を撮影後に、ピクセル数から液滴の厚みを換算した結果、フルオレセイン溶液は 120 ± 23 μm、発光液は 125 ± 35 μm であり、その差は 10% 以内であったため、以下の検討に用いた [Fig. 3(A)].

暗室中で蛍光液が付着した金属棒にブラックライトを照射した結果を Fig. 3(B) に示した。金属棒の先端部にフルオレセインの蛍光が見えるが、周囲も明るく見えていた。同様に、暗室中で発光液が付着した金属棒を観察したところ、金属棒の先端部に発光が認められたが、その周囲は暗いままだった。

続いて、この金属棒に付着した発光体の視認性を目視によって検討した。測定者が予見モードで「発光体を輪郭として明瞭に確認できる」距離を測定したところ、ブラックライトと液滴の距離を 3 cm にしたときの測定者 5 名の平均値は 1.8 m、15 cm のときは 0.8 m であった [Table 2(A), (B)]. 発光液についても同様に検討したところ、発光開始直後の液滴—光源間の視認可能な距離は 1.6 m、発光開始 15 分後は 0.9 m であった (Table 3). 発光液の場合にのみ測定者が「輪郭として明瞭に確認できる」距離より遠くの距離において、発光体周辺をほのかな明るさとして確認できた。そこで、「不明瞭な輪郭ながら発光を認識できる」距離を測定したところ、発光開始直後は 3.4 m、発光開始 15 分後は 3.0 m であった (Table 4). なお、蛍光液を視認した場合には、このような現象は確認されなかった。

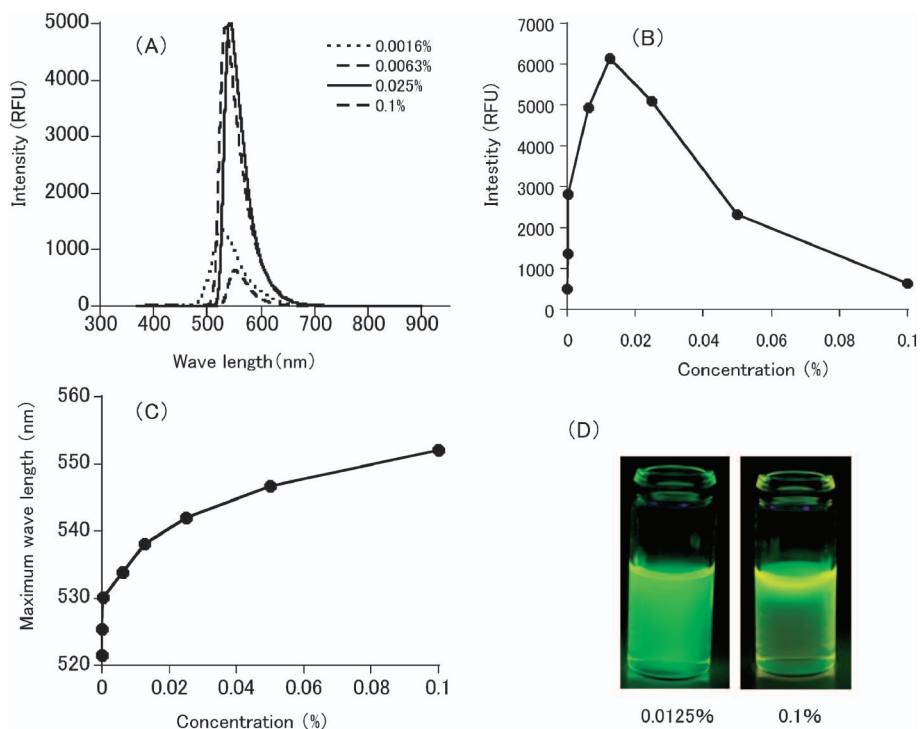


Fig. 2. Fluorescence of Fluorescein Solution

(A) Spectra of various concentrations of fluorescein solution. (B) Fluorescence intensity of various concentrations of fluorescein solution. (C) Maximum wave length of various concentrations of fluorescein solution. (D) Fluorescence solution radiated by black light

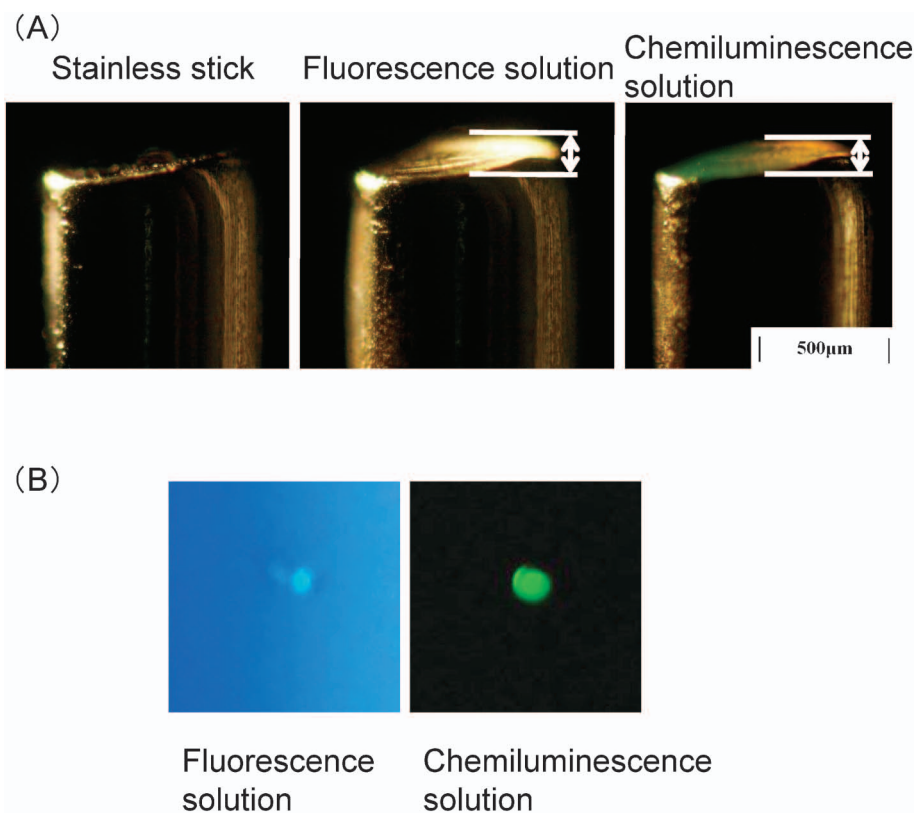


Fig. 3. Fluorescence and Chemiluminescence Drops Mounted on the Stainless Stick

(A) Thickness of fluorescence and chemiluminescence drops. (B) Visibility of fluorescence and chemiluminescence drops.

Table 2. Detection of Fluorescence Drop by Observers (Accurate Detection)

| (A) Prediction Mode | | (B) Prediction Mode | | (C) Search Mode | |
|---------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|
| Distance between drops and black light (cm) | Distance between drops and observer* (m) | Distance between drops and black light (cm) | Distance between drops and observer* (m) | Distance between drops and black light (cm) | Distance between drops and observer* (m) |
| 3 | 1.5 | 15 | 0.8 | 40 | 0.5 |
| 3 | 2.1 | 15 | 1.3 | 60 | 0.7 |
| 3 | 1.8 | 15 | 1.1 | 50 | 0.4 |
| 3 | 1.5 | 15 | 1.0 | 30 | 0.4 |
| 3 | 2.0 | 15 | 0.9 | 40 | 0.5 |
| Mean | 1.8 | Mean | 0.8 | Mean | 0.5 |

* Five persons observed the drops independently.

Table 3. Detection of Chemiluminescence Drop by Observers (Accurate Detection)

| Time after the lighting (min) | Distance between drops and observer* (m) | |
|-------------------------------|------------------------------------------|-----|
| | 0 | 15 |
| | 1.7 | 0.8 |
| | 1.7 | 1.0 |
| | 1.8 | 0.6 |
| | 1.6 | 1.4 |
| | 1.2 | 0.7 |
| Mean | 1.6 | 0.9 |

* Five persons observed the drops independently.

Table 4. Detection of Chemiluminescence Drop by Observers (Faint Detection)

| Time after the lighting (min) | Distance between drops and observer* (m) | |
|-------------------------------|------------------------------------------|-----|
| | 0 | 15 |
| | 3.2 | 2.8 |
| | 3.5 | 3.4 |
| | 3.8 | 3.6 |
| | 2.2 | 2.1 |
| | 4.2 | 2.8 |
| Mean | 3.4 | 3.0 |

* Five persons observed the drops independently.

考 察

フルオレセインの蛍光スペクトルを測定した結果、フルオレセインの蛍光スペクトルはフルオレセイン濃度によって大きく異なり、強度についてみると0.0125%をピークとした2相性を示した。これ

は、希薄溶液では蛍光強度は蛍光物質の濃度に比例するが、濃度が高くなると励起光の多くが溶液を通過中に蛍光物質に吸収されてしまう内部遮蔽効果や蛍光色素どうしの相互作用などが原因と考えられた。¹⁰⁾ 実際に低濃度あるいは高濃度のフルオレセイン溶液に励起光を照射したところ、低濃度では一般的な蛍光が観察されたが、高濃度では励起光を照射した面側のみが強い蛍光を発した。

注射薬の混合トレーニングに用いるフルオレセイン水溶液の濃度は、報告によって大きく異なっている。例えば、葉田らは0.2%フルオレセイン水溶液を輸液に注入し、最終的に0.006%の濃度にする方法を採用しているのに対し、⁸⁾ 中尾らは0.5%フルオレセイン水溶液を0.02%に希釈する方法を用いている。⁷⁾ 一方、Harrisonらは0.05%のフルオレセイン水溶液を用いた方法を報告している。⁶⁾ 注射薬の混合の際に問題となる液滴の飛散はnlレベルと少量であり、この程度の量の液滴は数分で揮発してしまう。さらに、注射薬の混合トレーニングを行う際にはより高い検出感度が望まれる。フルオレセインの蛍光強度が濃度によって2相性を示すという今回の結果は、石英セル内の溶液の蛍光を測定して得られたものであったが、フルオレセインの濃度は発する蛍光に影響を与える可能性があるため、注射薬の混合トレーニングに用いる際にはフルオレセイン濃度に注意することや溶媒の揮発を抑える工夫を行うことなどが重要である。

照射するブラックライトとフルオレセイン水溶液との間の距離が蛍光強度に与える影響を検討したところ、距離が離れるほど蛍光強度は減少した。一般的なブラックライトの使用距離と考えられる15cm

としたときの発光輝度は 68.6 cd/m^2 であり、十分な光度を有していた。一方、トレーニング用発光液は、発光開始直後に約 700 cd/m^2 と極めて強い発光を示した。この極めて強い発光は5分後までに低下したが、その後ほぼ安定して発光した。反応開始15分後の発光輝度は、実際に使用されるフルオレセイン水溶液の蛍光強度とほぼ等しかった。

Harrison らは、マイクロシリンジを用いて調製した 50 nl の 0.05%フルオレセイン水溶液の液滴が容易に検出可能なことを報告している。⁶⁾ しかし、注射薬の混合トレーニングシステムの検出限界についての報告はこれまで乏しかった。そこで、新たに検出限界を測定する系を確立し、フルオレセインを用いるシステムと発光を用いるシステムの検出限界を比較検討した。眼内では自発的に生じるノイズによって「発光体が見えた気がする」という誤認が起こり得るが、¹¹⁾ 確立した系では1本ではなく5本の金属棒を用いることによってこのような誤認の抑制を図った。なお、発光液には融点の高いクエン酸トリエチルなどが含まれており、これによって溶媒の揮発の抑制が期待される。同様の溶媒を使用することにより、蛍光液の揮発の抑制も期待されるため、フルオレセインも同じ溶媒に溶解することとし、蛍光強度を調整したものを使用した。

確立した方法を用いてフルオレセイン溶液と発光液を観察したところ、フルオレセイン溶液は励起光によって蛍光の周囲も明るくなっていた。一方、発光液は励起光がないため、発光部分の周囲は暗く、コントラストが明瞭であった。予見モードで液滴—ブラックライト間の距離を 15 cm に設定したときの蛍光液滴を視認できる距離は 0.8 m であり、十分な検出感度を有していた。一方、探索モードで蛍光液滴を視認できる距離は 0.5 m であり、実際に作業を行った際に液滴が飛散し得る範囲をほぼカバーしていた。発光液の液滴を検出可能な距離は、発光開始直後は 1.6 m と遠く、発光開始 15 分後でも 0.9 m であり、蛍光液の予見モードに匹敵した。ヒトの眼が検出できる最小の明度差は背景の明度に比例することが知られている。¹¹⁾ すなわち、 $\Delta I/I = C$ (C は定数、 I は背景の明度、 ΔI は加わる最小の増分明度) の関係が成り立ち、背景の明度が低いほど微小な明度差を検出できる。このため背景に光がない発光液は、視認による検出に有利であったと考え

られる。

発光液を視認した場合には、観察者が発光体を輪郭として明瞭に確認できる距離より離れた距離において、発光体周辺をほのかな明るさとして確認できた。発光開始直後及び 15 分後の距離はいずれも 3 m 以上であり、ほのかな明るさとしてなら遠く離れた距離からも視認可能なことがわかった。暗順応したヒトの眼は時間・空間的な解像度を犠牲にして、感度の上昇をはかろうとすることが知られている。¹¹⁾ これにより細部を見分ける能力は失われるが、暗いものでも見つけることができるようになる。今回の発光液を視認する検討においても、この現象が起こったものと考えられる。また、ヒトの眼は暗順応によって約 10^4 倍も感度が上昇するため、¹¹⁾ 観察者が十分に暗順応して測定した場合には、さらに発光液の液滴を視認する感度が上昇する可能性がある。

本検討により、発光液は優れた注射薬の調製トレーニング用液であり、特に視認性においては蛍光液と同等以上の性質をもつことが明らかになった。蛍光液と発光液にはそれぞれ特徴があるため、注射薬の調製トレーニングを行う際には、実施する際の目的や状況に応じて適切な液を選択することが望ましい。

REFERENCES

- 1) Selevan S. G., Lindbohm M. L., Hornung R. W., Hemminki K., *N. Engl. J. Med.*, **313**, 1173–1178 (1985).
- 2) Skov T., Lynge E., Maarup B., Olsen J., Rorth M., Winthereik H., *Lancet*, **336**, 1446 (1990).
- 3) Krstev S., Perunicic B., Vidakovic A., *Med. Lav.*, **94**, 432–439 (2003).
- 4) Ensslin A. S., Stoll Y., Pethran A., Pfaller A., Rommelt H., Fruhmann G., *Occup. Environ. Med.*, **51**, 229–233 (1994).
- 5) Connor T. H., McDiarmid M. A., *CA Cancer J. Clin.*, **56**, 354–365 (2006).
- 6) Harrison B. R., Godefroid R. J., Kavanaugh E. A., *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **53**, 402–407 (1996).
- 7) Nakao M., Yoshida T., Hongou A., Kajitani F., *J. Jpn. Soc. Hosp. Pharm.*, **45**, 255–258 (2009).

-
- 8) Hada M., Tsutsumi K., Ikesue H., Yoshida M., Watanabe H., Mikami T., Tsuruta M., Nose I., Oishi R., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **34**, 983–987 (2008).
 - 9) Buxton R. C., Edwards B., Juo R. R., Voyta J. C., Tisdale M., Bethell R. C., *Anal. Biochem.*, **280**, 291–300 (2000).
 - 10) Kinoshita K., Mihashi K., “Keikousokutei,” Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1983.
 - 11) Gregory R. L., “Eye and Brain: The Psychology of Seeing,” 5th ed., Oxford University Press, Oxford, 1998.