

# 光音響効果を使った 生体深部の無標識イメージング

マイク・メイ

**レーザー誘起超音波放射は、画像に変換され、器官、細胞、細胞内構造、生化学などの深部組織のメカニズムを標識または色素なしで見えるようにする。**

非イオン化レーザーは皮膚を透過して表面下の組織と細胞に達する。そこで吸収されたレーザーエネルギーは熱に変化し、それが超音波放射を開始する。この超音波は捕獲して画像に変換することができる。この技術、すなわち光音響イメージングは器官、細胞、細胞内構造、生化学などのメカニズムの正確な表示を約束する。しかし、研究者たちがこの技術を広く入手できるようになるには、商業用機器が必要であり、それはまだ途上にある。

研究者たちは、可能な限り色素も標識も使用せずに、自然な状態のままの生命を観察できるアプローチを望む。米ワシントン大学 (Washington University in St. Louis) の著名なジーン・K・ビーア (Gene K. Beare) 教授であり、3次元の光音響顕微鏡法 (<http://bit.ly/h2EUI5> を見よ) の発明者でもあるリーホン・ワン氏 (Lihong Wang) によれば、光音響効果を利用すれば、これに「豊かなコントラスト」が加わる。その鍵は、広範囲の生体物質がレーザーエネルギーを吸収することにある。「ほぼすべてがそれを吸収する」と彼は言う。それらの一覧には、酸化ヘモグロビン、デオキシヘモグロビン、メラニン、脂質、DNA、RNAなどが含まれる。それゆえ、ワン氏が指摘するように、「光音響法は色素なしで生体内の細胞核を撮像することができる」。

同じことが他の汎用撮像技術にあて

はまるとは限らない。例えば、多くの分子は蛍光を発しないので、それらを蛍光顕微鏡で観察するには標識化が不可欠である。ワン氏は、「次にわれわれは、その色素が生体内 (*in vivo*) で安全であるか否かを問う必要がある」と指摘する。光音響顕微鏡法を使えば、研究者たちは解剖学的構造とメカニズムを無標識で見ることができる。

## 顕微鏡法への移行

光音響顕微鏡は、当初、2次元アプローチとして産業界で利用された。ワン氏は、「彼らは、それを金属などの非生物学的材料の表面を撮像するのに使用した」と言う。「われわれは、深さ分解能を得る目的で音波の到達時間を追加した。これは2Dの3Dへの変換だ」と付け加えた。

現在、ワン氏の研究チームは生体組織内のより深部へと3次元光音響顕微鏡法を推し進めている。しかし、より高い深さ分解能を得ようとすると空間分解能が低下する。そして、その逆もまた真である。ワン氏は、「われわれは撮像深度を1mmから7cmに拡張した。その結果、光音響顕微鏡法は標準的な光学顕微鏡法の深度を拡張し、既存のすべての光学顕微鏡技術における光拡散限界を突破した」と語っている。これまでのところ、ワン氏は最高220nmの解像度を表面光分解光音響顕微鏡法で達成した。

この技術をより多くの研究者が利用できるようにするために、ワン氏はニューヨークのマイクロフォトアコースティクス社 (Microphotoacoustics) に対して彼の特許使用を許諾し、協同で商業用光音響顕微鏡を製作した。彼は、また、共焦点と2光子顕微鏡法に光音響法を加えたマルチモード顕微鏡もオリンパス社と協同で研究中だと言う。

ワン氏は、「われわれはツールを提供する。われわれは生物医学研究や臨床の場で活躍する人たちを歓迎する」と語っている。

## システムの設定

これまで、光音響効果を使った生物学研究を望む研究者は、彼ら自身のシステムを構築しなければならなかった。そのようなシステムの構築に必要な部品も次第に手に入りやすくなっている。例えば、独GWU社は光音響法に有用な可変同調光源を作製している。GWU社のグюнター・ヴァルムビア氏 (Günter Warmbier) は、「最も人気が高い製品は周波数逡倍Nd:YAGレーザーで励起されたOPO (光パラメトリック発振器) であり、これはまもなく正式にリリースされるだろう」と言う。彼は、「われわれは顧客の研究所用にいくつかの試作品を準備している」と付け加えた。

波長可変レーザーを使えば、ユーザーは掌中の材料が最もよく吸収する波長を見つけることができる。異なる組織と分子はそれぞれ固有のレーザーエネルギーを吸収する。

それにもかかわらず、自製の光音響

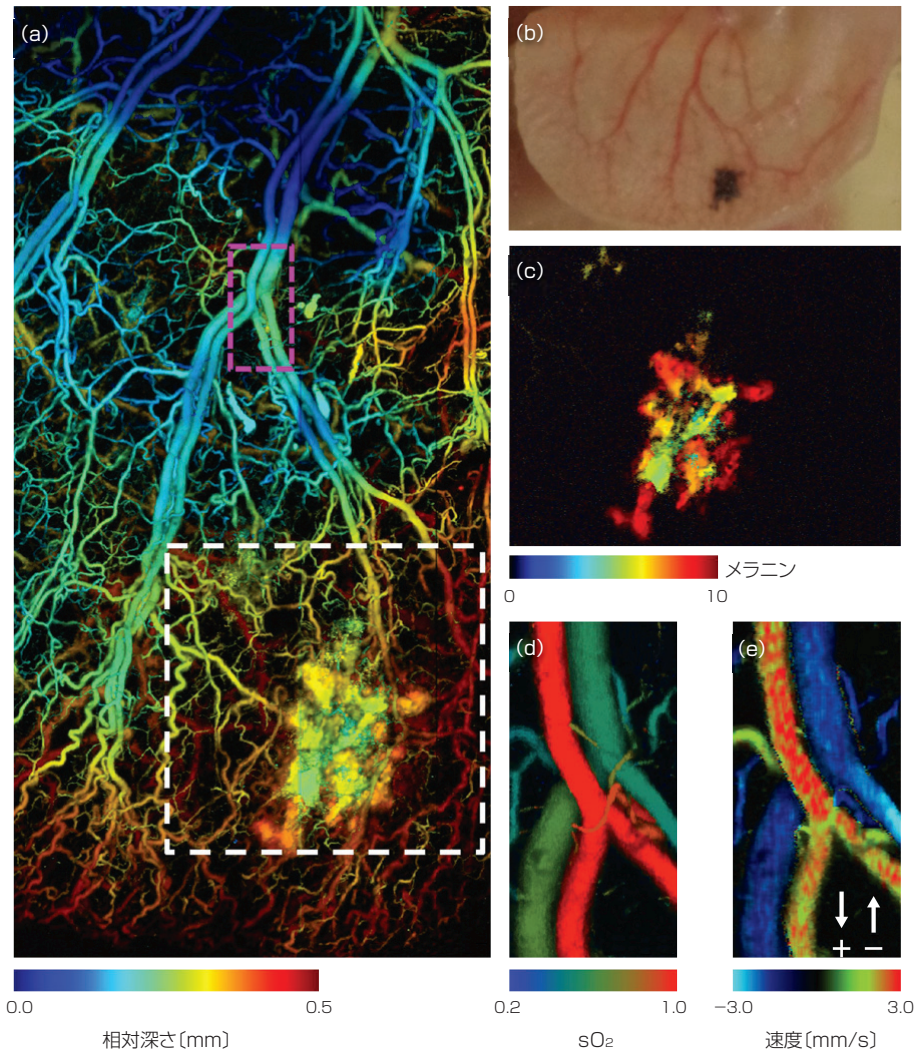


図1 光音響顕微鏡法は解剖学、化学、そして動的なイメージングを提供する。異種移植されたB16黒色腫瘍((a)図の白色破線ボックス内)を持つマウスの耳を584nm光で撮像した。その画像は、腫瘍領域に流入し、流出する主動脈-静脈対((a)図の赤紫色破線ボックス内)を明らかにした。この画像において、深度は青色(表面)から赤色(深み)まで色分けされている。比較のために伝統的な顕微鏡法で撮像された低解像度におけるマウスの耳の白色光写真(b)も示した。光音響技術はメラニン(c)も明瞭に捉えた。ここで、ヘモグロビンは使用波長をほとんど吸収しないので、血管は見えていない。動的イメージングの例として、584と594nmの二波長励起で明らかにされた主動脈-静脈対における酸素飽和の光音響画像(d)と主動脈静脈対の流速画像(e)を示した。矢印は正と負の流れの方向を示し、脈動さえも見える。(資料提供:L・ワン氏)

システムを立ち上げ、稼働させるには専門知識が多少必要だ。カナダのアルバータ大学(University of Alberta)電気・計算機工学部のロジャー・J・ゼンプ(Roger J. Zemp)助教授と彼のシステムを製作したメーカーによると、「その分野の経験が役立つとはいえ、かなりトリッキーだ」と言う。主要な問題はレーザーパラメータの設定、集光、音響

信号の受信、ハードウェアとソフトウェアの統合走査の開発などを中心に発生する。

専門知識を持つ人であれば、彼ら自身のシステムを低コストで製造できる。ゼンプ氏は、かつては15万ドルのレーザーシステムを使っていたが、現在は、マイクロチップレーザーが光分解光音響顕微鏡に使用することができ、1万

ドル未満で手に入るようになった、と言う。彼は、「ファイバレーザはさらに大形化しても、さほど高価にはならない」と付け加えた。結局、彼は、靴箱サイズの機器を期待している。

## アプリケーションの追加

カナダのビジュアルソニックス社(VisualSonics)は10年以上前に高周波超音波市場に参入した。最近になって、この会社は、同社のVevoシステムのアプリケーションを拡大したいと考えられるようになった。同社の製品管理ディレクターを務めるキャサリン・テオドロポロース氏(Catherine Theodoropoulos)は、「われわれは、研究者たちが正規のテーマとしている生物学的疑問に答えるアプリケーションを提供したい。そして、生体内で実時間において極めて高い解像度と感度でそれを実現したい」と言う。そうした願望がビジュアルソニックス社を光音響法に注目させた。

2011年の初めに、ビジュアルソニックス社はVevo LAZR光音響イメージングシステムを商用化した。Vevo 2100システムに波長可変レーザ(670~980nm)を加えることによって、光音響能力をもたせた。すでに、Vevo 2100システムを所有している研究者はレーザユニットを統合することで、光音響バージョンへアップグレードすることができる。テオドロポロース氏は、「その光音響的側面が生体内で実時間においてナノ粒子や医薬品を観察し、それらが何をなしているかを理解する手段を研究者たちに提供するであろう」と語っている。

今のところ、ビジュアルソニックス社はVevo LAZRプラットフォームのターゲットを主として癌生物学においている。一例として、この機器は、酸素飽和の定量化を通して腫瘍に関連する血管

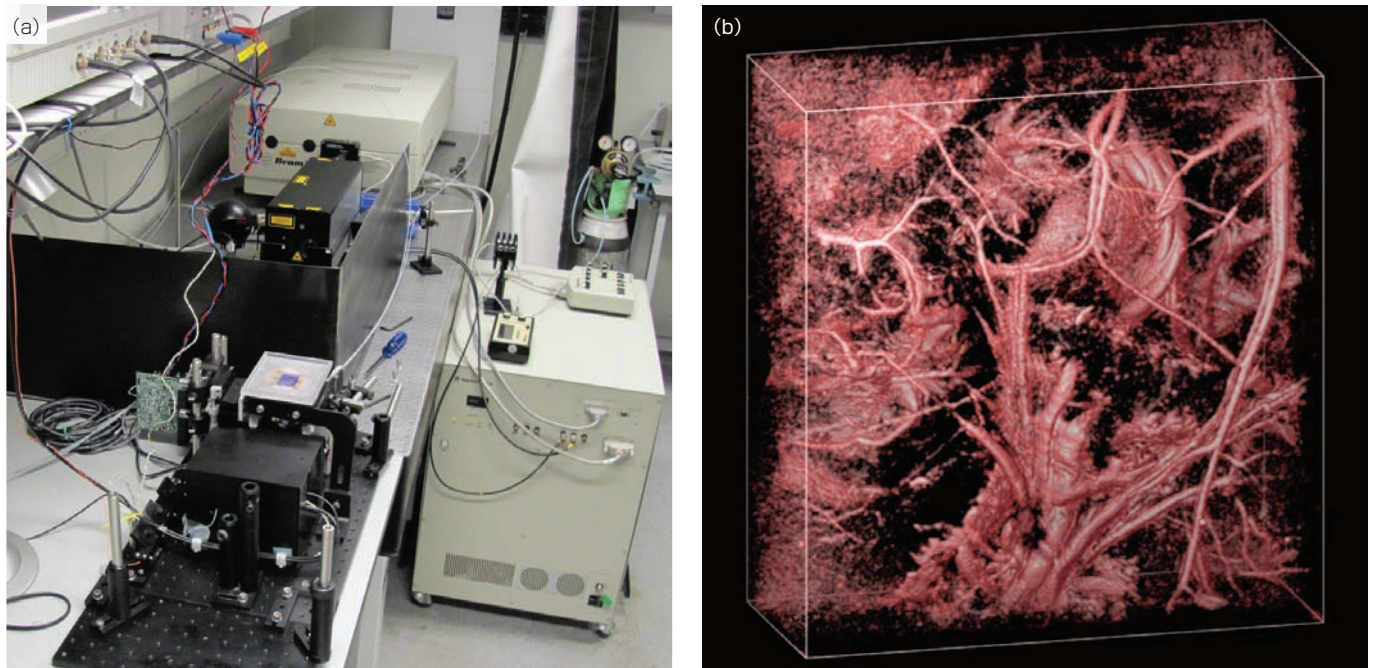


図2 GWU社で開発されたNd:YAGポンプレーザーと光パラメトリック発振器(OPO)を含む光音響イメージングセットアップ(a)は、マウス腹部の血管(b)を可視化した。(資料提供:ユニバーシティ・カレッジ ロンドンのJ・ラウファー氏)

形成と血流の研究に利用できる。Vevo 2100システムと同様に、Vevo LAZRは多くの器官のイメージングを可能にするが、いくつかの制約がある。この光音響システムを使って、研究者が高解像度で撮像することができる範囲は約1センチメートルまでである。テオドロポロス氏は、「われわれはそれを改善する」と言う。

癌の研究を越えて、Vevo LAZR技術は血行動態学または血液の運動ならびに機能状態の研究にも利用できるであろう。テオドロポロス氏は、「脳、胎児、筋肉などに関する予備データをすでに得ている」と付け加えた。

### 動力学過程のイメージング

光音響アプローチは2D画像ばかりでなく3D画像も実時間で提供するもので、それらは生物学における最も深遠な神秘の解明に適用されるであろう。まさに、それが、ドイツの実験生物学画像システム研究所(Laboratory for Ex-

perimental Biological Imaging Systems)の所長とミュンヘン工科大学(Technical University of Munich)生物学・医学撮像システム研究所およびヘルムホルツセンター・ミュンヘン(Helmholtz Center Munich)の副所長を兼務するダニエル・ラザンスキー氏(Daniel Razansky)の究極の目的である。彼は、深部脳活動または分子医薬品のリアルタイム撮像などの動力学過程を撮像する光音響システムに取り組んでいる。

彼は、「われわれの研究所は、機器開発、信号処理、アルゴリズム研究から、小動物研究の検証や将来の臨床試験にいたるまで、このシステムを幅広く設計し、構築している」と言う。

ラザンスキー氏は、さらに多くの分子と機能のイメージング用途へと拡大するために、色素、蛋白質、ナノ粒子などの分子コントラスト材料を追加してマルチスペクトル光音響トモグラフィ(MSOT)を使用している。彼は、「おそらく、われわれは、癌、アテロマ性

動脈硬化症、アルツハイマー病などの疾患と関連した早期の分子指標を撮像し、あるいは生体組織における治療と薬剤の効果を監視することができるようになるであろう」と語っている。

ラザンスキー氏のチームは光音響効果の用途を拡大する一方で、商業用製品の開発も支援している。2010年に、そのような製品の1つとして、MSOT PCS-2小動物スキャナがミュンヘンに基地を置くイテラ・メディカル社(iThera Medical)から市場に出された。

基礎研究が続けられ、多数の製品が手に入るようになり、われわれがレーザー誘起音響効果のおかげで見ているものに驚嘆させられる日もさほど遠くないであろう。

### 著者紹介

マイク・メイ(Mike May)は機器設計と用途についてBioOptics Worldに投稿し、神経生物学と行動学におけるPhDをコーネル大学から授与された。e-mail: mike@techtyper.com. 本稿の初出は、BioOptics Worldの2011年3月/4月号。