

蛍光分子イメージング装置

長 和 彦

Fluorescent Molecular Imaging Device

Kazuhiko OSA

The optical molecular imaging method has some uniqueness than other modality, but, optical method has not been applied to the medical treatment yet. We developed the fluorescent molecular imaging device for small animals (mouse) for research. The establishment of the technology and research at the research stage for the medical treatment application is a prior settlement. A further effort is necessary for optical technological subjects by the application to the medical treatment. I want to expect a lot of participation.

Key words: molecular imaging, fluorescence, luminescence, animal, optics

われわれオリンパスと分子イメージングの出逢いは、2002年、初回の米国の分子イメージング学会 the Society for Molecular Imaging (<http://www.molecularimaging.org/>)への参加にさかのぼる。当時、分子イメージングといえば、一分子イメージングしか頭になかったわれわれにとって、トランスレーショナルリサーチの中核をなす分子イメージングという考え方は新鮮であり、またとっつきの悪いものであった。われわれの小動物蛍光分子イメージングへの取り組みと、その展望を述べる。

ここでの分子イメージングとは、「人体内での分子の局在をイメージングすること」つまり医療であり、そこに向かって実験動物を用いたイメージング、細胞を用いたイメージングが研究されている。内視鏡という光学医療機器と、顕微鏡という光学機器をもつ中で、われわれは光学による実験動物の分子イメージングに力を注いできた。

小動物での実験の必要性は、医療、ヒトを見据える場合、説明するまでもない。人体実験できればよいのかもしれないが、そんなリスクが背負えるわけもなく、研究、実験は、分子単体→生細胞→組織→小生物(虫、魚など)→小動物(マウス、ラット)→動物(ブタ、サル)→ヒト、と徐々に単純な系から複雑な系に実験系を移すことが大切である。デリバリー(薬が必要な量、患部に届くか否か)、代謝(汗、尿などで薬が排出される)、副作用(患部以外

で薬が毒になっていないかどうか)、転移(がんが転移するには血流、他の組織が必要)などは生きている動物を使い実験する以外に代替方法はない。医療への転用には動物実験は不可避である。つまり、小動物に応用できないならば、光による分子イメージングが医療に適用される可能性はない。いままでは、大量の動物を使って、各タイミングで解剖して見てきたが、均一性の高い実験動物でも処置のばらつきもあり、完全に均一でも同一でもないことが実験の信頼性を落としていた。つまり、生きたまま同じ個体を観察できることは実験の効率、信頼性から必要性が高い。分子イメージングは、どの分子を検出することで、何がわかるかが大切であるから、その試薬、標識、アッセイ研究開発を光に集中させるためにも、小動物用光分子イメージング装置が重要である。

1. 蛍光と発光

現在、小動物では発光を用いた分子イメージングが主流である。蛍光と発光の特徴を比べると、一長一短ある。蛍光は、明るく、細胞系の実験では当たり前に使われているため、試薬が多種存在する。反面、励起光、蛍光の両方が、吸収、散乱の影響を受けるため、深部が観察できない。励起光を一定にしにくく、褪色があるので定量性が低い。

発光は、吸収、散乱の影響を発光しか受けない。発光タ

ンパクを触媒として作用するので、ルシフェリンを定量投与すれば、定量性が高い。反面、暗い、細胞を（マイクロでは暗すぎて）観察しにくい。

筆者らは、蛍光を選択した。理由は、蛍光顕微鏡の経験が生かせること、研究者が培養細胞上で確認した現象を小動物に適応しやすいこと。明るく、測定時間が短く、動物への負荷（麻酔時間）が低い。（生かしたまま長期観察するので、データの積みあがった実験体はとても貴重になる。）内視鏡的観察（体内に光学系を挿入し、近くで観察する＝低侵襲観察）によって、問題点を解決できると考えた。

2. 装置概要

装置は2機種あり、非侵襲でマウス全体像から、組織までを観察可能なマクロ蛍光顕微鏡と、硬性鏡と顕微鏡対物レンズ設計製造技術を融合した小径（1.3 mm）のスティック対物レンズとよばれる対物レンズを用いる小動物専用のLSM (laser scanning microscope) を開発した。技術的にはスティック対物レンズに興味があると思うが、ここでは、システム全体の話、特に、小動物専用LSMに限る。

基本構成は、図1にみられるように、通常のLSMと変わらない。ただ、観察対象が、通常の顕微鏡とは異なり規格化されていないため、標本を動かすのではなく、顕微鏡を動かし傾けられるように、励起、蛍光ともにファイバーで構成している。

生体で光を用いた分子イメージングを行う場合の問題点は、①生体は、吸収体である。②生体は、散乱体である。③生体は複合体である。④多くの標識の毒性が高いもしくは、未確認である。⑤生きていることの問題点、の5つにまとめられる。

生体がある程度の透過率をもつのは、ヘモグロビンと水の吸収帯を避けた650～900 nmである。そのため、今回、細胞研究との共通性も加味し、488 nm から NIR (near infra-red) までのレーザーを扱えるようにした。幅広い波長のレーザーを使うため、ファイバーも共焦点効果をもたない（シングルモードではない）太さのものとしている。特に、散乱の影響を照明、蛍光両方で受ける蛍光側のファイバーは、大きな径を採用している。径の選定は実験により行った。光学理論上好ましくないが、上記①～③に対応し、像を得るためには必要であった。生体の透過率も高く、散乱の影響を受けにくい NIR は光による分子イメージングのキーワードといえる。

④の標識については、現在ヒトに使える蛍光色素はフルオレセインと、インドシアニングリーン (ICG) の2つ

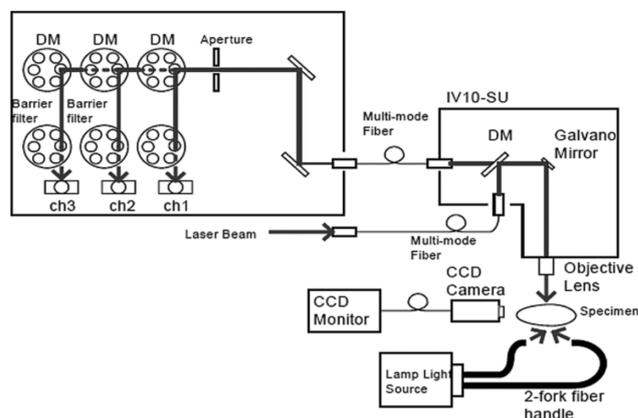


図1 小動物用LSMの構成図。

で、眼底カメラで血管造影に用いられている。装置よりもヒトに応用できる蛍光物質、標識方法が、光による分子イメージングの成否を決めるといっても過言ではない。現在、世界各所で研究開発が行われている。

⑤については、脈動、拍動などの影響が大きい。マウス用人工肺はすでに存在し、現在はそれを使っているが、脈動の検出、補正光学系は今後の課題である。現状、肝臓、腎臓、脾臓など動かない臓器の観察に成功している。また、血管の観察も可能であり、実用の域に達した。

応用例としては、まだ結果が出ていない状態であるが、がん転移、がん化、新生血管、血管疾患などの機能および、その阻害薬（治療薬）の薬効薬理の研究などに応用できそうだ。

3. 将来展望

光は、他の分子イメージングモダリティにはない利点をいくつかもっている。たとえば、複数の波長をもつ異なる標識による複数の分子の関連の検出。たとえば抗体反応で機能を発揮する機能試薬の可能性の高さ、解像度の高さ、検出能の高さ、細胞研究で使われていること、機器が他のモダリティに比べて安価であること、などである。特に、複数の分子を同時検出できることは、研究段階では重要で、分子相互間作用をみたい場合などに有効なのはいうまでもなく、標的とする分子を決定するうえで、カウンター、コントロールを実験系としてもつことは実験の信頼性の向上に大きく役立つ。

分子イメージングといっても、検出するものによって段階がある。筆者なりに分類すると、以下のようになる。

第1段階：PET (positron emission tomography) でのグルコース（ブドウ糖）局在観察、酸素局在観察のように、がん細胞にブドウ糖が集積しやすい、酸素が集積しやすいなどの性質を使った間接的な分子イメージング

第2段階：特定の酵素などで標識機能を発揮する機能試薬によるがん細胞に多く発現する酵素などを検出する分子イメージング（腫瘍マーカー）

第3段階：特定の細胞内信号伝達を検出する機能試薬によるがん細胞特定の信号伝達（シグナルパスウェイ）を直接検出する分子イメージング

ブドウ糖は脳にも集積するし、他の部位にも存在する。

ただ、現在医療の現場で使える唯一の方法で、非侵襲で探し出せるなどという状態に光は遠く及ばない。第1段階に光が入り込む余地はない。段階が進むにつれ、診断の精密度、正確さが上がっていくのは自明である。第2段階の腫瘍マーカーは、診断の場でも使われている方法である。ただし、まだ特異性が低く、デジタルに診断できるようなものではない。第3段階は、さらにはがんの特異性を高めた診断が可能になるとともに、薬との連携も考えられる。標的分子（がん細胞特有の信号伝達）の機能を阻害する分子標的薬（イレッサ、ハーセプチンなど）を開発し、副作用の危険性の判定も含めた診断とセットにすることで、より副作用の少ない治療が可能となる。第2、第3段階に先鞭をつけているのは、光学的な手法のみとってよい状況である。筆者らは、この第2段階、第3段階の研究、実験に役立つ実験機器を供給することを第1のターゲットとして分子イメージング機器を開発している。

4. 今後の課題

緒についたばかりといえる蛍光による小動物分子イメージングには、技術課題が山積みである。マルチフォトンとその効用、定量性の向上、三次元構築、脈動対策、深部観察などが挙げられ、さまざまなアプローチが可能である。分子を標識する技術開発、蛍光試薬研究開発も必要がある。

医療までの道のりは、薬事法、FDA 認可などのために長く、早くて5年後に実用化が始まればよいほうだろう。比較的安価である光を使った装置は、研究の機会を増や

し、適用範囲を広げ、医療に応用されれば、人類への貢献は大である。まずは、動物実験にターゲットを置いて、皆さんの技術を応用されることを検討されてはいかがだろうか。

最後に、光による分子イメージング機器、関連のHPをご紹介します。

OLYMPUS のニュースリリース <http://www.olympus.co.jp/jp/news/2004b/nr041124keikoj.cfm>

Xenogen (住商バイオサイエンス) IVIS システム：発光マウス観測システム <http://www.scbio.co.jp/products/xenogen/index.html>

GE Healthcare (Amersham) eXplore Optix：実験小動物用蛍光イメージングシステム <http://www.jp.amershambiosciences.com/technologies/pcimaging/index.asp>

MaunaKea (住商バイオサイエンス) CellVisio：ファイバー CLSM システム <http://www.maunakeatech.com/>

Promega：ルシフェラーゼ発光技術 <http://www.promega.co.jp/cat/1002001.html>

東洋紡：多色ルシフェラーゼベクター <http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/olul/upld79/feature/tasyoku79fe04.pdf>

Dr. Roger Y. Tsien：機能試薬 <http://www.nature.com/focus/cellbioimaging/content/full/nrm1196.html>

VisEn：機能試薬、蛍光トモグラフィ http://www.visenmedical.com/animal_products1.html

AntiCancer：蛍光疾病マウス <http://www.anticancer.com/>

CMIR (Center for Molecular Imaging Research)：分子イメージング拠点のひとつ <http://www.mgh-cmir.org/>

参考文献は AntiCancer, CMIR, Xenogen の Publications を参照いただきたい。

(2005年9月12日受理)