

光を用いた生体機能モニタリング技術： 光バイオプシー

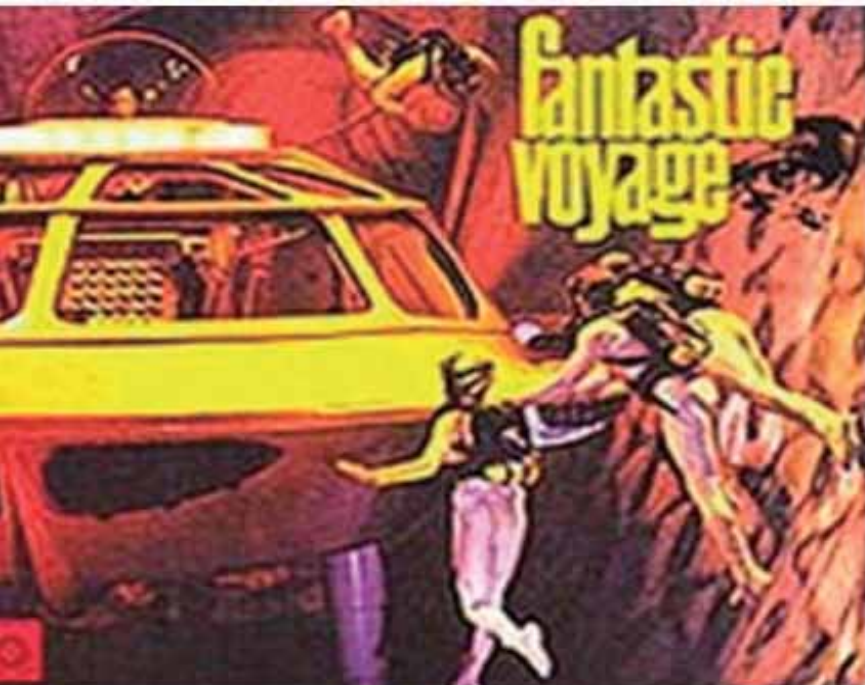
関西学院大学 理工学部 生命科学科

准教授 佐藤英俊

独立行政法人理化学研究所 基幹研究所

加藤分子物性研究室 客員主管研究員

研究の背景: ミクロの決死圏 (映画)



- 血管を通して生体深部(脳)へ低侵襲的アクセス
- 患部での直接診断と治療

実際に考えてみる: カプセルを使うと...

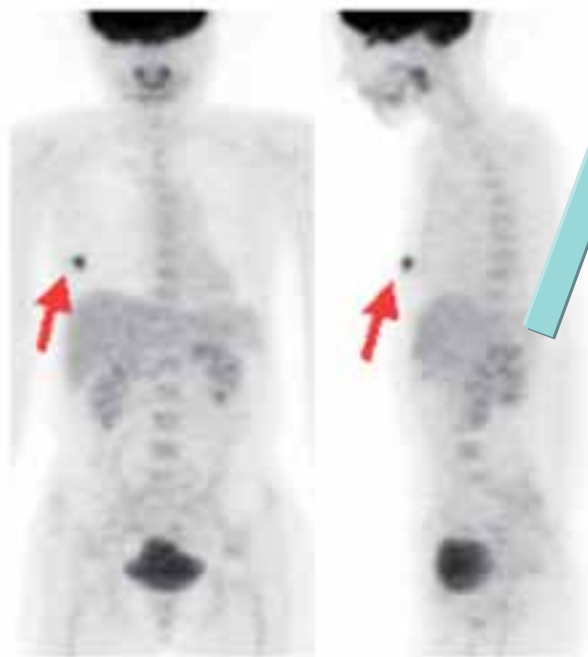
- 毛細血管で詰まって回収不可能
- 小型蓄電池では治療に必要なエネルギーが出せない



光ファイバーを使う

- その場診断が可能
- 血管カテーテルによる直接治療
 - 光線力学的治療
 - 臓器限定化学療法

確定診断補助技術としての 光バイオプシー技術



MIP

済生会中津病院ウェブページより

確定診断

大きな癌：画像で判別
小さな癌：生検

生検補助

- 侵襲性を低く
- 信頼性を高く

治療
切除手術
抗癌剤

術中診断

- リアルタイム画像化
- その場診断

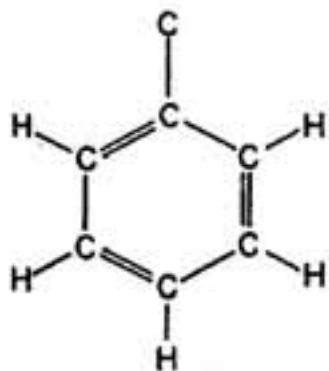
抗癌剤モニター

- リアルタイム・小侵襲計測
- 定量計測

光によるIn vivo計測 「光バイオプシー」 開発戦略

- 今後数年以内に実用化できる
 - 現在の医療技術を補佐する技術
 - 今後一層必要とされる用途
 - 無染色・無標識
-
- 光でなければできないこと
 - 光でなければ見えないもの

ラマン分光分析



特徴

試料に光を当てる→

異なる波長(エネルギー)の光に変わる

1. 振動分光

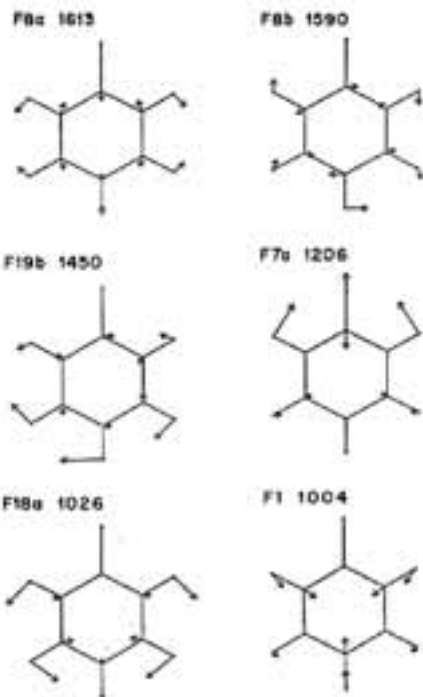
- 分子の指紋→分子を見分ける

2. 水の影響が少ない

- 生体は水が多い→生体測定

3. 可視・近赤外光を利用

- 光ファイバーが使える→その場測定



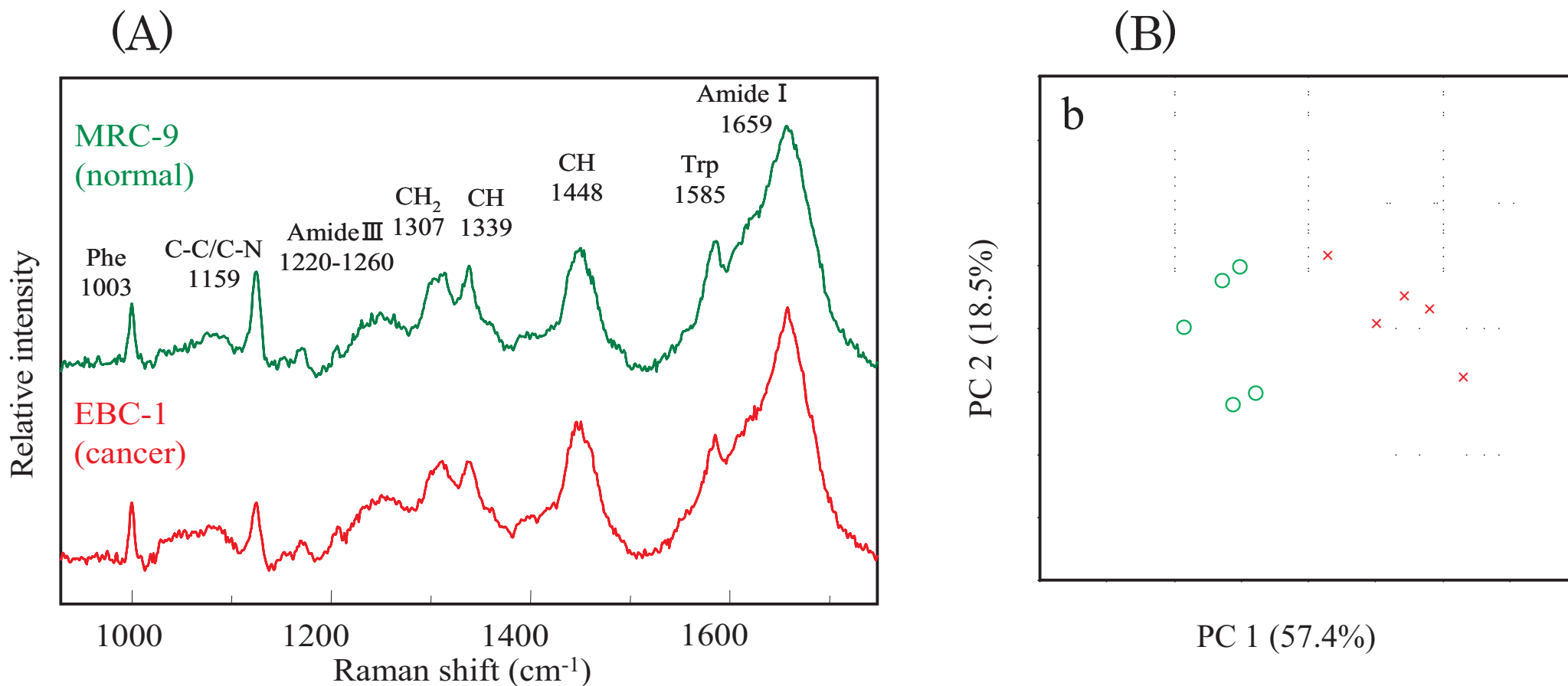
蛍光／励起光 = $\sim 1/10$

ラマン光／励起光 = $\sim 1/10^7$

短所: 暗い(光が少ない)

- 強いレーザー光が必要
→イメージ測定が困難

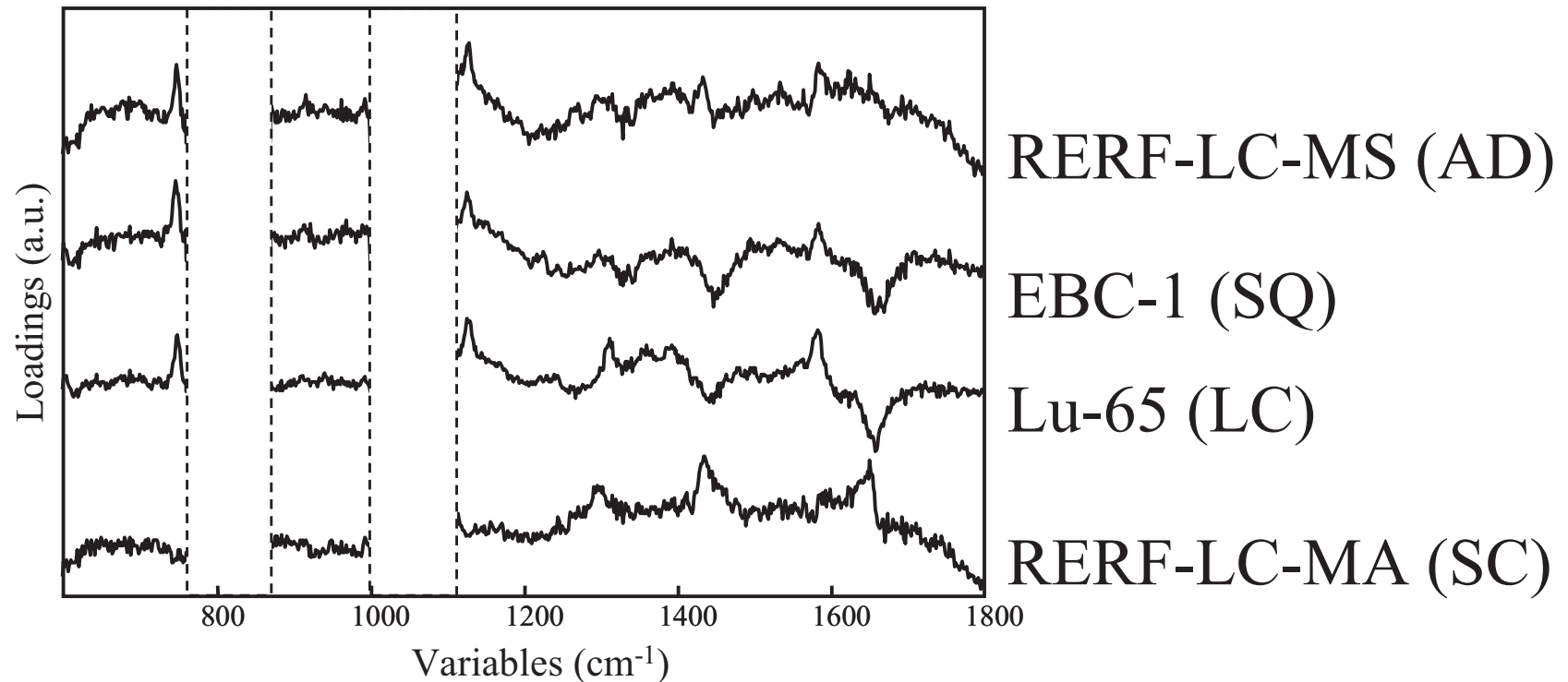
培養細胞の判別分析(正常・がん)



癌および正常組織の培養細胞のラマンスペクトルと、ケモメトリックスを用いたクラス分け。MRC-9は肺正常細胞、EBC-1は肺癌細胞。

培養細胞の判別分析(正常・がん)

Loading Plot: 変化の成分を表示



主成分1のローディング:

正常細胞(MRC-5)とそれぞれのがん細胞を判別する上で重要な主成分

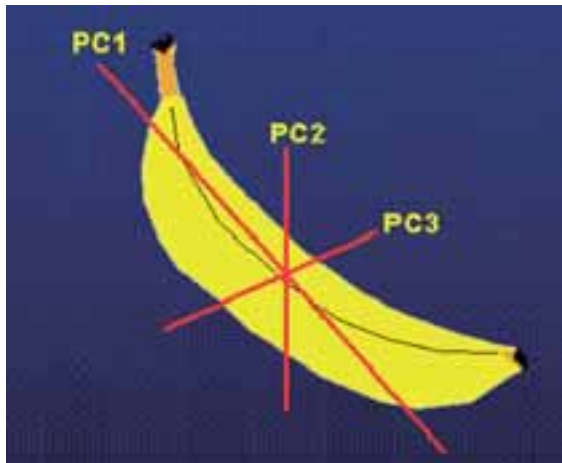
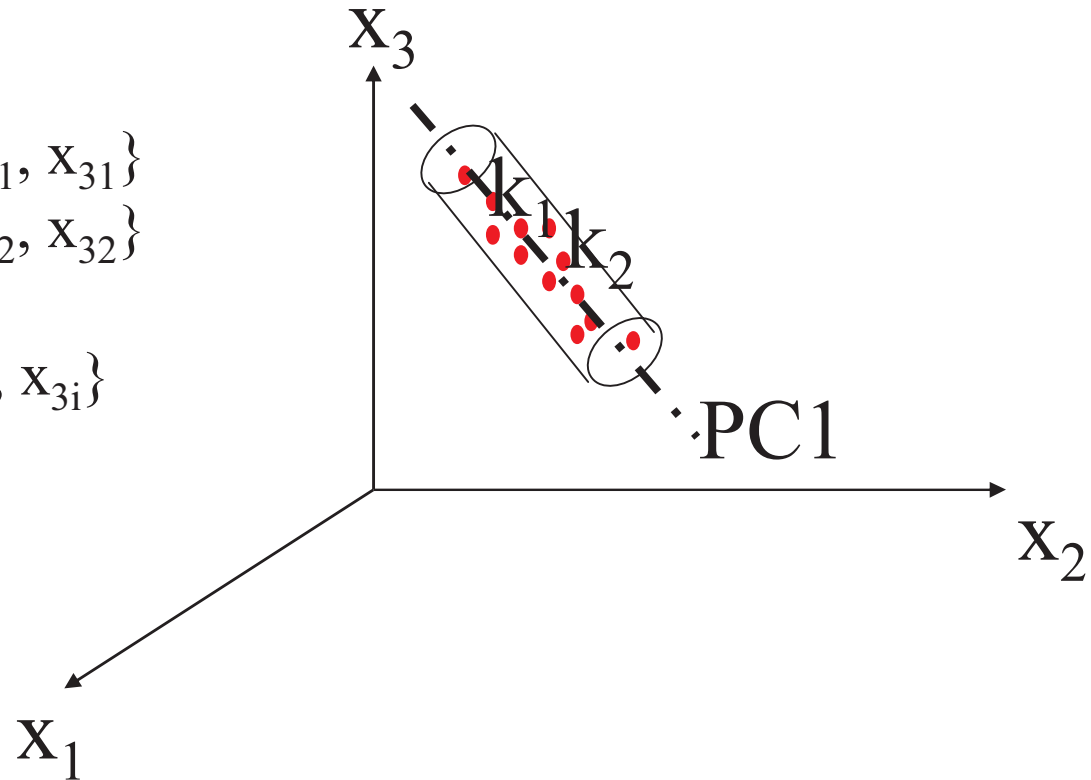
統計解析(ケモメトリックス): ファンクショナルイメージングソフトウェア

スペクトル

$$k_1 = \{x_{11}, x_{21}, x_{31}\}$$

$$k_2 = \{x_{12}, x_{22}, x_{32}\}$$

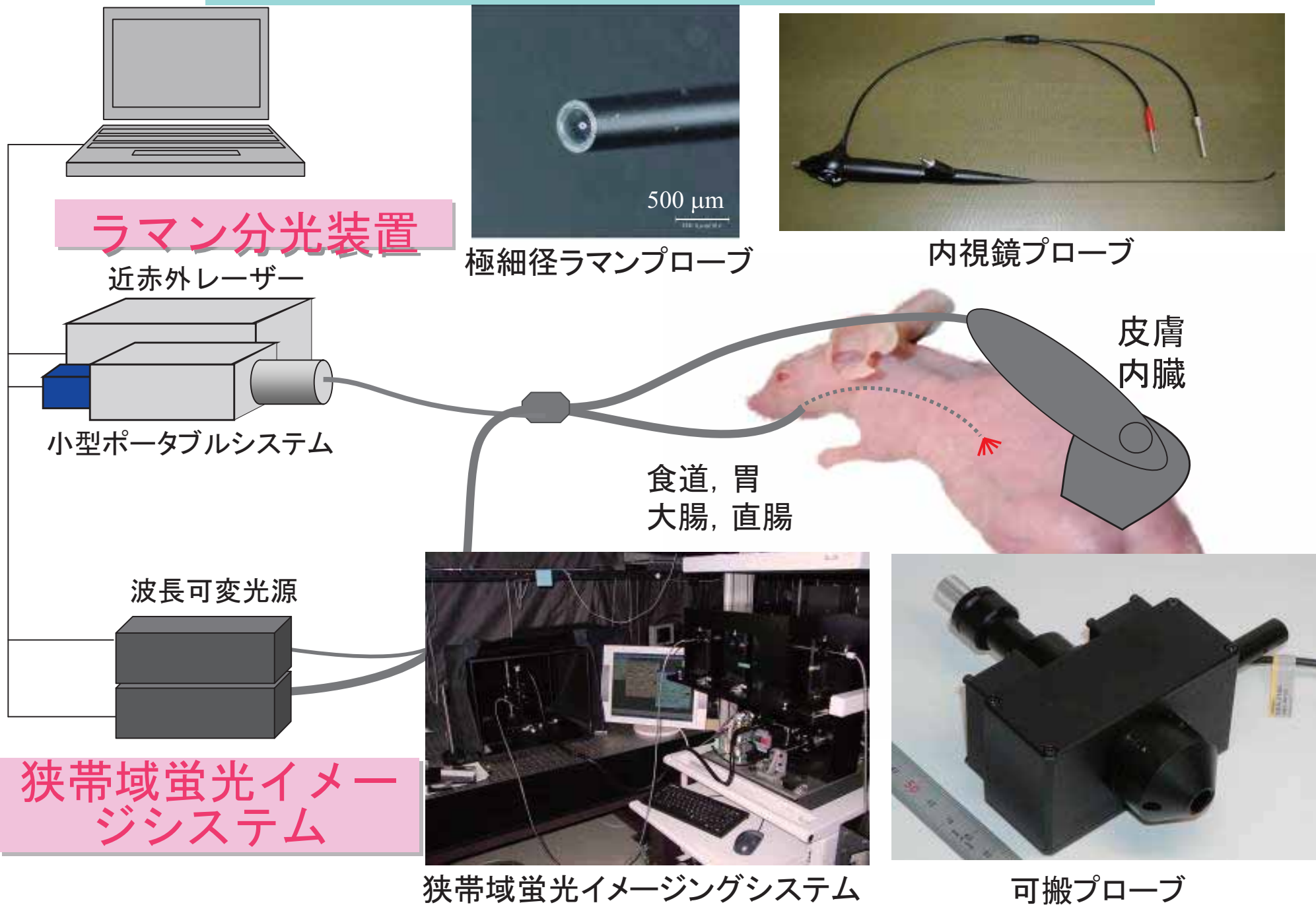
$$k_i = \{x_{1i}, x_{2i}, x_{3i}\}$$



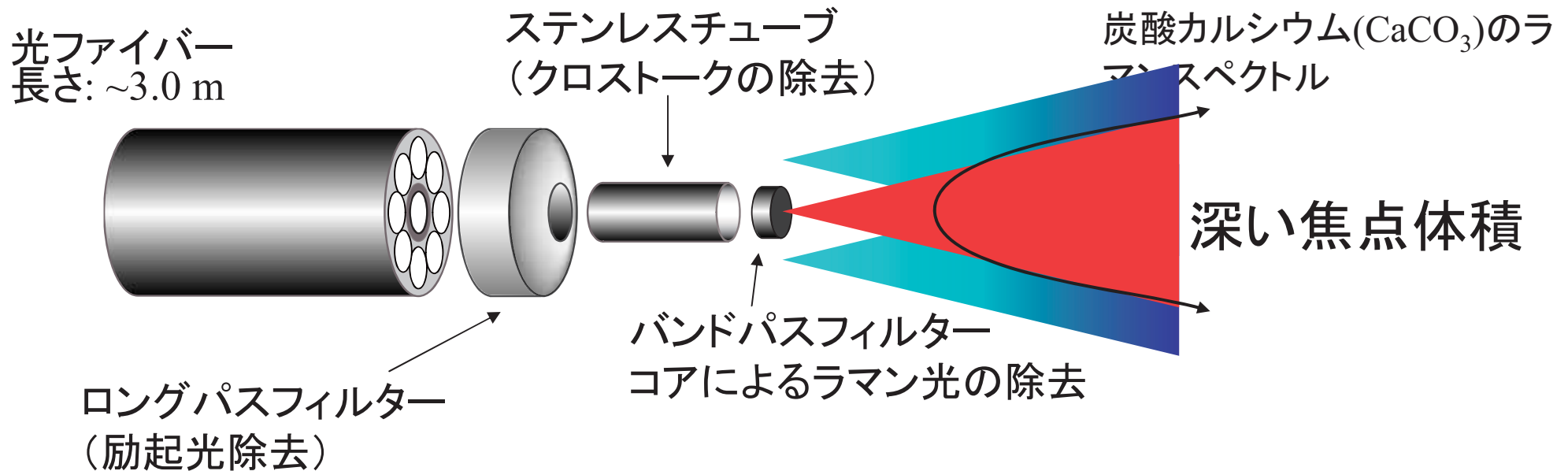
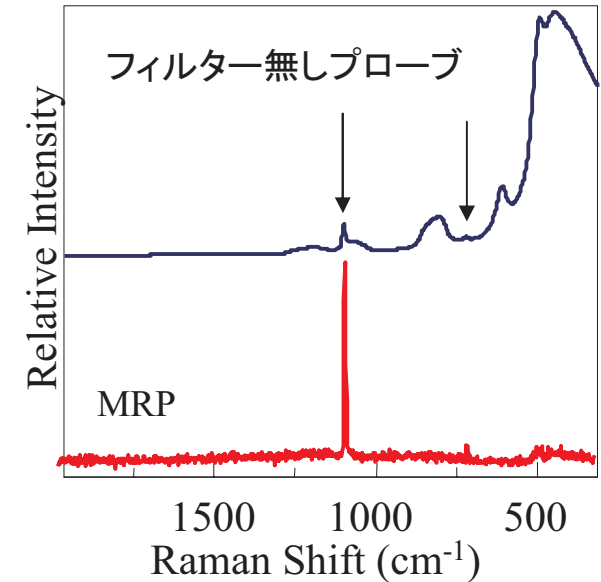
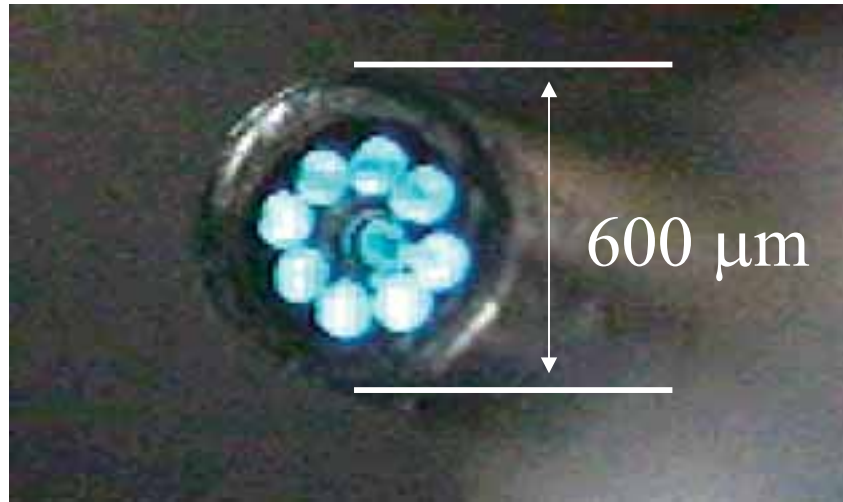
多数のデータ

1. 変化の傾向を分析
2. 異なる位相の変化を個別に抽出

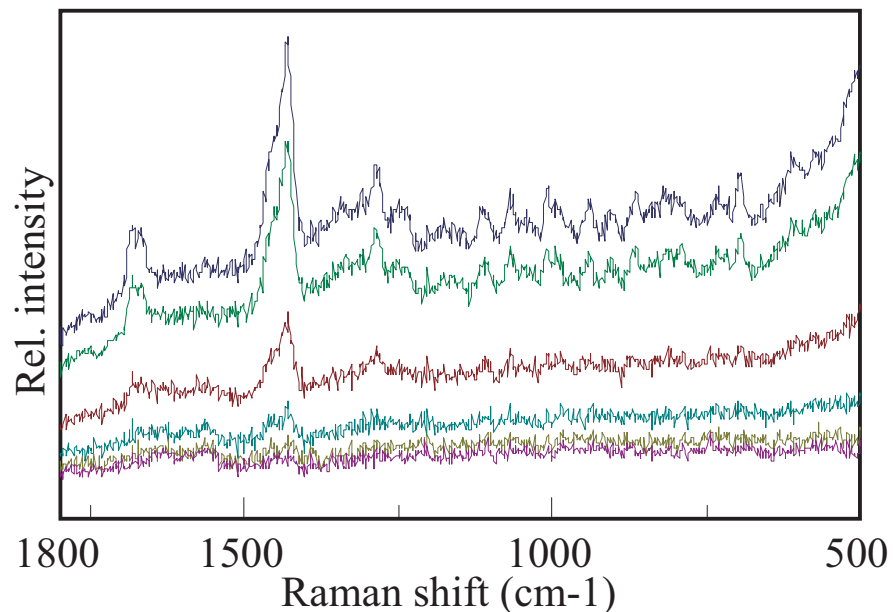
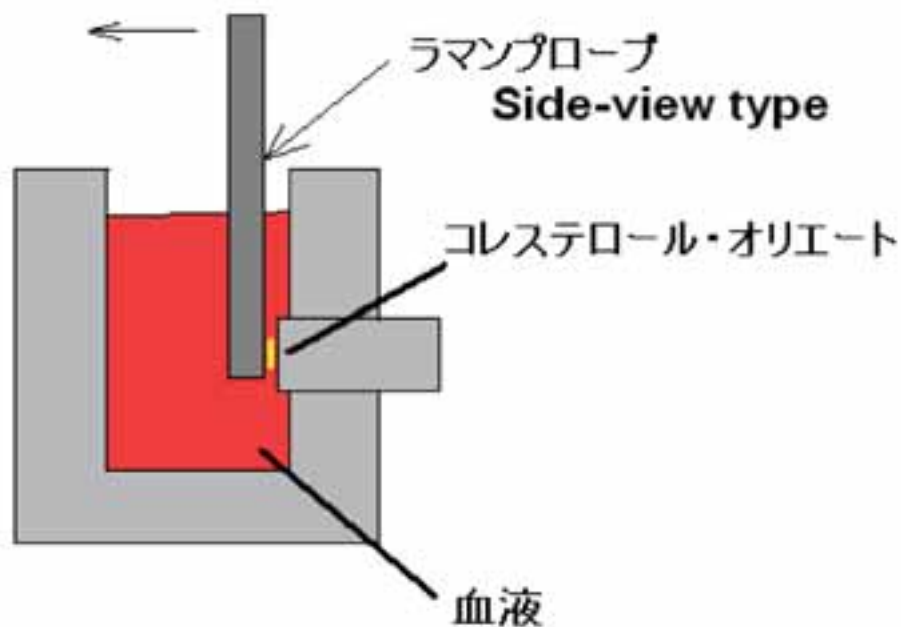
実験動物用の光バイオプシーシステム



マイクロラマンプローブ (MRP)



血流の影響



プローブ-サンプル距離: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mm (Up to down)

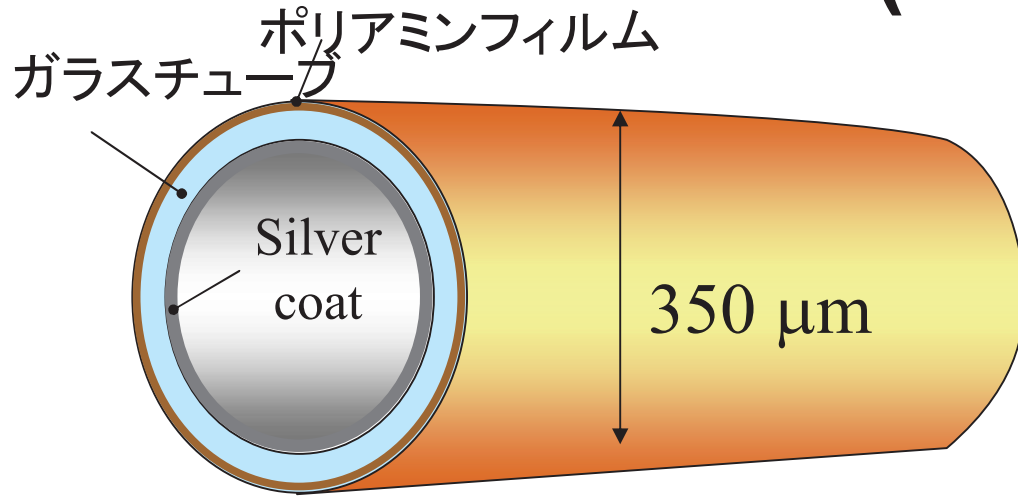
3sec, 15mW (785 nm)

Penetration depth: ~600 μm

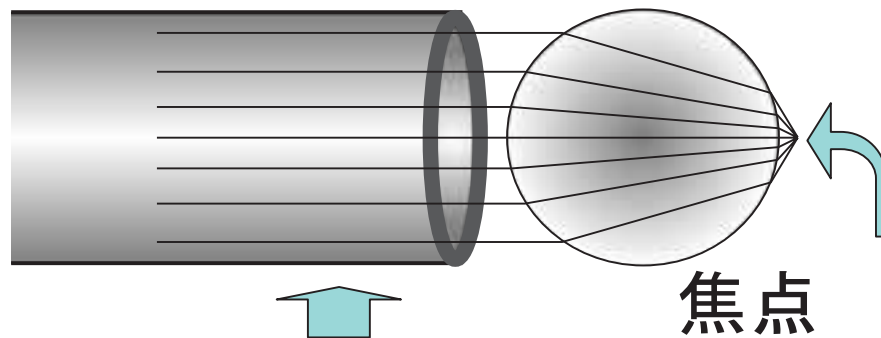
血管内視鏡



ボールレンズ中空ファイバーラマンプローブ (BHRP)

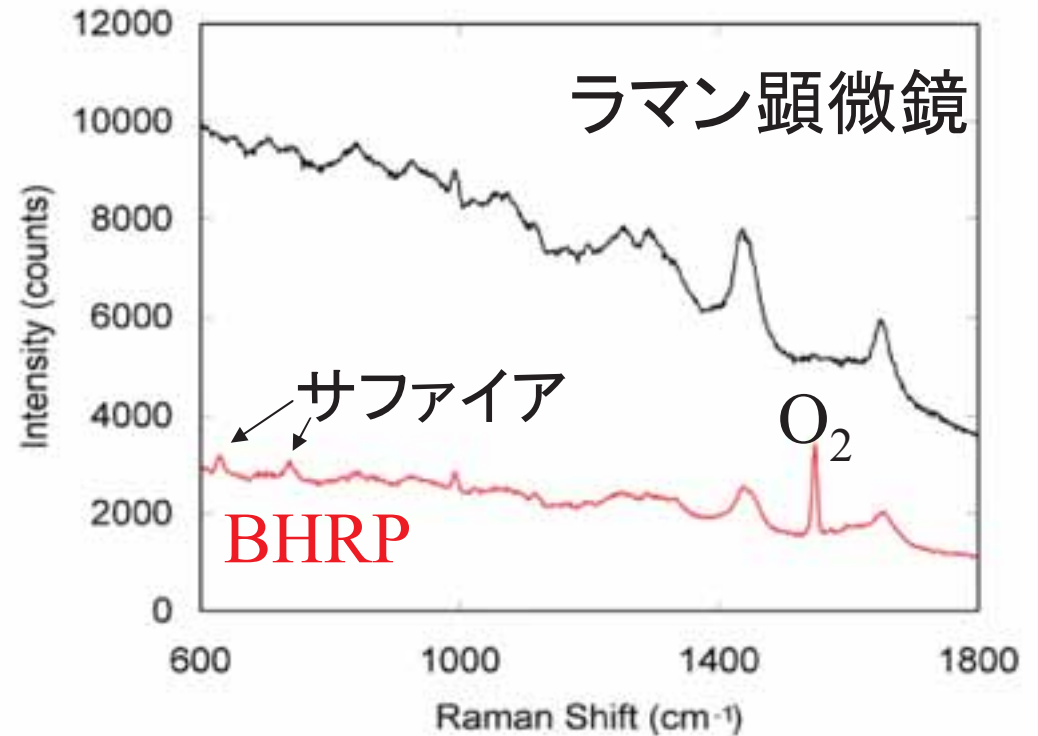


透過効率~95 %/m (straight)
開口数: 約0.02~0.07

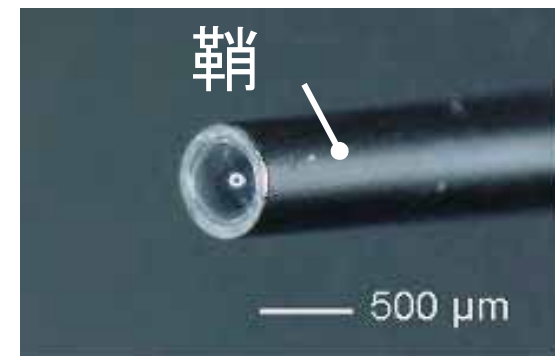


中空ファイバー端面に垂直に近い光線のみ伝送可能

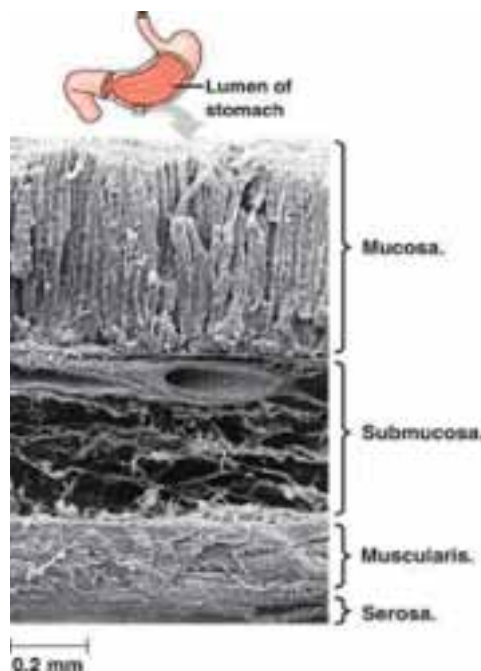
低いバックグラウンドノイズを達成



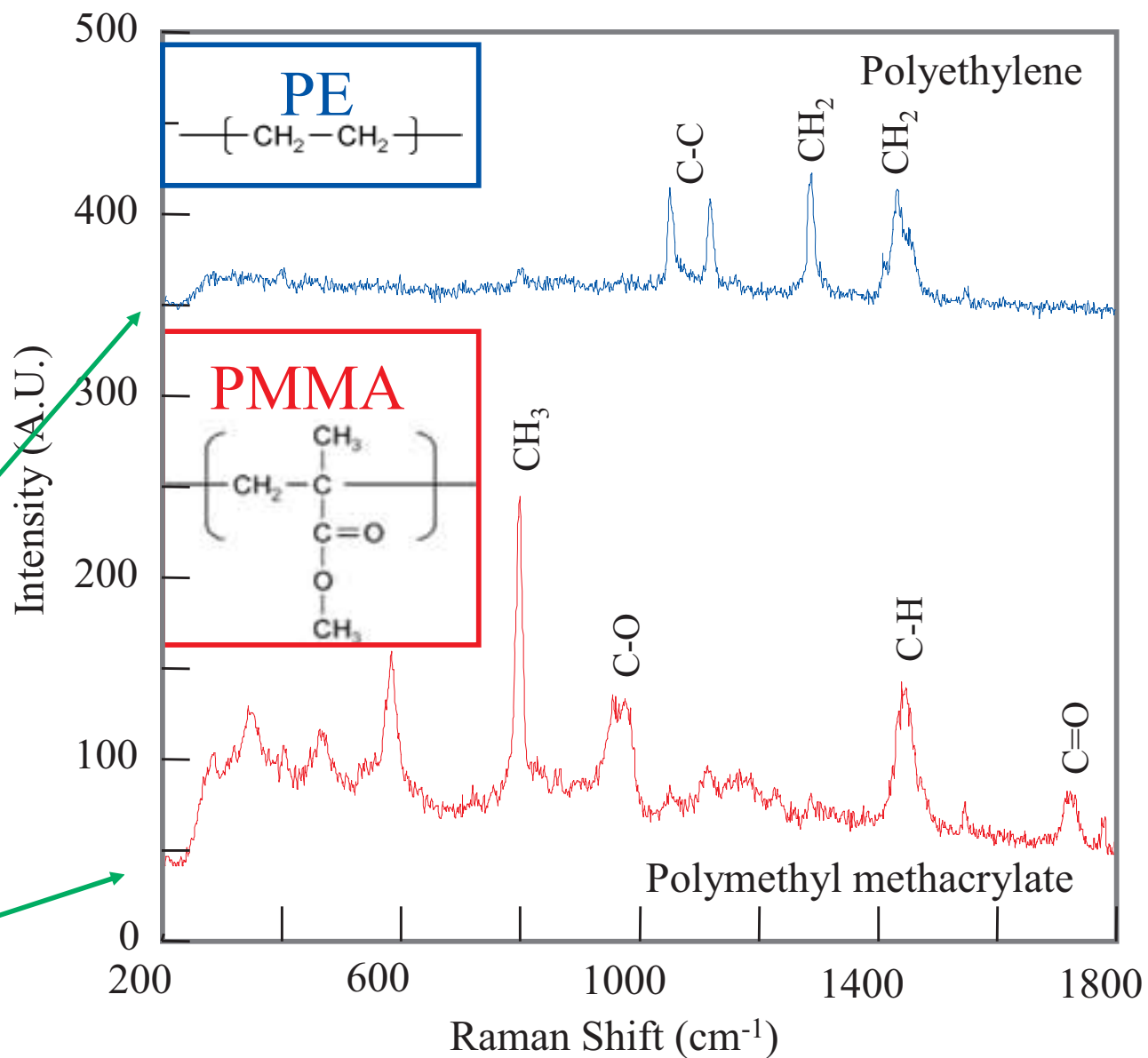
ラット胃の *Ex vivo* 観測



空間分解能と焦点距離 BHRP



Layered tissue:
Stomach wall
Rat: 500 μm
(Human: 4~5 mm)



100 μm

$f = 40 \mu\text{m}$
(サファイヤ 0.4 mm)

$f = 240 \mu\text{m}$
(石英 0.5 mm)

PMMA

PE

光バイオプシー技術の乳がん診断への応用

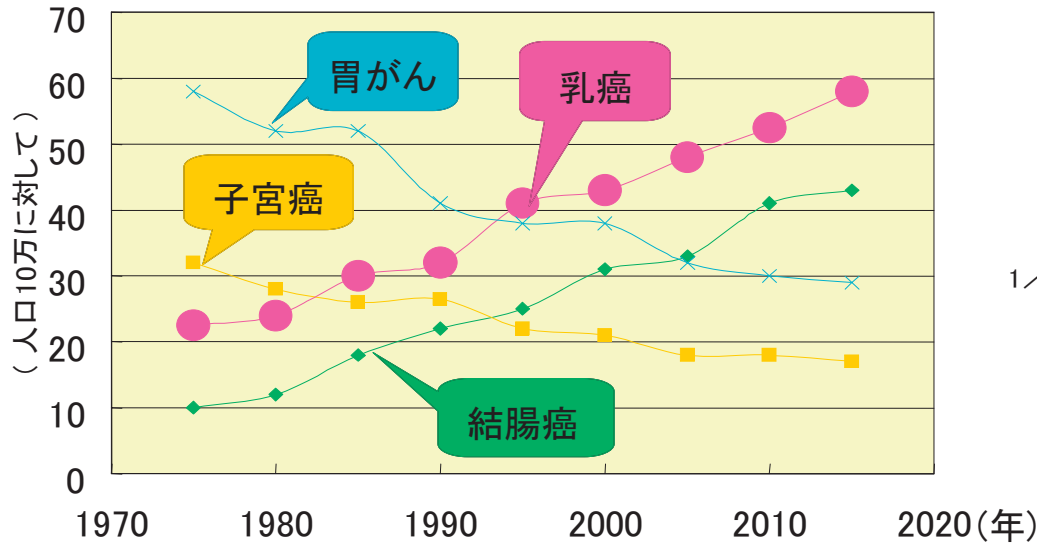


表1 2015年までの女性・部位別罹患率予測

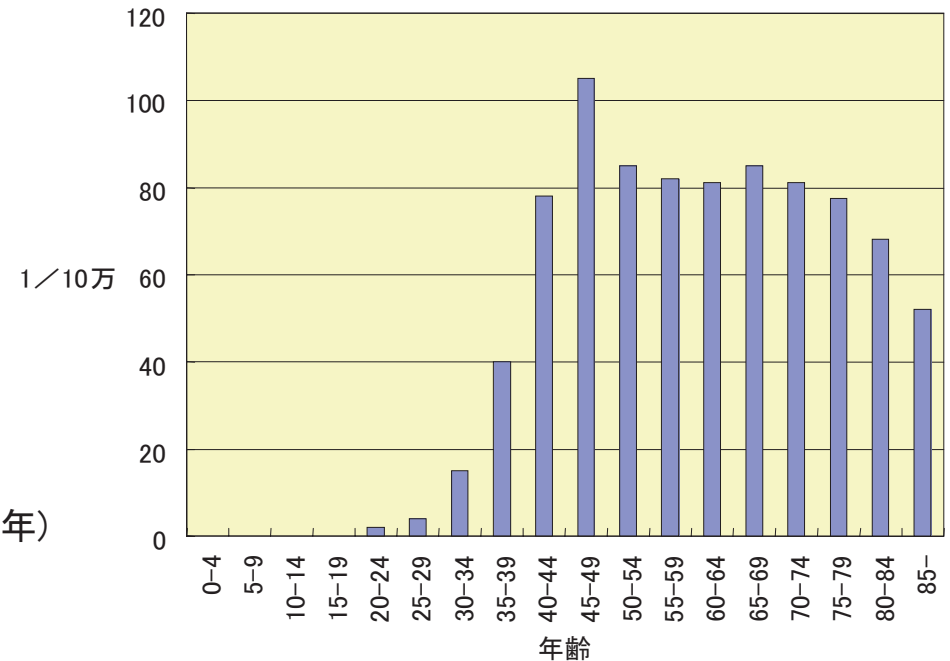


表2 乳がん年齢階級別罹患率 (1995年、全国推計値)

厚生省がん研究助成金「地域がん登録研究班」

生涯で乳癌に罹患する割合

1人/25人 日本人女性(年間4万人)
 1人/8人 米国人女性

従来の診断技術(確定)

マンモトーム

腫瘍とみられる部分に太い針を刺し、1×5mm程度の組織を採取する手法。異常組織の発見後、確定診断に用いる。

針生検

腫瘍とみられる部分に注射針程度の針を刺して強く吸引し、組織を採取する手法。試料が微小なため見落としの可能性が高い。



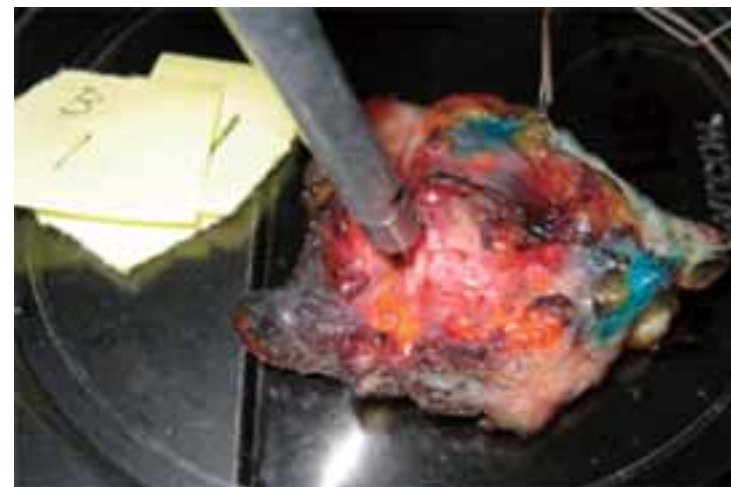
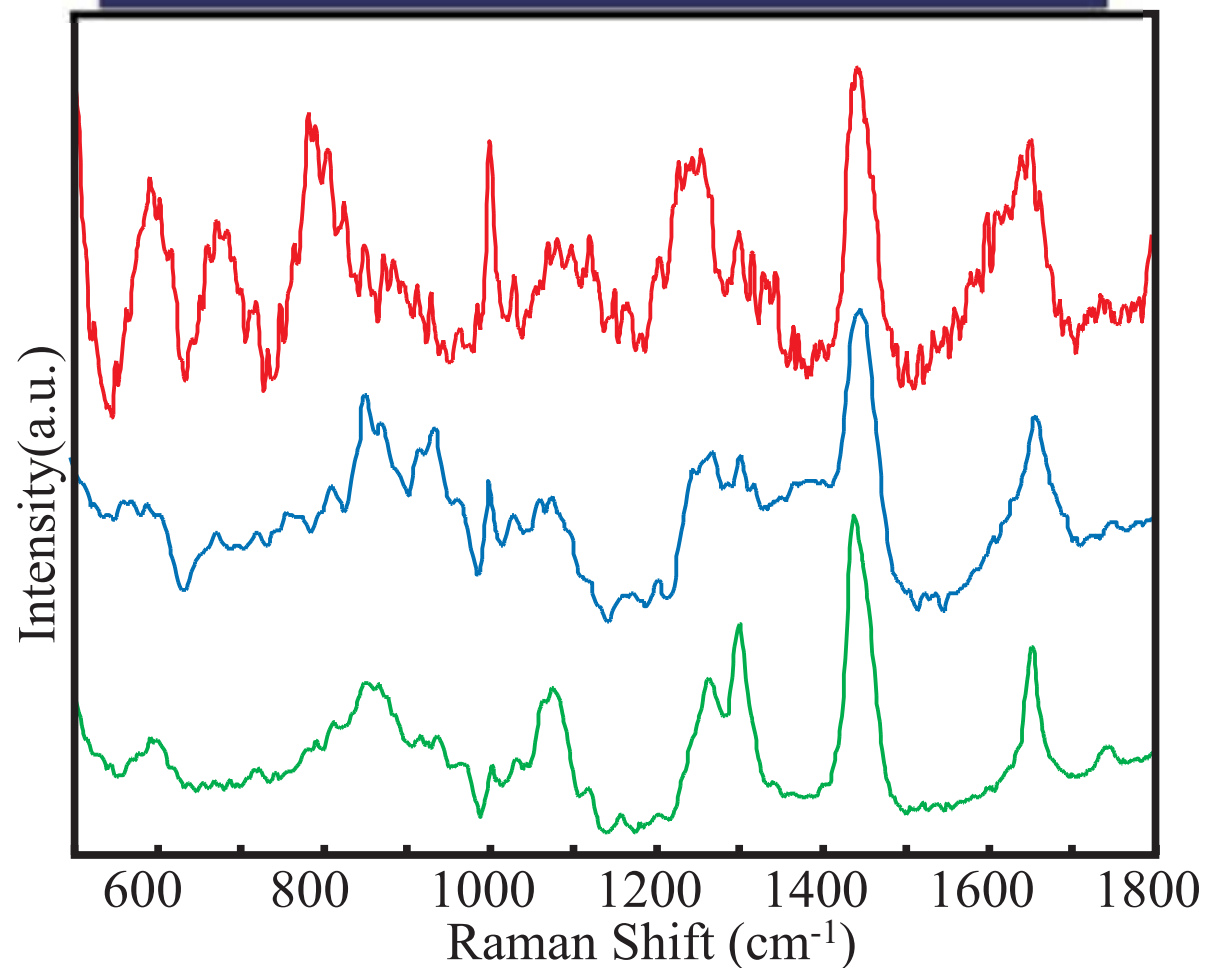
病理診断

病理診断の欠点としては正しい診断をするために多くの経験年数が必要であること、また診断自体が客観性に乏しいことが挙げられる。基本的に細胞の形態で良性か悪性かを判断する『形態学』である。ところが、乳癌だけは例外でその基準が当てはまらず特殊な形態の癌とされている。異型度が低いのに癌であったり、異型度が高いのに実は良性であったり、通常の病理診断の基準にあてはまらない。そこが他の癌とは異なるため乳癌診断は難しい。

我が国の病理医の総数:1875人(平成17年3月)

ラマン分光分析による乳がん診断

ヒト切除試料を用いた研究
(パイロット研究)



乳癌

正常乳腺

正常組織(脂肪)



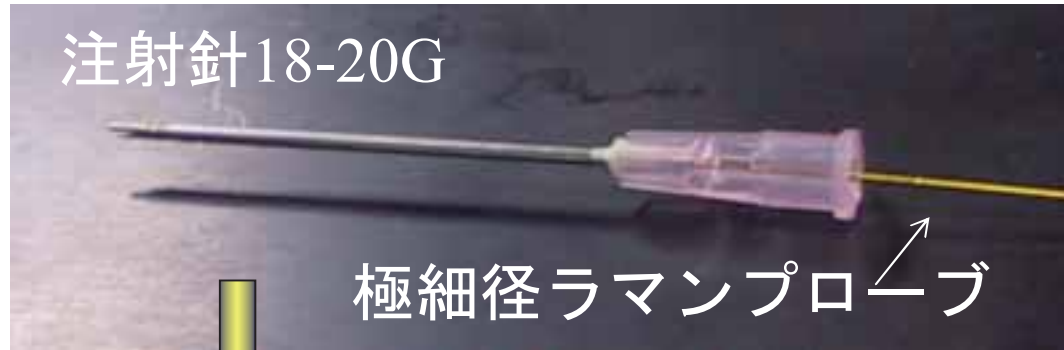
ポータブルラマンシステム

極細径ラマンプローブによる穿刺診断

穿刺診断

侵襲性が低く患者への負担の軽減
何度でも、リアルタイムに診断が可能

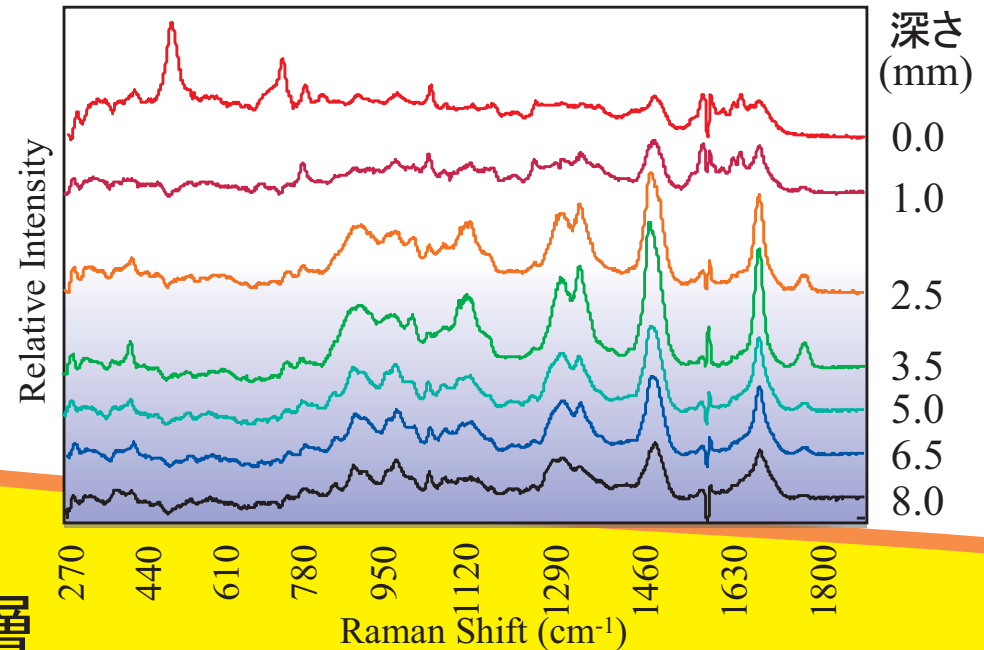
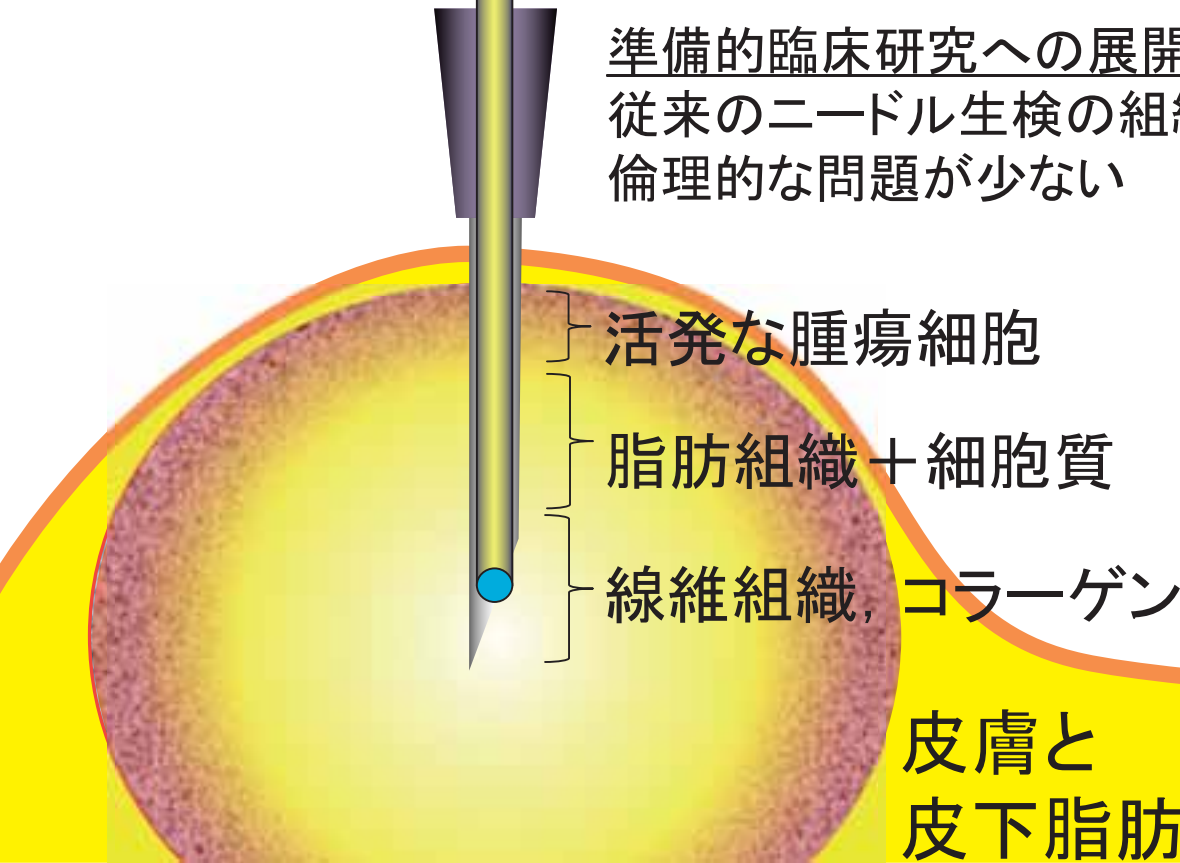
注射針18-20G



極細径ラマンプローブ



準備的臨床研究への展開が容易
従来のニードル生検の組織採取前に実施
倫理的な問題が少ない



ヒト乳がん無染色イメージ



5.0 mm

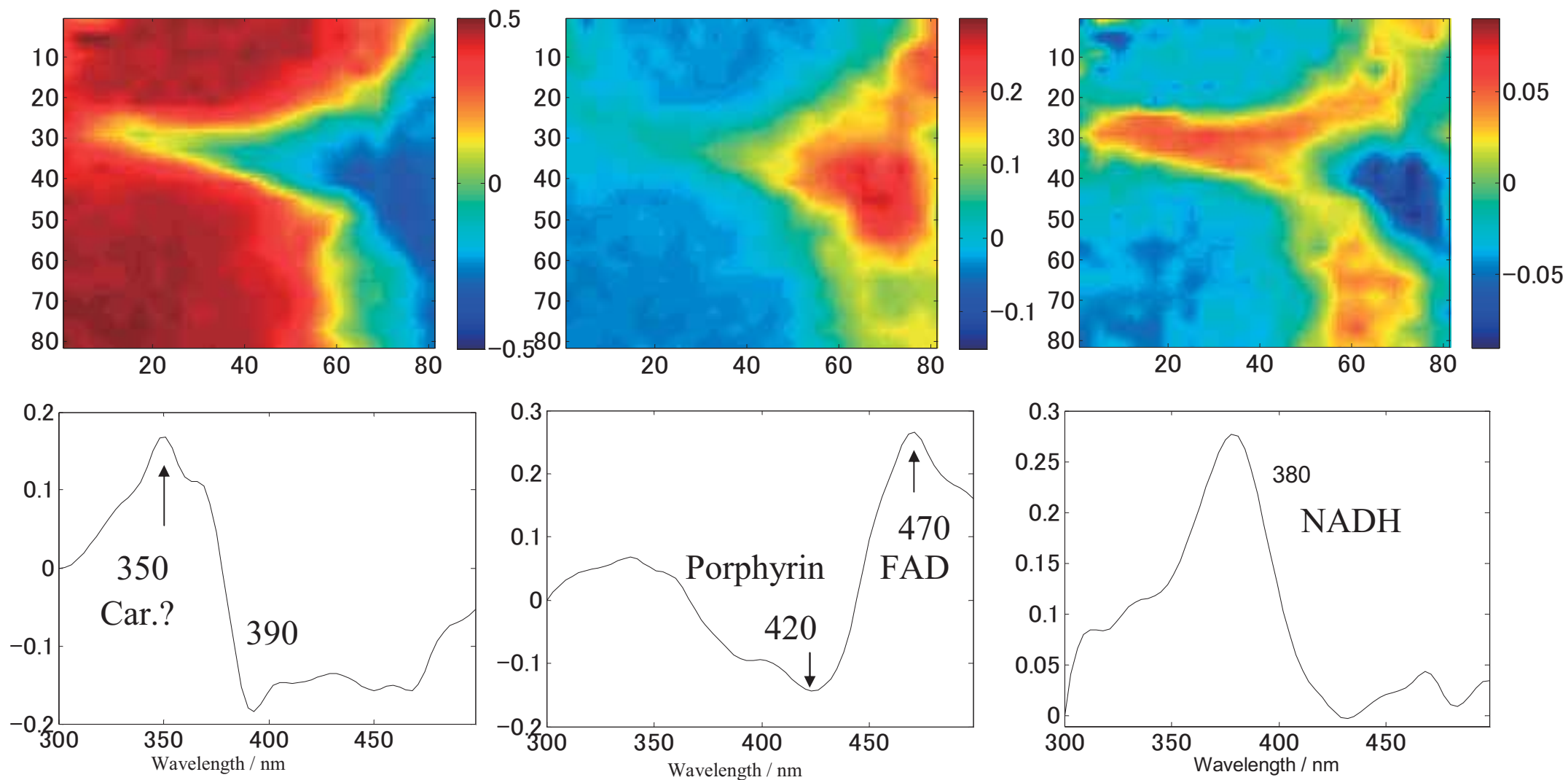
5.0 mm

ハイパースペクトル狭帯域蛍光イメージ

Ex. : 300-600nm

Det. : 400-1000nm

ファンクショナルイメージングソフトウェアによる判別



想定される業界

医療機器メーカー

(株)町田製作所

内視鏡メーカー

光学機器メーカー

(株)相馬光学

研究機器メーカー

化学物質の環境リスク計測

住友電気工業(株)

市場規模

- 乳がん検査機器の場合
- 日本国内年間4万人が罹患
- 欧米ではさらに多数

実用化に向けた課題

- 現在, ヒト試料のex vivo計測が可能な状態まで開発済み。
- 今後, ヒト試料についてデータの蓄積が必要であり, フランス, 米国の研究者との共同研究を準備中。
- 実用化に向けて, がん診断精度を90%以上に上げる必要がある。

本技術に関する知的財産権

1. 小町祐一, 丸山篤史, 金井源一, 佐藤英俊「ラマン散乱測定装置」特願2008-219347, 平成20年8月28日出願
2. 片桐崇史, 佐藤英俊「中空ファイバープローブ」特願2006-012010, 2006年1月20日出願
3. 小町祐一, 佐藤英俊, 田代英夫「血管診断用分光プローブ」特願2005-141059, 2005年5月13日出願
4. 小町祐一, 田代英夫, 佐藤英俊, 会澤勝夫「ラマンプローブおよびそれを用いたラマン散乱計測装置」特許第4041421号, 特開2004-294109, 2004年10月21日公開, 2003年3月25日出願
 - Y. Komachi, H. Tashiro, H. Sato, K. Aizawa, Raman probe and Raman spectrum measuring apparatus utilizing the same, Patent No. US2006146322 A1, Jul. 6, 2006.
 - Y. Komachi, H. Tashiro, H. Sato, K. Aizawa, Raman probe and Raman spectrum measuring apparatus utilizing the same, Patent No.: US7,184,142 B2, Feb. 27, 2007.
 - Y. Komachi, H. Tashiro, H. Sato, K. Aizawa, Raman probe and Raman spectrum measuring apparatus utilizing the same, Patent No. EP1498722 A2, Jan. 19, 2005.
 - Y. Komachi, H. Tashiro, H. Sato, K. Aizawa, Raman probe and Raman spectrum measuring apparatus utilizing the same, Patent No. EP1498722 A3, Nov. 29, 2006.

お問い合わせ先

独立行政法人理化学研究所

知的財産戦略センター 知財創出・活用チーム

TEL : 048-467-9762

FAX : 048-467-9962