

# 生体医学の発展を促進する イメージングの進歩

ニック・ルシコフスキー、ジュリア・オサト

商業用顕微鏡の開発により、研究・手術応用の両方でよい成果が出ると期待されている。

光学顕微鏡の進歩により、研究室から手術室まで、重要な手段において、生物学的イメージングが可能になっている。

## よりよい脳外科手術

倍率、解像度、照明による視野の向上に加えて、神経外科など重要な手術における成功の可能性を最適化できる、術中ライブイメージングを可能にする顕微鏡がある。

血管や血流を可視化する技術は、外科医にとって重要だ。外科用イメージングの最新のイノベーションの1つは、

解剖学的顕微鏡が励起光を生成し、近赤外 (near-IR) 光下で蛍光を発する薬剤であるインドシアニンググリーン (ICG) からの蛍光を解像できるデバイスである。このデバイスは非接触で非侵襲的な拡張現実 (AR) 顕微鏡アクセサリで、可視光画像をキャプチャするカメラと、近赤外蛍光の血管造影情報をキャプチャするカメラからの2つのビデオストリームをデジタルに結合する。その結果、自然な発色で脳構造の高精細画像が得られ、さらにリアルタイムな血管内血流を疑似色で重ねるという拡張がなされる。

血管や血流の可視化のための従来の ICG アプリケーションでは、外科医は手術を止め、別の白黒の映像を見て、この情報を解剖学的な顕微鏡の視野の中で思い出して一致させる必要がある。独ライカ社 (Leica) の外科用顕微鏡アクセサリ GLOW800 による新たなイノベーションは、血管造影と解剖学的情報の両方を同じ視野で、完全な奥行き知覚を提供する (図)。

外科的介入を対象としたもう1つのイノベーションは顕微鏡フィルタだ。これは、強力な均質な励起光と、適切に調節された観察スペクトルを生成するように設計されたものである。活性物質である5アミノレブリン酸 (ALA) に作用して、悪性神経腫瘍組織と健常な

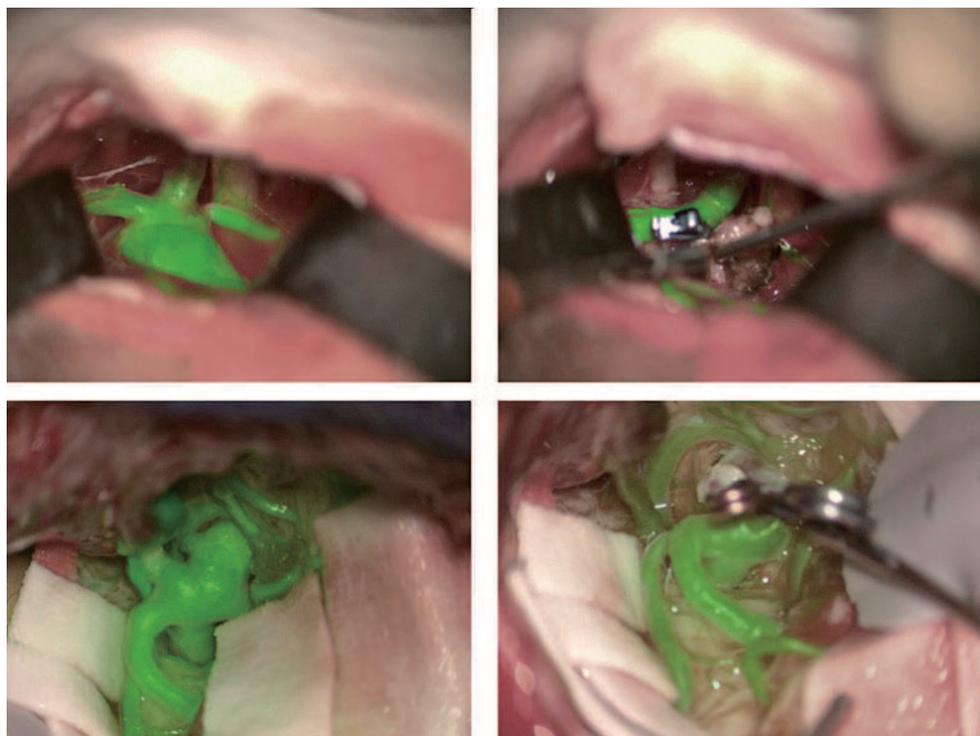


図 AR手術の顕微鏡アクセサリであるライカ社GLOW800は、動脈瘤クリップの設置や観察に利用できる血流と、それに関連する組織灌流を描写する。

脳組織をリアルタイムで視覚的に区別できる。そのため、最も複雑で危険を伴う高度な脳神経外科手術の一部における意思決定をサポートし、脳機能の維持と寿命延長に必須である、正確な腫瘍切除を支援する。単一のプラットフォームで手術視野を正確かつ統合的に提供するライカ社のARveoなどのデジタルAR顕微鏡と組み合わせると、フィルタ(ライカ社FL400)によりリアルタイムで明るく、高コントラストな腫瘍境界を外科医は得ることができる。ボタンを押すと蛍光組織が表示されるため、術中のワークフローのスムーズな進行が可能になり、外科医は「ヘッドアップ」で手術を行うことができる。

## 機能的イメージング

細胞の代謝や微小環境の変化をイメージングできる大きな可能性を秘めた技術が蛍光寿命イメージング (FLIM) であり、蛍光分子が励起状態を維持する時間に基づいて画像を生成する。この手法では、蛍光強度ではなく蛍光シグナルの持続時間を用いて各ピクセルの色を決定する。蛍光寿命は蛍光分子の濃度に依存しないため、局所的な分子環境のpHなどの化学的な測定に使用することができる。こうした特性から、FLIMによって生体分子の機能的イメージングが可能になる。

さらにFLIMは、分子間相互作用の可視化やバイオセンシングのための一般的な手法であるフェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) を観測、測定するために用いることができる。二光子励起と組み合わせることで、FLIMはラベリングを必要とせずに、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH)、ビタミン、その他の重要な生物学的補因子の内在性蛍光を分析することで代謝過程の研究に利用できる。

こうしたパワフルな可能性があるにもかかわらず、FLIMのアプリケーションは限られている。これにはいくつかの要因がある。例えば、従来の時間相関単一光子係数法 (TCSPC) ソリューション、特に複雑なイメージングワークフローを実行するための必要な処理が本質的に遅く、困難であることが挙げられる。その結果、FLIMは主に専門の研究室に限定されており、専門知識をもってしても、従来のTCSPCでは数十秒以下の時間スケールで起きる生物学的プロセスを観察するのに必要な速度を実現できない。

しかしながら、商業向け開発者はこれを変えようとしている。例えば、科学者が生きた細胞内のダイナミックな生理学を研究できるよう、高速で完全に統合された共焦点システム (SP8 FALCON for FLIM) は、複雑なFLIM実験へのアクセスを広げるだけでなく、新しい研究を可能にする。例として、細胞の代謝状態や微小環境における変化のバイオセンシングや、タンパク質間の高速分子間相互作用 (受容体シグナルなど) の追跡が挙げられる。

デジタルリファインもまた、顕微鏡の解像力を大きく向上できる。例えば、LIGHTNING イメージ情報抽出法は完全に自動化された手法で、適応的なデコンボリューションが組み込まれており、古典的なデコンボリューション法よりも高い解像度を実現できる。デコンボリューションは、焦点外のシグナルを除去するために用いられる。除去だけでなく、本来の位置にシグナルを再配置することで、イメージング体積内の総シグナル数や光子数を維持する。イメージングシステムからの事前情報に基づいて、画像強調のためのインテリジェントな適応の手順を用いることで、120nmの解像度を実現できる。

誘導放出抑制 (STED) ナノ顕微鏡を使用すると、さらに精細な解像度に到達できる。この手法の研究では、現在までに30nmの解像度を達成している<sup>(1)</sup>。

顕微鏡はすでに、正常細胞の中からがん細胞を検出するために用いられており、例えば悪性黒色腫の診断では多光子顕微鏡が使用されている<sup>(2~4)</sup>。生きた神経細胞においては、脳組織による光散乱が他のイメージング手法では問題となり得るが、神経細胞のシグナル活性の時空間的ダイナミクスを測定するために生命科学者はFLIM-FRETを使っている<sup>(5)</sup>。これら2つの例は、FLIMとFLIM-FRETが従来の共焦点イメージングと比較して優位性や将来性があることのある特定のアプリケーションに過ぎない。FLIMが生物学的プロセスや細胞の微小環境を研究するためのスタンダードなツールとなり、疾患の新たな治療法を実現できると期待されている。当然ながら、光学とフォトニクスの継続的な進展により、さらなるシステム開発が可能となるだろう。

## 参考文献

- (1) J. Hanne et al., Nat. Commun., 6, 7127 (2015).
- (2) E. Yew, C. Rowlands, and P. T. C. So, J. Innov. Opt. Health Sci., 7, 1330010 (2014).
- (3) G. Lentsch et al., Pigment Cell Melanoma Res., 32, 403-411 (2019).
- (4) K. König (Ed.), Multiphoton microscopy and fluorescence lifetime imaging - applications in biology and medicine. De Gruyter, ISBN: 978-3-11-042998-5 (2018).
- (5) R. Yasuda, Curr. Opin. Neurobiol., 16, 551-561 (2006).

## 著者紹介

ニック・ルシコフスキーは独ライカ・マイクロシステムズ社 (Leica Microsystems) のグローバル商業戦略マネージャー、ジュリア・オサトは同社共焦点製品マネージャー。

e-mails: nicholas.ruszkowski@leica-microsystems.com, giulia.ossato@leica-microsystems.com

URL: www.leica-microsystems.com

LFWJ