

メインストリームに入る光音響顕微鏡法

ディーペン・ワン、レイチェル・リム、ジュン・シャ、ヤン・ブー

光音響顕微鏡法(PAM)の商業利用が可能となっている。多様なディープイメージング技術の発展が進んでおり、さらなる期待がもたれている。

近赤外(近IR)の光学顕微鏡法とイメージングはパワフルなツールであり、疾患組織の非侵襲的なスクリーニングの臨床的診断が可能である。これは体の表面だけでなく、表面下、さらに深くに位置する臓器にまで到達できる⁽¹⁾。

分光技術によって、組織吸光と散乱特性の定量的検査が可能である。そして含水量や酸素飽和度やヘモグロビン濃度などのマーカーを用いて、通常組織と腫瘍組織を *in vivo* (生体内) で区別できる。

近IRは組織内の数cmまで到達できるが、その深度に光子が到達するころには膨大な散乱現象を受けるだろう。散乱された光子パスは、効率のよい光学的な焦

点合わせを阻害する。だが幸いにも、組織内の光子は超音波を減少させ、それにより散乱が大幅に少なくなる。

誘導された圧力波を検出することでイメージを形成するハイブリッド技術により、光音響トモグラフィ(PAT)は組織内の音響散乱の低さを利用して光散乱の限界を打ち破った⁽²⁾。PATは散乱光トモグラフィ(DOT)よりパフォーマンスが優れており、細胞小器官から臓器まで幅広いサイズの生物構造をマルチスケール、高解像度でイメージングできる⁽³⁾。

PATの最先端の実装で大きな2種類は、光音響コンピュータトモグラフィ(PACT)と焦点走査型光音響顕微鏡

法(PAM)である。後者はさらに、より小さい光学焦点をもたらす光学分解能(OR-PAM)と、超音波焦点をもたらす音響分解能(AR-PAM)に分類される。実装に関係なく、PAMは、異なるイメージング深度に応じて開口数(NA)を変えることで、サブ波長から数波長分まで、横方向の解像度をスケールできる。

システムとレーザ

光音響顕微鏡法は今や新しい開発段階にきており、つい最近になってシステムの商業化に至った。現在、PAMは神経科学、細胞生物学、*in vivo* イメージングにおけるライフサイエンス研

AR-PAMとOR-PAMと切り替え可能なシステム

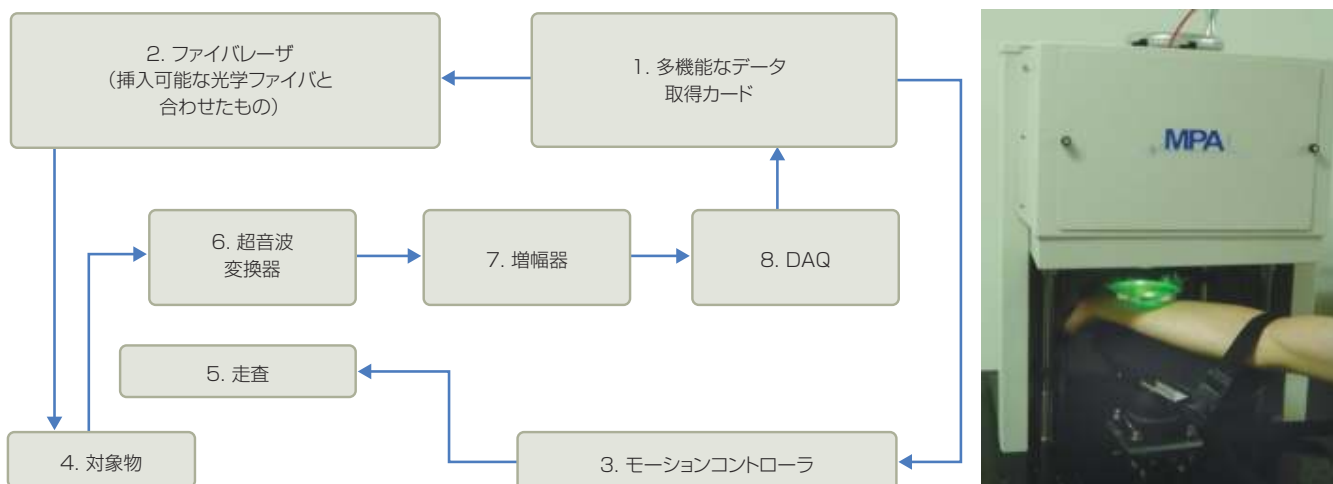


図1 MPA社の光音響顕微鏡システムでは光学分解能と音響分解能(OR-PAMとAR-PAM)モードを切り替えることができる。

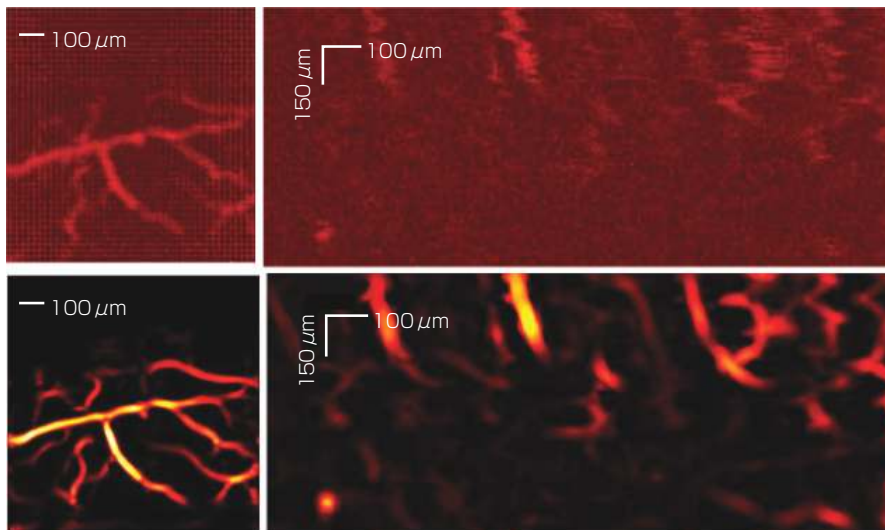


図2 生きたマウスの脳(左列)とヒトの指の爪上皮(右列)を光音響顕微鏡法イメージで見たもの。

究の進展を支えている。

初期には、PAMシステムのメーカーは1社しかなかった。米アドバンストオプトウェーブ社(Advanced Optowave)のスピンオフである米マイクロフォトアコースティック社(MPA、Micro-PhotoAcoustics)は、3次元PAMの発明者らによって2010年に設立された。MPA社は、OR-PAMとAR-PAMを切り替えてできる商業用PAMシステムを開発している。このシステムには、米カリフォルニア工科大(California Institute of Technology)に移る前に米ワシントン大(Washington University)で光音響学を切り開いたリーホン・ワン氏(Lihong Wang)の研究室からライセンスを受けた多くの特許が使われている。

このシステムには、異なるモードに対応する異なる励起源が搭載されている。OR-PAMに対する励起源は2つの固体レーザーで、kHz調整可能なQスイッチのファイバベースである。532nmと559nmで、5kHzのパルス繰り返し率と9nsのパルス持続時間をもたらし、sO₂(ヘモグロビンの酸素飽和度)イメージングに機能的な光音響トモグラフィを実現するために出力する。AR-

PAMに対する励起源は、8の出力波長に上がるチタンサファイアレーザーシステムであり、深部にある組織のイメージングができるよう、700~900nmにわたる。OR-PAMとAR-PAMを切り替えるときの問題は、異なるコリメータレンズから構成される、シングルモードファイバとマルチモードファイバと置き換えることである。

OR-PAMモードでは1mmの侵入深さ、5μmの方位分解能、30μmの軸方向を実現する。一方、AR-PAMは3mmのイメージング深さ、45μmの方位分解能、30μmの軸方向を実現する。どちらのモードもラスタ走査を利用して3Dイメージを作る。走査ステップサイズは、OR-PAMで0.625μm、AR-PAMで6.25μmである。そのため、同じ領域をイメージするには、AR-PAMのイメージングフレームレートはOR-PAMの10倍となる(図1)。

アプリケーション

研究者は、前臨床の神経イメージングを含め、幅広いアプリケーションに対してシステムを利用している。たとえば、腸、耳、脚における細胞核のイ

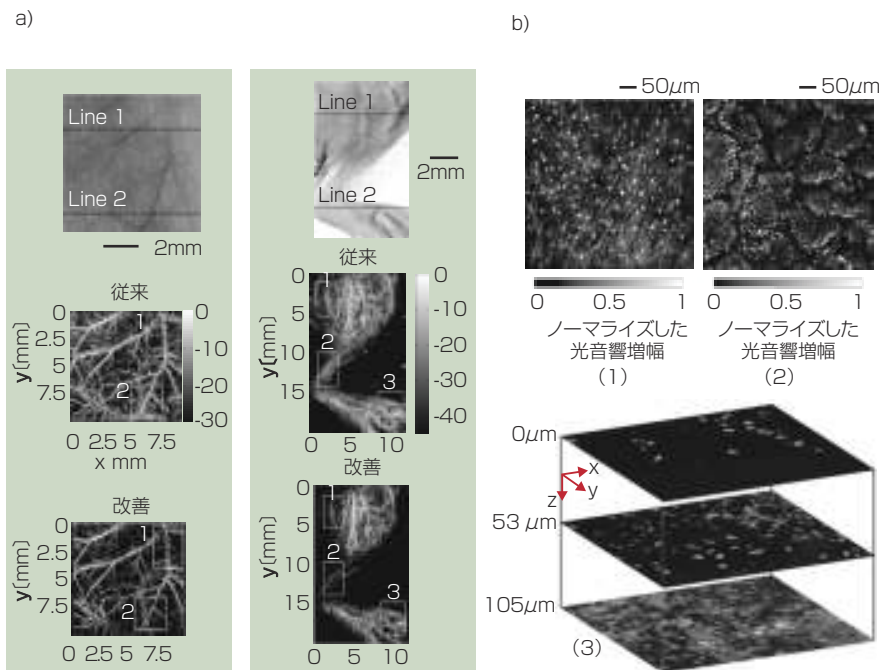


図3 光音響顕微鏡法イメージを示す。(a)マウスの耳(左列)と脚(右列)。(b)マウスの唇の上皮組織イメージ(1)、腸の絨毛(2)、マウスの耳の皮膚における生きた組織と細胞核(3)。

メージング、ヒトの指の爪上皮の臨床的イメージングである。

彼ららの研究では、PAMの性能向上のためにその他の光源、フィルタ、アルゴリズムの使用を模索しており、新たなアプリケーションが期待されている。これらの努力によって、MPA社はさらに技術を開発し、ライフサイエンスの需要に合致できている。

日本の研究者は、血管イメージングのためにOR-PAMモードで装置を利用し、PAMイメージを処理する血管フィルタを用いて高感度出力を実現した⁽⁵⁾。図2に、生きたマウスの脳とヒトの指の爪上皮の血管イメージのオリジナルとフィルタリングしたものを示す。フィルタリングしなければバックグラウンドと識別が困難な小さな血管でも、フィルタを用いて識別できる。これは、PAMが血管関連疾患の診断に有用なツールになり得ることを示唆する。

同じシステムを用いて、韓国の研究

者は、イメージの再構築アルゴリズムを改善することで高解像度のAR-PAMイメージを作成できることを証明した。図3aに、マウスの耳と脚の写真と、従来アルゴリズムと改善アル

ゴリズムで再構築したAR-PAMイメージを示す⁽⁶⁾。新たなアルゴリズムでは焦点外領域の解像度が向上するため、システムの視野深度のさらなる拡張が期待できる。

システムはさらに、新たなアプリケーションを探るために使われている。たとえば、ワシントン大と米南カリフォルニア大(University of Southern California)の研究者は、励起レーザをUV光源に置き換えてUV-PAM設定に装置を変換した。これにより、UV光を強く吸光する細胞核をラベルフリーでイメージングするための装置として使われるようになった(図3b)⁽⁷⁾。

光音響顕微鏡法の商業化によって、すでに生体医学のイメージングにおいて発展が進んでおり、さらなる進歩が続いている。新たな技術の進展と発見が続くことで、さらにPAMが進歩し、より速いイメージングスピード、より深部の組織層でより高い空間分解能を実現し、より広い生体医学アプリケーション分野に行き届くことを、MPA社は計画している。

謝辞

本稿刊行時、MPA社は第2世代のシステムのリリースを発表した。これには、韓国の浦項工科大(Pohang University of Science and Technology)と共同でデザインした、防水型微小電気機械システム(MEMS)走査が搭載されている。これにより、システムのイメージングスピードが1秒あたり最大1000ライン(たとえば深さ分解の1Dプロファイル)にまで劇的に上がることが見込まれる。

参考文献

- (1) Y. Pu et al., Appl. Opt., 53, 11, 2345-2351 (2014).
- (2) L. V. Wang and S. Hu, Science, 335, 6075, 1458-1462 (2012).
- (3) L. V. Wang, Nat. Photon., 3, 9, 503-509 (2009).
- (4) L. V. Wang and J. Yao, Nat. Methods, 13, 8, 627-637 (Aug. 2016).
- (5) I. U. Haq, R. Nagoaka, T. Makino, T. Tabata, and Y. Saijo, "3D Gabor wavelet based vessel filtering of photoacoustic images," Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2016, 3883-3886 (Aug. 2016); doi:10.1109/embc.2016.7591576.
- (6) J. Park et al., J. Biomed. Opt., 21, 3, 036010-036010 (2016).
- (7) D.-K. Yao, K. Maslov, K. K. Shung, Q. Zhou, and L. V. Wang, Opt. Lett., 35, 24, 4139-4141 (2010).

著者紹介

ディーベン・ワンは米ニューヨーク州立大(State University of New York)のシニアPhD学生、レイチェル・リムは同大研究助手、ジュン・シャは同大生体医学工学科准教授。
URL: www.acsu.buffalo.edu/~junxia ヤン・ブーはMPA社のシニア科学者。
e-mail: ypu@a-optowave.com URL: biompa.com