

1. 研究の目的

光を用いた生体イメージングにつき各種デバイスが開発されているが、組織深部を高空間分解で観察する能力は十分ではない。深部診断技術としては超音波パルスエコー法が挙げられるが、薬剤集積部における音響インピーダンスの変化が小さく、生体中の薬剤情報を取得することは難しい。光音響法は光吸収による熱弾性波(音響波)を計測する方法であり、パルスレーザー照射のため誘起できる音響波振幅が大きく、生体深部の薬剤情報が取得できる。

本研究の目的は、光音響法を用いて生体組織内において投与後の薬剤情報(三次元空間分布および濃度の時間変化)のイメージング技術を確立することである。この目的を達成するために、(1)高空間分解能光音響イメージング装置を開発。そして当該装置を用いて、(2)生体内における薬剤情報の高空間分解能イメージングを行った。さらに、その具体的応用として、重症熱傷受傷時のグラム陰性菌等による感染症の光線力学的治療を想定し、血管内投与した薬剤の皮膚組織内への輸送とその後の動態を光音響イメージングにより経時観測した。本研究は、多剤耐性菌に有効な治療法として期待される抗微生物光線力学的治療において、生体内の薬剤情報を取得することを目指す基礎研究であり、適切な治療方法の決定および治療範囲の判定に資する。また、薬剤を使用する数多くの他の治療および診断への貢献が期待できる発展性の高い研究である。研究が成功すれば、光音響法の実用化・普及化に向けて大きな前進となるだけでなく、応用展開を連鎖・創発する先駆的な成果と成り得る。

2. 研究の内容(手法、経過、評価など。)

(1)高空間分解能光音響イメージング装置の開発

研究の第一段階として、*in vivo*における使用を考慮して小型・軽量に重点を置いた、光ファイバー照射方式の光音響イメージング装置を製作した(図1)。音響レンズを装着した超音波センサー(中心周波数:30 MHz)の四方に照射用石英ファイバーを配置し、音響的損失の小さいエンジニアリングプラスチック製のスペーサーを介して組織に接触させる構造とした。音響レンズの集束性によって決まる微小体積からの光音響波のみを取得することで、高い空間分解能を確保する原理である。計測システム全体を図2に示す。光源には光パラメトリック発振器(パルス幅:6 ns)を使用し、出力パルス光をビームスプリッターにより4分割し、上記ファイバーにそれぞれ結合させた。超音波センサーで受信した光音響信号はFETアンプにより増幅し、オシロスコープにより記録した。このとき、連続した64パルスによる波形データを平均化した。

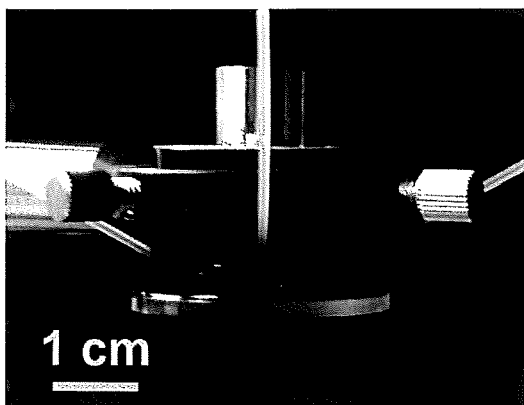


図1 光音響イメージング装置の写真

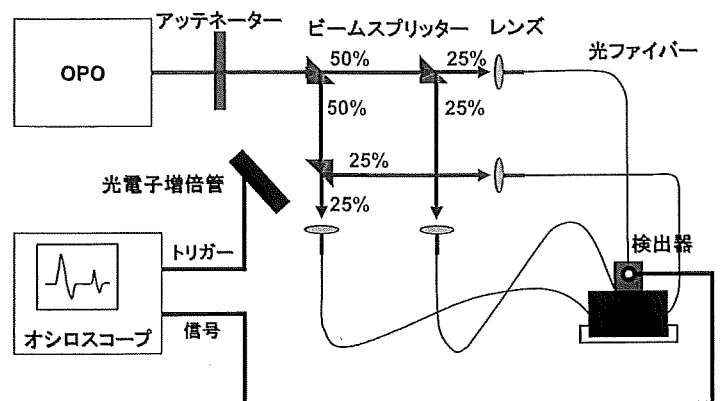


図2 計測システムの構成

2. 研究の内容(続き)

本装置のイメージング特性(空間分解能および焦点深度)を評価するために、内径 100 μm のチューブに墨汁を封入したファントム(模擬微小血管)を等価散乱係数が生体組織に近い 2% イントラリピッド溶液中に配置し、センサーを 50 μm の刻みで走査させた。模擬血管の位置がフロントスパーサー下面から深さ 0.2、0.7、1.2、1.7、2.2 mm となる条件で計測を行い、模擬血管に由来する光音響信号の水平方向(走査方向)の強度分布を各深さで取得した。このとき、光音響波の励起波長は 532 nm とした。

図 3 に直径 100 μm の模擬血管の深さ別感度分布を示す。半値全幅は音響レンズの焦点である深さ 1.2 mm において 220 μm となっており、最も高い集束性が得られた。このときセンサーの受信信号の横方向の拡がりには 120 μm であると言えるが、この大きさは同音響レンズの理論的な集束径とほぼ一致した。また焦点から深さ方向に ± 0.5 , ± 1 mm 離れた位置においても同程度の集束性を示す分布が得られ、本センサーは深さ方向に ± 1 mm 程度の焦点深度を有することわかった。このことは、皮膚組織(ヒトの場合で 2~3 mm)を対象とした高空間分解能イメージングにおいて、本センサーを深さ方向に走査する必要がないことを示唆する。

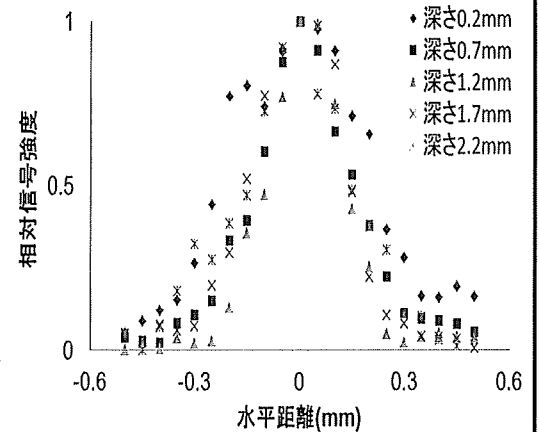


図 3 模擬血管に対する信号の感度分布。

(2) 生体内における薬剤情報の高空間分解能イメージング

SD ラット背部に広範囲深 II 度熱傷を作製し、熱傷、非熱傷、それらの境界部のそれぞれに関心領域を設定した。波長 610 nm に吸収ピークを有するエバンスブルー(EB)をラット尾静脈より 50 mg/kg animal body weight 投与し、励起波長 610 nm にて熱傷受傷 2、3、4、6、24 時間後の皮膚組織中の薬剤分布を観測した。

図 4 に経時的に取得した薬剤の光音響画像を示す。まず、非熱傷領域では薬剤由来の光音響信号はほとんど観測されなかった。このことは、同領域において血管壁透過性亢進作用が生じなかったことを示す。一方、熱傷領域では EB 投与直後から皮膚深部において同信号が観測され、時間経過とともに振幅は増大し観測領域は浅部方向へ移動した。これは、血流遮断領域よりも深い血管の透過性亢進作用による薬剤の漏出と皮膚組織中での拡散によるものと考えられる。また、熱傷領域と非熱傷部位が接する境界部では、血中の薬剤が効率的に漏出したことを示す強い光音響信号が得られた。これは、熱傷部浅部が血流遮断領域であるのに対し、非熱傷部位は熱傷受傷後も血流の盛んな部位であるため、これらがぶつかる境界部浅部において、血中を流れる薬剤が効率的に漏出したのでありとされる。

以上より、光音響法を用いて血中投与後の薬剤情報を *in vivo* で高空間分解能にイメージングし、その空間分布の経時的な変化を捉えることに成功した。この結果から、熱傷受傷部への治療薬剤の効率的な輸送に経血管的輸送法が適していること、またそれは熱傷受傷部位に選択的に輸送されることが示された。また、このような薬剤輸送の非侵襲的な実時間観測技術は他に確立されておらず、光音響イメージングの有用性が示された。

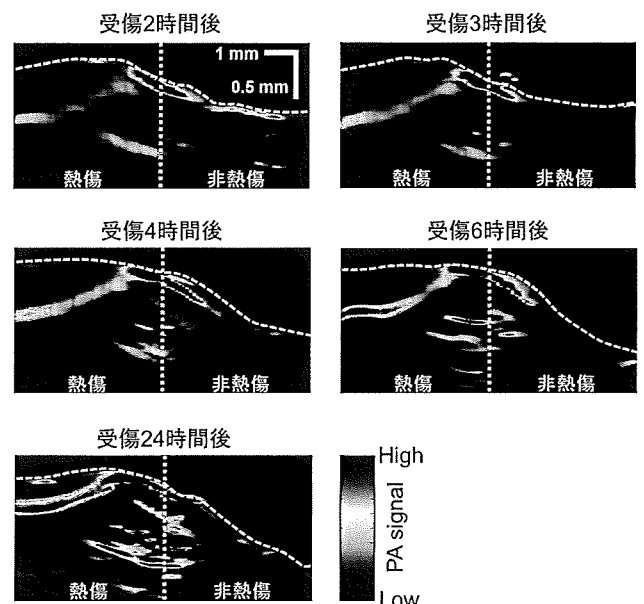


図 4 皮膚組織中の薬剤を示す光音響画像

3. 研究の結論、今後の課題

本研究では、まず、光ファイバー照射型の小型・軽量な高分解能光音響イメージングを試作し、そのイメージングの基礎特性を評価した。その結果、ファントム実験の結果、理論値とほぼ一致する音響センサーの集束性が得られた。次に、本装置を用いたラット熱傷皮膚組織中の薬剤の高空間分解能計測を実施し、熱傷受傷早期における生体内の薬剤情報として詳細な空間分布を経時的に取得した。その結果、熱傷受傷に伴う薬剤の血管からの漏出と皮膚組織中の拡散という、これまでに観測例のない事象のイメージングに成功した。

今後の課題として、まず受信音響信号から薬剤の濃度情報を定量化することが挙げられる。具体的には、光音響波の発生源の深さ情報から音響波の伝搬による減衰を計算し、受信信号を補正すること、そして既知である照射光のパルスエネルギーに基づき、関心領域中に含まれる薬剤濃度を深さ分解的に算出する手順となる。また、本手法により取得する薬剤分布に基づく光線力学的治療を実際の感染症モデルラットを用いて実施し、その治療効果の向上を実証することが挙げられる。

4. 成果の価値(とくに判りやすく書いてください。)

1. 社会的価値

薬剤療法で所望の治療効果を得るには、投与した薬剤が標的部位で適正に分布する必要がある。そのため現在、手術現場やベッドサイドで薬剤動態を実時間計測できる診断技術が求められており、これは術前・術中の治療効果の予測や治療計画に貢献する。しかし、そのような計測を簡便に達成できる技術は確立されていない。

光音響イメージングは、目的分子の光共鳴吸収に合わせた励起波長の選定と生体内で散乱の少ない音響波の受信により、低強度の光で高感度な計測が可能であるため、薬剤動態観測に適している。本研究成果は、光音響法のこのような有用性を示すとともに、小型かつ高空間分解能のセンサーを設計および製作し、生体内における薬剤情報の高空間分解能イメージングへの適用性を実証した。この成果は、薬剤を使用する数多くの治療への貢献が期待できるため、波及効果およびインパクトは大きいと考えられる。

2. 学術的価値

光音響法に関する研究は急速に拡大・進展しており、光分野の国際会議で世界最大級である Photonics West 2013 (2013 年 2 月)において、光音響法に関する発表論文数は 185 件であり、同会議のシンポジウムで 4 年連続トップの件数であった。本研究は、光音響法を用いて経血管的な薬剤輸送に関して血管内から特定分子が外部組織へ移動する様子を高空間分解・高時間分解に観測した初めての報告である。高空間分解能光音響イメージング装置の大幅な小型・軽量化に成功しており、このことは同イメージング法の適用範囲の拡大に寄与する。また、医学研究に資するものとして、著名な国際誌である BURNS への採録が決定した。

3. 成果論文(本研究で得られた論文等を年代順に書いてください。未発表のものは公表予定を書いてください。)

1. Y. Tsunoi, S. Sato, S. Kawauchi, H. Ashida, D. Saitoh, M. Terakawa, " In vivo Photoacoustic Molecular Imaging of the Distribution of Serum Albumin in Rat Burned Skin," BURNS 2013. (採録決定)
2. Y. Tsunoi, S. Sato, R. Watanabe, S. Kawauchi, H. Ashida, M. Terakawa, " Acoustic-resolution Photoacoustic Imaging System with Simple Fiber Illumination," Proc. SPIE, Vol. 8581, pp.85812U/1-6, 2013.
3. Y. Tsunoi, S. Sato, H. Ashida, M. Terakawa, " Photoacoustic imaging of intravenously injected photosensitizer in rat burn models for efficient antibacterial photodynamic therapy," Proc. SPIE, Vol. 8210, pp.82100D/1-7, 2012.
4. 角井泰之、佐藤俊一、渡辺太、川内聡子、斎藤大蔵、芦田廣、寺川光洋、"薬剤送達の高分解能観測を目指した光音響診断システムの開発," レーザー学会第 430 回研究会, 東北大学, 2012 年 9 月 7 日,
5. Y. Tsunoi, S. Sato, S. Kawauchi, H. Ashida, M. Terakawa, " Dosimetry of Intravenously Injected Photosensitizer by Photoacoustic Imaging for Antibacterial Photodynamic Treatment of Burn Infection," The 8th Asia Pacific Laser Symposium (APLS2012), Huangshan, China (May, 2012).
6. Y. Tsunoi, S. Sato, S. Kawauchi, D. Saitoh, H. Ashida, M. Terakawa, " Simultaneous Photoacoustic Monitoring of Edema and Hemodynamics for Comprehensive Diagnosis of Burn Injury," Conference on Laser Surgery and Medicine (OPIC 2012), Yokohama, Japan (April, 2012).
7. 角井泰之、佐藤俊一、芦田廣、寺川光洋、"皮膚組織中の光感受性薬剤分布の in vivo 光音響イメージング," 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2011, 大阪大学, 2011 年 11 月 30 日.