

光音響イメージング装置

青木裕之^{*1}・横山昌幸^{*2}

Photoacoustic Imaging System

生体内における薬物などの動態を評価する上で低侵襲かつ高分解能のイメージング手段が求められる。中でも光イメージング法は利便性が高く、高感度な測定ができることから広く利用されている。しかしながら光は生体組織によって強く散乱されるために、生体深部からの光を検出することができないため、表皮近傍の数ミリメートル程度までの観察しかできない。近年、新たな *in vivo* イメージング手段として光音響 (PA) 現象を利用した手法が注目されている。

PA イメージングはパルス光の照射によって発生する超音波を信号として検出することで画像構築を行う手法であり、超音波イメージングと光イメージングの利点を併せ持つ手法である。PA イメージングは生体に対して高い透過性を示す超音波を検出するため、表面から数 cm 程度までの深部の三次元構造を観察することが可能であり、小動物での DDS の評価において有用な手段になり得ると考えられる。本稿では PA イメージング技術の基礎とその *in vivo* イメージングへの応用について紹介する。

光音響イメージングの原理と装置の構成

光を吸収した物質はエネルギーの高い励起状態となるが、やがてその励起エネルギーを放出して基底状態に失活する。このとき熱としてエネルギーを放出すれば物質の温度が上昇する。その結果引き起こされた熱膨張によって周辺の媒体が圧縮されることで粗密波 (音波) が発生する。図 1 に示すように位置 r における光エネルギーの吸収量 (光を吸収する化学種の吸光係数と濃度の積) を $A(r)$ としたとき、位置 r_0 におかれたトランスデューサーで検出した光音響波 $p(r_0, t)$ は次のように表される。

$$p(r_0, t) = -\frac{\beta v^2}{4\pi C_p} \frac{\partial}{\partial t} \left[t \iint_{R=r} A(r) ds \right]$$

ここで β 、 v 、 C_p はそれぞれ熱膨張係数、音速、比熱である。この式から明らかなように、光音響波の波形は光吸収の空間分布によって決定されるため、次式のように検出した音響波を解析することで $p(r_0, t)$ から $A(r)$ を求めることができる。このようにして PA イメージングでは音波を検出することで光を吸収した部分の形状を観察する。

$$A(r) = -\frac{2C_p}{\beta v^2} \int_{\Omega_0} \frac{\partial p(r_0, t)}{\partial t} \frac{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_0|}{v} \frac{d\Omega}{\Omega_0}$$

PA イメージング装置は、レーザー光源と超音波を検出するトランスデューサーが重要な構成要素となる。光音響波発生のためには媒体の熱拡散よりも速い光励起が要求されるため、光源としてはナノ秒程度のパルスレーザー光源が用いられ、光パラメトリック発信器 (OPO) や色素レーザーを採用することで任意の照射波長を選択することも可能である。PA イメージを得るためには、1 点のみでの光音響波計測では画像構成のために十分なデータを取得することができないため、検出器の位置を変えながら様々な角度から光音響波を検出する。

多チャンネルのアレイ状トランスデューサーを備えていれば、多角度からの光音響波を同時に計測することができるため、撮像時間を大幅に短縮することが可能である。

光音響イメージングの測定例

PA イメージングは、励起波長に吸収帯を有する物質の空間分布を観察することができるため、ヘモグロビンやメラニンなどを直接検出することが可能である。腫瘍においては異常な血管新生のために正常組織とは血管の形状や分布が異なっている。そのため、PA イメージングによって腫瘍を直接観察することができる。図 2 に、ラット大脳皮質に mammary adenocarcinoma 細胞株を導入することで形成した腫瘍の画像を示す。図 2A、B はそれぞれ 3MHz および 20MHz のトランスデューサーで取得した PA 画像、図 2C は頭蓋を開いて撮影した光学写真である。PA 画像ではヘモグロビンによる強い光吸収のために、血液の分布が観測されている。図 2A、B を比較すると検出する超音波の周波数に依存して解像度が高くなっ

*1 Hiroyuki Aoki

Advanced Biomedical Engineering
Research Unit, Kyoto University
京都大学・先端医工学研究ユニット

*2 Masayuki Yokoyama

Medical Engineering Laboratory,
Research Center for Medical Science,
The Jikei University School of Medicine
東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・医用エンジニアリング研究室

ていることがわかる。PA 画像において、正常な脳左半球 (図中 LH) の血管 (V) と比較すると、腫瘍部 (図中 T) では血管の形状が異なっており、不規則に分布している様子が明瞭に観察されていることがわかる。さらに、腫瘍組織からの信号強度は正常組織からの信号より強くなっており、これは腫瘍部血管からの血液の漏れを示しているものと考えられる。このように PA イメージングによって腫瘍を直接観察することができる。

PA イメージングでは励起波長を変えることで分光学的な情報を得ることができる。その一例として酸素飽和度イメージングを紹介する。ヘモグロビンは酸化状態によって吸収スペクトルが変化するため、信号強度の波長依存性から酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンを定量することができ、酸素飽和度を見積もることができる。図 3 はマウスの脳の PA 画像である。図 3a の酸素飽和

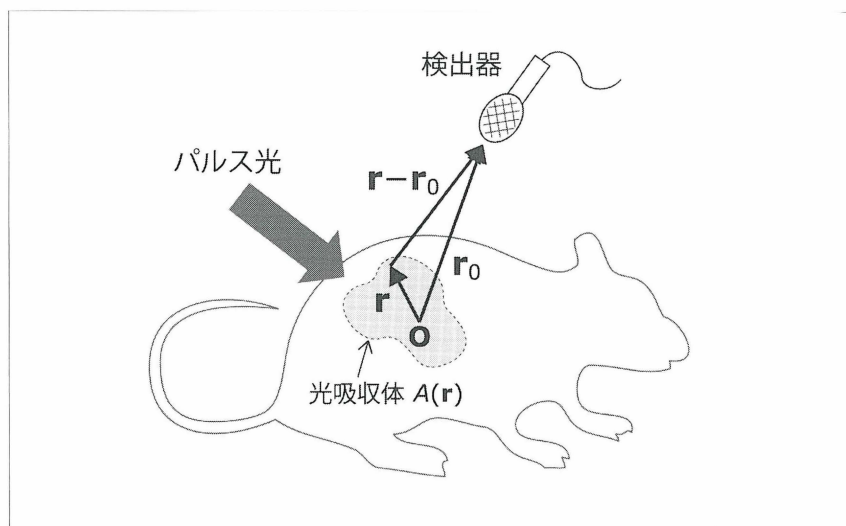


図 1 光音響イメージングの概念図。パルス光を吸収した組織の熱膨張によって発生した超音波を検出することで画像構築を行う。

度イメージでは右半球に存在する腫瘍部において飽和度が低くなっている様子が明らかであり、PA によって腫瘍における低酸素状態を明瞭にイメージングすることに成功している。一方、総ヘモグロビン濃度を示す図 3b では血管新生によってヘモグロビン濃度が増加していることが

わかる。図 3c および d に示した統計結果からも腫瘍においては正常組織よりもヘモグロビン濃度が高く、その酸素飽和度が低いことが示された。このように PA イメージングでは、組織の形状だけでなく分光測定によって酸素飽和度などの機能イメージングを行うことも可能であ

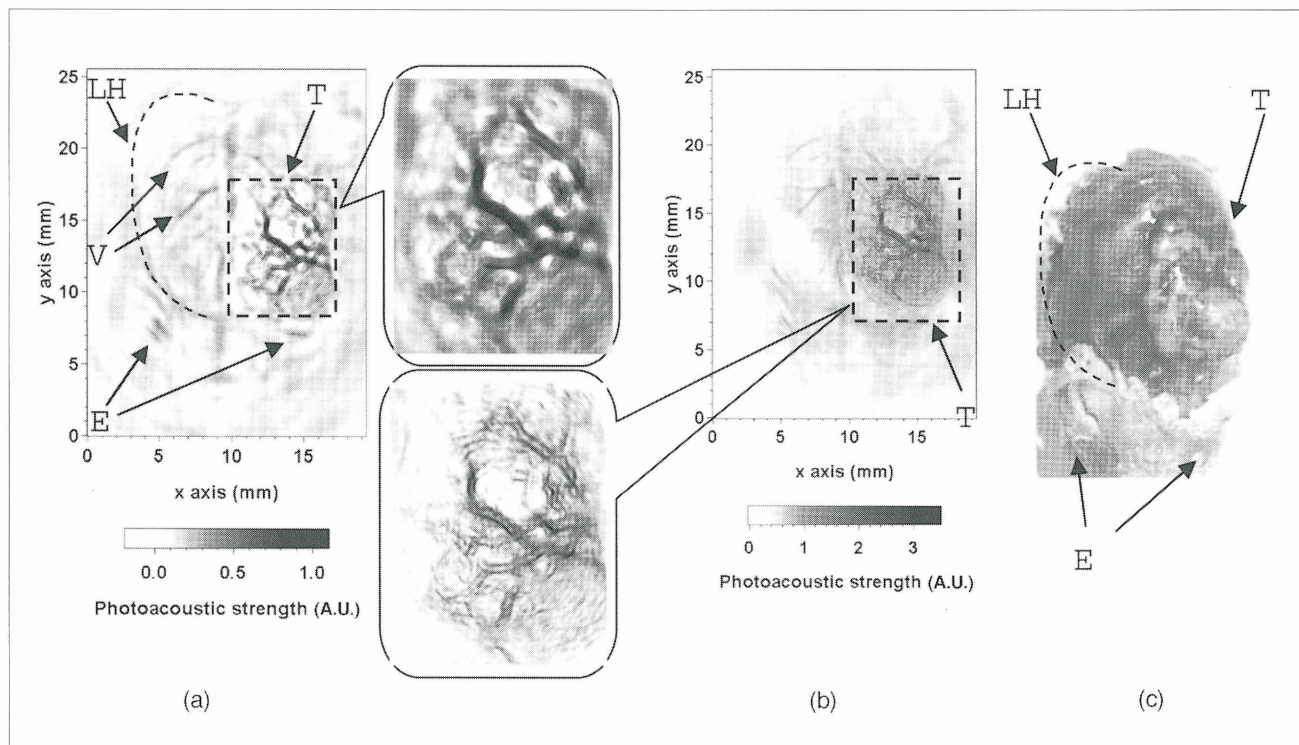


図 2 ラット脳内に形成した腫瘍の *in vivo* PA イメージ (a, b) と光学写真 (c)。Appl. Opt. 44, 770 (2005) より転載。

Copyright 2005 The Optical Society of America.

る。

ヘモグロビンなどの強く光を吸収する内在性物質を利用することで生体内部のPAイメージングを直接行うことができるが、リンパ系など光吸収を示さない組織については造影剤を用いることができる。PAイメージングの造影剤としては色素分子や蛍光タンパクを用いることができる。波長700～900nmに吸収帯を持つ色素を用いれば、生体の内在性物質による吸収や散乱の影響を最小限にして生体深部の観察が可能となる。これを応用してセンチネルリンパ節の造影が報告されている。さらに標的とする分子に特異的に結合するよう化学修飾を行うことで分子イメージングも可能である。PAイメージングの造影剤として、色素以外に金ナノ粒子、カーボンナノチューブの研究が行われている。粒径が10～100nm程度の金の微粒子はプラズモン共鳴によって光を強く吸収する。球形の金ナノ粒子では波長500nm近辺に吸収帯を有するが、ロッド状や中空のカゴ型構造にすることで吸収波長をチューニングすることができる。また粒子表面を修飾することで体内動態を制御することも可能であり、PAイメージングの有望な造影剤として注目されている。

カーボンナノチューブは近赤外領域までの広い波長帯の光を吸収する物質であり、PAイメージングのプロープとしての利用が報告されている。図4は単層カーボンナノチューブ(SWNT)を用いたPAイメージングの例である。ポリエチレングリコールで表面修飾することで水溶化したSWNTと、腫瘍新生血管に過剰発現する $\alpha_v\beta_3$ インテグリンに特異的に相互作用するRGDペプチドを結合したSWNT-RGDを用いて、腫瘍への集積性を比較してい

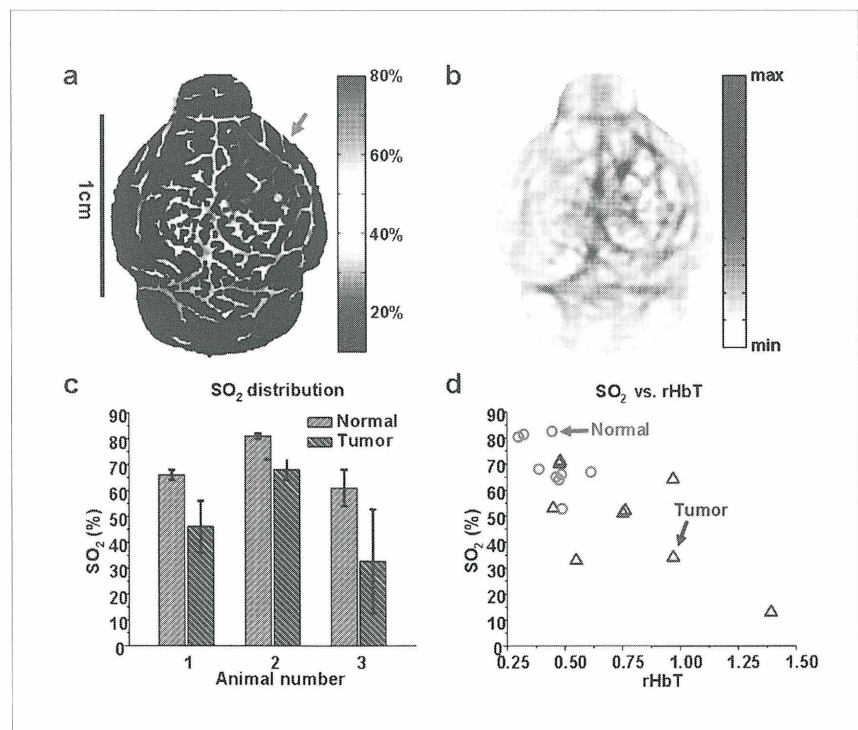


図3 マウスの脳の*in vivo* 機能PAイメージング。aおよびbはそれぞれ酸素飽和度とヘモグロビン濃度イメージ。cは正常および腫瘍組織中の平均酸素飽和度、dはヘモグロビン濃度と酸素飽和度の相関を示している。Proc. IEEE 96,481 (2008)より転載。Copyright 2008 IEEE.

る。図4aの左は通常のSWNT、右はSWNT-RGDを投与したマウス腫瘍部分の画像である。最上段は光学写真であり、二段目は超音波画像である。超音波画像では表皮が明瞭に観察されているが、内部の腫瘍は観察されていないことがわかる。3～5段目は超音波画像とPA画像の重ね合わせに相当する。5段目のプローブ投与前後の差分イメージを見ると、SWNT(5段目左側の画像)では超音波画像とあまりコントラストが変わらない、すなわち腫瘍へのSWNTの集積は見られないことがわかる。一方、SWNT-RGDを投与した場合(5段目右側)では、表皮の下に強い光音響信号が観測されており、SWNT-RGDが主要部分に特異的に集積していることがわかる。図4bは信号強度の時間変化を表しており、SWNTをRGDで修飾することで腫瘍への集積が約8倍向上したことがわかる。

光音響イメージングの特徴と測定において留意すべき点

PAイメージングは生体深部の三次元分子イメージングを低侵襲で実現することが可能であり、また蛍光イメージングや超音波イメージングなど他のモダリティとの同時計測も容易である。そのため、これまでに述べてきたように様々な情報を得ることができる。一方で測定において留意すべき点もある。PAイメージングでは検出した音波から画像構成を行っているため、得られる画像の空間分解能は検出する音波の周波数で決定される。高い周波数の超音波を検出することで、分解能が高く、詳細な構造まで観察することが可能であるが、その反面、生体内での透過性が低下するため深部観察は困難となる。また励起は光を用いているために組織の吸収や散乱の影響から逃れることはできず、深部ほど

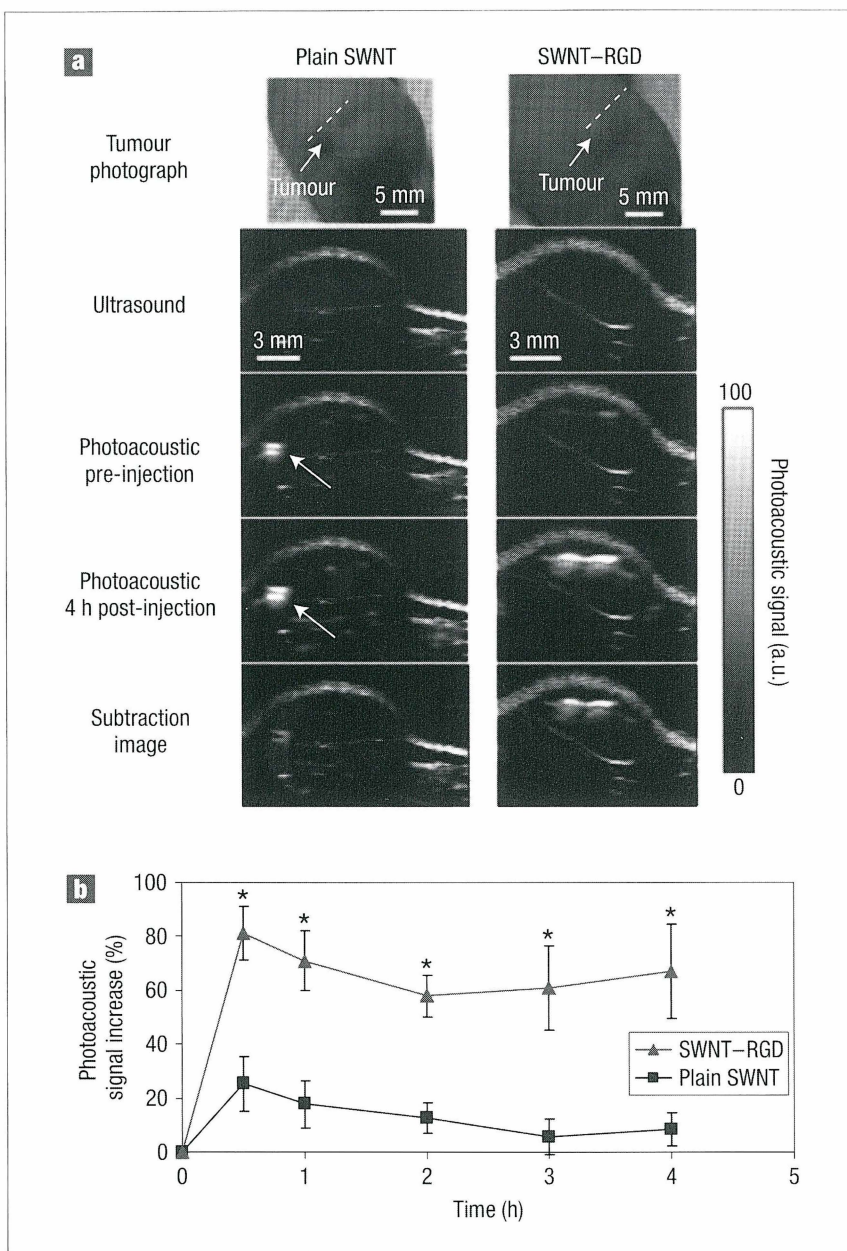


図4 SWNT および SWNT-RGD を投与した担癌マウスの画像(a)および腫瘍における SWNT の時間変化(b)。
Nat.Nanotech. 3, 557 (2008) より転載。 Copyright 2008 Macmillan Publishers Ltd.

照射強度は低くなる。そのため表皮近くが強く観察される傾向があることに注意しなくてはならない。また現状では信号の定量的な比較も難しいので、可能であれば蛍光などの他の手法での測定もあわせて行うことが望ましい。また観測対象とトランスデューサーの間は水あるいは超音波ゲルで満たされている必要があるため、小動物の *in vivo* 測定を行う

には測定部位がマウントできるか確認しておくことが必要である。

造影剤を用いる際には吸光係数の高いものを選定することが、高い信号強度を得るためには重要である。蛍光イメージングで用いられている色素を用いることも可能であるが、その際には蛍光量子収率に注意しなく

てはならない。蛍光量子収率が高い色素では励起エネルギーが熱ではなく蛍光として放出されるため、十分な強度の光音響波を発生しない可能性がある。そのため PA イメージングのプロブとしては量子収率の低いものを選定することが必要である。適当な量子収率であれば光音響波とともに蛍光も観察することができるため、蛍光イメージングと PA イメージングを同時に行うことも可能である。

光音響イメージング装置の実例

上記で紹介した PA イメージングの研究例はいずれもカスタムメイドの装置によって測定されたものであるが、最近では市販の装置も入手できるようになっている。図5に小動物用の装置構成の例を示す。半球状に配置された複数のトランスデューサーによって一度に多角度からの光音響信号を効率よく受信し、短時間での小動物の三次元計測が可能になっている。このような方式の他に、超音波撮像装置のオプションとして近赤外可変波長レーザーユニットを組み合わせる事により、ハンドヘルド型探触子で光音響画像を取得できるものなどがあり、導入の際には各モデルの特徴を理解した上で、目的とする計測にあわせた機器を選定する必要がある。

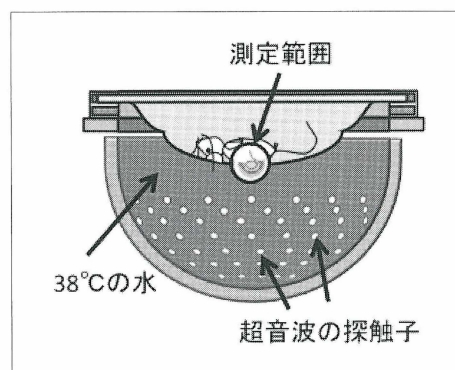


図5 光音響装置によるマウスの *in vivo* イメージングの例

おわりに

PA イメージングの *in vivo* 計測への応用はまだ普及しているとはいえず、測定からデータの解釈にもまだノウハウの蓄積が必要である。その一方で PA イメージングの特徴は小動物の評価に有用であるものと考えられる。本稿によって読者の皆様に少しでも興味を持っていただければ幸いである。

日本国内での販売メーカー

(1) 三洋貿易株式会社

アメリカ ENDRA 社製の Nexus 128

<http://www.sanyo-si.com> <http://www.endrainc.com/>

(2) 住商ファーマインターナショナル株式会社

ドイツ iTheraMedical 社の MSOT

<http://www.summitpharma.co.jp/japanese/>

(3) プライムテック株式会社

カナダの Visual Sonics 社製の超音波画像装置 VEVO にアタッチメントを追加して光音響画像装置として使用できる

<http://www.primetech.co.jp/>