解 説

REVIEW ARTICLE

バイオフィotonicsとレーザー医学の現状と将来展望

菊地 眞

防衛医科大学校防衛医学研究センター／医用電子工学講座

(平成17年2月8日受理, 平成17年3月17日掲載決定)

Status and Perspectives for biophotonics and Laser in Medicine

Makoto Kikuchi

National Defense Medical College Research Institute, Department of Medical Engineering

(Received February 8, 2005, Accepted March 17, 2005)

要 約

最近バイオフィotonics／レーザー医学においては、新領域として発展する分子生物学, 組織工学さらにはナノテクノロジーへの関心が高まっている. これらの新たな技術を取り入れることにより, 革新的で高性能な臨床用レーザー技術の登場が期待される.

キーワード: 分子イメージング, 再生医療の評価技術, 遺伝子・蛋白医学への応用

Abstracts

Recently among the biophotonics and laser medicine increased attention has been given to the revolutionary advances in molecular and tissue engineering, and nanotechnology as a new field. Many areas of laser medicine are expected to benefit from these kinds of emerging technology and take route to the innovative and high-performance clinical technology.

Key Words: molecular imaging, evaluation technology for regenerative medicine, Genome and proteome medical application

1. はじめに

20世紀社会は物理科学技術の進歩を基盤に発展したが、21世紀は“ヒト”の世紀であり、生命科学の進歩とその医学応用が人類にとって最も期待されている。その背景には先進諸国に共通する高齢社会の深刻化があり、発展途上国を含めて医療・福祉にまつわる革新的技術開発が必要である。医用生体工学 (Medical and Biological Engineering) は1960年頃から本格化し、半導体技術や情報処理技術が中心となって各種の医用画像装置やレーザー手術装置、さらには画像支援下ロボット手術装置などが開発された。それら20世紀の医用工学技術の中にも光技術は多用されてきたが、今後は新たに細胞組織工学や分子生物学、さらにはナノテクノロジーと光技術を融合させた新たな医療技術が数多く誕生するものと期待される。ヒトゲノム解析がほぼ終了したことにより、ゲノム医学や再生医療が発展することが予想され、数nm～数10nmの遺伝子、分子レベルから組織・器官・臓器、さらには個体レベルのバーチャルヒューマン科学まで様々な学際領域の医科学技術が複合的に利用されて先端医療技術へ進化していく。

我国におけるレーザー医学は、レーザーが固有する特質を医学、医療に積極的に適用する事を目指して1977年に前身である医用レーザー研究会が創設され、続く1980年に日本レーザー医学会に昇格して本格的活動が始まった。当時は国際的趨勢として、外科用金属メスの代替としてのレーザーメスに関心が集まり、当然ながら外科を

中心としたレーザー外科学から始まった。その流れはファイバー導光技術の進歩に伴い、短期間のうちにレーザー内視鏡手術に拡大し、低侵襲外科治療という時代的要求と合致して多に発展した。さらには、紫外線、中赤外線波長を持つ各種レーザーや波長可変レーザー、超短パルスレーザーなど新たなレーザー光源が次々と開発され、また光線化学療法 (Photodynamic therapy) のように診断/治療の質の向上に寄与するレーザー医学の新たな技法が誕生した。しかしながら1990年半ば以降今日まで、かつてレーザーが初めて外科手術に応用された時のような大きなインパクトが生み出されていないと感じるのは、筆者だけではないと推察する。何故であろうか？光熱作用を中心としたレーザーの特質は既に充分医療に貢献しており、研究の域は過ぎている。すなわち、今後のレーザー医学は新たな研究課題に向けて、再び『開拓の時代』に突入せねばならないと考える。

今日の基礎、臨床医学は、共に20世紀終盤に目覚ましい進歩を遂げた分子生物学を基盤にしたゲノム医学に変貌しつつあり、遺伝子レベルでの医学研究が急展開している。また1990年代には発生学や細胞生物学の進歩により、各種細胞を発生、分化、増殖させるサイトカインと培養の足場となるスカホールドを用いて、細胞の分化・増殖を人工的に制御する細胞組織工学が発展し、その研究成果が再生医療として臨床応用されることが確実視されつつある。このような主要な医学研究対象の変貌に加えて、工学側でも2000年には21世紀の科学技術の基盤となるナ

Table1 ナノテクノロジーの医療技術への応用

	項 目	応 用	技 術	効 用
機 器・薬 剤	医療機器・用具の微小化	カプセル消化管カメラ ロボット手術用微細マニピュレータ (個体差)薬品製造	マイクロ加工 化学IC	無侵襲検査 低侵襲治療 テーラーメイド創薬
低 侵 襲・高 感 度・微 小 検 査 技 術	マイクロ検査・診断デバイス	DNAチップ プロテインチップ セルチップ ヘルスケアチップ	ナノ加工 cell-based biosensor 無痛注射針 化学IC (μ TAS, Lab. on a chip)	生化学検査 DNA検査 無侵襲検査 実時間検査 連続検査
	マイクロイメージング	生体画像 細胞画像 分子画像	RI + 生体分子 量子ドット マイクロX線発生器	生体分子動態 In situ 多元的観察 μ -PET, μ -MRI
低 侵 襲・標 的 治 療 技 術	医療材料・バイオマテリアル	医療用具 体内埋込材 人工臓器	ミクロ相分離構造 表面修飾 ドメイン制御 バイオインターフェース	生体反応制御・抗血栓性 細胞マトリックス(再生医療) 生体成分分離(細胞治療・人工臓器)
	薬物徐放システム (DDS)	薬物投与 (部位 量 タイミング)の制御	リボソーム ポリマーミセル デンドリマー 超分子 物理エネルギーとの併用(US, Laser, EMW, Shockwaveなど)	ステルス効果 ターゲティング 遺伝子ベクター 刺激応答性

Table2 NIBIBが取り組む4つの研究課題

-
- (1) New Technology — Biosensors, Cellular / Molecular Imaging
 (2) Regenerative Medicine
 (3) Bioinformatics & Robotics — Multi-modality Data Complex Systems Modeling
 (4) Image Guided Intervention — Merger of Diagnosis and Therapy Guided Genomics
-

ノテクノロジーが米国でNNI (national nanotechnology initiative) として大々的に提唱され、物理工学の分野でも遺伝子、蛋白と同等の寸法を扱う超微細工学技術が注目されている。バイオ技術とナノ技術を融合化するナノメディシンは、Table1に示す如く種々の医学応用が期待されている。米国では2001年にNIHの中に、新たにNIBIB (National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering) が創設され、そこではTable2に示すような研究課題を中心的に取り扱うことが、初代研究所長 (R. I. Pettigrew) により表明されている。さらに、米国では2004年1月に National Science FoundationによりCBST (Center for Biophotonics Science & Technology) が創設されている。レーザー医学の研究を支える体制として、米国では、Wellman Laboratories of Photomedicine や Beckman Laser Institute & Medical Clinic、欧州ではドイツのMedical Laser Center Lübeckなどがあり、21世紀の医学を支える光医学や光生命科学について体系的、包括的に取扱う研究機関が存在しているにもかかわらず、我国においては、横断的・統合的な取り組みが未だになされていない現状に対して、日本レーザー医学会として強い警鐘を鳴らすべき時ではなかろうか。

2. バイオフォトンクス／医用レーザーの最近の動向¹⁾

元来医用レーザーは、レーザー手術装置に代表されるようなレーザーエネルギーを利用する応用形態が多かったことから、レーザーはそもそもエネルギー源として開発されたように誤解されがちだが、実はレーザーが誕生した社会科学的背景には、情報通信基盤技術としての意味合いが強かった。1950年代半ばに米ソによる人工衛星打ち上げ競争が始まり、人工衛星は軍事通信衛星として極めて重要な意味を持っていた。それは、他の何よりも広い周波数帯域を利用できることであり、例えば大西洋を越えたテレビ放送 (動画通信) 一つを例に取っても、当時の海底ケーブルでは到底実現出来なかったからである。衛星通信を可能にするには広帯域周波数にわたる低雑音増幅技術が必要であり、この要求に応えるべくメーザー (Maser: 電磁波の誘導放出によるマイクロ波の増幅) が最初に誕生した。メーザーの基本的原理の可能性を最初に示唆したのはロシア人のファブリカン (V.A.Fabrikant) で、1951年に特許を申請したが1959年まで公告されなかった。従って実際のきっかけは、1954年に出されたタウンズ (Charles H. Townes)、ゴードン

(James P. Gordon)、ジーガー (Herbert J. Zeiger) 等による小論文である。このように通信用技術として多大に貢献したメーザーの基本概念が、その直後にレーザーを生み出すことになった。レーザーの可能性を示唆したのもタウンズであり、ベル研究所の同僚ショーロウ (Arthur L. Schawlow) とともにカリウム元素を気体にしてレーザー作用が生じることを立証し、1964年にこの業績でノーベル賞を受賞した。レーザーを実際に発振させたのはメイマン (Theodore H. Maiman) であり、1960年5月15日に世界初のレーザー発振公開実験を挙行了した歴史は多くが知るところである。すなわち本来的にレーザーは、エネルギー応用が目的ではなく、今日のIT (情報技術) の基盤技術として発明されたわけであり、レーザー医学応用においても、これまで本学会ではあまり関心を示さなかった計測応用を含めたバイオフォトンクスのような新たな領域の利用法に、今後はより大きな関心を寄せる必要がある。

米国で毎年開催される SPIE (Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers) の年次大会の内容を見ると、その傾向は明らかである。SPIEは1955年に Photography から始まり、今日までの半世紀に photonics として変容し発展を遂げてきた。特徴として、フォトンクスと基礎医学、臨床医学、細胞生物学、分子生物学などが中心課題の BiOS (Biomedical Optics) と、光要素技術やシステム開発などのLASER (Lasers and Applications in Science and Technology)、Optoelectronics (Integrated Optoelectronic Devices) やMOEMS-MEMS (Micro and Nanofabrication) と言った基盤光技術の関連学会が同時期に同会場で共催されることであり、医学、生物学者も最新の光技術開発を毎年見聞きしながら自身の研究に一早く導入出来ることである。BiOSの2005年年次大会におけるセッションをTable3に示すが、同表の(A), (B)に示されたセッションでは、レーザー臨床医学に近い領域の演題が多数報告されており、我国の光・物理関係学会には見られない医工連携が見られる。米国にも、日本レーザー医学会と同様の ASLMS (American Society for Laser Medicine and Surgery) があるが、その他に上記 BiOS のような横断的に情報収集や議論が行える場が米国におけるレーザー医学の基盤を学術・技術面から支えており、物理系の学会では今日でも殆ど生物学・医学が取り上げられていない我国の現状を考えると、そのような機会を創生する意味から、日本レーザー医学会が以下に述べるような新領域

Table3 BiOS2005のセッション内容

(A) Photonic Therapeutics and Diagnostics

- Photonics in dermatology and plastic surgery
- Lasers and other technologies in Urology
- Laser welding and soldering of tissue
- Advanced technology and instrumentation in otolaryngology : Lasers, optics, radio frequency, and related technology
- Innovations in clinical applications of minimally invasive devices and techniques
- Diagnostics and therapeutic cardiovascular interventions
- Optical techniques in neurosurgery and brain imaging
- Biophotonics in veterinary medicine
- Lasers in dentistry
- Ophthalmic technologies
- Laser and noncoherent light ocular effects : epidemiology, prevention, and treatment
- Optical methods for tumor treatment and detection : mechanisms and techniques in photodynamic therapy

(B) Clinical Technologies and Systems

- Coherence domain optical methods and optical coherent tomography in biomedicine
- Optical fibers and sensors for medical application
- Advanced biomedical and clinical diagnostic systems
- Optical tomography and spectroscopy of tissue
- Spectral imaging : instrumentation, applications, and analysis
- Terahertz and gigahertz electronics and photonics
- Commercial and biomedical applications of ultrafast lasers

(C) Biomedical Spectroscopy, Microscopy, and Imaging

- Imaging, manipulation, and analysis of biomolecules, cells, and tissue
- Multiphoton microscopy in the biomedical sciences
- Three-dimensional and multidimensional microscopy : image processing and acquisition
- Optical diagnostics and sensing

(D) Nano /Biophotonics /Quantum Dots

- Plasmonics in biology and medicine
- Microarrays, combinatorial techniques, and high throughput screening
- Genetically engineered and optical probes for biomedical applications
- Nano/biophotonics and biomedical applications
- Microfluidics, bioMEMS and medical microsystems

(E) Tissue Optics, Laser-Tissue Interaction, and Tissue Engineering

- Optical interactions with tissue and cells
- Complex dynamics and fluctuations in biomedical photonics
- Photons plus ultrasound : imaging and sensing
- Thermal treatment of tissue : energy delivery and assessment

と課題に積極的に取り組むべき責務は極めて大きい。Table3の (C), (D), (E)に示される研究分野は基礎医学的側面が強いが、近い将来に臨床に繋がる可能性を秘めた新技術が多く散見され、臨床研究にも資するフォトニクス/医用レーザー技術であることは間違いない。(C)に示したspectroscopy, microscopyや imaging技術は後述する分子イメージングに連なる課題であり、(D)は遺伝子工学やナノテクノロジーに関連するフォトニクス/レーザー技術

である。さらに(E)では、細胞、組織と光の相互作用に着目して、今後臨床技術としても最も関心が高い再生医療に不可欠な Tissue Engineering を正面から取り上げるなど、物理・工学系と生物・医学系の融合が急速に進みつつあることを証明している。その他(B)では、我国でも関心が高まっているテラヘルツ、ギガヘルツ帯光技術が取り上げられており、近い将来それらの技術を用いて病理診断技術が革新的に進歩することが予測されている。またフェムト秒など超短パルスレーザーを用いた新たな Photobiopsyなどが期待される。日本レーザー医学会はレーザーを中心とした光技術の医学的応用を所掌する我国の中心的学会であり、より広範に最近の学術的趨勢を的確に捉えて、その技術基盤を支えるいくつかの物理系学会とも大同団結して生物学・医学・医療におけるレーザー技術の発展と拡大に更に努めるべきものと考えられる。

3. 再生医療とバイオフォトンクス / レーザー技術²⁾

近年再生医療が極めて注目されるが、実は再生医療の草創期はレーザー医学とほぼ時代を同じくしている。1975年にGreenらが皮膚の表皮組織はその表皮細胞の培養によって生体外で再生できることを示し³⁾、この培養表皮を1981年に熱傷患者の臨床治療に用いている。またBellらは表皮のみでなく真皮も培養法で再生出来ることを示し、表皮と真皮からなる培養皮膚を熱傷患者に移植した⁴⁾。一方Yannasらは、培養ではなく表皮細胞を播種したコラーゲンスポンジシートを皮膚の全層欠損部に貼付すると、そこで皮膚が再生し臨床に応用できることを示した⁵⁾。1990年代に入ると関節軟骨の欠損に対して、患者軟骨から採取して約10倍に培養した軟骨細胞を注入することにより再生できることがPetersonらによって示され⁶⁾、欧米のみならず我が国でも臨床応用が始められた。その後の再生医療に関する国内・外の概略の流れをFig.1に示す。組織再生に必要な道具立ては、種となる細胞と足場材料(スカフォールド)と細胞分化・増殖因子(各種サイトカイン)の三つである。細胞には自家(Autologous)、同種(Allogeneic)、異種(Xenogeneic)のいずれかを用いることができる。同種と異種細胞には抗原性という大きな問題が存在するため、よく用いられるのは自家細胞である。細胞は分化の程度に応じて胚性幹(ES)細胞、組織幹細胞、前駆細胞、芽細胞などに分類される。ES細胞はあらゆる組織を作り出せる万能細胞として大きな期待が寄せられているが、倫理的問題が残る。現在再生医学研究において最も頻繁に利用されている細胞は、線維芽細胞、骨芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞などの芽細胞である。これらは、すでに目的とする組織を再生するまでに分化しているうえ、増殖能も分泌能も高いため、臨床応用での問題点が少ない。ある組織への分化が決定された組織幹細胞も魅力ある細胞群であり、造血系、神経系、上皮系、間葉系などが知られている。間葉系幹細胞からは、骨、軟骨、筋肉、脂肪、靱帯、腱などの組織が再生する。間葉系幹細胞は骨髄から容易に得られ、また分離されたヒト間葉系幹細胞が市販されて

Fig.1 米国、及び日本の再生医療関連学会の歴史的流れ

Fig.2 細胞組織工学を利用した医療支援システムの実現に必要なとなる過程

いることから、間葉系幹細胞に関する研究が現在最も進められている。この他、臍帯血や羊膜の分化転換による再生も研究が進みつつある。足場は人工細胞外マトリックスと呼ばれ、一般に再生すべき組織と同じ形状をしている。マトリックス内部への細胞の入り込みと、栄養供給を容易にするため、足場材料は多孔体である。さらに細胞が十分に付着できるような表面特性にする。足場材料はこれらの条件を満たすと伴に、必要な強度を保ちつつ、最終的には分解して体内に吸収されることが望ましい。このような足場の素材には、コラーゲン、ポリグリコール酸、乳酸共重合体、ヒドロキシアパタイトなどが用いられている。三次元多孔体の内部に血管網を張り巡らせるためには超微細加工技術が役立つ。細胞と足場以外に再生医学に必要なものは、細胞成長因子のようなサイトカインである。再生速度が遅かったり、ある目的の組

織に分化させたい場合に細胞分化・増殖因子が用いられる。サイトカイン水溶液を目的部位に注入するだけでは周囲に拡散してしまうので、徐放化のためのキャリアを用いたり、遺伝子操作を施した細胞からサイトカインを分泌させることが試みられている。

このような細胞組織工学利用医療技術を経臨床技術に成熟させるには、Fig.2に示すような全てのプロセスの技術を確認させる必要がある。また産業として成立させるには、細胞の大量培養技術の他にも、生産した細胞や組織の品質を保証するためのバリデーション技術が必須要素であり、無侵襲計測が望まれることからバイオフォニクスにかけられる期待は大きい。具体的には、①*in vitro*で培養・増殖した移植用再生組織そのものの品質管理、②治療前の*in situ*診断、③再生組織を移植した後の医療評価が、一連に行える計測・評価システム(Fig.3)が求められる⁷⁾。評価システムでは、従来から発展してきた形態画像技術だけでなく、機能計測画像技術を新たに確立させる必要がある。治療前診断では、障害や不全を起こしている組織・臓器の障害度(変性度)を、周囲組織の品質管理(Quality Control)では、生物学的構成三要素である細胞、人工細胞外マトリックスとしての担体(Scaffold)、およびシグナル伝達系(調整因子)を組み合わせる組織工学的に構築された移植用再生組織とその構築過程を検定し管理する。経過観察及び医療評価では、移植後の細胞・組織を*in situ*で観察することや、移植後の周囲組織との生着状態を評価する。さらに医療評価では、再生された組織・臓器の機能が生来のものと比べてどの程度修復されたかを経

時的に評価する。これらを一元化して実現することで、初めて再生医療の臨床医療における効果が評価できることになる。これらの過程を満たすには、①既存の画像技術が応用できる場合、②既存技術を組み合わせたり、または専用プローブなどを新規に開発することで目的を満たす場合、並びに③全く新たな計測・画像技術を開発する必要がある場合、が考えられる⁸⁾。既存技術の主要なものとして、光学計測法、IVR (interventional radiology)、PET (positron emission tomography)、MRマイクロイメージング、fMRI (functional magnetic resonance imaging) が挙げられる。一方、最近ではナノテクノロジーの応用として、生体分子マーカーを目指した量子ドットも使用されている。カリフォルニア大学バークレイ校のP. Alivisatos教授らは粒径2(緑色)～4(赤色) nmのCdSe-CdSコアシェル微粒子を用いたナノバーコードを開発したが⁹⁾、最近

Fig.3 再生医療における計測・評価技術の重要性
(石原・文献7) より引用)

では細胞毒性が少ないシリコン系材質で作成した量子ドットが国産で供給されている。このようなバイオフォトンクスと細胞組織工学を融合させた細胞の種々の特性を生きた状態のままハイスループット計測出来る技術が今後極めて重要になる。

4. 遺伝子・蛋白医学とフォトンクス / レーザー技術¹⁰⁾

再生医療と並んで、今後の医学や医療技術に大きな影響をもたらす分野として遺伝子医学がある。分子生物学の発展は1990年代のヒト遺伝子構造の解明をもたらしたが、その基盤にはまさに遺伝子工学とバイオフォトンクスの融合で発明されたDNAチップがある。1990年初頭にAffymetrix社により開発されたGene ChipTMの方式は、光照射で選択的に除去される保護基と半導体製造で利用されるフォトリソグラフィ技術を用い、基盤上で数10 μm の矩形ごとに高密度にオリゴヌクレオチドの合成を行うものである。DNAチップの原理は、スライドガラスなどに高密度に多数固定したDNA(プローブDNA)と、蛍光色素で標識したDNA(ターゲットDNA)とのハイブリダイゼーションを蛍光検出することである。ハイブリダイゼーションとは相補的な塩基配列をもつ1本鎖のDNA同士が互いに結合し、2本鎖を形成することである。つまり、チップ上でハイブリダイゼーションしたDNAスポットの蛍光強度を測定することでターゲットDNA中の対象となる遺伝子情報を得ることができる。DNAチップでは、2種類の蛍光色素Cy3(励起波長550nm, 蛍光波長570nm), Cy5(励起波長649nm, 蛍光波長670nm)を使用し、蛍光強度の比較により遺伝子の発現状態や異同配列の存否を調べる。遺伝子の発現状態は、細胞内のメッセンジャーRNA(mRNA)の存在量に反映されることから、刺激を与えられた細胞(又は病変部位の組織)と基準する正常細胞(または正常組織)からそれぞれ抽出したmRNAを比較対象として推定する。それぞれ同量のmRNA試料から逆転写反応の利用によりDNAを調整し、刺激細胞を各々蛍光色素で標識し、各蛍光物質を各細胞のmRNAを区別する目印とする。この2種類の蛍光標識

DNAを1対1で混合して、DNAチップ上で反応させる。DNAチップには既知の塩基配列をもつDNA断片が高密度固定されており、各DNAスポットにおいて蛍光強度と比率を調べて、全スポットの検出パターンから機能的遺伝子形質発現の存否を推測する。

現在世界中でDNAチップ技術の開発が行われ、その作成原理は二つに大別される。その一つが上記のAffymetrix社により開発されたGene ChipTMであり、現在のところ世界で唯一規格標準化されたDNAチップである。Affymetrix方式は、前述したように光照射で選択的に除去される保護基と半導体製造で利用されるフォトリソグラフィ技術を用いて基盤上で数10 μm の矩形ご

とに高密度にオリゴヌクレオチド合成を行うものである。これに対して、Stanford大学のP. Brownらによって開発された方法はシンプルである。これは、予め調整されたDNAを96穴もしくは384穴のマイクロプレートに分注し、半導体で用いられるような高精度ロボットを用いてスライドガラス上に高密度にスポットする方法である。この方式はAffymetrix方式に比べ、DNAチップ制作コストが低く、個々の研究者によるカスタムチップを作成できる利点を有し、多くの大学・研究機関で使用されている。DNA Chipスキャナーは、DNAチップ上でハイブリゼーションした蛍光を検出する装置であり、スキャナーにおいて重要な点は検出感度、スキャナー速度や操作性が挙げられる。現在、検出系として共焦点レーザー式とCCDカメラ式の二種類が市販されている。検出感度という点では共焦点レーザー式が優れ、ほとんどのメーカーはこの方式を採用しているが、CCDカメラ式では一瞬で蛍光を検出できる利点がある。

このような体外診断法としての遺伝子診断技術の他に、遺伝子治療に関連しても後述する分子イメージングが最近とみに注目されている。分子イメージングは遺伝子治療において体内の遺伝子機能発現を直接的に観察できる可能性を秘めており、その他にも特異的機能イメージングとして種々の分子画像が期待されている。なお遺伝子医学に関連して、遺伝子レベルの超選択的診断や治療を行うには生体組織中の超微量サンプルを正確に採取したり注入する必要がある。Laser capture microdissection (LCM) はこれらのニーズに伴って登場したレーザー応用技術といえる。従来、癌組織における発現遺伝子量解析などでは、組織全体をホモジナイズするか培養細胞を用いて研究するしかなかったが、LCM法とreal time reverse transcription polymerase chain reaction (real time RT-PCR) 法を組み合わせることにより、生体内の癌細胞における動態解析を正確に行うことが出来る。

一方、医学にとっては遺伝子情報そのものよりは、むしろそれにより産生される蛋白質の構造と機能がより直接的に疾患に結びつくことが多い。すなわち、ポストゲ

Table4 ポストゲノムに必要な測定・解析技術

解析分野		解析の目的	医療分野での応用	主な解析方法
ゲノム	比較解析	全ゲノム(遺伝子)を生物間で比較し、その共通点及び差異を明らかにする	進化の解明, ゲノム創薬など	
トランスクリプトーム	多型解析	生物の固体間のゲノムの多型と、形質の発現(表現型)との差異との関連を明らかにする	ゲノム創薬, 画期的な診断法の確立など	DNAチップ, マイクロアレイ, キャピラリー電気泳動など
	発現解析	細胞に存在するmRNAを対象に, 遺伝子間の相関関係や制御の仕組みを明らかにしたり、特定の形質の発現(表現型)の関連遺伝子を特定したりする	ゲノム創薬, 画期的な診断法の確立など	DNAチップ, マイクロアレイなど
プロテオーム	1次構造解析	各種のタンパク質のアミノ酸配列を明らかにする	ゲノム創薬など	質量分析, ペプチドシーケンサなど
	立体構造解析	酵素や膜タンパク質(受容体)などの各種タンパク質の立体構造を明らかにする	ゲノム創薬(ドラッグデザイン)など	X線血漿構造解析, 核磁気共鳴(NMR)解析など
	発現解析	細胞内に存在している全タンパク質を対象に, タンパク質間の相関関係や制御の仕組みを明らかにする	ゲノム創薬, 画期的な診断法の確立など	二次元電気泳動, クロマトグラフィ、質量分析, ペプチドシーケンサなど
	相互作用解析	抗原抗体反応, 免疫反応, 酵素反応などタンパク質間の相互作用を明らかにする	抗原抗体反応, 免疫反応, 酵素反応などタンパク質間の相互作用を明らかにする	クロマトグラフィ, NMR解析, 表面プラズモン, ファージディスプレイ法など
メタボローム		細胞内に存在する全代謝物を対象に解析を行う	ゲノム創薬など	質量分析, NMR法など
グライコーム		細胞内に存在する全糖鎖を対象に解析を行う	ゲノム創薬など	質量分析, キャピラリー電気泳動など

Table5 プロテインチップ製作上の技術課題とその対策

- (1)チップ基盤へのタンパク質の固定化
DNAと異なりたんぱく質は活性が失われやすい
⇒基盤表面部位を微小柱状にする方法
- (2)相互作用するタンパク質を特異的結合状態にしておく
一義的方法(非特異的タンパク質の除去)
⇒DNAチップのように一義的な洗浄操作がない
- (3)結合タンパク質の検出と同定方法
たんぱく質の特異的結合を阻害するため
蛍光標識法が使用できない
⇒水晶発振子法、プライマー／蛍光色素法
- (4)チップ上でのタンパク質のプロファイリング
⇒ナノ粒子＋有機色素＋flow cytometry、
円柱型ナノ粒子＋金属バーコード

ノムとしてプロテオームが注目され、Table4に示すようにDNAチップとは異なる解析技法が求められる。最近では新たな手法としてTable5に示した技術的課題を克服してプロテインチップが開発されている。ここではチッ

プ技術の他に、MELDI-TOF-MS検出技術(田中耕一氏がノーベル化学賞受賞)が用いられており、例えば、プロテインチップを用いて藤岡、菊地らによりFig.4に示すような胃癌における正常細胞と癌細胞の蛋白発現の差異が観察されている¹¹⁾。その他、最近では新たに波長可変レーザーなどを用いて、多波長レーザー励起で多面的に質量分析する試みが始められている。

5. 分子イメージングとフォトニクス

生体内の特定分子を*in vivo*で特異的に可視化しようとする試みは、様々な放射性リガンドを駆使できる核医学の特徴を十分に活かしたもので、分子イメージング(Molecular Imaging)と総称される¹²⁾。実際に“分子イメージング”の名称が広く使われ始めるようになったのは2003年頃からであり、ポストゲノムプロジェクトとして、米国を中心に多額の研究費が出たこと、「サイエンス」などの主要ジャーナルに特集として取り上げられたこと、さらには、米国で学会が立ち上がったことなどに起因する。2003年8月にはサンフランシスコで第2回SMI(The Society for Molecular Imaging) Conference が開催され、約700名の参加者があった。ヒト遺伝子解析が完了し、遺伝子情報だけではさまざまな生命現象を説明する

Fig.4 プロテインチップを用いた
胃癌細胞と正常細胞の蛋白発現の差異

Fig.5 医用画像技術の進歩と医科学発展の相関

Fig.6 今後期待される分子イメージングの対象領域

には不十分であることが認識されるに至り、これからの生命科学の方向性を模索する上で分子イメージングが重要視されるようになった。米国では、molecular imaging というよりも、むしろmolecular genetic imaging の色彩が強い。元来イメージング手法は、従来の生化学的研究手法と異なり、物質の存在部位とその機能を同時に観察して評価するための手法であり、新しい物質を探索する方法ではない。従ってその観察により新たなものが発見されるのではなく、個体内に生じている様々な現象を分子

レベルで画像化して観察することで、遺伝子改変の影響などを経時的に捉えようとするものである。

5.1 画像技術における分子イメージングの位置付け

今から約30年前にX線CTが実用化されて、ヒトの脳の断層像ができ、神経疾患の診断に革命をもたらした。また20年前にはMRIが臨床応用されるようになり、その後の技術的進歩により全身の画像診断が革命的に進展した。現代医学において多大な革新をもたらした技術・学問分野として画像診断学と分子生物学が挙げられ、それらが分子イメージングとして融合しつつある。形態診断法としてのX線CTやMRIは既に機能診断法として役立ち、SPECTやPETは機能診断法から代謝診断法へと変貌を遂げている (Fig.5)。Function MRIやPETの展開は高次脳機能の解明や分子機能画像を可能にしたが、その延長として分子イメージングが近い将来の遺伝子治療の評価法や創薬のための基盤技術として期待される。

5.2 分子イメージングの主な対象

分子イメージングの目的としては、種々の画像化法を駆使して、分子レベルで生体活動を経時的に可視化し、生命科学における分子機構の意義を解明することにある。得られる情報は、単に分子機構の解明のみならず診断のための基礎データとなりうるもので、薬剤の開発、ドラッグデリバリー手法への応用など、今後の新しい医学の発展に寄与するシーズとなる知見をもたらす可能性がある。分子画像を具現化する対象としては、Fig.6に示すように分子画像を「特異的機能イメージング」として捉え、神経伝達・受容体イメージング、抗体/ペプチドイメージング、さらには遺伝子イメージングとしてのアンチセンスやレポーター遺伝子を用いた手法が試みられている¹³⁾。例えば、循環器領域においては、動脈硬化、心移植拒否反応、心筋アポトーシスやネクロシスの分子画像化が試みられており、種々のトレーサーが開発されている。

分子イメージングの当面の課題としては、概略以下のような事が挙げられる。

- ① 癌が最も大きなターゲットになっており、分子イメージングは様々な面で重要である。現在、ヒトにも使われている¹⁸F標識デオキシグルコース (FDG) は癌診断のゴールドスタンダードになりつつあるが、それ以外にも様々な手法が考えられている。今後は細胞生物学で得られた知識を全身のイメージング技術に広める必要性があり、さらに新しい造影剤などを開発することが重要である。癌細胞の転移に関して、細胞間の結合は*in vivo*では良く分かっていない。それを画像化することで、癌の転移や進展のメカニズムが解明されるものと考えられる。
- ② 分子治療、遺伝子治療に分子イメージングは重要となる。レポーター遺伝子 (画像化可能な蛋白や受容体などの遺伝子を治療用遺伝子の近くに埋め込むことによって、実際に予定された部位に遺伝子が入っているか

Fig.7 マイクロPETを用いた遺伝子形質発現の分子イメージング

どうかを確認するための遺伝子)を使いこなすことが必要である。遺伝子発現を用いた分子イメージングとしては、アンチセンス法とレポーター遺伝子を用いる二つの手法がある。前者は、導入遺伝子のmRNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを放射性核種で標識して直接mRNAの発現量を評価する方法で、C-myc oncogene mRNAとⅢIn-antisenseプローブを用いた癌の診断法などが開発されている。後者は、レポーター遺伝子を細胞内に発現させて、その遺伝子産物である酵素、あるいはレセプターが発現することを利用するものである。レポータープローブとなるアイソトープ標識した物質を投与するとその酵素作用で細胞内部にトラップされるか、またはレセプターと結合するので、このプローブを検出すればレポーター遺伝子の発現量を体外から*in vivo*イメージングとして画像化できる。UCLAのGambhirらはチミジンキナーゼの遺伝子をアデノウイルスを用いて体内に取り込ませ、その後の取り込み状態を ^{18}F -GanciclovirとMicro-PETを用いて画像化している¹⁴⁾(Fig.7)。この他、脳神経疾患として重要なパーキンソン病の遺伝子治療と遺伝子発現イメージングも試みられている¹⁵⁾。パーキンソン病については、生体内でのオリゴヌクレオチドの非特異的結合に関する問題点がまだ解決されていないこと、さらにオリゴヌクレオチドがBBB(血液脳関門)を透過しにくいことから、アンチセンス法は脳内の遺伝子発現イメージングには適していないと考えられる¹⁶⁾。

③遺伝子や新しい受容体の研究とイメージング技術を合体し、種々のイメージング方法を融合させれば、生体のダイナミックスプロセスを画像化することが可能になる。そこへ遺伝子などの情報をうまく使えば、様々な病気の診断や評価に使える可能性が高まり、また治療に使用した薬剤分布を見ることも容易になると推測される。

5.3 分子イメージングの手法¹⁷⁾

現在種々の手法が試みられているが、主な手法を以下

に示す。

- ①Optical imaging
- ②Nuclear magnetic resonance : MR microscopy, MicroMRI
- ③Radioisotope : PET, SPECT, autoradiography, *in vitro* PET
- ④X線CT
- ⑤その他(特に、上記の方法に適合したトレーサー)

それらのうち光イメージング法、特に近赤外線は最近著しく進歩している。体内にある物質の光による画像が断層像で撮像できるようになると、レポーター遺伝子として様々なものが応用できるようになる。さらにPETでは被爆があるので実際的ではないが、光技術ならば持続的変化を継続して観察することが可能になる。光イメージングは断層画像を作るのに技術的困難があるので、外部からの照射による発光を二次元画像として撮像できる装置が一般に使用されている。光イメージングの場合は、種々の波長を利用できるので、同時にいくつかのターゲットを画像化できる可能性をもつ。さらに、各種トレーサー(リガンド、ナノ粒子、ペプチドなど)が研究されており、ヒトのMRIでは見ることが出来なかった生体内でのリンパ節転移の状況など、種々の医療ニーズに対応するフォトンクス/レーザー技術の基礎的検討が始まっている。

現在、ヒトの病態診断に用いられている手法を利用してさらに新たな分子イメージングを研究する目的で種々の小動物用画像機器が開発されており、それらを駆使することで、様々なイメージングが得られている。ここ数年の間に、動物用PETとしてmicroPET、また動物用MRIとしてmicro MRI, microX線CTが開発され市販され、米国では多くの研究施設で使用されている。

5.4 分子イメージングの意義と将来展望¹⁸⁾

以上分子イメージングの概況について述べたが、未だに「分子イメージング」という語句が様々に解釈されている。いずれにしても分子イメージングには、

- ①生体中の特定分子を標的とした可視化
- ②細胞程度のミクロスケールでの可視化

の二つの方向があり、各々について今後技術開発と研究を進めていく必要がある。加えて、「分子動態イメージング」としての経時的動態可視化も重要な要素になる。上述①については、従来の核医学装置(特にPET)が得意とする分野であり、今後の課題は撮像技術よりはむしろトレーサーなどの薬剤開発が支配的になる。他方¹⁹⁾に関しては、画像技術そのものの技術開発が必要である。従来のMRIに変わり、新たなMRSI(Magnetic resonance spectroscopic imaging)などが期待される。この他、分子イメージングは今後医学的に重大な発展を遂げる再生医療や細胞治療のバリデーションのためのイメージング技術としても極めて重要になる。再生医療では、まず第一に、組織欠損あるいは疾患組織・周辺組織の形態・機能・代謝・血流の観測が必要である。第二には、再生組織注入手技の誘導・制御といった高度インターベンショナルMRIの技術開発が重要になる。第三としては、注入

後組織の着床状態観察、形態・機能・代謝・血流連続性の観察、障害部位有無の確認が挙げられる。さらに第四として、前述したような種々の注入組織の成長性観察や、世代を超えた細胞の着床状態、形態・機能・代謝・血流連続性の観察なども必要になる。以上のように、分子イメージングは分子生物学の知見のみならず工学技術との接点が極めて重要であり、昨今謳われている医・工・産連携に加えて、薬(薬学)・生(生物学)との連携も必要になり、わが国の研究体制の早急な整備が強く望まれる。

6. おわりに

以上述べたように21世紀に入って、細胞組織工学、遺伝子工学などのバイオ技術やナノテクノロジーにより医療技術は明らかに大きく変容しつつある。最近細胞チップ (Cells on a Chip) も話題になっているが、これらの技術は多種類の技術の融合により初めて実現するものであり、そこに求められる超微細操作、加工、検出技術などの多くは光技術が基盤であることは言うまでも無い。冒頭でも述べたが、従来日本レーザー医学会は、レーザー生体作用を直接的に活かす外科治療法の開発とその医学的適用に注力してきたが、今後は時代の変化に柔軟に対応して、トランスレーショナルリサーチの観点から基礎医学やバイオ技術へのフォトリクス/レーザー技術の応用や、遺伝子医学、再生医療に関する研究課題についてもレーザー医学に関連した領域として捉え、それらを活発に取り組むことが望まれる。筆者は、第18回日本レーザー医学会大会(1997年)の特別講演2『レーザー医学—日本の現状と将来への指針』において、「レーザーの医学的応用をより広く、かつ深く拡大させる為に、今後はたんにレーザーの直接的応用だけでなく、レーザー手術の支援技術を兼ね備えたレーザー治療システムの研究・開発や、レーザーの間接的応用ともいえる計測・診断技術についても本学会で併せて議論できるよう学会としてより積極的にそれらを吸収してゆく努力が求められよう。」と述べており、Fig.8を提示して遺伝子、細胞組織工学などの領域をレーザー医学の間接的応用の一つと位置付けてバイオフィクス/レーザー技術の重要性を指摘した¹⁹⁾。それから7年を経た2004年の第25回学会大会において、『先端医科学研究における日本発バイオ・レーザー/フォトリクスの研究課題』と題するシンポジウムが取り上げられ、遺伝子、細胞、組織、ナノテクノロジーに関する新しいレーザー医科学の最先端研究課題が発表されたことは、その予見が現実化したことの証であり、今後の我国におけるバイオフィクス、レーザー医学研究のより一層の発展を期待したい。21世紀のレーザー医学はFig.9に示すような複合的技術により新たな展開を示すものと確信され、20世紀の医用生体工学が画像支援下ロボット手術を誕生させたように、21世紀半ばにはFig.10に例示するような細胞、遺伝子レベルの診断と治療が可能なるレーザー内視鏡が誕生するものと思われる。それらを実現するためには、前述したBiOSのような、フォトリクス/レーザーに関する医工学連携の場

Fig.8 先端医科学研究に果たすバイオフィクス/レーザー技術の役割

Fig.9 21世紀のレーザー医学の姿

Fig.10 今後期待される細胞・遺伝子レベルでの診断・治療用レーザー内視鏡システム

が我国でも必要であり、本学会も物理・工学系グループ、例えば平成16年度から発足した電気学会/光・量子デバイス技術委員会/次世代バイオメディカル・レーザー応用技術調査専門委員会(委員長・佐藤俊一(防衛医科大学校防衛医学研究センター))などとも協調して、研究推進を図ることなどを思慮すべきであろう。

参考文献

- 1) 菊地眞：バイオ，ナノ，ITと融合した新たなフォトンクス／レーザー医学の展望．新医療，32巻3月号，132-135，2005
- 2) 菊地眞：バイオメディカル光技術の今後の展開．O plus E, 25(5), 507-512, 2003
- 3) Rheinwald, J. G., Green, H.: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. Cell, 6, 331-343, 1975
- 4) Bell, E., Ehrlich, H. P., Sher, S., Merrill, C., Sarber, R., Hull, B., Nakatsuji, T., Church, D., Buttle, D. J.: Development and use of a living skin equivalent. Plast. Reconstr. Surg., 3, 386-392, 1981
- 5) Yannas, I. V., Burke, J. F., Orgill, D. P., Skrabut, E. M.: Wound tissue can utilize a polymeric template to synthesize a functional extension of skin, Science, 215, 174-176, 1982
- 6) Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson, A., Ohlsson, C., Isaksson, O., Petersson, L.: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation, N. Engl. J. Med., 331, 889-895, 1994
- 7) 石原美弥，佐藤正人，菊地眞：第3章 再生医療のキーテクノロジー（臓器編）臓器の評価技術．図解・再生医療工学（立石哲也，田中順三編著），225-232，工業調査会，2004
- 8) 石原美弥，佐藤正人，菊地眞：再生医療における機能評価とバリデーションのための計測・画像技術．再生医療（日本再生医療学会雑誌），2(4), 47-54, 2003
- 9) Paul Alivisatos: The use of nanocrystals in biological detection. Nature Biotechnology, 22(1), 47-52, 2004
- 10) 菊地眞：新しい医療技術とナノバイオフォトンクス．日本放射線技術学会雑誌，60(5), 626-634, 2004
- 11) 菊地眞：バイオフォトンクスー生命医学への挑戦．Microoptics News, 22(1), 51-56, 2004
- 12) Narula J, Petrov A, O'Donnell S.M., Ditlow C, Pieslak I, Dilley J, Chen F, Khaw B.A.: Gamma imaging of atherosclerotic lesions: the role of antibody affinity in vivo target localization. J Nucl Cardiol, 3, 231-241, 1996
- 13) 西村恒彦：機能・代謝画像から分子画像へ．新医療，27巻4月号，89-92，2000
- 14) Gambhir, S.S., Barrio, J.R., Wu, L., Iyer, M., Namavari, M., Satyamurthy, N., Bauer, E., Parrish, C., MacLaren, D.C., Borghei, A.R., Green, L.A., Sharfstein, S., Berk, A.J., Cherry, S.R., Phelps, M.E., Herschman, H.R.: Imaging of adenoviral directed herpes simplex virus type 1 thymidine kinase reporter gene expression in mice with radiolabeled ganciclovir. J. Nucl. Med., 39, 2003-2011, 1998
- 15) Bankiewicz, K.S. et al.: Convection-enhanced delivery of AAV vector in parkinsonian monkeys; in vivo detection of gene expression and restoration of dopaminergic function using pro-drug approach. Exp. Neurol., 164,2-14, 2000
- 16) 清野泰：Parkinson病の遺伝子治療と遺伝子発現イメージング．医学のあゆみ, Vol.204, No.4, 267-268, 2003
- 17) 福山秀直：分子イメージングの最新動向．新医療，31巻5月号，98-100，2004
- 18) 黒田輝：分子イメージングと工学の接点，医療技術産業戦略コンソーシアム／日本医療機器関係団体協議会主催シンポジウム「分子イメージングの現状と将来」ー今後の推進に向けて，抄録集，2003
- 19) 菊地眞：レーザー医学ー日本の現状と将来への指針，第18回日本レーザー医学会大会論文集ー医療の光，レーザー医学，9-12，1997

著者紹介

菊地 眞 (Makoto Kikuchi)

1969年慶大工卒，74年同大学院修了（工学博士）。72年東女医大助手，76年同講師，80年防衛医科大学校医用電子工学講座教授，2003年同防衛医学研究センター長，バイオ光技術，医用レーザー，ハイパーサーミアなど物理エネルギーを用いた診断／治療技術，ナノテクノロジーなどの医療技術研究を行う。日本レーザー医学会常任理事，日本ハイパーサーミア学会前会長（1998－2002），日本M E学会副会長，並びに国際M E学会（IFMBE）次期会長（2006-2009）など。