解説

REVIEW ARTICLE

テラヘルツ分光およびイメージングの生命医科学への応用

谷 正彦^{1,2}, 山口 真理子¹, 山本 晃司^{1,3}, 江夏 徳次郎¹,
北原 英明¹, 萩行 正憲¹, 三浦 康宏⁴, 澤井 高志⁴

¹大阪大学・レーザーエネルギー学研究センター

²(独) 科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業・さがけ「生命現象と計測分析」領域

³(独) 科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業・さがけ「物質と光作用」領域

⁴岩手医科大学医学部

(平成19年6月6日受理, 平成19年8月22日掲載決定)

Applications of terahertz spectroscopy and imaging to medical and bio science

Masahiko Tani^{1,2}, Mariko Yamaguchi¹, Kohji Yamamoto^{1,3}, Tokujiro Enatsu¹,
Hideaki Kitahara¹, Masanori Hangyo¹, Yasuhiro Miura⁴, and Takashi Sawai⁴

¹Institute of Laser Engineering, Osaka University

²Life Phenomena and Measurement Analysis, Precursory Research for Embryonic Science and Technology, Japan Science and Technology Agency

³Photon on Soft Materials, Precursory Research for Embryonic Science and Technology, Japan Science and Technology Agency

⁴Medical School, Iwate Medical University

(Received June 6, 2007, Accepted August 22, 2007)

要 旨

レーザー技術の進歩とともにこれまで利用が困難とされてきたテラヘルツ帯の電磁波が比較的容易に分光や計測に利用できるようになった。そのためテラヘルツ電磁波を用いたさまざまな分光と計測応用が近年活発に研究されるようになり、生体分子のテラヘルツ分光や生命医科学への応用にも注目が集まっている。本解説ではまずフェムト秒レーザーを励起源としてパルス状のテラヘルツ電磁波を発生および検出するテラヘルツ時間領域分光と呼ばれる分光手法について解説する。そしてテラヘルツ電磁波の生命医科学への応用を目指した(i)タンパク質分子のテラヘルツ分光、および(ii)癌組織のテラヘルツイメージングに関する筆者らのグループの研究を紹介する。

(i)タンパク質のテラヘルツ帯スペクトルは多数のモードの重なりと不均一広がりのため単調であり、タンパク質の種類や固有構造には敏感ではない。したがってテラヘルツ帯のスペクトルからタンパク質の固有構造やタンパク質の種類を判別することは困難である。しかし、スペクトルの温度や水和状態などの測定条件を変化させることでテラヘルツ帯の生体高分子のダイナミクスに関する情報を得ることができる。我々は水和したニワトリ卵白リゾチームのテラヘルツ帯スペクトルを測定し、タンパク質分子が活性を示す200K以上の温度でテラヘルツ帯の誘電損失が増大することを観測した。これはテラヘルツ帯スペクトルとタンパク質分子の活性との相関を示唆する結果である。

(ii)癌組織のほうが正常組織よりもテラヘルツ帯の吸収が強いことを利用して非染色で癌組織と正常組織の検定ができる可能性が議論されている。筆者らはパラフィン固定した肝臓癌組織のテラヘルツイメージを測定し、イメージ像から癌組織部を判別できる可能性を示した。

キーワード：テラヘルツ時間領域分光, テラヘルツイメージング, 光伝導アンテナ, タンパク質ダイナミクス, 癌診断

Abstract

With the development of laser technology the use of terahertz (THz) radiation in spectroscopy and imaging becomes relatively easier than before. The applications of THz spectroscopy and imaging are actively pursued in various fields. Among them, THz spectroscopy of biomolecules and its applications to bio- and medical science are attracting much attention. In this review article, we explain the spectroscopic technique which utilizes pulsed THz radiation generated and detected with the femtosecond laser (terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS). We also describe our recent studies of (i) protein dynamics with THz-TDS and (ii) imaging of paraffin-embedded cancerous tissue with THz radiation, both of which are aimed to contribute to the bio- and medical science.

(i) The THz spectra of proteins are featureless due to overlaps of many bands with strong inhomogeneous broadening and not sensitive to category or intrinsic structures of proteins. Therefore, it is not possible to discriminate the protein molecules and their structures by the THz spectrum of protein alone. However, it is possible to get information on protein dynamics from measurements with variation in temperature and sample condition, such as hydration rate. The THz dielectric loss spectrum of hen-egg white lysozyme with a relatively small hydration rate (0.2 g/g) showed an increase above 200 K, which corresponded to the activation temperature of proteins. This result implies the correlation between THz dynamics and protein activity.

(ii) THz imaging of cancerous tissue is possible by using the higher absorption of cancer cells than that of the surrounding normal tissues. We measured the THz transmission images of paraffin-embedded liver tissues with cancer and showed that it is possible to discriminate the cancer tissue from other normal ones in the THz image.

Key words: terahertz time-domain spectroscopy, terahertz imaging, photoconductive antenna, protein dynamics, cancer diagnosis

1. はじめに

テラヘルツ電磁波とは周波数でおよそ0.1~10THzの電磁波を指す。従来は遠赤外線およびミリ波と呼ばれていたものに相当し、いわゆる電波と光波の境界領域の電磁波である。その発生と検出が他の電磁波に比べて容易ではなく、これまであまり利用されてこなかったため未開拓電磁波と呼ばれていた。しかし近年、レーザー技術の進歩によりレーザーを光源とする新しい発生と検出法が開拓され、高効率な発生と検出が可能になったことから、その利用・応用を目指した研究が活発に行われている。Table1にテラヘルツ分光およびテラヘルツイメージングに関連して検討されている応用の一覧を示す。テラヘルツ電磁波は紙や樹脂など一般的な梱包材を比較的よく透過することから、テラヘルツ電磁波による透視イメージングがセキュリティ分野では新しい犯罪防止技術として期待されている。バイオメディカル関連では結晶多形モニター、DNAラベルフリー分析、人工骨用ポリマーの劣化診断、皮膚がんのイメージングなどへの応用が検討されている。タンパク質などの生体高分子の大振幅運動や低分子量生体分子の分子間振動の周波数がテラヘルツ帯にある。このため、まだまだ可能性の探索段階ではあるが、テラヘルツ電磁波による分光計測およびイメージングは生体分子の分析と評価、ひいては生命科学や医療診断などへの応用が検討されている。

本解説では近年発達したフェムト秒レーザーを励起光源とする広帯域なテラヘルツ電磁波の発生検出法およびそれを利用したテラヘルツ時間領域分光法と呼ばれる分光手法とテラヘルツ電磁波によるイメージング手法につ

いて解説し、その生命医科学への応用を目指した筆者らのグループの研究を紹介する。テラヘルツ電磁波を用いた応用研究全般に関しては文献¹⁾やTable1に示した資料などを参考にさせていただくとよい。

2. テラヘルツ時間領域分光法(THz-TDS)

2.1 光伝導アンテナを用いた広帯域テラヘルツ電磁波の発生と検出

フェムト秒レーザーを励起光源としたテラヘルツ(THz)電磁波の発生方法として、よく用いられる手法には大きく分けて2つある。ひとつは半導体表面や半導体素子に超短パルスレーザーを照射し、高速の光誘起電流 $J(t)$ の変調により電磁波を放射させる方法である。もうひとつの方法は2次の非線形電気感受率を持つ非線形光学結晶にフェムト秒レーザーを照射し、光整流(Optical rectification)効果によりレーザー強度 $I(t)$ に比例した過渡的非線形分極 $P(t)$ を誘起し、THz電磁波を発生させる方法である。前者では光誘起電流の時間微分 $dJ(t)/dt$ に比例する双極子放射、後者では過渡的非線形分極の2次の時間微分 $d^2P(t)/dt^2$ に比例する双極子放射としてTHz電磁波が得られる。本節では最も一般的に用いられている半導体素子を用いたTHz電磁波の発生と検出、及びそれを利用したテラヘルツ時間領域分光法について概説する。非線形光学結晶によるTHz電磁波の発生と検出手法については必要に応じて文献²⁾などを参照していただくこととよい。

一般に電磁波(電波)は、アンテナ等の放射素子に電流変調を加えることにより発生させることができるが、通常の電気回路や発振器では数百GHzを超える変調は難し

Table1 テラヘルツ電磁波の分光計測およびイメージング応用一覧。分光計測応用とイメージング応用の分類は便宜的なもので、明確に分けられない場合も多く、分光測定可能なものはイメージング応用も可能である。

分野	分光計測応用	イメージング応用
セキュリティ, 環境計測	引火性液体判別, ガス検知, 郵便物検査	薬物・爆薬・引火性液体など, 違法・危険物質の非接触・非開封探知, 断熱材の欠陥検出 ¹⁾
材料・半導体関連	半導体基板の評価, ゴム・樹脂製品の欠陥検査・劣化診断	LSI素子の欠陥イメージング(LTEM) ²⁾
バイオメディカル	結晶多形モニター ³⁾ , DNAラベルフリー分析, 人工骨用ポリマーの劣化診断	皮膚がんのイメージング
農業, 食品	包装・チューブの欠陥検査, 植物の水分モニタリング ⁴⁾ , 残留農薬検査, 食品の凍結・乾燥モニタリング	乾燥食品中の異物の探知
基礎科学	フォトニック結晶・メタマテリアル評価, 生体分子分光, ラジカル分子などの高分解分子分光	天体観測イメージング ⁵⁾
その他	プロセスプラズマ分光 ⁶⁾	塗装膜のイメージング ⁷⁾

1) NSAでスペースシャトルの断熱材検査に実際に利用されている。

2) LTEMとはLaser-Terahertz Emission Microscopeの略

3) 国内では塩野義製薬, 海外ではPfizerなどが研究を行っている。

4) (財)テレコム先端技術支援センターによるテラヘルツテクノロジー動向調査「未来を拓くテラヘルツ技術」2.1.4節にその可能性が示されている。

5) ミリ波・THz波干渉計をチリの高地に建設するALMA計画が進行中

6) たとえばS. Ebbinghaus, et al, Plasma Sources Sci. Technol. 15, 72 (2006).を参照

7) Yasui, et al, Appl. Opt. 44, 6849 (2005)を参照

Fig.1 Schematic illustration of a photoconductive antenna.

い。しかしながら、フェムト秒の超短パルスレーザーを用いて半導中に光キャリアを発生させ、その光キャリアによる光伝導電流をサブピコ秒で変調することにより、比較的容易にTHz電磁波を発生させることができる。THz電磁波を発生させる半導体の素子としては半導体基板上にマイクロスリップアンテナを金属蒸着で作成した光伝導アンテナ³⁾と呼ばれるものがよく用いられる。光伝導アンテナ中央部(Fig.1の金属平行伝送線路中央の四角い出っ張り部)には光伝導ギャップ(5~10 μm程度)が設

けられている。この光伝導ギャップ間に適当なバイアス電圧を印加した状態で半導体のエネルギーバンドギャップよりも高い光子エネルギーを持ったレーザーパルス(ポンプ光)を照射すると、半導体中に電子と正孔の自由キャリアが生成され、パルス状の電流が流れる。このとき電流の時間変化に比例した電磁波が双極子放射として放射される。放射される電磁波の波形は基板に用いる半導体中のキャリア寿命、励起に用いるレーザーパルスの幅、アンテナの形状などで決まるが、100フェムト秒前後のレーザーパルスで励起した場合、サブピコ秒の幅を持った電磁波が得られる。このようにして得られるサブピコ秒のパルス電磁波は数十GHzから数THzに及ぶ広帯域なスペクトル分布を持つ。光伝導アンテナの基板内での反射による損失を避け、空間への放射効率を上げるため、THz帯で吸収損失の少ない高抵抗Siなどでできた半球や超半球状の基板レンズを素子に密着させて使う(Fig.1)。

このような方法で発生させたTHz電磁波パルスは発生の逆過程を用いて、同様な光伝導アンテナで検出することが可能である。Fig.2に光伝導アンテナ素子によるTHz電磁波パルスの発生と検出装置の模式図を示す。発生側の光伝導アンテナ素子で発生させたTHz電磁波は軸外し放物面鏡などのTHz電磁波光学系を経て検出側の光伝導アンテナ素子へ到達する。レーザーパルスの一部を分岐させたプローブ光で検出側の光伝導アンテナ素子の光伝

Fig.2 Terahertz emission and detection system based on excitation of photoconductive (PC) antennas with femtosecond laser.

導ギャップに照射することにより素子の電気伝導度を変調する。THz電磁波とプローブ光間の遅延時間を τ として、このとき素子に流れる信号電流 $J(\tau)$ (直流電流成分) はTHz電磁波によって光伝導ギャップに誘起される電圧 $V_{\text{THz}}(t)$ と検出側の光伝導アンテナの電気伝導度 $S(t)$ との畳み込み積分で与えられる。

$$J(\tau) = \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} V_{\text{THz}}(t) S(t-\tau) dt \quad (1)$$

ここで T はレーザーパルスの繰り返し時間間隔である。キャリア寿命が非常に短いとき $S(t)$ はデルタ関数で近似できる。またアンテナ応答が十分高速であれば $V_{\text{THz}}(t)$ はTHz電磁波の振幅波形 $E_{\text{THz}}(t)$ に比例しているとしてよい。したがって、このような近似のもとでは光伝導電流の遅延時間波形 $J(\tau)$ はTHz電磁波の振幅波形 $E_{\text{THz}}(t)$ を与える。実際にはキャリア寿命が有限であり、アンテナも有限時間の応答特性を持つため、素子の時間応答が畳み込まれた波形を得る。

光伝導アンテナを用いて発生し、検出したTHz電磁波の信号波形 $J(\tau)$ の例をFig.3(a)に、そのフーリエ変換振幅スペクトルをFig.3(b)に示す。光伝導アンテナにはダイポール型⁴⁾といわれるものを使用した。その素子基板には低温($\sim 250^\circ\text{C}$)でMBE成長したGaAs (LT-GaAs)を用いている。LT-GaAsはキャリア寿命が短く(~ 0.3 ps)、暗状態で高絶縁性を示すため光伝導アンテナの素子基板として適している⁵⁾。また使用した励起レーザーのパルス幅は約80fs、中心波長約800nm、繰り返し82MHzで、ポンプ光平均パワーは約12mW、バイアス電圧は30Vであった。測定の際は、信号雑音比(SNR)を上げるために、通常ポンプ光を光チョッパーによって変調するか、あるいは放射側の光伝導アンテナのバイアス電圧を変調し、検出側の光伝導アンテナの信号電流をロックイン増幅器を用いて位相検波する。

Fig.3 (a) A typical terahertz time-domain signal generated and detected with a pair of photoconductive antennas, and (b) its Fourier transformed amplitude spectrum.

2.2 テラヘルツ時間領域分光法 (THz-TDS)

前節で紹介したTHz電磁波の発生と検出システムは時間領域のTHz分光法 (Terahertz Time-Domain Spectroscopy, THz-TDS)⁶⁾としてそのまま利用できる。すなわち、THz電磁波の伝播経路に測定したい試料を挿入し (Fig.2)、試料 (厚みを L とする) を透過したときの信号波形 $J_{\text{sam}}(\tau)$ と試料を挿入しないときの信号波形 $J_{\text{ref}}(\tau)$ を測定する。そして、両波形を複素フーリエ変換し、それぞれの複素振幅スペクトルを $J_{\text{sam}}(\omega) \exp(-i\phi_{\text{sam}}(\omega))$ および $J_{\text{ref}}(\omega) \exp(-i\phi_{\text{ref}}(\omega))$ とすると、その振幅の比より透過振幅スペクトル

$$T(\omega) = J_{\text{sam}}(\omega) / J_{\text{ref}}(\omega) = \exp(-\alpha(\omega)L/2) = \exp(-\kappa(\omega)\omega L/c) \quad (2)$$

を得ることができる。ここで c は真空中の光速、 ω は角周波数である。吸収係数スペクトル $\alpha(\omega)$ と消衰係数 (屈折率虚部) スペクトル $\kappa(\omega)$ は上記の関係式より得ることができる。またその位相差スペクトル $\Delta\phi(\omega) = \phi_{\text{ref}}(\omega) - \phi_{\text{sam}}(\omega)$ から次の関係式を用いて屈折率の周波数依存性 (分散スペクトル) $n(\omega)$ を得ることができる。

$$\Delta\phi(\omega) = (n(\omega) - 1)\omega L/c \quad (3)$$

ただし、ここでは試料内部での多重反射の影響は考慮していない。多重反射を考慮した一般的なデータ処理の詳細は必要に応じて参考文献⁷⁾などを参照していただくようお願い。

この分光法はフーリエ分光法と似ているが、フーリエ分光法では、測定される干渉波形が電磁波の強度 (パワー) 波形であるのに対し、本方法では電磁波の振幅波形を時間分解で測定しているため、位相情報が強度情報と同時に得られる点が大きく異なる。したがって、物質の複素屈折率 $\tilde{n}(\omega) = n(\omega) - ik(\omega)$ 、あるいは複素誘電率 $\tilde{\epsilon}(\omega) = \epsilon_1(\omega) - i\epsilon_2(\omega) = n^2(\omega) - k^2(\omega) - 2in(\omega)k(\omega)$ を測定する場合に非常に有利である。

3. テラヘルツ電磁波による生体分子分光

3.1 テラヘルツ電磁波による生体分子分光の意義

生体分子のダイナミクス (挙動) を探る分光学的な手法としては、代表的な赤外吸収分光とラマン分光 (波長: 1

～100 μm)を始めとして、円二色性分光法(180～320 nm)、可視および紫外域の吸収分光および蛍光分光法(190～800 nm)などがある^{8,9)}。テラヘルツ時間領域分光法(THz-TDS)では、これらの分光法よりも長波長側の領域にあたる0.03～3mm(0.1～10THz)の赤外吸収、及び分散スペクトルを測定する。生体分子の構造や動的特性には水素結合、van der Waals力、疎水性相互作用などの弱い相互作用が関与しているが、それらの相互作用が関係した振動モードはTHz帯あるいはTHz帯よりも低い周波数領域(< 200 cm^{-1} = 6 THz)に存在すると考えられている。したがってTHz-TDSは生体分子に働いている弱い相互作用を探る手段として有用であると期待される。しかし、実際にTHz-TDSを生体分子とくにタンパク質のような生体高分子に適用する場合は以下のような問題が存在する。

- (i) 特徴のないスペクトル形状：タンパク質のような生体高分子のTHz帯吸収スペクトルは多数のコンフォメーションに対応したスペクトルの足し合わせとなる。中赤外および近赤外域におけるような特徴的な吸収バンドは観測されず、高周波数側に向かってほぼ単調に増加する特徴のあまりない吸収スペクトルとなる。低温状態でも、この傾向は変わらない。
- (ii) スペクトルに有用な情報が含まれているか？：DNAの2重らせん構造状態と変性状態¹⁰⁾、および一部のタンパク質へのリガンドの結合の有無による吸収の差異¹¹⁾は確認されているが、チトクロームcなどのタンパク質では自然状態と変性状態とでは吸収の差異は確認されていない¹²⁾。すなわちTHz帯のスペクトルには生体分子の機能や機能に関連した構造(変化)に関する有用な情報が含まれるかどうか、また含まれているとすればどのような情報なのか¹³⁾についてまだ明確にはされていない。
- (iii) スペクトルから直接的な情報を得ることができるか？：タンパク質のような生体高分子のTHz帯吸収スペクトルを非経験論的に計算したり、実験で得られたスペクトルからタンパク質の分子論的な情報を導き出したりする理論的な手法が確立していない。

THz帯の生体高分子の分光学的な研究は上記のような困難を伴うが、筆者らは「THz帯のスペクトルには生体分子の機能や機能に関連した構造(変化)に関する有用な情報が含まれるかどうか」という問いに答えたいと考えている。一方、THz電磁波による生体分子分光の基礎的理解とは別に、タンパク質の抗原抗体反応前後や癌組織と正常組織との間に現れるTHz帯の吸収の差異を利用して、生命医科学への応用(創薬研究や医療診断等への応用)が議論されている。しかし、今後どのような形で、THz領域のスペクトル情報を生命医科学の発展に利用していくためには、THz帯スペクトルから得られる分光情報をきちんと理解する必要がある。

このような動機のもと筆者らはTHz-TDSによるアミノ酸¹⁴⁾やタンパク質などの生体分子のダイナミクスについての研究を行っている。以下にまず、生体分子と水分子の相互作用の重要性について述べ、水分子のダイナミク

スが生体分子のダイナミクスに与える影響について考察する。次にタンパク質分子のTHz帯スペクトルの温度依存性が水和状態に依存する測定結果を紹介し、THz帯スペクトルをもとにタンパク質分子のダイナミクスについて議論する。

3.2 タンパク質のTHz帯複素誘電スペクトル

本節ではタンパク質のTHz帯の複素誘電スペクトルの例を示し、タンパク質スペクトルの特徴とスペクトルから得られる情報について考察する。

Fig.4(a)に部分的に水和した状態にあるニワトリ卵白リゾチーム(水和量0.09 g/g)の10 Kから293 Kまでの様々な温度における複素誘電率スペクトルを示す。一般的に低温ではモードの寿命が延びるため、吸収バンドの幅がせまくなり吸収バンドが観測しやすくなるという利点がある。またスペクトルの温度変化を調べることで、モードに対する熱ゆらぎの影響を調べることができるため、スペクトルの温度変化測定は広く行われている。Fig.4(a)に示したTHz領域のスペクトルではリゾチームの固有構造を反映した特徴的な吸収バンドやスペクトル構造などは確認できない。分子動力学的なシミュレーションによると、THz領域のモードはタンパク質内の原子が協奏的に振動するような集団的(Collective)振動モードであるとされている¹⁵⁾。タンパク質のような多自由度系では、集団的振動モードがTHz領域に密に存在するため、各モードによる吸収が重なり合い、このような構造のないスペクトルになると考えられる。各モードはタンパク質分子に固有のモードであるが、このようにモードが重なり合ったTHz帯スペクトルから特定の重要なモードに関する情報を抽出することは難しい。Fig.4(a)のリゾチームの

Fig.4 The complex dielectric spectra $\epsilon'(\omega)$ and $\epsilon''(\omega)$ of (a) hen-egg white lysozyme and (b) poly-glycine at the temperatures of 10 K, 50 K, 100 K, 150 K, 200 K, 250 K, and 293 K. The hydration rate of the lysozyme was 0.09 g/g and that of poly-glycine was 0.06 g/g in weight. Each spectrum shows a monotonic increase with temperature.

スペクトルでは、吸収強度が温度変化を示すものの、明瞭な吸収バンドは低温においても観測されない。モードの寿命が延びても吸収バンドが観測されないのは、リゾチームの構造の静的な不均一性、すなわち多数のコンフォメーションがあることによって低温でもバンドの幅があまり狭くならないためであると考えられる。

Fig.4(b)にポリグリシンのTHz帯スペクトルの温度依存性を示す。リゾチームとポリグリシンの複素誘電率スペクトルは10~293Kの温度領域に渡って非常によく似ている。つまり、THz帯スペクトルだけから判断すれば、リゾチームもポリグリシンも区別がつかない。また、チトクロームcのTHz帯スペクトルは天然状態と変性状態で差異が見られないことが報告されている¹²⁾。このような結果から、定常状態におけるTHz帯スペクトルのみからタンパク質のアミノ酸残基配列の違いや、固有構造の違いといった個性をとらえることは困難であると考えられる。実際に機能発現に伴う構造変化などタンパク質の機能にとって重要な運動は、THz領域の運動よりもずっとゆっくりとした運動であると考えられている¹⁵⁾。THz領域の運動(ピコからサブピコ秒領域の運動)は、構造変化の最中に何度も繰り返されており、タンパク質の機能とは直接関係がない。そのためTHz領域の運動は生命活動においてあまり重要でないと一般的に言われている。しかし、何度も繰り返されるTHz領域の特定運動が一度の構造変化のために不可欠であるならば、その運動は生命活動にも重要であると言えることができる。こうした異なる時間スケールの運動の相関は広い波長範囲での測定を必要とする。今後そのような広い波長範囲での測定が系統的に行われることを期待したい。

3.3 水和のタンパク質ダイナミクスへの影響

本節では異なる水和状態のタンパク質のTHz帯の誘電損失スペクトルを示し、スペクトルの温度依存から水和のタンパク質分子ダイナミクスへの影響について議論する。

先に述べたように生体分子と水分子の相互作用は生体分子の機能を考えるうえで非常に重要である。しかし、タンパク質の内部に孤立して存在する水分子の役割はタンパク質ごとに詳細に調べられているのに対し、溶媒としての水の役割はあまり明らかになっていない。THz領域では水の緩和的な応答と分子振動的な応答が混在するため、水の生体分子に対する役割を調べるには比較的適した波長範囲であるということが出来る。その一方でTHz領域は水による吸収が非常に大きいので、タンパク質のTHz帯スペクトルを水溶液中で測定することは非常に困難である。そのため、湿度調整したフィルムや凍結乾燥粉末での測定が多い。水の強い吸収はTHz領域に限らず赤外吸収を測定する分光法(フーリエ変換赤外分光法など)に共通する問題である。

Fig.5に湿度調整したリゾチーム凍結乾燥粉末の誘電損失スペクトルの温度変化を示す。試料にはリゾチーム1gに対して水素結合している水分子の重量が0.08g及び0.2gになるように調整した凍結乾燥粉末状態のものを使用した。リゾチーム1分子あたりの水分子の個数に換算すると、

Fig.5 The dielectric loss spectra, $\epsilon''(\omega)$, of hen-egg white lysozyme at temperatures of 10 K, 50 K, 100 K, 150 K, 200 K, 250 K, and 293 K. Solid line and dashed line indicate the spectra with hydration rate of 0.08 g/g and 0.2 g/g, respectively, in weight. Each spectrum shows a monotonic increase with temperature.

水分量0.08g/gの試料がおおよそ70個、0.2g/gのものがおおよそ150個になる。リゾチームの第1水和層にはおおよそ400個の水が存在するため、測定に用いた試料はかなり低レベルの水和量のものである。10Kでは水和量が異なるリゾチームの間でスペクトルにほとんど差異は見られないが、293Kでは両者のスペクトルに大きな違いが見られる。この違いは、水分子の運動の寄与に加えて、水和量が増加することによってリゾチームの集団的振動モードの振幅が増加することに起因すると考えられる。水分子がリゾチームの集団的振動モードに与える効果は、水分子自体の運動が活発になる200K以上で観測される。この効果は、中性子散乱スペクトルでも観測されており、またリゾチームのみならず多くのタンパク質において観測されている一般的な性質である。タンパク質の集団的振動モードの振幅が水和によって増加する現象は、タンパク質の生理活性機能と密接に関係があると考えられている。その一つの実験的証拠は、タンパク質が活性をもつ温度(~ 200 K)³⁾が、THz領域の集団的振動モードの振幅が急激に増加する温度と一致することである¹³⁾。

以上の結果から水和がタンパク質の活性に関係していると思われる集団的振動モードの振幅に影響を与えること、200K前後でその影響が顕著になることがTHz帯の吸収スペクトルから推論できることが分かる。

一方で、タンパク質の活性と集団的振動モードの振幅の増加との関係を否定する結果も報告されており、まだ決定的な証拠は得られていない。計算機シミュレーションを用いたモード解析を含め、今後さらなる理論的、実験的検証が望まれる。

4. テラヘルツイメージング

本節ではTHz電磁波の生命医科学への応用例として癌組織のTHz電磁波によるイメージング(THzイメージング)について述べる。

生体は水分を多く含むため、THz電磁波はせいぜい数百 μm 程度しか生体内に浸透しない。したがって、生体内のTHzイメージングはTHz電磁波用のカテーテルを用いて生体内に導入するなどの方法を用いなければ不可能である。しかし、皮膚表面や、切除処理された後の生体組織であればTHz電磁波による透過あるいは反射イメージングが可能である。そこで筆者らはまずTHz電磁波の皮膚癌の診断や切除癌組織の病理学的検定などへの応用を意図して、癌組織のTHzイメージングの応用研究を行っている。癌組織は正常組織よりもTHz帯の吸収が強いことが複数のグループから報告されている^{16,17)}。そのような吸収差を利用すればTHzイメージングで患者の皮膚組織を切除することなく皮膚癌領域の正確な検定を行ったり、非染色による切除癌組織の検定が可能になったりすると期待される。

実際筆者らのグループでもパラフィン固定された特定の肝臓癌組織の吸収が正常組織部よりも増大する傾向があることを確認している。肝臓癌組織は周囲の正常組織に対して白く見えるので、容易に視認できるため標準試料として適している。Fig.6(a)にパラフィン固定された肝臓癌組織の写真を示す。Fig.6(b)に同じ組織をラスタースキャン法により測定したTHzイメージを示す。ラスタースキャン法とはFig.2に示すようなTHz-TDS光学系において、THz電磁波ビームの進行方向に垂直な集光面内で試料を2次元走査し、各点でのスペクトル情報から透過率等のイメージを得る方法である。Fig.6(b)のイメージは2THzにおける試料の透過率を1mm $\times$ 1mmのピクセルサイズで20mm $\times$ 20mmの領域に対してマッピングしたものである(20 $\times$ 20ピクセル)。この試料の場合、THz透過イメージでは肝臓癌に対応した領域の透過率が小さく(イメージでは青色が濃くなっている)、正常組織とほぼ見分けがつくことが分かる。THzイメージングでは特定の周波数における透過率によるイメージだけではなく広帯域のスペクトル情報を利用した分光イメージングが可能である。例えば理研の中島ら¹⁸⁾はスペクトル情報の処理に統計論的な手法を活用して、癌組織の精細なTHzイメージの取得に成功している。ただし、試料によっては癌組織と正常組織をうまく区別できない場合もあり、病理学的な検定手法として実際に応用されるためには、スペクトルデータの測定と処理手法の改善とともに、異種組織の癌の場合における再現性や、組織の処理方法による違いの有無などについてデータを蓄積する必要がある。

THz電磁波パルスを用いたTHzイメージングの利点は広帯域のスペクトルデータから測定対象に合わせて必要な情報を抽出しイメージを構成できる点にある。例えば、特定の周波数における透過率情報だけではなく、イメージ対象物に含まれる物質の複数の特性吸収バンドの比をマッピングしてイメージを構成したり、標準試料と測定試料のスペクトル間の距離をマッピングしたりするなど

Fig.6 The (a) optical image and (b) terahertz image of paraffin-embedded liver tissue with a cancerous part. The terahertz image was taken with a raster scan of the sample for a 20 $\times$ 20 mm² area and with a 1-mm pitch, and by mapping of the transmission data at 2 THz. The cancer region is recognizable due to higher absorption of terahertz radiation than that in the other normal tissue.

多様なイメージングモードを利用することができる。一方、ラスタースキャンによるTHz分光イメージングは集光面内での2次元スキャンのほか広帯域のスペクトルデータを得るために時間軸方向のスキャンを必要とし、イメージデータ取得には通常かなりの時間を要する。例えばFig.6(b)のラスタースキャンによるTHzイメージの測定には約18時間かかっている(ピクセルあたりの測定時間、約2分40秒)。光学遅延にガルバノスキャナーなど高速の時間遅延装置を導入することで、イメージ取得時間を一桁以上短縮することは可能であるが、より高速にイメージ取得できる手法の開発が望まれている。イメージング測定時間を短縮するための有力な手法として電気光学(EO)サンプリングと2次元光センサーを組み合わせた2次元EOサンプリング法が提案されている¹⁹⁾。筆者らは電気光学結晶として大面積のZnTe基板、2次元光センサーとして高速のCMOSカメラを使用した高速の2次元EOサンプリングシステム²⁰⁾を構築し、Fig.6(b)と同様なTHzイメージを10分程度で取得することに成功している。ただし、SNRと空間分解能において2次元EOサンプリング法はラスタースキャン法に比べて少し劣っているので、その改善が今後の課題である。

5. まとめ

以上、生命医科学への応用を目指した筆者らのグループによるTHz分光およびイメージングの研究について述べた。まず比較的新しい分光手法であるテラヘルツ時間領域分光法(THz-TDS)およびその分光手法に基づくTHzイメージングについて解説した。そしてピコ秒領域、サブピコ秒領域のタンパク質分子のダイナミクスおよび水和による影響などを調べるためのTHz-TDSを用いた筆者ら

の研究について紹介した。

ニワトリ卵白リゾチームに対する測定結果は、タンパク質が水和することによって、タンパク分子の集団的振動モードの振幅が200K前後で増加することを示唆している。200K前後でタンパク質が活性化すると考えられていることを考慮すれば、THz領域の集団的振動モードの振幅増大とタンパク質活性とは相関があるように思われる。いまのところTHz領域においてタンパク質の固有構造特有のスペクトルやコンフォメーションの違いによるスペクトルの違いは確認されていないが、水和による吸収の増大はリゾチーム以外の他の種類のタンパク質、たとえばミオグロビンにおいても確認されている²¹⁾。またヘムタンパク(チトクロームc)へ酸素分子などのリガンドが結合している状態のほうが結合していない状態よりも屈折率と吸収係数が多いことが報告されている¹¹⁾。タンパク質分子全体を水分子が覆う水和と特定部位へのリガンドの結合とがタンパク質の集団的振動モードに与える影響は異なるように思えるが、ともに吸収強度を増大させる傾向があるのは非常に興味深い。

最後に生命医科学への応用例として癌組織のTHzイメージングを紹介した。癌組織はTHz帯での吸収が正常組織より強いので、THz透過イメージによりパラフィン固定した肝臓癌試料の癌組織部と正常組織部を非染色で判定することができることを示した。技術的には必要なSNRを保ったまま、イメージ取得時間を短縮することが重要な課題である。いまのところ癌組織においてTHz帯の吸収が強くなる原因は明らかになっていない。また、同じ肝臓癌試料であっても必ずしも吸収が正常組織に対して、増大するのではなく、場合によっては吸収が減少する場合があることも複数の試料の測定によって明らかになっている。このようなことから試料の準備状態や組織の状態をより精密に制御、分類し、吸収強度との相関を確認することが必要となっている。

以上述べたように、テラヘルツ電磁波の生体医学応用についての研究はまだ萌芽的な段階であり、解決すべき課題も多い。今後の研究により分子レベルでのタンパク質、および生体組織のTHz帯スペクトルの変化についての理解が深まり、THz分光イメージングによる癌診断など、生命医科学へのTHz電磁波による分光と計測応用が発展することを期待したい。

謝辞

本解説で紹介した研究の一部は、文科省および日本学術振興会の科学研究費補助金、ならびに、文科省リーディングプロジェクト「未踏光学(テラヘルツ光学)開発・創生プロジェクト」(課題名「医療用テラヘルツ光診断システムの開発(病理組織THz診断システム開発:HB)」, 主任者:萩行正憲, プロジェクト期間: H15~H19)の援助を受けて行なわれたものである。

参考文献

- 1) 西澤潤一 編著: テラヘルツ波の基礎と応用, 2005年, 工業調査会

- 2) 谷正彦: THz電磁波への変換, レーザーハンドブック第2版, レーザー学会編, 18・8節, 400-405, 2005年, オーム社
- 3) Auston D. H., Cheung K. P., and Smith P. R.: Picosecond photoconducting Hertzian dipoles. *Appl. Phys. Lett.* 45: 284-286, 1984.
- 4) Tani M., Matsuura S., and Sakai K.: Emission characteristics of photoconductive antennas based on low-temperature-grown GaAs and semi-insulating GaAs. *Appl. Opt.* 36: 7853-7859, 1997.
- 5) Tani M., Sakai K., Abe H., Nakashima S., Harima H., Hangyo M., Tokuda Y., Kanamoto K., Abe Y., Tsukada N.: Spectroscopic characterization of low-temperature grown GaAs epitaxial films. *Jpn. J. Appl. Phys.* 33: 4807-4811, 1994.
- 6) Hangyo M., Nagashima T., and Nashima S.: Spectroscopy by pulsed terahertz radiation. *Meas. Sci. Technol.* 13: 1727-1738, 2002.
- 7) 萩行正憲, 谷正彦, 長島健: テラヘルツ波応用技術, 応用物理 74: 709-717, 2005.
- 8) バイオ機器分析入門, 相澤益男・山田秀徳編, 講談社サイエンティフィク
- 9) 実験化学講座9, 物質の構造 I, 分光上, 日本化学会編, 丸善
- 10) Brucherseifer M., Nagel M., Bolivar P. H., Kurz H., Bosserhoff A., and Büttner R.: Label-free probing of the binding state of DNA by time-domain terahertz sensing. *Appl. Phys. Lett.* 77: 4049-4051, 2000.
- 11) Chen J.-Y., Knab J. R., Cerne J., and Markelz A. G.: Large oxidation dependence observed in terahertz dielectric response for cytochrome c. *Phys. Rev. E* 72: 040901- 040905, 2005.
- 12) Yamamoto K., Tominaga K., Sasakawa H., Tamura A., Murakami H., Ohtake H., and Sarukura N.: Far-infrared absorption measurements of polypeptides and cytochrome c by THz Radiation. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 75: 1083-1092, 2002.
- 13) Daniel R. M., Dunn R. V., Finney J. L., and Smith J. C.: The role of dynamics in enzyme activity. *Annu. Rev. Biophys. Struct.* 32: 69-92, 2003.
- 14) Yamaguchi M., Miyamaru F., Yamamoto K., Tani M., and Hangyo M.: Terahertz absorption spectra of L-, D-, and DL-alanine and their application to determination of enantiometric composition. *Appl. Phys. Lett.*, 86: 053903, 2005.
- 15) Levitt M., Sander C., and Stern P. S.: Protein normal-mode dynamics: Trypsin inhibitor, crambin, ribonuclease and lysozyme. *J. Mol. Biol.* 181: 423-447, 1985.
- 16) Nishizawa J., Sasaki T., Suto K., Yamada T., Tanabe T., Tanno T., Sawai T., and Miura Y.: THz imaging of nucleobases and cancerous tissue using a GaP THz-wave generator. *Opt. Comm.* 244: 469-474, 2005.
- 17) Pickwell E., Fitzgerald A. J., Cole B. E., Taday P. F., Pye R. J., Ha T., Pepper M., and Wallace V. P.: Simulating the response of terahertz radiation to basal cell carcinoma using ex vivo spectroscopy measurements. *J. Biomedical Opt.* 10, 064021, 2005.
- 18) Nakajima S., Hoshina H., Yamashita M., and Otani C.: Terahertz imaging diagnostics of cancer tissues with a chemometrics technique. *Appl. Phys. Lett.* 90: 041102, 2007.
- 19) Wu Q., Sun F. G., Chen Q., and Zhang X.-C.: Two-dimensional electro-optic imaging of THz beams. *Appl. Phys. Lett.* 69: 1026-1028, 1996.
- 20) Miyamaru F., Yonera T., Tani M., and Hangyo M.: Terahertz two-dimensional electrooptic sampling using high speed complementary metal-oxide semiconductor camera. *Jpn. J. Appl. Phys.* 43: L 489-L491, 2004.
- 21) Zhang C. F. and Durbin S. M.: Hydration-Induced far-infrared absorption increase in myoglobin. *J. Phys. Chem. B*, 110: 23607-23613, 2006.

著者紹介

谷 正彦(Masahiko Tani)

大阪大学レーザーエネルギー学研究センター准教授

1987年3月京都大学工学部物理工学科卒業。1992年3月京都大学大学院工学研究科物理工学専攻博士後期課程修了。工学博士。1992年4月より郵政省通信総合

研究所(現独立行政法人情報通信研究機構)研究官。1997年より同研究所主任研究員。1999年3月～2000年2月、米国Rensselaer Polytechnic Instituteに科学技術振興事業団若手長期在外研究員として滞在。2002年4月より大阪大学超伝導フォトンクス研究センター助教授。2004年7月同大学レーザーエネルギー学研究センター助教教授(改組による)。2005年9月より(独)科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業「生命現象と計測分析」領域個人研究者兼務。現在に至る。研究テーマはテラヘルツ領域の分光、計測応用。

山口 真理子(Mariko Yamaguchi)

2002年3月大阪大学工学部応用自然科学科卒業。2007年3月大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻博士後期課程修了。博士(工学)取得。2006年4月より日本学術振興会特別研究員。現在に至る。研究テーマはタンパク質のテラヘルツ分光。

山本 晃司(Kohji Yamamoto)

(独)科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業「物質と光作用」領域専任研究者

1996年3月、京都大学大学院理学研究科化学専攻修士課程修了。2000年3月、総合研究大学院大学数物科学科機能分子

科学専攻、博士(理学)取得。2000年4月より、神戸大学分子フォトサイエンス研究センターにおいて日本学術振興会未来開拓学術研究推進リサーチアソシエイト。2003年4月より大阪大学超伝導フォトンクス研究センター(改組により2004年7月より大阪大学レーザーエネルギー学研究センター)において日本学術振興会特別研究員。2006年4月より、大阪大学レーザーエネルギー学研究センターにおいて、特任研究員。2006年9月より大阪大学レーザーエネルギー学研究センターにおいて現職。

江夏 徳次郎(Tokujiro Enatsu)

2005年3月、同志社大学電気工学科卒業。2006年4月、大阪大学大学院工学研究科精密科学・応用物理学専攻応用物理学コース入学。現在に至る。

北原 英明(Hideaki Kitahara)

1998年3月、放送大学学園自然の理解専攻卒業。2004年3月、信州大学工学系研究科物質基礎科学専攻後期博士課程修了。博士(理学)取得。2004年5月より、大阪大学レーザーエネルギー学研究センターにおいて、特任研究員。現在に至る。

萩行 正憲(Masanori Hangyo)

1981年京都大学大学院理学研究科博士後期課程修了。理学博士。1981年大阪大学工学部助手。1990年同大学超伝導エレクトロニクス研究センター助教授。1996年同教授。2000年同大学超伝導フォトンクス研究センター教授。2004年

同大学レーザーエネルギー学研究センター教授(改組による)。現在に至る。レーザー励起によるテラヘルツ波の発生とその応用の研究に従事。

三浦 康宏(Yasuhiro Miura)

1997年岩手医科大学医学部大学院医学研究科博士課程修了。医学博士。1997年岩手医科大学医学部病理学第一講座副手。2001年同講座非常勤講師。2007年より同講座助教。現在に至る。テラヘルツ波の医学分野への応用の一環として病理組織解析応用の研究に従事。

澤井 高志(Takashi Sawai)

1979年東北大学医学部 大学院医学研究科博士課程修了。医学博士。助手、講師、助教授を経て1997年より岩手医科大学病理学第一講座教授。現在に至る。リウマチ・膠原病、遠隔病理診断、テラヘルツ波の医療