光散乱体中における蛍光特性の測定

Measurement of fluorescence characteristics in light scattering medium

○丸岡 正二¹(電通大) 内田 和希¹(電通大) 三井 陽平¹(電通大)
大川 晋平¹(電通大) 星 詳子²(精神研) 正 山田 幸生¹(電通大)

Shoji MARUOKA Kazuki UCHIDA Yohei MITSUI

Shinpei OKAWA Yoko HOSHI Yukio YAMADA

1, UEC, 1-5-1 Chofugaoka Chofu Tokyo 182-8585 Japan

2, Tokyo Institute of Psychiatry, 2-1-8 Kamikitazawa Setagaya-ku Tokyo 156-8585 Japan

Key Words: fluorescence, lifetime, time-resolved spectroscopy

1. 緒言

創薬における非臨床試験では現在、投薬された小動物を解剖して薬物動態試験などの結果の確認をしているため、同一個体中の薬物動態・薬効を経時的にモニタリングすることができず、従って大量の動物が犠牲となる。また解剖にかかる時間や労力が大きいことも問題点として挙げられる。

近年、非臨床試験における様々な問題の解決のために、蛍光標識された薬物などの生体内での分布の断層画像を非侵襲的に取得するための分子イメージング技術が注目されている。使用される蛍光物質は安全性の高い ICG(Indocyanine green)などであり、その蛍光特性を知る必要があるが、蛍光物質は生体組織と相互作用を起こすことで、蛍光特性が変化することが知られている。したがって、より正確な断層画像の取得とその解釈には、光を強く散乱する生体組織中での蛍光特性値を知ることが重要である。本研究では蛍光寿命などの蛍光物質、特に ICG の基本的特性を生体組織を模擬した光散乱媒体中で測定することを目的とする。

2. 蛍光寿命測定原理

図1のような蛍光物質が均一に分布した半無限散乱媒体を仮定して実験を行う。半無限散乱媒体中^[1]の励起光・蛍光の強度 R_x 、 F_m は、それぞれ式(1)、(2)ようになる。

$$R_x(\rho, t) = \alpha_R \cdot t^{-\frac{5}{2}} \exp\left(-\frac{\rho^2 + z_0^2}{4Dct}\right) \exp(-\beta_x ct) \quad (1)$$

$$F_m(\rho, t) = \alpha_F \cdot t^{-\frac{5}{2}} \exp\left(-\frac{\rho^2 + z_0^2}{4Dct}\right) [\exp(-\beta_m ct) - \exp(-\beta_x ct)] \quad (2)$$

ここで、 α_R および α_F は振幅を表す係数、 ρ [mm] は照射・検出間の距離、 D [mm] は光拡散係数、 c [mm/ns] は媒体中での光速、 β_x [mm⁻¹] および β_m [mm⁻¹] はそれぞれ励起波長および蛍光波長における散乱媒体・蛍光物質混合体の吸収係数を表す。

図1 半無限散乱媒体の模式図

図1 半無限散乱媒体の模式図

式(1)および式(2)の励起光・蛍光の時間分解波形に、装置の応答特性を表す装置関数と蛍光寿命による強度の減衰を畳み込んだ計算結果を測定結果にフィッティングさせて蛍光寿命などのパラメータを求める。

3. 実験方法

時間分解測定には、ピコ秒時間分解測定装置(TRS-20, 浜松ホトニクス社製)を用いた。光源は半導体パルスレーザーで、パルス幅は約 100 ps、発振波長は 760 nm である。時間分解測定装置は応答特性を持っているため、装置関数も測定した。

媒体は 1 μM の ICG を含む 0.8% Intralipid 溶液であり、散乱特性が生体とよく似ている。

媒体は半無限媒体の条件を満たす黒色ポリアセタール樹脂製容器に入れた。照射・検出間距離は 5.1 mm である。蛍光を検出する際には励起光をカットするために赤外透過フィルタを用いた。

4. 実験結果および考察

蛍光特性の測定結果は表 1 のようになった。

表 1 測定によって得られた蛍光特性

回数	β_m [mm ⁻¹]	τ [ns]
1	0.00267	0.467
2	0.00263	0.467
3	0.00256	0.472
平均	0.00262	0.469
標準偏差	0.00005	0.002

純水中の ICG の蛍光寿命は文献値が $\tau = 0.18$ ns であるのに対し^{[2][3]}, Intralipid 溶液中における蛍光寿命は表 1 のように $\tau = 0.47$ ns となった。その原因としては、ICG が Intralipid と反応したことが考えられる。さらに生体内では ICG は血漿蛋白質と結合することが考えられる。また、蛍光寿命は濃度によっても変化する^{[2][3]}。今後、生体内に近い環境における蛍光寿命の測定には、生体内で想定される ICG の濃度と、生体内で ICG に付着するであろう蛋白質の再現のための血漿を使う必要がある。

5. 結言

本研究では Intralipid 溶液中における ICG の蛍光寿命に焦点を当てて調べた。その結果、以下の知見が得られた。

- ・ICG は Intralipid 溶液中の分子と結合し、蛍光特性が変化する。
- ・Intralipid 中における 1 μM の ICG の蛍光寿命は約 0.47 ns である。

6. 参考文献

- [1] M. S. Patterson and B. W. Pogue APPLIED OPTICS Vol. 33, No. 10 1994
- [2] 「蛍光測定 生物学への応用」 木下一彦・御橋廣真編 学会出版センター 1983
- [3] 「ナノ・ピコ秒の蛍光測定と解析法」 D.V.O'Connor, D. Phillips 著 平山鋭・原清明訳 学会出版センター 1988