

バイオ・医療応用

サイバーレーザー(株)
高田康利

1 はじめに

生体の営みにとって「光」は欠かせないものであり、地球上のありとあらゆる生物は光合成に代表される多様な反応によって光エネルギーを享受している。これらの反応を応用し、古くから生体機能の解明や治療、診断の研究がなされてきた。さらには、特殊な特性を持った人工の光であるレーザーの出現によりこれらの分野が急速に進展し、今やレーザーが必須のツールとなるまでに至っている。

1960年Maimanらによって最初のレーザー発振が実証されたが、そのわずか一年後、レーザーの出現を待ち望んでいたかのように網膜剥離治療にレーザーが適用されている。以来、レーザー技術の進歩とともに、バイオ・医療分野は成長を遂げている。当初の単なる熱エネルギー源としての利用から、患者の負担を低減する選択的な治療、マイクロサージェリーに代表される微細治療等、従来の手技では成し得なかったより高度な治療が可能となった。さらには、レーザー顕微鏡や蛍光イメージング等の可視化技術、質量分析技術によって生体機能の全容が明らかになりつつあり、従来の病気ごとに治療を行うレディーメイド医療から、患者個々の遺伝子情報にあわせたテーラーメイド医療へと大きな変革が起きようとしている(図1)。

表1にレーザーの波長ごとの代表的なアプリケーションを記す。本稿は、このなかで脚光を浴びている技術をいくつか取り上げ、そのなかでのレーザーの役割につい

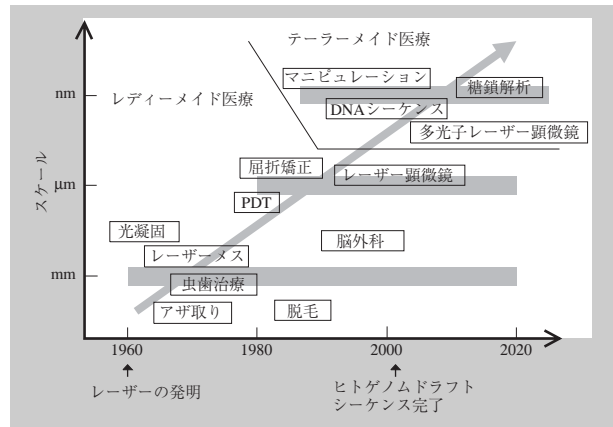


図1 バイオ・医療応用の流れ

表1 波長帯ごとの応用例

	紫外	可視	赤外	超短パルスレーザー
バイオ	蛍光イメージング [2.2章] マイクロダイセクション [2.3章] 質量分析 [2.4章]	レーザー顕微鏡 DNAシーケンス フローサイトメトリ レーザーピンセット [2.3章]	OCT オプティカルコヒーレントトモグラフィ マイクロダイセクション [2.3章]	多光子レーザー顕微鏡 OCT
医療	屈折矯正 [3.4章]	光凝縮 アザとり マイクロサージェリー PDT [3.3章]	レーザーマス [3.2章] 歯科治療 美容整形(脱毛、しわとり、マイクロピーリング) ペインクリニック	屈折矯正 [3.4章]

て解説する。第2章では、ナノテクノロジー技術との融合により爆発的な進展を見せているバイオ応用のうち、生体細胞内の微小物質の可視化や制御、ポストゲノム技術として注目される糖鎖構造解析について取り上げる。第3章では、レーザーの適用によって患者への負担軽減

や、治療の高度化が進む医療応用について解説する。

2 バイオ応用

2.1 概論

最近、ナノテクノロジー、バイオテクノロジー、フォトニクスという3つの分野の融合技術（ナノバイオフォトニクス）により、分子レベルの計測、制御が可能となり、生体機能の解明が急速に進んでいる。その代表的なものにゲノム解析があるが、2000年のヒトゲノムシーケンスの決定により、再生医療、ゲノム創薬等のテーラーメイド医療実現の足がかりが築かれている。本章においては、ナノバイオフォトニクス分野のトピックスとして、生体細胞内のタンパク質の振る舞いを可視化する蛍光バイオイメージング、微小粒子を取り扱う上で重要な要素技術となるレーザーピンセット、ポストゲノム技術として注目される糖鎖構造解析について取り上げる。

2.2 蛍光バイオイメージング

生体機能解明のためには、情報伝達因子であるタンパク質の振る舞いをリアルタイムに観測するための可視化技術の確立が重要となる。蛍光バイオイメージングは観察したい分子に蛍光標識を付け、その分布や動きを可視化する技術である。古くから紫外光の吸収により緑色の蛍光を発するGFP：Green Fluorescent Proteinが用いられてきたが、1992年にGFPの遺伝子配列が明らかにされ、観察したいタンパク質の遺伝子内にGFPの遺伝子を組み込むことで、蛍光を発する融合タンパク質へと自在に変える技術が確立され、GFP遺伝子を用いた蛍光バイオイメージングが一気に普及した¹⁾。

理化学研究所の宮脇らは、紫外光の照射によって蛍光波長が緑から赤へと変化する蛍光タンパク質を見だし、その色の変化から「kaede（カエデ）」と名付けた²⁾。kaedeの遺伝子をクローニングし、GFPと同様に観察したいタンパク質をマーキングする技術を開発した。さらに、kaedeを発現する細胞の一部にUVレーザーを照射するだけで、色の変化が細胞全体へと広がることを見出した。これらの効果を応用し、三次元的に複雑に絡み



図2 kaedeによる神経回路網の解明

合う神経のイメージングを提案している。神経細胞にkaedeを発現させ、その一部にUVレーザーを照射したところ、色の変化が細胞全体に広がり、神経経路のつながりが確認された（図2）。

2.3 レーザーピンセット

生態組織内の μm オーダーの微粒子を生きたままに捕獲・移送するマニピュレーション技術は、バイオテクノロジー分野において重要な要素技術であると考えられている。レーザーピンセットは、光の持つ粒子性を応用したもので、光子が衝突する際の圧力（Photon pressure）により運動エネルギーを与え、捕獲・移送する。レーザーピンセットとレーザー切除技術との組み合わせで、細胞内に存在する細胞核等の小器官を取り出す、言わば細胞内手術を非接触に行うことができる。

大阪大学の松永らは、雌雄異株植物の性決定機構の解明のため、性染色体の解析を行っている。その一環として、花粉粒より花粉一個を取り出す技術を確認した³⁾。ナデシコ的一种であるヒロハノマンテマの花粉粒の細胞壁をUVレーザーで壊し、レーザーピンセットによって花粉一個を単離することに成功した（図3）。また、レーザーマイクロダイセクションによるY染色体の切り出

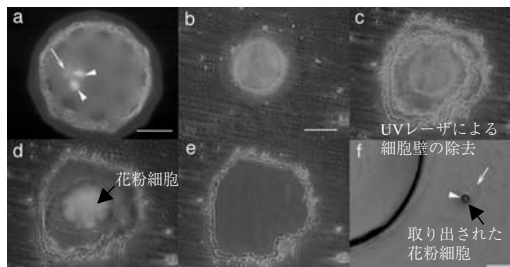


図3 花粉粒から花粉細胞の取り出し

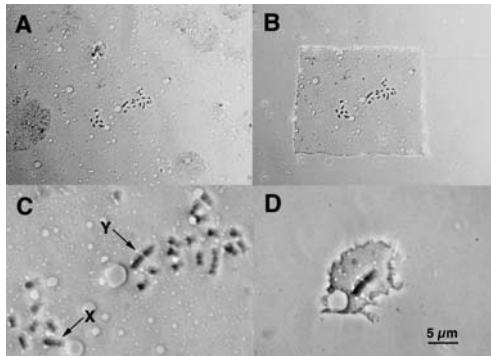


図4 マイクロダイゼーションによるY染色体の抽出

しについて報告している⁴⁾。UVレーザーによりY染色体以外の領域を昇華することで、Y染色体を単離することに成功した(図4)。

2.4. 糖鎖構造解析

細胞は、酵素、ホルモン、情報伝達因子等、様々なタンパク質をつくり、それらが機能を発揮することで生命活動を維持している。ヒトゲノム解析が完了した今、その遺伝子情報によって生成されるタンパク質の機能解明(プロテオミクス)へと研究フェーズがシフトしている。一方で、生体内においてタンパク質の約半数が、「糖鎖」の修飾を受けて初めて本来の機能を発揮することが明らかになりつつある。また、先天性筋ジストロフィーが糖鎖異常によって引き起こされる等、糖鎖と病態との関連についても次第に明らかになってきている。糖鎖研究は、ポストゲノム時代において最も重要な課題の一つと位置づけられており、糖鎖構造の解明によりゲノム創薬や再生医療等、テーラーメイド医療の進展が期待される。糖鎖構造は複雑かつ多様で、高精度かつハイスループットな解析装置の開発が急務であり、現在NEDOプロジェクトとして「糖鎖エンジニアリングプロジェクト」が産業技術総合研究所を中心に進められている。サイバーレーザー社は、糖タンパクを質量分析のアプローチで解析する研究グループに所属し、質量分析装置用レーザー光源の開発をミッションに同プロジェクトに参画している。

質量分析を行うにあたり、測定対象の構造を保存したままイオン化する必要があるが、糖タンパクの解析においては、MALDI: Matrix Assisted Laser Desorption

Ionization (マトリックス支援レーザー脱離イオン化法)と呼ばれるソフトイオン化手法(図5)を用いる。この手法の発明によりタンパク質のような巨大分子でも分子構造を維持したままイオン化できるようになり、質量分析の分野にブレイクスルーをもたらした。この業績により、島津製作所の田中氏がノーベル化学賞を受賞したことは記憶に新しい。イオン化用光源には一般的に窒素レーザーなどの紫外レーザーが用いられる。

糖タンパク質の解析においては糖鎖-タンパク質間の結合エネルギーが非常に弱く、光子エネルギーの大きい紫外レーザーでは余剰エネルギーで壊してしまう問題があった。糖鎖構造解析用光源として、より光子エネルギーの低い中赤外域での波長可変光源(2.6 - 4.0 μm)を開発した(図6)。同装置はLD励起Nd: YAGレーザーとQPM素子による波長変換で、小型、完全空冷、高効率を実現している。この光源を用い、赤外光を使った超ソフトなイオン化手法: IR-MALDIの開発を生命科学情報研究センターと共同で進めている。

前記の手法でイオン化したサンプルをTOFMS: Time

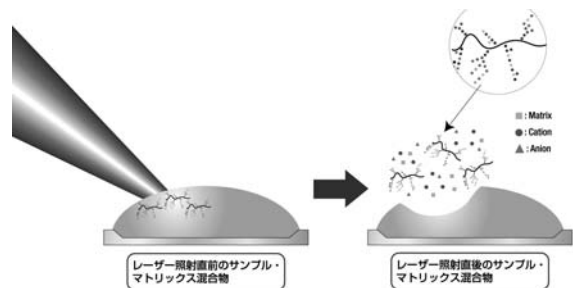


図5 MALDI概念図



図6 IR-MALDI用光源



図7 MALDI-TOFMS装置外観 (AXIMA-QIT : 写真提供 島津製作所)



図8 FTMS装置外観 (FT+MS : 写真提供 BRUKER Daltonics 社)

of Flight Mass Spectroscopy (飛行時間型質量分析装置) や、FTICRMS : Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析装置) を用いて質量分析を行う。TOFMS はイオンを電場で加速し、一定距離飛行させたときの到達時間から解析する方式⁵⁾で、高感度に測定可能なこと、構造が単純で安価であること、測定材料の範囲が非常に広いことを特徴とする (図7 : 島津製作所製 AXIMA-QIT)。FTICRMS はイオンを強磁場内にトラップし、磁場内でのサイクロトロン運動の周期で解析する方式⁶⁾で、質量分析法の中で最も高い分解能、測定確度を持つこと、超微量なサンプルでも測定可能であることを特徴とする (図8 : Bruker 社製 APEX II)。

3 医療応用

3.1. 概論

表2 作用ごとの医療応用例

	主な応用	重視される性能	適用されるレーザー
I 熱による作用 光エネルギーの吸収による効果	レーザーメス (切除、止血) 光凝固 (眼底治療、止血)	波長 (吸収特性) 高平均出力	CO ₂ レーザー Greenレーザー 中赤外レーザー
II 圧力による作用 フォトンプレッシャー、optical breakdownによる衝撃波	色素の除去 (あざ、刺青) 後発白内障治療 虫歯治療	高ピークパワー 高エネルギー 波長 (吸収特性)	Nd:YAGパルスレーザー ルビーレーザー
III 光化学反応 特定色素への選択的吸収によって起こる反応	PDT 蛍光観察	波長 (吸収特性)	エキシマdyeレーザー 半導体レーザー
VI 電磁波作用 電磁場生成によって起こる分子結合の破壊 (photo-ablation)、イオン化	屈折矯正 表層病変除去	高光子エネルギー 超高ピークパワー (多光子吸収)	エキシマレーザー UV固体レーザー 超短パルスレーザー

医療応用はある意味、ヒト生体組織の光エネルギーを用いたレーザー加工であるといえる。レーザーという取り扱いに注意を要し、決して安価ではないツールを用いる場合、①従来技術と比較して明確な技術的ブレイクスルーが起こること、②加工対象が高価、高付加価値であることが求められる。メス等を用いた手技と比較して、非接触かつ微細な加工により患者への負担を最小限に抑えた治療が行えること、従来の手法では困難であった部位の治療が行えること、かつ、ヒト組織が現存する最も高級な加工対象であることを考えると医療分野への適用は理にかなっているといえる。レーザーの医療応用を考慮した生体組織への作用を考えると、以下の4つに大別できる。表2にそれぞれの作用に対応するアプリケーションと、重視される性能、レーザー装置をまとめる。

3.2. レーザーメス

メスとしての応用は古くからあり、Nd : YAG レーザーや、CO₂ レーザーを用いて、切開と同時に止血を行う非観血的な手技を可能としている。これらは、照射部位に光エネルギーが吸収されることで局所的な温度上昇を起こす、熱的作用を応用している。照射部位の温度上昇は、次式で表される。

$$\Delta T = \frac{E\sigma(1-R)}{\pi r^2 d \rho c} \quad (1)$$

E：レーザー光のエネルギー、 σ ：吸収係数、R：反射率、 πr^2 ：照射面積、d：組織の厚み、 ρ ：組織の密度（ $\cong 1 \text{ g/cm}^3$ ）、c：組織の比熱（ $\cong 0.9 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$ ）

(1) 式のレーザーの出力や照射時間に依存される温度上昇レベルによって、以下の順序で効果が現れる。

- Level 1 生理作用や細胞分裂等の促進
- Level 2 脱水と組織の萎縮
- Level 3 タンパク変性（凝固）
- Level 4 熱分解（炭化）
- Level 5 組織の蒸発

熱的作用の応用の中で、ペインクリニック（疼痛緩和）治療はLevel 1、網膜光凝固はLevel 3、レーザーメスはLevel 4～5等、目的の効果をj得るための適切なパラメータを設定する必要がある。さらには、照射部位の効率的な温度上昇や、周辺組織への侵襲を抑えるために、吸収特性と一致した波長特性が求められる。

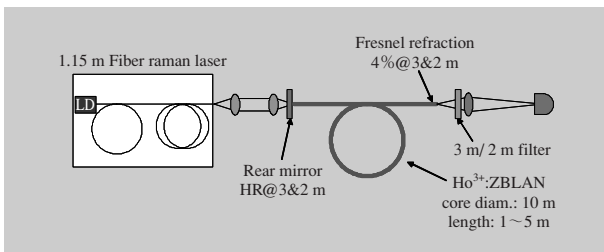


図9 2波長同時発振中赤外ファイバーレーザー

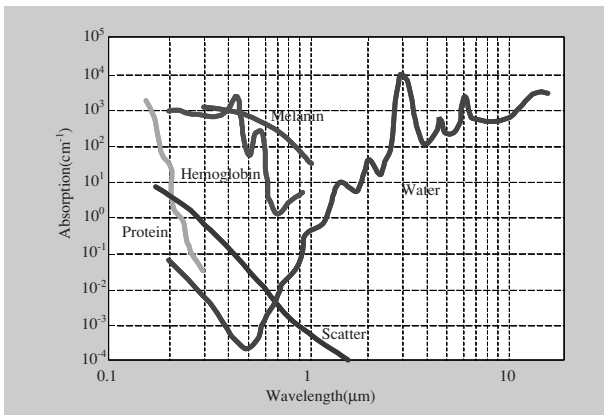


図10 軟組織構成要素の吸収スペクトル

サイバーレーザー社は、レーザーメス用光源として2波長同時照射中赤外ファイバーレーザーを提案した⁷⁾ (図9)。生体組織の大部分を占める水の2つの吸収ピーク波長 (図10) を同時照射可能で、3 μm による精細な切開、2 μm による効率的な止血効果を得ることができる。これらの波長の有効性は以前より指摘されていたが、本方式の全ファイバー構成による飛躍的な発振効率の向上 (2波長合計のスロープ効率60%) と、空冷、小型化の実現により、ようやく実用化の目処が立ったといえる。軟組織への照射実験において、鋭利かつ周辺組織への熱変性を最小限に抑えた切除の結果が得られている (図11)。また3 μm 帯において世界最高レベルのパルスエネルギーを発生するレーザー光源を製品化している (表3：A-cure)。レーザーメスとしての機能はもちろんのこ

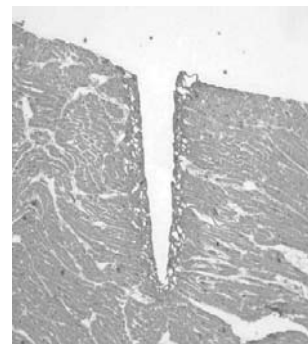


図11 軟組織の切除

表3 サイバーレーザーの医療研究用商品群

	A-cuer (アキュア)	C-cuer (シーキュア)	Rouge (ルージュ)
波長	2.8-3.0 μm	550-680 μm	659,669nm
パルスエネルギー	50mJ	0.2mJ	—
繰り返し周波数	40-100Hz	50-100Hz	CW
平均出力	2W	20mW	100mW
パルス幅	100-500 μs	10ns	—
平均出力安定性	$\pm 10\%$	$\pm 10\%$	$\pm 3\%$
ファイバコア径	700 μm	—	50 μm
電源	100V	100V	100V
消費電	1500VA	1500VA	500VA
サイズ	340×780×880	600×800×290	440×260×130
発振方式	LD励起 Nd:YAG	LD励起 Nd:YAG +THG+OPO	LD励起 Nd:YAG
装置外観			

と、パルスエネルギーが大きいことを活用し、照射範囲を拡大することで広範囲に分布する病変を均一に取り除くことが可能である。

3.3. PDT

PDT: Photo Dynamic Therapy (光線力学療法) は、健常組織へのダメージを最小限に抑えたがん治療の手法で、東京医科大学の早田らと米国の Dougherty らの共同研究における 1980 年の早期肺癌患者への適用が臨床研究の始まりであった。PDT は、腫瘍に対し親和性の高い光感受性物質を体内に投与し、腫瘍組織に集積させる。その物質が持つ吸収特性と一致した波長を照射して励起し、発生する一重項酸素によって腫瘍組織を死滅させる。既存の外科手術や投薬、放射線療法等と比べると、①周辺組織への侵襲が少ない、②治療部位だけに集中的に照射できる、③確実性・即効性があるうえ副作用が少ない、といった利点がある。

従来、励起には CW (連続波) 光源が用いられるが、東京医科大学の奥仲らは、パルス光源 (ナノ秒オーダー) の適用により、治療効果を深部まで到達させる手法を提案している⁸⁾。さらに高強度なパルス光を照射した場合、表層部に PDT の効果が現れず、深部のみ効果が現れることが見出されている (現在のところプロセスは明らかになっていない)。慶応大学の荒井らは、この手法を用い前立腺癌等の照射表面が健常組織で覆われた病変において、健常組織を温存した深部治療の実現を目指している⁹⁾。

レーザーの照射方法だけでなく、PDT に適した光感受性物質の開発も重要な事項であり、現在様々な薬剤が提案され、臨床試験が行われている。サイバーレーザー社では、PDT 研究用途向けにこれらの励起波長のほとんどをカバーする波長可変光源を製品化している (表 3 : c-cure)。LD 励起 Nd : YAG レーザーの 3 倍波 (355 nm) を励起源とした光パラメトリック発振により、550-680 nm の範囲で波長チューニングを可能としている。また、装置組み込み用として、多くの薬剤に対応できる波長固定 (670 nm 帯) の小型レーザーを製品化している (表 3 : rouge)。

3.4. 近視・遠視矯正

眼は、角膜と水晶体で構成されるレンズで網膜上に結像させる光学系であるといえるが、その結像位置のズレを角膜形状の加工によって補正する手法が屈折矯正手術である。角膜というやわらかく透明な材料を精細 (ミクロンオーダー) に加工するために、高い光子エネルギー (紫外光) により原子間結合を切断し蒸散させるアブレーションを用いる。現在では LASIK と呼ばれる、マイクロケラトーム (小型、超精密なカンナ) により薄皮のフラップを形成し、角膜の下層にレーザーを照射する手技 (図 12) が主流となっている。従来の角膜上に直接照射する PRK と比べ、① Haze と呼ばれる角膜上皮が白濁する合併症が回避できる、②痛みが少ない、③術後の視力回復が早い点に優れている。光源としては、ArF エキシマレーザー (193 nm) が主に用いられているが、固体レーザーの長寿命、メンテナンスフリーの特徴を生かした Nd : YAG の 5 倍波 (213 nm) を用いた製品も提案されている。

次世代の屈折矯正の技術として、超短パルスレーザーの適用が提案されている。超高ピークパワー (>GW) を有する超短パルスレーザーにおいては、出力波長が近赤外 (= 1 光子あたりのエネルギーが小さい) 状態であっても、複数の光子が同時に吸収される多光子吸収により、紫外光と同等の高い光子エネルギーを得ることができ、本連載の第 8 回に透明材料の内部加工应用を紹介したが、同じく透明材料である角膜においても内部加工が可能で、これを応用したレーザーケラトームが実用化されている。これにより、LASIK のすべての作業を非接触に行うことが可能となった。将来的には、超短パルスレーザーの集光位置を 3 次元スキニングすることで、フラップを形成せずに内部加工のみで屈折矯正を行うこ

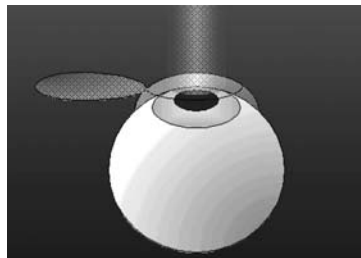


図 12 LASIK

とが可能となる。

もう一つ最近のトピックスとして、Wavefront LASIKを紹介する。Wavefront analyzerにより角膜と水晶体で構成される網膜への結像光学系の収差を測定し、それにあわせて角膜に非球面レンズ加工を行い、収差を取り除く。これまで矯正が困難であった極度の乱視についても治療が可能となった。さらには、球面収差やコマ収差等、高次の収差まで解析し、補正することでSuper vision（視力3.0を超えることもある）が得られている。

4 まとめ

一定水準以上の物理的な豊かさが得られた今日においては、健康に対する比重が高まり、今後、医薬・医療産業は更なる成長を遂げると考える。その基礎研究分野において、レーザーの果たすべき役割が大きいことは前述の通りである。現状のレーザー技術はまだ発展途上にあり、高機能化、低価格化、高信頼化が進めば、今以上に応用の範囲は広がると考える。また、今回取り上げた研究テーマ以外にもレーザーが適用できる部分はまだ多くあり、我々レーザー技術者がバイオ・医療分野の研究者とより深く交流することで、新たなシーズを掘り起こすことができると考える。サイバーレーザー社は、バイオ・医療分野を事業の柱の一つとして定めており、今後も先進の光源の提供により、同分野の発展に貢献していく所存である。

最後に、本稿執筆にあたり、資料をご提供頂いた理化学研究所 須田亮博士、宮脇敦史博士、東京大学 松永幸大博士、慶応大学 荒井恒憲教授、産業技術総合研究所 高橋勝利博士に感謝を申し上げます。

参考文献

- 1) 宮脇敦史, 理研ニュース, No.255 (2002)
- 2) R. Ando, H. Hama, M. Yamamoto-Hino, H. Mizuno, A. Miyawaki, PNAS 99, 12651-12656. (2002)
- 3) S. Matsunaga, K. Schutze, I. Donnison, S. R. Grant, T. Kuroiwa, S. Kawano, Plant J. 20, 371-378. (1999)
- 4) S. Matsunaga, S. Kawano, T. Michimoto, T. Higashiyama, S. Nakao, A. Sakai, T. Kuroiwa, Plant Cell Physiol. 40, 60-68. (1999)
- 5) 田中耕一, ぶんせき, NO.4, 253 - 261 (1996)
- 6) H. Nakagawa, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 44, 415-429. (1996)
- 7) H. Sumiyoshi, H. Sekita, T. Arai, S. Sato, M. Ishihara, and M. Kikuchi, IEEE J. Select. Topics in Quantum. Electron., Vol.5(4), 936-943. (1999)
- 8) T. Okunaka, et al. Japan J. Cancer Res. 83, 226-231. (1992)
- 9) S. Ohmori, T. Yanagihara, T. Arai, Proc. of SPIE 5319-13. (2004)

■ Biomedical application of lasers

■ Yasutoshi Takada

■ Cyber Laser Inc.



タカダ ヤストシ

所属：サイバーレーザー(株) 研究所 プログラム
マネージャー

連絡先：〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1

慶応義塾先端科学技術研究センター 14-505

Tel. 045-560-6644 Fax. 045-562-2318

E-mail : takada@cyber-laser.com

経歴：1997年3月茨城大学大学院理工学研究科
修士課程修了。1997年4月株式会社ニデックに

入社、眼科用レーザーの開発を担当。2003年4月サイバーレーザー株式会社に入社（現職）。現在は、産業技術総合研究所CBRCにて糖鎖解析用質量分析装置、バイオメディカル用レーザー光源の開発に従事。趣味は、旅行、買い物、たまに飲むお酒。