

## ECBO 2009 および Medical Laser Applications 2009 速報

石井 克典, 栗津 邦男 (大阪大学大学院工学研究科)

会議名 : European Conference on Biomedical Optics (ECBO) 2009

開催期間 : 2009年6月14日-6月18日

開催場所 : International Congress Centre Munich (Munich, Germany)

\*\*\*\*\*要 約\*\*\*\*\*

今年の ECBO 2009 および Medical Laser Applications 2009 における話題は、やはり「診断」と「バイオ分析」であった。細胞レベルでの蛍光イメージング、近赤外光を用いた脳イメージング、OCT の眼科・皮膚科応用や信号処理・イメージ処理など、イメージングに関する多数の報告があった。各種診断技術の対象として動脈硬化症の不安定性プラークが意外と多かった。OCT に関しては、治療の支援技術として利用した研究が散見された。治療分野に関しては光線力学治療が多く、光感受性物質は Hypericin®、Foslipos®、Levulan®、Metvix® の利用が目立っていた。それ以外のレーザー治療に関しては近赤外波長および中赤外波長の利用が多く、臨床例も多数紹介されていた。

\*\*\*\*\*

### 1. はじめに

European Conference on Biomedical Optics (ECBO) 2009 が 2009 年 6 月 14 日～18 日にドイツのミュンヘンで開催された。本国際会議は、ヨーロッパでおこなわれる世界有数の生体光学に関する国際会議で、規模としては毎年 1 月末にアメリカ西海岸で開催される Photonics WEST BiOS よりやや小さく、隔年開催である。World of Photonics Congress (ヨーロッパの光に関する合同国際会議、European Conference On Lasers And Electro-Optics (CLEO Europe) など 8 つの国際会議で構成) 期間内に開催される。World of Photonics Congress は LASER World of PHOTONICS (世界最大級の光製品の展示会) も併催されており、研究者のみならず企業の開発・製造・営業関係者も多く参加し、非常に盛況なイベントである。本報告では、ECBO 2009 の他、併催されていた Medical Laser Applications 2009 (ドイツレーザー医学会 : Deutsche Gesellschaft für Lasermedizin e.V.) の内容も含め、最新の研究動向について紹介する。

### 2. 会議の主要な研究テーマ

ECBO 2009 は、先進顕微鏡技術、医用分光・臨床分光診断、拡散光イメージング、分子イメージング、医学生物学応用のための新規光学技術、オプティカルコヒーレンストモグラフィ、レーザー治療応用・レーザー生体相互作用の 7 セッションで構成されていた。ほとんどが診断・分析に関する研究であった。

Medical Laser Applications 2009 は、レーザー医療の現状、診断 (前臨床)、診断 (技術)、診断 (臨床)、光線力学治療 (Photodynamic Therapy; PDT)、治療 (PDT 以外)、診断・治療の基礎の 7 セッションで構成されていた。100 人くらいで小規模ではあるが、臨床医中心で症例報告が多く、非常に活発に議論していた。基礎研究者の参加は少なく、開発途中の光源を用いた新規シーズの研究などはほとんどなかった。

## 2. 応用分野別トピックス

### 2. 1 動脈硬化診断

現在の臨床において動脈硬化症の血管内カテーテル治療は、X線透視による血管造影法と血管内超音波診断 (intravascular ultrasound ; IVUS) による観察下での実施が一般的であり、血管内視鏡がまれに用いられるのが現状である。欧米においては我が国に比べ動脈硬化症の安全な治療に対する要求が強い印象がある。本会議においても、心疾患発症リスクを予想し予防するために、粥状動脈硬化病変の不安定性プラーク (脆弱性プラーク) を正確に診断する技術開発に関する報告が多かった。

近年、Optical Coherence Tomography (OCT) を血管内で経カテーテル的に行うことができるようになったが、オランダ・Erasmus Medical CenterおよびInteruniversity Cardiology Institute of the Netherlandsの共同研究グループは、不安定性プラークが破たんするかどうかの診断法として、OCTイメージから粥状動脈硬化病変の組成判別を試みた。粥状動脈硬化病変の組織性状はfibrous (繊維性)、fibro-fatty (繊維脂質性)、calcium (石灰化)、necrotic core (壊死性コア) の4つに分類されるが、粥状プラーク不安定化の原因には、necrotic coreへのコレステロールエステル蓄積による脂質コアの拡大とfibrous cap (線維性被膜) の脆弱化が関与すると一般的に考えられている。この研究グループは、OCTイメージからattenuation coefficient ( $\mu_t$ ) を算出し、マクロファージが多い部分や脂質が豊富な部分は $\mu_t$ が大きく、軽度の繊維性部分は $\mu_t$ が小さいことを利用して、粥状プラークの不安定性を判別できると報告した。

アメリカ・Massachusetts General Hospital (Wellman Center for Photomedicine) の研究グループも、粥状動脈硬化病変の評価を目的とした研究報告を行った。こちらは血管内レーザースペックルイメージングによる動脈硬化病変の不安定性の判別であり、ヒト粥状動脈硬化病変を用いた *ex-vivo* (生体外) の検討において、レーザースペックルイメージから算出される時定数が短いと正常に近く、時定数が長いと石灰化病変に近いという原理を利用して粥状プラークの不安定性を判別していた。この研究グループは、*in-vivo* (生体内) での検討に向けて、専用のレーザースペックルイメージングカテーテル (バンドルファイバーを利用、太さは1.5 mm) を開発し、その性能についても報告を行っており、今後の展開が期待された。

オランダ・Maastricht大学の研究グループは、Qドットを用いた粥状動脈硬化病変の分子イメージングについて報告した。不安定性プラークの分子ターゲットであるフォスファチジルセリン (PS) とコラーゲンに対して、PSに対してはAnnexin A5を、コラーゲンに対してはペプチドCNA35を用いアフィニティーラベルを行い、不安定性プラークの一部可視化に成功した。

### 2. 2 OCTの臨床応用の新展開

近年の生体光学の国際学会の傾向であるが、OCTに関する研究報告はずば抜けて多い。話題は多岐にわたり、眼科・皮膚科といった診療科における前臨床・臨床研究と高速化・画質向上といったハードおよびソフトの基礎研究を中心として、血流計測、光源研究、内視鏡への応用など、全世界で势力的に研究が行われている。近年は対象組織 (疾患) の拡大も試みられており、スイス・Federale de Lausanne等の研究グループは睪島の*in-vivo*イメージング、台湾・Industrial Technology Research Institute等の研究グループは直腸結腸腫瘍の判別、ドイツ・University of Munichの研究グループは尿管の微細構造のイメージング、ドイツ・Ruhr University等の研究グループは骨髄を含む骨組織のイメージングと $\mu$ CTとの比較など、興味深い応用例が報告された。

OCTの最大のメリットは非侵襲に生体組織の断層イメージを得られることは言うまでもないが、これまで治療のモニタリング技術として活用するというアイデアは多くはなかった。本会議において、OCT支援の治療に関する興味深い報告がいくつかあったので報告する。アメリカ・Case Western Reserve University等の共同研究グループは、心房細動の高周波カテーテルアブレーション（ラジオ波焼灼術）のリアルタイムモニタリング手法としてOCTの応用を試みた。左心房と肺静脈間の電氣的伝導をブロックする際にアブレーション治療を行うわけだが、手技が難しくしばしば過焼灼や穿孔が発生することが問題となっており、OCTが安全な治療を支援できると報告していた。ルーマニア・University of Medicine and Pharmacy of Timisoaraの研究グループは、Er:YAGレーザーによる根管治療（歯の根の病気や汚染に対する治療）のガイドとしてOCTの適応を試みていた。ロシア・Nizhny Novgorod State Medical Academy等の研究グループは、金ナノ粒子による表面プラズモン効果を利用したハイパーサーミアによるがん治療のモニタリング技術としてOCTを利用した。金ナノ粒子によりOCTイメージの輝度が増加するため（散乱因子が増加するため）、腫瘍組織をイメージングできると報告していた。まだ基礎的な報告ではあったが、非常に興味深い研究であった。ドイツ・Laser Zentrum Hannover e.V.等の共同研究グループは、眼のフェムト秒レーザーによる治療をOCTリアルタイムモニタリングで精密に制御する試みについて報告した。

### 2. 3 マイクロサージェリー

レーザー生体相互作用・レーザー治療のセッションは細胞手術（セルサージェリー）とPDTの発表が多かった。新規レーザー治療につながる相互作用研究などに関する発表は少なかった。

セルサージェリーに関する研究発表の多くは、フェムト秒レーザーを用いたマイクロサージェリーやセルサージェリー（細胞レベルでのレーザーメス）に関してで、光破壊（Photodisruption）やレーザー誘起キャビテーション発生の原理など基礎研究が多かった。議論の中心は、どのくらいの深さ・大きさをどのくらいの時間、どのくらいの精度でできるかであり、臨床・実用へはまだ遠い印象を受けた。また、セルサージェリーを実現するための診断方法として金ナノ粒子を用いたイメージングを検討しているグループがいくつかあり、細胞内に取り込ませた金ナノ粒子への照射効果についての報告があった。全体としては、具体的に臨床・実用に近づくとどのようなことができるのかが現状不鮮明なため、この分野においてはゴールに近い研究が必要であると感じた。マイクロサージェリーは現在の非常にマクロなレーザー手術とは概念が異なり、今後のブレークスルーにより近未来の治療技術となりうるため、今後の研究展開に期待したい。

### 2. 4 ヨーロッパにおけるPDTの研究と臨床

光線力学診断（Photodynamic Diagnosis; PDD）とPDTは、がんや加齢性黄斑変性症の低侵襲かつハイクオリティな診断・治療技術であり、今後も盛んに臨床で実施され、新たな光感受性物質（PDD・PDTに利用するレーザーを照射すると活性酸素種を発生させる薬剤）やその励起光源の基礎研究も推進されるべきである。しかしながら、現在わが国において、PDT用光源の開発およびメンテナンスの中止、適応拡大が進まないなど、いくつか問題を抱えており、そういう意味でもヨーロッパの研究動向が気になり、興味深く聴講した。

オーストリア・University of Salzburgの研究グループは、アミノレブリン酸（Aminolevulinic Acid; ALA）とアミノレブリン酸メチルエステル（ALA Methyl Ester; MAL）の比較研究について発表した。EUにおいては、ALAはLevulan®（日光角化症のPDT治療薬）、MALはMetvix®（日光角化症、基底細胞が

ん、ボーエン病の PDT 治療薬)として認可されている。外用塗布 ALA の問題点としては、深くまで浸透しないため効果が表面に限られること、照射中にやや痛みがあることが挙げられるが、MAL は ALA に比べ浸透度が高く、PpIX (プロトポルフィリン 9) の蛍光強度も強く、塗布濃度が薄くても良く、照射中の痛みも少ない (痛みに関しては正確なデータはないらしい) と報告した。ドイツ・Ludwig Maximilian University の研究グループは、腫瘍摘出手術時に、術中の PDD や術後の PDT により手技成功率を向上させることができることから、ALA を用いた PDT 研究を進めており、ALA を用いたヒト肝芽腫細胞株 (HuH6) やヒト神経膠芽腫細胞株 (MHH-NB-11) への PDT について発表した。ヒト肝芽腫に関して、細胞およびがんマウスにおいて顕著な効果を確認できたと報告した。我が国においては ALA-PDT・PDD の研究が皮膚科や脳神経外科を中心に盛んに行われているものの未だ認可は下りていない。今後、欧米にならって ALA と MAL の認可が下り、皮膚科を中心とした診療科で新たな PDT が受けられるよう、日本も早急に認可に向けて取り組まなければならない。

ドイツ・University of Ulm の研究グループは、神経膠芽腫 (脳腫瘍の一種) の光感受性物質 Hypericin を用いた PDT について研究を行っており、神経芽腫細胞株 (U373MG) に対する効果について報告した。スイス・University Hospital of Zürich の研究グループは、頭頸部扁平上皮癌に対する PDT の基礎的検討として、頭頸部扁平上皮癌細胞株 (UMB-SCC 745) に対して、光感受性物質に Hypericin® と Foslipos® を用いた PDT の効果を発表した。それぞれの光感受性物質単独の場合 (2.5 µg/ml) は PDT 後 12 時間ではほぼ 100 % 死滅させることができたが、2 つを混合した場合 (混合して 2.5 µg/ml) は PDT 後 3 時間で同等の効果を示し、Hypericin® と Foslipos® の混合による PDT の有用性を示した。

## 2. 5 PDT の感染症・殺菌への応用

光線力学治療は従来がんの治療や新生血管閉塞に用いられるが、近年、抗菌・殺菌の手段や感染症の治療法として積極的に検討されている。イギリス・University College London とイギリス・Loughborough University の共同研究グループは、インドシアニングリーンを含んだポリウレタンに MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus*: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)、*Staphylococcus epidermidis* (表皮ブドウ球菌)、*Escherichia coli* (大腸菌)、*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) を培養し、波長 808 nm の近赤外レーザーを照射した際の殺菌作用について報告した。光線力学効果の新しい殺菌手法として非常に興味深い。イタリア・University of Pavia と Center for Tissue Engineering 等の共同研究グループは、光感受性物質にメロシアン 540 を用い *Staphylococcus epidermidis* のバイオフィームに対する光線力学効果について検討し、菌増殖の抑制効果を報告した。Medical Laser Applications 2009 でも PDT の殺菌への応用例について発表があった。スイス・University Hospital of Zürich の研究グループは、光感受性物質に Hypericin® と Foslipos®、励起光源に歯科用樹脂材料重合用の波長 450 nm の光源を用い、口腔内細菌 *Streptococcus mutans* の殺菌を PDT により試みた。取り込みに関しては、*Streptococcus mutans* は Hypericin を約 15 分、Foslipos を約 30 分で取り込むこと、殺菌効果は Hypericin®、Foslipos® それぞれの単独使用に比べ、併用した場合により効果が上がることを報告した。上述の頭頸部扁平上皮癌細胞株に対する PDT の場合でも Hypericin® と Foslipos® の併用による効果の有用性が示されており、非常に興味深い知見であり、今後の研究が期待される。

## 2. 6 PDT のドージメトリー

PDT は非常に低侵襲な治療法であるが、ドージメトリー（特にレーザー照射エネルギー）に関しては極めてあいまいであり、ガイドラインや論文に基づき実施施設の経験により定められているものの、実際には既定量より多めに照射するといったこともよくあると聞く。光感受性物質の腫瘍内での濃度分布、腫瘍の光学特性値、レーザーの伝搬の様子が正確に解明されれば、より科学的な PDT が実施できると考えられる。筆者ら、大阪大学の研究グループは、PDT による腫瘍組織の光学特性の変化について、PDT 後腫瘍組織の光学特性値が大きく変化することを報告した。PDT 後に光診断する場合や、PDT 後に再照射する場合に非常に重要なパラメータとなると考えている。スウェーデン・Lund University の研究グループは、光感受性物質の退色の様子をモデルと計算を用いて 3 次元的に解析する試みを報告した。現在、前立腺がんの PDT に応用している最中である。ドイツ・LIFE-Zentrum の研究グループも同様の研究を報告したが、こちらは脳腫瘍の PDT を対象としていた。脳腫瘍の PDT では機能温存も極めて重要であるため、他の臓器で行われている過照射は許されない。すなわち、レーザーの伝搬と光感受性物質の退色に関して詳細な情報を得ることは重要である。

## 2. 7 赤外レーザー治療

臨床での（および臨床に近い）新規レーザー治療技術のセッションでは、近赤外・中赤外域の波長の利用に関して報告がいくつかあった。ドイツ・University of Lübeck 等の研究グループは、波長 1.92  $\mu\text{m}$  のファイバーレーザーを用いた腎臓の非観血手術（メスを入れたり縫ったりしない手術）（*in-vitro* 実験）について発表した。水の吸収特性は高温時に短波長側へシフトするため、波長 1.92  $\mu\text{m}$  は Ho:YAG レーザーに対応する水の吸収極大波長のシフト後の波長であり、効率よく切削できると報告していた。ドイツ・University Munich の研究グループは、下肢静脈瘤レーザー治療における波長 980 nm と波長 1470 nm の比較（*in-vitro* 実験）について、レーザー照射後の静脈の変化、特に円周方向と血流方向の伸縮度について詳細に報告した。結果、どちらの波長が良いとは言及していなかったが、近赤外レーザーによる下肢静脈瘤治療に有用性を強調していた。ロシア・IRE-Polus Co と Center of Treatment and Rehabilitation Health Ministry の共同研究グループも下肢動脈瘤のレーザー治療について報告した。波長 970 nm と波長 1560 nm の比較（臨床データ）について、波長 1560 nm の有用性を報告した。理由は水とヘモグロビン両方に吸収されるとのことだった。筆者ら、大阪大学の研究グループは、波長 5.75  $\mu\text{m}$  のナノ秒パルスレーザーを用いた血管形成術（粥状動脈硬化治療）について、正常動脈に低侵襲に粥状動脈硬化部位を選択的に除去できることを報告した。波長 5.75  $\mu\text{m}$  は光学特性に基づいた最適な波長であるということを理解してもらい、多くの反響を得ることができた。また、波長 5.75  $\mu\text{m}$  を発振できるレーザーについては、もう少し小型にしないと臨床医は使いたがらないとのコメントをいただいた。確かにそのとおりであり、波長 5.75  $\mu\text{m}$  の有用性は証明されつつあるので、今後小型光源の開発にも力を入れなければならない。

赤外レーザー治療の臨床例は Medical Laser Applications 2009 のほうでいくつか報告があった。ドイツ・Ludwig Maximilian University の研究グループは、下鼻甲介（鼻腔内のひだで骨でできており表面は粘膜）の過形成に対するレーザー治療の二重盲検試験（実施している薬や治療法などの性質を、医師からも患者からも不明にして行う試験方法）について発表した。波長 1470 nm と波長 940 nm の半導体レーザーを光源として、両者を比較したところ、治療効果自体に違いはなかったが、同等の治療効果を与えるために波長 1470 nm は波長 940 nm の 4 分の 1 で済む（波長 1470 nm のほうが低エネルギー）と報告した。ドイツ・Elisabeth

Clinic の研究グループは、膣口の硬化性苔癬の炭酸ガスレーザーによる切除術について報告した。筆者は初めて聞く症例であった。ドイツ・Ludwig Maximilian University の研究グループは、レーザー結石破砕術について発表した。レーザー結石破砕術において、紫外・可視域のレーザーは結石を大きく割るため、手技的に不都合かつ再発の恐れがあり否定的であるのに対して、赤外域のレーザーは熱水中で反応が鈍るものの微粉砕と溶解が可能のため結石破砕に適している。胆石や尿管結石のレーザー破砕装置として有名な FREDDY レーザー（波長 1064 nm の Nd:YAG レーザーとその倍波・波長 532 nm を同時に出力するレーザー）と波長 2.1  $\mu\text{m}$  の Ho: YAG レーザーを比較すると、Ho: YAG レーザーの方が微粉砕効率がよく優れており、約 85 %完治（手技成功）、約 5 %穿孔（手技失敗）と報告した。今後、胆管や尿管といった周囲組織に影響を与えにくい照射システムの開発や、原理的に低侵襲な波長の検討などを行うことで、よりよい治療になると考えられる。

### 3. おわりに

ECBO 2009 および Medical Laser Applications 2009 に関して、特に治療に関係する発表について報告した。もちろん ECBO 2009 は診断応用に関する発表の方が圧倒的に多い。研究分野だけ列举すると、先進顕微鏡技術のセッションでは細胞レベルでの蛍光観察技術や蛍光イメージの 3D 化、医用分光・臨床分光診断のセッションでは皮膚科応用や多光子顕微イメージング、拡散光イメージングのセッションでは近赤外光を用いた脳イメージング、分子イメージングのセッションでは生細胞イメージング、医学生物学応用のための新規光学技術のセッションでは組織の *in-situ*（生体内のその場所での）計測や光音響イメージング、OCT のセッションでは眼科・皮膚科応用や信号処理・イメージ処理など、イメージングに関する多数の報告があった。

ECBO 2009 は、治療に関しては、歯科、皮膚科、美容形成外科など BIOS で比較的演題数の多い診療科や、低反応レベルレーザー療法に関する演題は非常に少なかった。BIOS 以上に光診断の色が強かったことは、レーザー治療研究を推進する筆者にとっては悲しい状況である。一方、Medical Laser Applications 2009 は非常に臨床・治療色の強い学会であった。このような場で日本のレーザー治療研究のアクティビティを紹介するのも良いと考える。

末筆にはなるが、本国際会議の大きな特徴であろうか、ミュンヘンのビールがポスター発表や夕方のコーヒブレイクでほぼ毎日配られていた。ビールを飲みミュンヘンを満喫しながら、研究の話を長々とできる非常に充実した機会である。次回は 2011 年 5 月 22 日から 27 日の 6 日間、今年と同じミュンヘンで開催されるとのこと。日本で光技術の医療・バイオ分野への応用研究に携わっている方々、是非参加していただきヨーロッパで日本の研究成果を発表し、議論していただければと思う。