

FACSS 2008 速報 [スペクトロスコピーの医療・バイオ応用関連]

石井 克典 (大阪大学大学院工学研究科)

会議名 : The 35th annual Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies (FACSS 2008)

開催期間 : 2008年9月28日-10月2日

開催場所 : Grand Sierra Resort and Casino (Reno, NV, USA)

*****要 約*****

FACSS2008 において、光の関係する分析技術としては、ラマン分光イメージングや近赤外分光イメージングなどに代表されるケミカルイメージングの応用研究が目立っていた。特に、製薬分野への応用が積極的に行われており、薬剤生産ラインにおける品質管理技術として有用性が、FDA や製薬メーカーから数々報告された。今後、専用装置開発の動向次第では急速に実用化が進むのではないかとこの予見を得た。その他、スペクトロスコピーの医療・バイオ分野への応用研究は、様々なシーズ研究が散見されたがまだ基礎的な段階であり、今後の研究開発動向が注目される。

1. はじめに

FACSS はアメリカの分光分析に関係する学会 (アメリカ化学会の分析化学部門、アメリカ質量分析学会、アメリカ分光学会など) の連合組織で、毎年 1 回アメリカ国内で開催されている。ラマン分光、赤外分光、テラヘルツ分光、蛍光分光、NMR、Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)、質量分析 (ICP、イオンモビリティ、MALDI、ESI など) などの分析技術に関して、先端的な分析技術の基礎的研究から、スペクトルの解析手法、医療・法医学・製薬・バイオ・ナノテクノロジー・食品・環境などの分野へ応用する研究まで、広範な話題に関して議論が行われていた。特に報告の多かった話題は、ラマン分光の応用研究、ケミカルイメージング (ラマンイメージングと近赤外分光イメージング)、ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer)、簡易迅速分析 (ハイスループト分析) と感じた。分光分析技術および装置にとってレーザーをはじめとする光技術は非常に重要な要素であり、光技術の進歩なくして分析化学技術の進歩はありえない。逆に、最先端の光技術の応用先は、近年多種多様化する分析化学業界あるということも忘れてはならない。今回は、最新の分光分析技術および最新の分光分析装置を用いた医療・バイオ分野での応用研究トピックス、特にケミカルイメージング、テラヘルツ、MALDI、その他分光医療・バイオ応用トピックスについて報告する。

2. ラマン分光および近赤外分光の製薬分野への応用

2. 1 ラマン分光

分光分析分野において近年のホットトピックスはラマン分光である。これは、ラマン分光が水の影響を赤外分光ほど受けずに、非常に多くの分子情報を提供するからである。ラマン分光には多種の方法論 (共鳴ラマン、コヒーレントアンチストークスラマン (CARS)、表面増強ラマン (SERS) など) が存在し、様々な

業界がラマン分光の可能性に注目している。

圧倒的に報告例が多かったのは製薬分野への応用例である。米国 FDA (Food and Drug Administration) は、インスリンなど出荷数の多い薬品を、できるだけ多い抜き打ち数で (理想的には全数を) 迅速にバリデーションするために、ラマン分光に注目している。波長 532 nm 励起のラマン分光でヘパリンのコンタミをスクリーニングした例について報告した。実際、このような薬品の簡易スクリーニングを目的として、ハンディタイプ・プローブ方式のラマン分光装置が BWTEK 社から製品化されており、米国においてラマン分光による薬品のスクリーニングのニーズの多さが伺えた。

ラマン分光イメージングに関しては、錠剤・顆粒剤の品質管理技術への応用が大半を占めた。ファイザーの研究グループは、Global Mapping 方式 (非スキャン方式) のラマン分光イメージングにより、医薬品原薬 (API: Active Pharmaceutical Ingredients) とマンニトール (錠剤成形用の粉末) の混合物のイメージングについて報告した。API は 1050 cm^{-1} 、マンニトールは 1030 cm^{-1} のラマンシフトバンドを用いてイメージを構築していた。イメージに関しては、近赤外分光イメージと結果を比較しており、API とマンニトールの混合試料に関してはラマン分光イメージの方がコントラストが良いという結果を得ていた。しかしながら、近赤外波長域において特徴的な吸収ピーク (対象と比較対照の吸収の差) がある試料に関しては、近赤外分光イメージングでもコントラストのよいイメージが取得できるため、方法論として NIR がラマンより劣るということではない。

FDA の研究グループは、ケミカルイメージングを品質管理工程に導入し定量的な結果を得るためには、個々のイメージング装置の空間分解能を評価する物質 (標準) が必要であることを指摘し、ポリエチレングリコールのラインを塗布したシリコン基板の有用性を紹介していた。実際の製造工程に関する基礎的研究を FDA が報告しているのを考えると、米国における製薬分野でのラマン分光イメージングの本格的導入に向けた動きは間違いないことを実感した。

「製薬におけるラマン分光」というセッションで、ドタキャンの取り消し演題があり、座長とそのセッションの演者で座談会形式の討論が行われた。ラマン分光の医療・バイオ分野への積極的な応用は最近の話で、製薬分野における品質管理に関しては近年徐々に受け入れられつつあるが、ブレークスルーが必要ではないか? といったような内容であった。討論では、「ラマン分光はまだサイエンスで、ラマンのテクニシャンでないと分析ができない」、「ラマン分光装置のままではだめで、プロセスアナライザーとして専用装置にしなければならない」、「ラマンの信頼性にまだ疑問」といったような意見が交わされていた。会場の近赤外分光研究者からは、ラマン分光と近赤外分光、違うものを見ていても最終的に得られるイメージング結果が同じであれば、レーザーを使用しない非侵襲性を考慮すると近赤外分光の方が有利なのでは? との意見も寄せられていた。"Raman is a science" が非常に印象的だった。ラマン分光は製薬分野では品質管理工程などで有望な技術であることは間違いないので、プロセスアナライザーの開発など、今後の専用装置化の動向が注目される。

2. 2 近赤外分光

近赤外光は対象物質への侵襲性が深く、物質によって特徴的なスペクトルパターンを有するため、容易にケミカルイメージングできることから注目されている。ラマン分光イメージングと同様に、近赤外分光イメージングも製薬分野での応用に関する報告が多かった。近赤外分光は、錠剤や顆粒剤を対象とした場合、吸収バンドを利用した API 量、水分量、API の混合状態 (凝集状態)、API の結晶状態、錠剤の糖衣コーティングの均一性などを測定可能である。

ファイザーの研究グループは、波数 8500~9000 cm^{-1} の API 由来の吸収バンドを用いた API の簡易迅速モニタリング技術について報告した。この近赤外分光による手法は従来の HPLC (High Performance Liquid Chromatography) による抜き打ち検査のスコアと良い相関を示すことから、近赤外分光は全数検査が可能であるため有意であるという見解を示していた。グラクソスミスクラインの研究グループは、近赤外分光による API の最適な結晶状態のモニタリングについて報告した。アムジェンの研究グループは、錠剤の固さによって近赤外域のスペクトルパターンが変化することを報告した。錠剤の固さは、服用時の薬剤の分解などに影響を与えるため臨床上重要であり、従来は破壊的試験によって分析されていたが、近赤外分光手法と従来法が良い相関性を示すことから、非侵襲な近赤外分光は錠剤の固さを分析する手法として有用である。

ロシュの研究グループは、近赤外域のハイパースペクトラルイメージングにより、顆粒剤の混合状態を簡易的に測定する方法を報告した。Duquesne 大学の研究グループは、製剤における混合プロセスを近赤外分光イメージングでモニタリングする技術（特に混合プロセスのエンドポイントの決定方法）について報告した。FDA らの研究グループは、近赤外分光イメージングで錠剤のコーティング分析について報告した。錠剤のコーティングは薬効を制御するため臨床上非常に重要であり、コーティングの溶解の経時変化をイメージングできるのでないかとコメントしていた。

製薬の視点とはやや異なるが、ポルトガルのリスボン工科大学の研究グループや米国のメルクは、同じ原理を利用して、不正医薬品犯罪の取り締まりを試みている。不正医薬品は API の含有量が少ないことから、近赤外分光イメージングにより API の含有量をイメージから定量し、7%のエラーで正規品と不正品を判別できることを報告した。

3. ラマン分光および近赤外分光のその他の応用

製薬分野以外では、がんの診断、ナノ構造材料の表面分析、生物兵器の検出、細胞の内部構造の観察、細胞内への薬剤の取り込みの評価（ドラッグデリバリーシステム (DDS) への応用）など、いくつかの応用例が報告されたが、どれもまだ基礎検討段階であった。

ノースイースタン大学らの研究グループは、コンフォーカルラマン顕微鏡を用いたラマン分光イメージングで、生細胞のラベルフリーリアルタイムモニタリングに向けた研究を行っており、ナノ粒子やリポソームの細胞内取り込み (DDS 効果) のラマン分光イメージングに関して報告した。ラマン分光イメージは蛍光イメージが競合技術であると考えられるが、S/N 比が良く広帯域のラマンスペクトルを得ることができれば、振動分光に関して情報量の多いラベルフリーイメージングが可能であり、今後の研究開発動向が楽しみな技術である。

バンダービルト大学の研究グループは、乳がんの切除手術時において腫瘍組織と正常組織の境界をリアルタイム診断する技術の開発を目的として、Spatially Offset Raman Spectroscopy (SORS) による乳がんファントムやヒト乳がん組織の分析について報告した。SORS は生体軟組織中の硬組織成分（例えば乳がん組織中のカルシフィケーション部分）のように強いラマン散乱を発生させる対象の深部診断に有効であり、乳がん以外にも有効的に診断できる疾病があるのではないかと考える。

4. テラヘルツ分光

近年、テラヘルツ帯の光の発生や計測技術が成熟しつつあり、テラヘルツ分光の医療・バイオ分野への応用が積極的に模索されている。テラヘルツ領域は、中赤外領域のように振動モードに対するピークの対応 (い

わゆる指紋領域と呼ばれる所以) が現状完全にできていないため、対象物質と比較対照のスペクトルパターンの違いから、物質の同定・検知をすることが多い。

Picometrix 社や TeraView 社は、時間領域テラヘルツ分光イメージング装置により、錠剤の糖衣コーティングのイメージングについて報告した。錠剤の糖衣コーティングのイメージングに関しては、ラマン分光イメージングや近赤外分光イメージングでも試みられているが、テラヘルツは振動領域よりも長い波長帯のために熱の発生がほとんどなく、競合するイメージング手法より有利であると報告していた。

理化学研究所らのグループは、パラフィン包埋した腫瘍組織の時間領域テラヘルツ分光イメージングについて報告した。テラヘルツスペクトルにケモメトリクスを導入し、正常と腫瘍を判別していた。テラヘルツ領域は水の透過性は悪いが氷の透過性は良いため、今後腫瘍組織の凍結切片に関して検討を進め、迅速病理診断技術へと展開するとコメントを頂いた。

テラヘルツ分光の研究領域は、近年市販のテラヘルツ分光装置も登場し、応用ユーザーが入りやすい環境になってきている。様々な物質のテラヘルツスペクトルのデータベース化も始まっている。しかしながら、応用研究の報告は未だ数少ない。テラヘルツが何に使えるか、テラヘルツでしかできない応用研究を探索し、研究を進展させ議論する必要がある。

5. レーザー脱離イオン化質量分析

質量分析は物質の質量を決定し、分子の高次構造を決定できる手法として、ライフサイエンス分野で非常に有用な分析方法である。質量分析におけるイオン化の一手法にマトリクス支援レーザー脱離・イオン化 (MALDI) 法があり、レーザーが大きく関与する技術である。MALDI は質量イメージングを可能とする重要なイオン化法の一つであり、生体組織などの複雑系に対し、重要な物質の空間分布の観察や定量を実現する強力な手段である。近年は質量イメージングのように細胞や組織中のタンパク質や薬剤などを直接分析するニーズも増えつつあり、より高効率なイオン化が求められるようになった。このような背景があるからか、MALDI のイオン化の基礎についてのセッションがあった。もちろん、MALDI のイオン化メカニズムは完全に解明されていないため、本質的に重要なテーマである。どのような条件 (特に試料側) にすればイオン化効率が上昇するか、その知見からイオン化メカニズムを探るといった内容であった。

ウィスコンシン大学のグループは、試料とマトリクスの前処理について、通常の滴下乾燥膜、特別に薄く加工した乾燥膜 (マトリクスの結晶が小さい状態)、試料層の上にマトリクス層、マトリクス層で試料層をサンドウィッチなど、数パターンの比較について報告した。どれが最適化については言及しなかったが、試料に対してマトリクスが非常に多い状態で均一に混合された薄い乾燥膜がやはり最適であろうとのことであった。マトリクスにレーザーのエネルギーが吸収された後に生成されるプルーム中での反応が重要であることが以前から指摘されているため、試料・マトリクスの固相の状態 (乾燥薄膜) と気相の状態 (プルーム) との関係性の解明が今後の課題である。

南イリノイ大学のグループは、これまでに試料・マトリクス薄膜と基板との関係について、試料と基板の固着力が強いとイオン信号が弱くなるため、逆に基板とマトリクス層の間にサブレイヤーを設けることにより、イオン化効率が增强されることを報告した。例えば、牛血清アルブミンをコーティングした基板上にマトリクスと試料の混合溶液を滴下し MALDI すると、イオン信号が通常時より增强する。これはマトリクスよりイオン化しにくい (イオン化エネルギーの高い) 物質をサブレイヤーとしてコーティングし、測定したい試料とマトリクスの混合溶液を滴下・乾燥させるという原理であり、サブレイヤーはマトリクスとイオン

化エネルギーの差が大きい物質を選ぶべきである。代表的な組み合わせとして例として、サブレイヤー・ナフタレン、マトリクス・シナピン酸や、サブレイヤー・フェナントレン、マトリクス・DHB が紹介された。

ケミカルイメージングの1つ、質量イメージングに関しては、報告数はまだ非常に少ない。ブルーカードルトニクスのグループは、同社の MALDI-TOF/TOF MS や MALDI-FTICR MS を用いて、組織中の抗がん剤分布のイメージングについて報告した。タルセバ錠（エルロチニブ）の腎臓や肝臓での分布、テモダール錠（テモゾロマイド）の肝臓や脳での分布について質量イメージを示した。侵襲的ではあるが、質量イメージングにより、ラベルフリーで組織中の薬剤を追跡することができる画期的な応用技術である。現在は低分子領域に限定されるが、今後低分子から高分子まで幅広い質量領域でイメージングの自由度が向上すれば、非常に情報量の多い病理イメージを提供することができるとコメントしていた。

6. 先端的分析装置開発と医療・バイオ分野への応用

近年、個々の分析技術の成熟により、旧来では考え付かなかった（試みられなかった）組み合わせの分析技術が登場している。ワシントン大学のグループは、HPLC で液相混合試料を成分ごとに分離し、検出をラマン分光で行う「LC/Raman」分光装置について報告した。LC/IR（LC分離赤外分光分析装置）に比べて水の影響を受けずに振動分光が可能であるが、蛍光の妨害が問題であり、蛍光をいかに除去するかが課題である。カフェイン、アスパルテーム（人工甘味料）、安息香酸など食品添加物関係物質 20 種程度の混合物の分析例について報告していた。同様の内容で、マンチェスター大学の研究グループは、HPLC と SERS を組み合わせた LC/SERS について報告した。

米国ローレンス・リバモア国立研究所とカリフォルニア大学デービス校の共同研究グループは、ラマン分光が細胞や組織の生物化学的な情報をラベルフリーで非侵襲的に提供する万能な分析手法であることを背景に、様々なラマン分光ベースの先端計測機器について報告した。特に目を見張ったのは、液相試料をマイクロフロー系で導入し、光ピンセットで細胞や微粒子をトラップしラマン分光する「Microfluidic-based Laser Trapping Raman Spectroscopy」である。この装置で一細胞のダイナミクスをラマン分光学的にとらえることができ、がん研究や再生医療研究に応用したいとコメントしていた。

USGS（United States Geological Survey）と FDA などの共同研究グループは、レーザーアブレーションと ICP-MS を組み合わせた装置（LA-ICP-MS）で、前立腺がん組織中の微量元素のイメージング分析について報告した。ICP-MS は微量元素の測定を行う分析手法であり、半導体・地質・環境・材料・食品などの分野でよく用いられる技術であり、生体組織中の微量元素をターゲットとした研究例は少ない。また、MALDI ではイメージング質量分析に関する研究が盛んに行われ、最近の市販の質量分析装置にはイメージング機能が搭載されているほど普及しつつある技術であるが、ICP-MS での生体組織のイメージング例は珍しい。

7. おわりに

FACSS2008 において、光の関係する分析技術としては、ラマン分光イメージングや近赤外分光イメージングなどに代表されるケミカルイメージングの応用研究が目立っていた。応用先は製薬分野が非常に多く、FDA や製薬メーカーから薬剤生産ラインにおける品質管理技術、薬効評価技術、不正医薬品犯罪取り締まり等、多岐にわたるトピックスが報告された。その他、スペクトロスコープの医療・バイオ分野への応用研究は、様々なシーズ研究が散見されたものの基礎的な段階であり、全体としては物足りない印象を受けた。臨

床医療への応用を目指した新しいシーズ研究に関する報告が次年度以降増えることを期待する。

来年の FACSS 2009 は、2009 年 10 月 18 日から 22 日、ケンタッキー州のルイスビルで開催される。本稿ではスペクトロスコーピーを中心に話題提供したが、スペクトロスコーピー以外の分析技術に関しても情報収集することができる。最新の分析技術および応用研究に興味のある方は有用な情報を得ることができるため是非参加していただきたい。