

バイオイメージング技術の進化

原田慶恵

イメージング技術の発展は生命科学や医学研究を進める大きな駆動力となってきた。観えなかったものが観えるようになることで新しい発見があり、次の研究につながっていく。はじめは形や動きをみる技術であったイメージングが、最近では機能をみるイメージングへと進化している。生命科学や医学研究者にとって、イメージングは身近な技術の1つであることは間違いない。しかし、自身の研究に有用な最新の技術を使ってみたいと思っても、次々と開発される新しい技術をフォローするのは容易ではない。また、最近の技術はその原理が難しく自分の研究目的に合った方法なのか判断ができないという研究者も多いのではないだろうか。そこで、バイオイメージングの百科事典をイメージして、基本的な技術から、今後広く使われるようになるかもしれない最新の技術・方法論までをそれぞれの項目ごとに簡単にまとめた。

はじめに

観察することは科学の最も基本的な手法である。直接目で見ることからはじまり、長い年月をかけてこれまでにさまざまな道具が開発されてきた。遠くの星を見るために望遠鏡が、小さいものを観察するために顕微鏡が開発され、今では宇宙の果ての近くまで観察できるようになった。また、電子顕微鏡を使うことで原子1個も観察が可能である。生命科学・医学の研究においてもイメージングは最も重要な手法の1つである。

光学顕微鏡は17世紀に開発され、18世紀には産業革命とともに量産化がはじまった。19世紀には製品の品質管理や医学研究のための顕微鏡が大量生産されるようになり、19世紀中ごろにはドイツの顕微鏡メーカー、Carl Zeiss社とLeica社の前身となる会社が設立された。20世紀のはじめには日本の2大顕微鏡メーカーであるオリンパス社とニコン社が設立された。光学顕微鏡と比べて1,000倍程度の分解能をもつ電子顕微鏡は1931年にベルリン工科大学のErnst Ruskaらによって開発された。1986年のノーベル物理学賞は、この電子顕微鏡の基礎研究および開発と走査型トンネル顕微鏡の開発に贈られた。1953年には位相差顕微鏡の発明に物理学賞が、2008年に緑色蛍光タンパク質の発見とその応用に、2014年には超解像蛍光顕微鏡の開発に、2017年には溶液中で生体分子を高分解能構造測定するためのクライオ電子顕微鏡の開発にそれぞれ化学賞が贈られたことから、バイオイメージング技術がいかに重要かつ社会への貢献度が高いものであるかがうかがえる。

1. 光学顕微鏡技術の発展

単純な明視野観察からはじまった光学顕微鏡だが、19世紀中ごろには試料に偏光を照射し、偏光および複屈折特性を観察する偏光顕微鏡が開発されその進化がはじまった。次に試料に光を当てて、その散乱光を観察する暗視野観察法、20世紀のはじめには蛍光顕微鏡が開発された。蛍光顕微鏡ははじめ、物質が発する自家蛍光（一次蛍光）の観察に用いられていたが、蛍光色素が発見されたことで、蛍光色素を用いて染色した細胞や組織が発する二次蛍光を観察する方法が広まった。さらにコントラストがない無色透明な細胞や微生物を無染色で観察するための方法として、位相差観察法、微分干渉観察法が開発された。

その後も光学顕微鏡技術は周辺技術の進歩とともに進化を続けた。レンズやフィルターなどの顕微鏡内の部品の性能の向上、微弱な蛍光を検出することが可能な高感度カメラの開発、光源としてレーザーを使いはじめたことなど、1980年ごろから周辺技術の急速な進歩があった。1990年ごろからは生細胞の蛍光観察に適した共焦点レーザー顕微鏡が普及しはじめた。さらに、蛍光色素1分子を観察することが可能な全反射蛍光顕微鏡が開発され、個々の生体分子の観察が可能になった。以上のこれまで開発されてきた光学顕微鏡観察法を含むさまざまな光学顕微鏡観察技術については第1章に、また、微弱な蛍光を観察するために必要な高感度カメラについては第10章にまとめた。

現在は蛍光顕微鏡観察がバイオイメージングの主流であるが、蛍光プローブの標識は手間がかかるだけでなく、侵襲的でありしばしば機能が損なわれたり、長時間の観察ができなかったりする。そのため、無染色の生試料をそのまま観察したいというのが、多くの研究者の希望であり、無染色で細胞内の分子の局在や詳細な構造を観察できる興味深い技術がいくつか開発されている。また、組織深部の観察が可能な多光子顕微鏡をはじめとする非線形光学（照射光以外の光で観察する）を用いたユニークな顕微鏡技術も、今後の発展が期待される。それらについては第2章、第3章としてまとめた。

2014年のノーベル化学賞の受賞によって注目されはじめた超解像顕微鏡は、さまざまな工夫によって従来の光学顕微鏡がもつ回折限界を超えた分解能で観察することが可能な蛍光顕微鏡技術である。これまでに数種類の異なる方法による超解像顕微鏡が開発されている。今はまだ普及は限定的ではあるが、超解像顕微鏡観察による新たな知見の報告も少しずつ増えており、今後、超解像顕微鏡は一般的な技術となっていくであろう。超解像顕微鏡については第4章にまとめた。

2. 光学顕微鏡以外のイメージング法

バイオイメージングには光学顕微鏡以外にもいくつかの重要な技術がある。走査型プローブ顕微鏡は、生体試料の観察には不向きであったが、タッピングモードの原子間力顕微鏡法が開発され、水溶液中のタンパク質の観察が可能になった。およそ10年前に、金沢大学の安藤らが開発した高速原子間力顕微鏡によって、無染色のタンパク質の形や動きを直接観察することに成功し、世界中に衝撃を与えた。電子顕微鏡は細胞内部や分子や原子まで詳細な構造を観察することが可能な透過型、試料の表面観察に用いられる走査型ともに広く普及し、生命科学や医学の研究には必要不可欠な技術である。2017年にノーベル化学賞を受賞したクライオ電子顕微鏡による単粒子解析法が開発され、これまでX線結晶構造解析でしか得られなかったタンパク質分子の高分解能の構造を、結晶を作製することなく決定することが可能になった。結晶ができないことで構造がわからなかったタンパク質の構造解析や、結晶化によるアーティファクトのない構造の決定に威力を発揮することが期待されている。高速原子間力を含む走査型プローブ顕微鏡については第5章、電子顕微鏡については第6章、また、可視光よりも短い波長のX線を使うことで空間分解能の高い像を得られるX線顕微鏡については第7章にそれぞれまとめた。

医療においてもイメージングは非常に重要な技術である。MRI検査を受けたことがある人は多いだろう。数百 μm の分解能で全身を観察することが可能である。また、fMRIはヘモグロビンの酸素代謝を観察することで脳の機能をイメージングすることができる画期的な観察法である。PETは医療用として放射性の糖のアナログを注射することで、がんのイメージングに使われている。光音響イメージングは生体組織透過性に優れる近赤外光を照射した際、光エネルギーを吸収した光吸収体が熱膨張する際に発生する光音響波を捉える技術である。光音響波はcmオーダーの深部イメージングを行うことが可能であり、医療診断への応用研究が進められている。これらの技術は第8章にまとめた。

3. 周辺技術の開発

バイオイメージングの周辺技術として、いくつかの重要な技術がある。まず、蛍光顕微鏡観察には蛍光プローブが必須である。最も一般的で古くから使われているのは蛍光色素である。蛍光顕微鏡観察に適した明るく丈夫な蛍光色素が次々と開発されてきた。現在バイオイメージングに最もよく使われているプローブは蛍光タンパク質である。遺伝子レベルで標的タンパク質分子に標識することが可能であることが最大の利点である。蛍光タンパク質をもとに、細胞内のさまざまな環境をモニターするプローブも開発されており、細胞の機能を調べる研究に用いられている。蛍光色素や蛍光タンパク質は強い励

起光によって退色が起き、長時間の観察には不向きである。退色しにくいプローブとして量子ドットが開発された。

この他にも、超解像顕微鏡観察や化学発光観察をはじめとする新しい顕微鏡観察や、医療用イメージング技術のためのプローブが開発されている。プローブを標的生体分子に結合させるためのタグ技術も重要である。これらについては第9章にまとめた。バイオイメージングには得られた画像を適切に解析するための画像解析技術が非常に重要である。新しい技術も含めて第11章にまとめたのでぜひ参考にしてほしい。

4. 今後のバイオイメージング

生命科学の研究は技術の進歩によって、単一細胞レベルでの解析が可能になってきた。バイオイメージングも今後は、1個体のすべての細胞の可視化、あるいは1細胞内のすべての分子の可視化を目標として技術の開発が進められていくと考えられる。組織透明化や膨張化の手法を用いて、マウス全脳の全細胞を検出した研究がすでに報告されている。天文学において星からの光が地球大気によって乱れてしまうことを解決するために発達した補償光学技術を使って、細胞内の密度が不均一な媒質を光が通過するときにかかる光の波面の乱れを打ち消すことで、理論限界に近い分解能での観察を実現しようという試みもはじまっている。これらの技術は最終章である第12章に掲載した。最終章の最後の項目には、顕微鏡観察が今後もっと身近な技術になることを願って、スマートフォンやタブレットなどのモバイル端末にレンズユニットを外付けするだけで高性能な顕微鏡観察が可能になる、画期的なモバイル顕微鏡について紹介した。

おわりに

本書ではバイオイメージングの基本技術から、今後使われるようになるかもしれない最新の技術・方法論までを取り上げた。全部で90ほどの項目となったが、1つの項目に複数の技術が紹介されていることもあるので、タイトルは「生きてるものは全部観る！ イメージングの選び方・使い方100+」とした。各項目は開発動向・トレンド、系の特徴・応用途、導入に関する情報の3つのパートに分かれている。1つの項目は図を入れて2ページ程度と短くまとめてあり、技術のエッセンスの紹介とし、気軽に読むことができるようにした。技術の詳細について知りたい方は、文献やより専門の本を読むことを薦める。できる限り広範囲の技術を紹介したつもりであるが、取り上げ損ねてしまった技術についてはご容赦いただきたい。本書がバイオイメージングに興味をもつ生命科学や医学分野の学生や研究者の皆さんのお役に立てることを願っている。

参考書籍

- ◇ 顕微鏡について
「改訂第3版 顕微鏡の使い方ノート」(野島 博/編), 羊土社, 2011
- ◇ 蛍光顕微鏡観察について
「発光の事典—基礎からイメージングまで—」(木下修一, 他/編), 朝倉書店, 2015
- ◇ 蛍光顕微鏡による細胞観察について
「新・生細胞蛍光イメージング」(原口徳子, 他/編), 共立出版, 2015
- ◇ 超解像顕微鏡について
「初めてでもできる! 超解像イメージング」(岡田康志/編), 羊土社, 2016
- ◇ プロープについて
「生命現象を理解する分子ツール」(浜地 格, 二木史朗/編), 化学同人, 2010
- ◇ 画像解析について
「バイオ画像解析 手とり足とりガイド」(小林徹也, 青木一洋/編), 羊土社, 2014