

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-504333

(P2009-504333A)

(43) 公表日 平成21年2月5日 (2009. 2. 5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 B 1/00 (2006.01)	A 6 1 B 1/00 3 0 0 Y	4 C 0 6 1
A 6 1 B 5/055 (2006.01)	A 6 1 B 1/00 3 0 0 P	4 C 0 9 6
	A 6 1 B 1/00 3 0 0 U	
	A 6 1 B 5/05 3 8 3	
	A 6 1 B 5/05 3 9 0	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁)		

(21) 出願番号 特願2008-527068 (P2008-527068)
 (86) (22) 出願日 平成18年8月15日 (2006. 8. 15)
 (85) 翻訳文提出日 平成20年3月24日 (2008. 3. 24)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/031865
 (87) 国際公開番号 W02007/022196
 (87) 国際公開日 平成19年2月22日 (2007. 2. 22)
 (31) 優先権主張番号 60/708, 301
 (32) 優先日 平成17年8月15日 (2005. 8. 15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

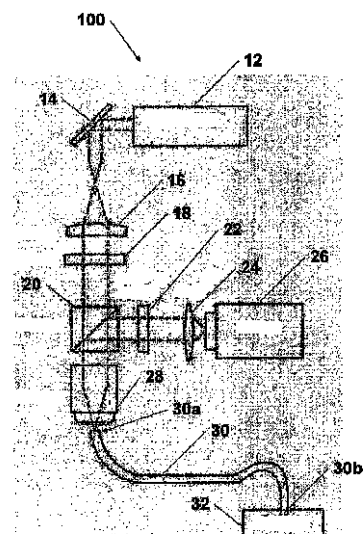
(71) 出願人 507410825
 ザ ボード オブ リージェンツ オブ
 ザ ユニバーシティー オブ テキサス
 システム
 アメリカ合衆国 テキサス州 オースティ
 ン ウェスト 7 ス トリート 2 0 1
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊
 (74) 代理人 100128048
 弁理士 新見 浩一
 (74) 代理人 100129506
 弁理士 小林 智彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 針生検イメージングシステム

(57) 【要約】

イメージング技術。放射線は、線源から、細胞または細胞下解像度を有する内視鏡を用いて試料上に誘導される。内視鏡は1つまたは複数のファイバを含む。ファイバは近位端および遠位端を有し、遠位端はレンズレスである。内視鏡の焦点面は実質的に遠位端の先端に存在する。試料からの放射線は検出器上に誘導され、試料が診断またはモニタされる。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

近位端および遠位端を有するイメージガイドと；
源放射線をイメージガイドに誘導するように構成された光学部品と；
検出器と；
試料放射物を検出器に誘導するように構成された光学部品と

を含み、

イメージガイドの焦点面が実質的に遠位端の先端に存在し、
イメージングシステムが細胞または細胞下解像度を達成する、試料をイメージングするためのイメージングシステム。

10

【請求項 2】

イメージガイドが光ファイバ束を含む、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 3】

イメージガイドの遠位端にグレーデッドインデックスレンズをさらに含む、請求項2記載のイメージングシステム。

【請求項 4】

イメージガイドがグレーデッドレンズシステムを含む、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 5】

グレーデッドインデックスレンズシステムが、拡大鏡およびリレーレンズを含む、請求項4記載のイメージングシステム。

20

【請求項 6】

試料をインビボでイメージングするように構成される、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 7】

解像度が約2 μm またはそれより良好である、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 8】

蛍光モードで動作するように構成される、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 9】

反射率モードで動作するように構成される、請求項1記載のイメージングシステム。

30

【請求項 10】

磁気共鳴画像(MRI)装置と適合性のある、請求項1記載のイメージングシステム。

【請求項 11】

放射線源と；
線源と光通信したコリメートレンズと；
コリメートレンズと光通信したビームスプリッタと；
ビームスプリッタと光通信した対物レンズと；
対物レンズと光通信し、近位端および遠位端を有し、遠位端が集束レンズを有さず、装置の焦点面が実質的に遠位端の先端に存在する、ファイバ束と；
ビームスプリッタと光通信したレンズと；
検出器とを含み、
細胞または細胞下解像度を達成する、イメージング内視鏡装置。

40

【請求項 12】

ヒト組織のインビボイメージングのために構成される、請求項11記載の装置。

【請求項 13】

検出器がCCD検出器である、請求項11記載の装置。

【請求項 14】

解像度が約2 μm またはそれより良好である、請求項11記載の装置。

【請求項 15】

励起フィルタまたはエミッションフィルタをさらに含み、蛍光モードで動作するように

50

構成された、請求項11記載の装置。

【請求項 16】

反射率モードで動作するように構成された、請求項11記載の装置。

【請求項 17】

磁気共鳴画像(MRI)装置と適合性のある、請求項11記載の装置。

【請求項 18】

細胞または細胞下解像度を有する内視鏡を用いて線源からの放射線を試料上に誘導する工程であって、内視鏡が1つまたは複数のファイバを含み、ファイバが近位端および遠位端を有し、内視鏡の焦点面が実質的に遠位端の先端に存在する、工程；ならびに

試料からの放射線を検出器上に誘導し、試料を診断またはモニタする工程を含む、イメージング法。

10

【請求項 19】

試料がヒト組織を含む、請求項18記載の方法。

【請求項 20】

試料が1つまたは複数のマーカーまたは造影剤を含む、請求項18記載の方法。

【請求項 21】

1つまたは複数のマーカーまたは造影剤が、トルイジンブルー、クレシルバイオレット、酢酸、フルオレセイン、NBDG(蛍光グルコース類似体)、抗体標的蛍光色素、抗体標的ナノ粒子、抗体標的量子ドット、ルゴールヨウ素、メチレンブルー、クリスタルバイオレット、蛍光デキストラン、SYTO核酸染色液、Alexa Fluor色素、金ナノ粒子又は銀ナノ粒子を含む、請求項20記載の方法。

20

【請求項 22】

1つまたは複数のマーカーまたは造影剤が、フルオロフォアまたはナノ粒子を含む、請求項20記載の方法。

【請求項 23】

試料が細胞を含み、フルオロフォアまたはナノ粒子が1つまたは複数の特別な細胞の標的とされる、請求項22記載の方法。

【請求項 24】

癌が診断される、請求項18記載の方法。

【請求項 25】

MRI装置を使用して、ファイバによるイメージングをナビゲートする工程をさらに含む、請求項24記載の方法。

30

【請求項 26】

イメージングがインピボで実施される、請求項18記載の方法。

【請求項 27】

イメージングが蛍光イメージングを含む、請求項18記載の方法。

【請求項 28】

イメージングが反射率イメージングを含む、請求項18記載の方法。

【請求項 29】

磁気共鳴画像(MRI)装置を用いて試料を同時にイメージングする工程をさらに含む、請求項18記載の方法。

40

【請求項 30】

- (a) ナノ粒子媒介分子治療の送達および薬物動態のモニタリング；
 - (b) 分子治療の送達および最も早い分子応答のモニタリング；または
 - (c) 分子治療に対する遅延応答と関連する生物マーカーのイメージング
- をさらに含む、請求項29記載の方法。

【請求項 31】

MRI装置を使用して、試料内の造影剤分布をモニタする、請求項30記載の方法。

【請求項 32】

造影剤分布が、トルイジンブルー、クレシルバイオレット、酢酸、フルオレセイン、NB

50

DG(蛍光グルコース類似体)、抗体標的蛍光色素、抗体標的ナノ粒子、抗体標的量子ドット、ルゴールヨウ素、メチレンブルー、クリスタルバイオレット、蛍光デキストラン、SYTO 核酸染色液、Alexa Fluor色素、金ナノ粒子又は銀ナノ粒子を含む、請求項31記載の方法

。

【請求項 3 3】

試料中での造影剤の相互作用をモニタする工程をさらに含む、請求項31記載の方法。

【請求項 3 4】

診断が試料の染色を含まない、請求項18記載の方法。

【請求項 3 5】

イメージングにより生成されたデータを使用して試料のマージンを分析する工程をさらに含む、請求項18記載の方法。

10

【請求項 3 6】

マージンを分析する工程が、腫瘍増殖の程度をイメージングする工程を含む、請求項35記載の方法。

【請求項 3 7】

針生検を必要とする患者を識別する工程；および
患者を針生検の代わりに光学イメージングに供する工程
を含み、光学イメージングが、

(a)細胞または細胞下解像度を有する内視鏡を使用して、インピボにおいて線源からの放射線を患者の試料上に誘導する工程であって、内視鏡が1つまたは複数のファイバを含み、ファイバが近位端および遠位端を含み、内視鏡の焦点面が実質的に遠位端の先端に存在する、工程；

20

(b)試料からの放射線を検出器上に誘導し、試料を診断またはモニタする工程を含む、方法。

【請求項 3 8】

源放射線を放射するように構成された線源と；
検出器と；
線源と光通信し、源放射線を試料まで誘導して、試料から光信号を生成させるように構成された、第1の光ファイバと；

検出器と光通信したイメージガイドと

30

を含み、
イメージガイドが光信号を検出器に誘導するように構成され；
イメージガイドが近位端および遠位端を有し；
遠位端が集束レンズを有さず；かつ

第1の光ファイバはイメージガイドから分離される、イメージング内視鏡装置。

【請求項 3 9】

細胞または細胞下解像度を達成する、請求項38記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

40

1. 発明の分野

本発明は概して、イメージングおよび画像診断の分野に関する。ある例示的態様では、本発明は、内視鏡の遠位端と接触した、またはそれに近接する細胞層をイメージングする光学針生検として使用できる内視鏡に関する。ある例示的態様では、内視鏡は光ファイバイメージガイドを含んでもよい。別の例示的態様では、内視鏡はグレーデッドインデックスレンズ(GRIN)イメージガイドを含んでもよい。別の例示的態様では、内視鏡は、光ファイバおよびグレーデッドインデックスレンズの両方を含むイメージガイドを含んでもよい。別の例示的態様では、内視鏡は磁気共鳴画像法(MRI)適合性であり、同時MRIおよび光学イメージングのために使用できる。

【0 0 0 2】

50

関連出願の相互参照

本出願は、2005年8月15日に提出された米国仮特許出願第60/708,301号に対し優先権を主張するが、その本文全体は、否認無しで、本明細書において参照により特異的に組み入れられる。

【0003】

連邦政府支援の研究および開発下でなされた発明に対する権利についての声明

本発明の局面は、NSF、プロジェクトタイトル“NSF IGERT”、助成金番号第0333080号の政府支援によりなされた。本発明の局面は、NIH、プロジェクトタイトル“Fiber Optic In Vivo Confocal Microscopy” University of Texas会計番号(Account No.)第26-1606-76xxの政府支援によりなされた。

10

【背景技術】

【0004】

2. 関連技術の説明

癌および他の組織異常を検出するために多くの技術が存在する。これらの技術はしばしば、細胞群に関連する物理的、分子的、または代謝的な(ならびに他の)量の顕著な変化に依存する。

【0005】

癌の特徴は、制御されない、無限の細胞複製である。異常なDNA複製量のため、異形成細胞の核は、非常に拡大されて見え、しばしば細胞直径の90%を占めるようになる。これらの核はしばしば、この異常DNA複製のために、不規則で高色素性に見える。さらに、高速有糸分裂のために、異形成組織中に多くの有糸分裂形態が存在する可能性がある。異形成細胞はより頻繁に分裂するので、細胞は混雑し、通常存在しない場所に押し込まれる。例えば、正常な上皮組織、例えば皮膚では、分裂してその上のはがれた細胞を補充する基底細胞層を有する明らかな組織化階層が存在する。上皮組織中の異形成病変は、上皮のどのフラクションが異常細胞により置換されているかに基づき格付けすることができる。より高いグレードの病変は、次第に大きくなる上皮フラクションを含む。病変が全上皮を含むが、細胞の基底層を超えておらず、基底膜を越えていない場合、この状態は上皮内癌と称される。異常細胞が、基底細胞層および基底膜を越えて、真下の結合組織に押し入ったことがわかると、悪性形質転換が起きたと言われ、そのような病変に対する治療は著しくより積極的になる。

20

30

【0006】

病理学者による除去した組織の組織学分析は、癌の確定診断を行うための治療の許容される標準である。病理学者が診断をするのを補助するために使用できる形態的系口は上記の通りである。しかしながら、近年、いくつかの型の癌の分子的小および代謝的な特徴に基づく診断を医師が行う能力を改善するために、追加のツールが利用可能になっている。ある乳癌は、Her-2/neuとして公知の細胞外チロシンキナーゼ受容体を過剰発現することがわかっている。この受容体は、エストロゲンシグナル伝達経路に関与し、癌の特定の型の治療に対する感受性を決定するのに重要であることが示されている。免疫組織化学(IHC)として公知の過程により、この受容体に対して誘導される抗体を組織中に導入し、異常受容体を発現する領域を明らかにすることができる。そのような分子に基づく戦略により、そのようなマーカーの発現に基づいて、より特異的な診断、および高指向性(highly directed)治療が可能となる。抗体の他に、アプタマー(タンパク質に結合することが示されているRNAの短配列)が最近、ある受容体に対して誘導されるターゲティング剤として使用されている。

40

【0007】

異形成および癌により組織中で起きる可視変化の他に、多くの分子および代謝変化が同様に起きる。有糸分裂的に活性な細胞は、そのような高速複製を維持できる大量の資源を必要とし；その結果、それらの酸素および栄養素要求は非常に高い。高増殖腫瘍への血流は増加することが多く、しばしば異常な血管新生と関連する。細胞内のこの血流増加および代謝活性変化は、様々な分光技術を使用して検出できる。

50

【0008】

これらの技術が組織の機能特性を解明できることに関係なく、より高い解像度で組織を評価する必要がある。分光法は組織を細胞レベルまで分解することができず、そのため、悪性腫瘍とある別の良性状態、例えば炎症との間で識別することができない。外科生検を実施する以外は、高解像度であるが、侵襲性が最小に抑えられた、組織を検査できる技術が複数存在する。針生検は事実上身体すべての部分に到達できる一般的な技術である。その最も簡単な型では、針生検は、触診、超音波、コンピュータ断層撮影(CT)または他のイメージング様式のいずれかにより案内される、小さな中空針の疑わしい組織内への挿入が含まれる。針の反対端で、シリンジから負圧により吸入を適用し、生検を受けている組織から細胞を除去する。これらの細胞を直ちに固定し、染色すると、高速診断が可能となり、また、上記IHCと同様に、見出された任意の腫瘍細胞の特定の性質を評価するより特異的な研究のために、これらの細胞を保存してもよい。この手順は全身麻酔を必要とせず、外科合併症が最小に抑えられるが、正確な診断のために十分な細胞を獲得するのにいくつかの段階が必要である。

10

【0009】

針生検は通常、塊、腫瘍、または他の領域が問題となっている場合に実行される。生検はまた、公知の腫瘍または領域に対し実行することができ、治療効果が評価され、他の研究のための組織が得られる。生検は通常、細胞病理学者に支援された熟練した医療専門家により実施される。典型的な手順は、細い針の挿入を含み、これにより、腫瘍または腫瘍から細胞または別の物質が除去される。2本以上の針を使用してもよい。例えば、1本の針はガイドとして機能してもよく、1本または複数の他の針は、それに沿って配置することができ、より正確な位置決めが達成される。針を正確に配置した後、シリンジによる吸引により細胞を引き抜き、特別な容器内に入れてもよい。除去した細胞をその後、細胞病理学者が試験し、細胞病理学者は診断し、または診断に必要な情報を提供するように努める。

20

【0010】

針生検はいくつかの利点を有するが、いくつかの欠点がある。任意の従来の生検では、患者はしばしば、疑い、除去、および診断の間の複数の待ち時間を耐えなければならない。診断が可能になる前の、組織の除去、組織スライシングおよび染色、ならびに病理学研究室での分析には時間が必要である。治療を実施するのに使用される生検と関連する別の問題には、生検間で生検部位を治癒させることが必要であることが含まれ、これにより、進行中の治療モニタリングが困難になっている。さらに、生検により除去された細胞はそれらの周囲から除去されるので、組織の構造は視覚化することができず、病理学的診断を実施することがより困難になっている。

30

【0011】

別の診断技術は、イメージングモダリティを使用することにより、正常組織から異形成組織を識別することを含む。しかしながら、これらの技術は2つの組織間のコントラストの変化に依存する。幸いにも、追加の処理を最小に抑えて、本質的なコントラスト変動を可視化できる。異形成細胞の核内でのDNA合成を増加させると、核が大きく、高色素性で、高反射性のものとなる。異形成核のこの反射率の増加は、反射率に基づくイメージング技術において使用され、組織中の疑わしい領域が明らかにされる。

40

【0012】

子宮頸癌スクリーニングは、コルポスコピーの使用により、長年この概念を利用している。このイメージング技術は、かなり低出力の顕微鏡を使用し、子宮頸部の上皮を視覚化する。異形成病変部は常に容易に明らかになるとは限らないが、酢酸希釈液を適用することができ、これにより、正常上皮と異常上皮との間のコントラストが増強する。この可逆過程のメカニズムはよく理解されておらず、クロマチンのクランピングが関係する可能性があり、これによりさらに、核と細胞質との間の屈折率の不一致の増加により核の反射率が増強する。これにより、組織からの後方散乱光の増加に至る。この効果により、そのクロマチン量がより大きな異形成組織は、周囲よりも多くの光を反射するようになり、臨床

50

医が病変を観察し、正確な診断を保証する適当な段階をとることができる機会が改善される。

【0013】

酢酸の他に、他の癌特異的造影剤が臨床研究を受けている。1つのそのような化合物はトルイジンブルー、上皮組織に容易に適用できる異染色性色素である。この色素が、細胞核内の負に帯電したクロマチンに結合し、これにより、異形成性となった細胞の核が優先的に染色されることが理論化されている。結果は、アセトホワイトニング(acetowhitening)効果により見られるものと違っておらず；異形成または悪性病変は、正常上皮のバックグラウンドから目立ち、臨床医には、さらなる研究が可能であることが警告される。トルイジンブルーを用いた口腔の視診は、数分しかかからず、容易に利用でき、安価な試薬が使用される。別の非標的色素、クレシルバイオレットはまた、異形成および癌組織に対し選択的な安価なマーカーとして有望である。これは蛍光性であり、この色素を用いて機能することが意図されるイメージングシステムの設計が簡略化されるという別の利点を有する。

10

【0014】

これらの技術は安価であり、迅速なスクリーニングを可能にするが、これらの特異性では、生検に完全にとって代わるには不十分である。例えば、トルイジンブルーは、同様に高い偽陽性率を有することが示されている。これらの方法論は依然として、高い感度および特異性を証明できることが必要である。分子ターゲティング戦略の出現で、多くの診断戦略において許容可能な特異性レベルを達成できる。

20

【0015】

免疫組織化学(IHC)は、前述したように、高い特異性で、あるタンパク質を発現する異常細胞を標的とすることが示されている。これらのタンパク質は単離することができ、これらの分子にとってのみ特異的な抗体を生成させることができる。これらの抗体を使用して、これらの特異的な分子を発現するある型の癌を検出するための診断試験を特異的に設計できる。そのような分子は細胞膜局在化受容体、マトリクスメタロプロテイナーゼのような分泌産物、異常細胞シグナル伝達タンパク質、または他のクラスの細胞内および細胞外タンパク質の宿主としてもよい。イメージングモダリティに依存する診断試験では、これらの高特異的抗体が、異形成領域のコントラストを増強させるマーカーに結合することが望ましい。これらのマーカーは反射に基づくイメージング戦略では、高反射性もしくは吸収性であり、または蛍光イメージングモダリティでは蛍光性とできる。金ナノ粒子は、反射率イメージングにおいて著しく有望であることが示されており、これは、金ナノ粒子が、適した状態下で、抗体または他の標的分子に容易に結合し、望ましい反射率特性を示すからである。

30

【0016】

癌組織の初期の検出および除去は、ほとんど普遍的に、疾患に関連する罹患率および死亡率を減少させることが示されている。残念ながら、生検は通常、組織の病理学的性質を決定するための非常に特異的な技術であるが、これを実行するための指標は時として誤解を与える可能性がある。例えば、口腔粘膜上の良性白板症は、前癌状態(異形成)の臨床的所見または扁平上皮癌の臨床的所見と混同されやすい。医師は、それが良性病変にすぎないと思うので、そのような位置からの生検を延期し、治療が遅れることがある。

40

【0017】

上記手順に関連する問題の結果、他の視覚診断手順を実行することが望ましい場合がある。磁気共鳴画像法(MRI)およびコンピュータ断層撮影(CT)は2つの広く許容されている非侵襲性イメージング技術であるが、これらは、解像力において制限があり、一般に、細胞レベルで癌を良性組織から識別することができない。さらに、CTは中程度の線量の電離放射線を患者に送達させるという欠点を有する。

【0018】

標準顕微鏡法は、固有の濁度が存在するので、インビトロ組織ではうまく機能しない。組織は高散乱性であるため、対象の焦点面の外側からの光が、任意の顕微鏡装置の画面内

50

に存在する。標準組織病理学を用いると、組織をスライスして非常に薄い膜を形成させ、これにより本質的に観察すべき材料すべてに、効果的に焦点を合わせることができる。生組織中でのイメージングでは、オプティカルセクションングとして公知の技術は、詳細な構造データを提供し、物理的に組織を切片化する必要がないことが示されている。

【0019】

共焦点顕微鏡法が、何年にもわたり、インビトロ用途のために使用されているが、エクスピボ生検およびインビボ組織のイメージングのために有用であることも示されている。共焦点顕微鏡は、対象面内の小さな点上に照明を焦点合わせることにより機能する。戻った光は、反射光または蛍光のいずれかである可能性があり、その後、共役画像面で小さなピンホールを通して焦点合わせされる。このピンホールのすぐ後に配置された検出器はこの入射光を収集するように機能する。対象の焦点面の外側から戻る光は、その後、ピンホールの外側により拒絶され、これにより、そうでなければ収集されてもよい焦点がはずれた散乱光が減少する。完全な画像を作成するために、フレームの所望のX-Y面全体を横切って、照明を走査させる。最終画像は組織病理学スライドの色が欠如しており、細胞質または他の構造から核を明らかにするために屈折率の不一致に依存する(反射率イメージングの場合)。共焦点イメージングの利点に関係なく、潜在用途を制限する設計固有の欠点が存在する。例えば、照明は組織中に誘導され、再回収しなければならないので、共焦点顕微鏡の侵入深さは、どのくらい深く光が組織内に入り込むかにより制限される。より長い波長の光は、より散乱する傾向が低く、より深く組織中に侵入する傾向があるが、近赤外光(NIR)システムでさえも、約1,000 μm の深さまでしか、有効にイメージングすることができない。さらに、最近の共焦点システムの小型化により、共焦点内視鏡を含む、だんだんと小さな機器が作製されているが、これらのシステムの光学および機械要素は、一般に、この技術の有用性を身体の内用意に到達可能な領域に限定していた。

【0020】

そのため、公知の装置および方法に関連する固有の問題を有さない、光診断装置および手順を提供することが望ましい。

【0021】

これらの例示的な欠点は、包括的なものではなく、むしろ、生検に関連する以前公知の技術の有効性を損なう傾向のある多くのものの1つである。当技術において登場した技術はすべて満足のいくものではなく、本開示において記載し、主張した技術が顕著に必要とされる。

【発明の開示】

【0022】

発明の概要

先行技術のある欠点は、本明細書で開示した技術により軽減され、または排除される可能性がある。これらの技術は、組織のイメージングを含む任意の用途を含むが、それに限定されない、膨大な数の用途、特に従来針生検を要求する用途に適用可能である。

【0023】

1つの態様では、レンズレス(lensless)光ファイバ内視鏡が、光学針生検として使用され、内視鏡の遠位端と接触した、または実質的に接触した細胞層がイメージングされる。レンズレス光ファイバ内視鏡は、例えば、個々の細胞を標識したフルオロフォアの存在を検出するために使用されてもよい。標的フルオロフォアと併せると、インビボの癌および他の組織異常の存在を即座にまたはほとんど即座に検出する強力なツールとなる。この技術を使用して、同様に、組織反射率または他の造影剤をイメージングしてもよい。この装置を用いると、多くの型の疾患のインビボ検出が可能となる。さらに、装置は、研究者が時と共に1つの部位をモニタすること、標本の変動が減少すること、及び実験コストが減少することを可能にする、有益なツールである。

【0024】

1つの点で、本発明の態様は、1つまたは複数の光ファイバ、光学部品および検出器を含むイメージング内視鏡装置を含む。ファイバは近位端および遠位端を有する。光学システ

ムは源放射線をファイバに、試料からの放射物を検出器へ誘導する。態様は、集束レンズを含まないファイバの遠位端を含んでもよい。内視鏡の焦点面は実質的には遠位端の先端に存在し、内視鏡は細胞または細胞下解像度を達成する。

【0025】

別の点では、本発明の態様は、放射線源、コリメータレンズ、ビームスプリッタ、対物レンズ、ファイバ束、レンズおよび検出器を含むイメージング内視鏡を含む。ファイバ束は近位端および遠位端を有し、遠位端は集束レンズを含まない。内視鏡の焦点面は実質的に遠位端の先端に存在する。内視鏡は細胞または細胞下解像度を達成する。

【0026】

別の点では、本発明の態様は、イメージング法を含む。放射線を、細胞または細胞下解像度を有する内視鏡を用いて、線源から試料上に誘導させる。内視鏡は1つまたは複数のファイバを含む。ファイバは近位および遠位端を有し、遠位端は集束レンズを含まない。内視鏡の焦点面は実質的に、遠位端の先端に存在する。放射線が試料から検出器上に誘導され試料が診断またはモニタされる。試料はヒト組織を含んでもよい。試料は1つまたは複数のマーカーまたは造影剤を含んでもよい。例示的な造影剤およびマーカーの非制限的リストは、トルイジンブルー、クレシルバイオレット、酢酸、フルオレセイン、NBDG(蛍光グルコース類似体)、抗体標的蛍光色素、抗体標的ナノ粒子、抗体標的量子ドット、ルゴールヨウ素、メチレンブルー、クリスタルバイオレット、蛍光デキストラン、SYTO核酸染色液、Alexa Fluor色素、金ナノ粒子および銀ナノ粒子を含む。1つまたは複数のマーカーまたは造影剤はフルオロフォアまたはナノ粒子を含んでもよい。試料は細胞を含んでもよく、フルオロフォアまたはナノ粒子を1つまたは複数の特別な細胞の標的としてもよい。癌または他の疾患もしくは状態を診断してもよい。イメージングはインビボで実施してもよい。イメージングは蛍光および/または反射率イメージング(すなわち、別々または一緒)を含んでもよい。本方法はまた、同時に、磁気MRI装置で試料をイメージングすることを含んでもよい。MRI装置を使用して、ファイバによるイメージングをナビゲートしてもよい。MRI装置との使用は、(a)ナノ粒子媒介分子治療の送達および薬物動態のモニタリング；(b)分子治療の送達および最も早い分子応答のモニタリング；または(c)分子治療に対する遅延応答に関連する生物マーカーのイメージングを含んでもよい。MRI装置を使用して、試料内の造影剤の分布をモニタしてもよい。本方法はまた、試料中での造影剤の相互作用のモニタリングを含んでもよい。試料の診断は試料の染色を必要としない。本方法はまた、イメージングにより生成させたデータを用いて試料のマージンを分析することを含んでもよい。マージンの分析は、腫瘍増殖の程度をイメージングすることを含んでもよい。

【0027】

別の点で、本発明の態様は、患者が、針生検の必要があると識別されるイメージング法を含む。患者は針生検の代わりに光学イメージングを受ける。光学イメージングはこの開示において記載されるように実施されてもよい。

【0028】

「針生検イメージングシステム」という用語が本発明の態様またはその局面を記載するのに使用される限り、この句は、必ずしも、従来の針生検との類似性を示唆するものではないと解釈すべきである。この用語は、この開示の光学技術が従来の針生検技術にとってかわる、またはそれを補充できることを示すために使用される。例えば、従来の針に基づくシステムの代わりに、本開示の態様により教示されるように、例えば、組織部位を診断またはモニタするために光プローブを使用してもよい。別の態様では、光プローブを従来の生検イメージングシステム由来の針と共に使用して、組織へのアクセスを提供してもよい。

【0029】

本発明の態様に対して適用される「レンズレス」という用語は、内視鏡プローブの遠位端(特に、遠位先端)に集束レンズが欠如していることを指す。内視鏡プローブの遠位端は、他の非集束レンズ、例えば拡大鏡を含んでもよい。装置内には、例えばレーザ放射線を

10

20

30

40

50

線源からファイバ内に集束させるなどのタスクを達成するために、他のレンズが存在してもよい。

【0030】

本発明の態様に対して適用される「試料放射物」および「試料光信号」とは、試料から放射される信号(例えば、反射率または蛍光)を指す。

【0031】

本発明の態様に対して適用される「イメージガイド」という用語は、試料からの試料放射物を光学系に伝送できる装置を指し、光学系は試料放射物を検出器に誘導する。

【0032】

「1つの(a)」および「ある(an)」とは、本開示で特に明確に要求されていなければ、1つまたは複数と規定される。

10

【0033】

「実質的に」という用語およびその変形は、概して、当業者により理解されるように特定されるものであるが、必ずしも、完全にはそうではないものとして規定され、1つの非制限的な態様では、実質的にという用語は、特定されたものの10%以内、好ましくは5%以内、より好ましくは1%以内、最も好ましくは0.5%以内の範囲を指す。

【0034】

「備える(comprise)」(ならびに、「備える(comprises)」および「備えている(comprising)」などを含む任意の形態)、「有する(have)」(ならびに、「有す(has)」および「有している(having)」などを含む任意の形態)、「含む(include)」(ならびに、「含む(includes)」および「含んでいる(including)」などを含む任意の形態)、「含有する」(ならびに、「含有する(contains)」および「含んでいる(containing)」などを含む任意の形態)という用語は、制限のない結合動詞である。その結果、1つまたは複数の工程もしくは要素を「備える」、「有する」、「含む」または「含有する」方法または装置は、1つまたは複数の工程もしくは要素を所有するが、それらの1つまたは複数の要素の所有に制限されない。同様に、1つまたは複数の特徴を「備える」、「有する」、「含む」または「含有する」方法の工程または装置の要素は、それらの1つまたは複数の特徴を所有するが、それらの1つまたは複数の特徴のみの所有に制限されない。さらに、ある様式で構成された装置または構造は少なくともその様式で構成されるが、例挙されていない様式で構成させてもよい。

20

30

【0035】

本明細書で使用される「結合された」という用語は、接続されたと規定されるが、必ずしも直接にではなく、必ずしも機械的にではない。

【0036】

他の特徴および関連する利点は、下記の特定の例示的な態様の詳細な説明を、添付の図面と共に参照することにより明らかになると思われる。

【0037】

例示的な態様の説明

下記説明は、特定の態様に関するものであり、例示にすぎない。これらの特別な例の説明は、余分な制限として添付の特許請求の範囲に取り込むべきではない。添付の特許請求の範囲はそれ自体、本発明の法律上の範囲を規定するからである。本開示のおかげで、当業者は、本明細書で主張し、記載した技術を改良してもよく、多くの追加の異なる用途に適用してもよく、同じまたは同様の結果が達成されることを理解するであろう。添付の特許請求の範囲は、本開示の範囲および精神に含まれるすべてのそのような改変に及ぶ。

40

【0038】

本開示の技術は、組織のイメージングに関連する任意の用途、より特定的には、従来針生検を要求していた任意の用途を含む多くの異なる型の用途に適用できる。

【0039】

1つの態様では、本発明はレンズレス光ファイバ内視鏡を含む。この内視鏡を光学針生検として使用し、内視鏡の遠位端と接触、または実質的に接触する細胞層をイメージング

50

してもよい。個々の細胞を標識したフルオロフォアの存在を検出するために使用してもよい。標的フルオロフォアと併せると、例えば、インビボの癌および他の組織異常の存在を即座にまたはほとんど即座に検出する強力なツールとなる。別の態様では、分析はインビトロで実施してもよい。この技術を使用して、組織反射率または同様に他の造影剤をイメージングしてもよい。1つの態様では、光学内視鏡はMRI適合性であり(MRIで普通に使用される磁石の内側で使用できる)、そのため、同時MRIおよび光学イメージングのために使用できる。

【0040】

この態様では、内視鏡プローブの遠位端に集束レンズがないことは注目すべきである。プローブはイメージングされる部位と直接接触し、その部位からのイメージを、例えば、デジタルカメラに中継し、記録させる。これにより物体の焦点面が装置の遠位先端に、または実質的に遠位先端に配置され、共焦点型イメージが得られ、バックグラウンドフィルタリングが必要ない。バックグラウンドフィルタリングに対する必要性が排除または除去されると、限定されないがコスト低下などのいくつかの利点を得られる。

10

【0041】

この態様の別の顕著な特性は、細胞分析および診断のために組織除去を必要としないことである。対照的に、典型的な生検は時間がかかり、集中して取り組む必要があり、組織除去および造影剤による染色が必要であり、その後、診断が可能になる。光ファイバ内視鏡装置はより簡単で、より安価でない代案であり、侵襲性が最小に抑えられた手順で、組織反射率または蛍光をインビボでイメージングする。このイメージングシステムは体内の複数の器官部位をイメージングするように適合させることができる。

20

【0042】

さらに別の顕著な特性は、この装置が、生検に典型的な疑い、除去および診断の間の複数の待ち時間を排除または著しく減少できることである。関連する利点とは、必要であれば、治療がずっとより迅速に開始できること、そのため、患者の、診断手順の結果を待つ不安が減少することである。インビボイメージングシステムを使用すると、診断を即座に行うことができ、最終的な診断が可能となる前に、組織を除去し、組織スライスし、試料を染色し、病理学研究室で試料を分析するのにかなりの時間を必要とする生検とは対照的である。

30

【0043】

この開示の態様では、例えば、分子治療をモニタして、治療効果を迅速に評価することが可能である。生検に関連する1つの問題は、任意のある部位が生検間で治癒しなければならぬことであり、このため進行中の治療モニタリングが困難である。疾患の進行および薬剤に対する応答は直ちに、かつしばしばモニタする必要がある、最小侵襲手順が重要であり、本明細書で記載または説明した態様をこの目的のために使用できる。

【0044】

MRIイメージング技術との適合性の結果、本開示の態様は、MRI情報と直接相関させることができる。例えば、MRIを使用して、装置を案内し、対象領域を調査する。装置をMRIおよびMRI/光二機能性造影剤と組み合わせて、下記のうちの少なくとも1つのために使用できる：(1)ナノ粒子媒介分子治療の送達および薬物動態のモニタリング；(2)分子治療の送達および最も早い分子応答の同時モニタリング；または(3)分子治療に対する遅延応答に関連する生物マーカーのイメージング。これらの設定では、MRIを使用して、患者または試験被験体全体における造影剤の分布をモニタしてもよい。同時に、対象の器官部位での造影剤の相互作用を、イメージング装置を使用して詳細に可視化してもよい。

40

【0045】

イメージングシステムのためのさらに別の用途はマージン除去を含む。腫瘍除去中にしばしば、マージン検出が困難となり、確実に完全に切除するために過剰な組織が除去される。しかしながら、この装置を外科的処置中に使用して、腫瘍増殖の程度をイメージングし、外科的処置を案内できる。このように、マージン手順は大きく改善される可能性がある。

50

【0046】

さらに別の用途は科学研究を含む。例えば、イメージングを使用して、インビボイメージングのための造影剤の開発を支援してもよい。ある態様では、小さなサイズのイメージング装置により、新規造影剤および標的機構のための臨床前研究においてしばしば使用される小動物のイメージングが可能となる。例えば、本明細書で記載した要素を含む内視鏡を、例えばマウスに対応するようなサイズとされたプローブ中に組み入れてもよい。そのようなプローブをその後、使用して、異なる造影剤の効果を評価できる。

【0047】

本開示の光学技術により、生検よりも侵襲性が低い手順が提供される。さらに、装置は、疑わしい病変部および腫瘍の生検のために使用される典型的な針よりも小さくなるように容易に作製できる。さらに、装置の光学性質は、組織がもはや除去されずに分析が実行されることを意味する。

【0048】

1つの態様では、内視鏡は、その物理設計により、細胞下解像度でのイメージングを可能にする。他のインビボ内視鏡イメージングシステムは、診断を案内するための組織形態の巨視的变化を当てにする。イメージを作り上げるファイバに依存して、解像度が制限される可能性がある。図1および図2で記載した態様では、例えば、解像度により、約2 μm まで物体を識別できる。これは、多くの光学顕微鏡に比べると欠点であると考えられる場合があるが、インビボ細胞解像度では十分である。しかしながら、異なるファイバまたは追加の部品を使用すると、解像度が変更される可能性がある。さらに、下記図3の考察で説明するように、ファイバ束の遠位端にGRINレンズを追加することによりこの解像度限界でさえも克服できる可能性がある。図4および5の考察で示すように、ファイバ束の代わりに、イメージガイドのためにGRINレンズシステムを使用することによっても、解像度が増強される可能性がある。

【0049】

この装置の細胞解像度の適用は、標的蛍光ナノ粒子により標識した癌細胞の検出を含む。他の粒子機能性を用いると、装置の有用性は多くの他の型の疾患をイメージングする、または細胞過程をモニタすることによりまで拡張される可能性がある。この開示の態様は、特別な蛍光剤に拘束されず、例えば、多くの他の型のフルオロフォアまたは当技術分野で公知の作用物質を用いた同様のイメージングを実施するために使用してもよい。例えば、異なる態様を使用して、金属の非蛍光ナノ粒子を、さらに別の態様では、天然の標識されていない組織さえも、イメージングしてもよい。任意のそのような態様が改変(例えば、光学部品の間隔の改変)を必要とする限り、そのような改変は、十分当業者の理解の及ぶ範囲にある。

【0050】

図1および図2の態様について説明する。これらの装置は様々な供給元から市販されているコヒーレント光ファイバイメージング束を含むイメージガイドを含む。これらの装置の他の部分は光をファイバ束中に結合させ、その後、ファイバを通して戻る光をイメージングする部品を含む。光源をコリメートし、ビームスプリッタを通過させ、ファイバ束の近位端上に集束させる。入力光を、ファイバの開口数と一致する、または厳密に近づくように集束させ、光の最大量がファイバ内に結合されるようにする。光はファイバを通して伝送され、試料の組織中に入る。組織内で反射または生成された光の一部はファイバ内に戻される。ファイバの開口数(受光角)はかなり小さいので、何度も散乱される組織深くで生成した光は、ファイバにもう一度入る機会がずっと小さくなる。散乱されないファイバ表面で生成した光はファイバにより入りやすい。この事実が、イメージングにおいて利用される深さ感度および狭い被写界深度の一因である。ファイバ束の遠位端内に受理される帰還信号は、ファイバを通して戻り、対物レンズにより再びコリメートされ、ビームスプリッタに再び誘導され、イメージングのために、CCDカメラなどの検出器上に集束される。

【0051】

図1および図2で示した部品はすべて、かなり一般的で市販されている。1つの顕著な局

10

20

30

40

50

面は、ファイバ束の遠位端に集束レンズがないことである。これにより視界がイメージング束のサイズに制限され、解像度が個々のファイバのサイズに制限される。ファイバ束の遠位端に集束レンズがないことはまた、狭い被写界深度の一因となる。

【0052】

図1は蛍光モードの例示的な針生検イメージングシステム100の概略図である。図2は反射率モードの例示的な針生検イメージングシステム200の概略図である。これらの態様を、いくつかの同一のまたは機能的に同様な部品を共有する範囲内で、共に記載する。システムは線源12を含む。この線源はレーザ源、発光ダイオード(LED)、または所望のイメージングを実行するのに十分な他の放射線源としてもよい。1つまたは複数の線源であってもよい。鏡14を使用して、線源を試料に向かって誘導する。ビームまたは他の放射線源を誘導するための任意の光学部品を使用してもよい。レンズ16は、1つまたは複数のファイバに入る前に線源を集束させる。図1では、励起フィルタ18を使用して、確実に、試料自体を励起し、またはマーカーを選択するのに十分な放射線が1つまたは複数のファイバに伝えられる。フィルタはまた、図2で使用してもよく、確実に、入射放射線の品質が所望のイメージング特性を実行するのに十分なものとなる。源放射線はビームスプリッタ20に伝えられ、さらに対物レンズ28に伝えられ、これは、放射線をファイバ束30として示されている1つまたは複数のファイバ中に誘導する。対物レンズ28は、当技術分野で公知のいくつかの市販のレンズのいずれかとしてもよく、その特性は、1つまたは複数の選択されたファイバとの結合およびイメージングを最適化するように選択されてもよい。ファイバ束30は近位端30aおよび遠位端30bを含む。源放射線は、集束レンズのない遠位端30bから出て行く。放射線はイメージングのために試料32と衝突する。例えば、蛍光モードでは、放射線は試料自体および/またはマーカーを励起し、これらは特性二次放射線を発する。

10

20

【0053】

試料32から得られる試料光信号(反射率または蛍光のいずれか)は遠位端30bに入り、ファイバ束30を通過して戻り、これは、対物レンズ28を通過して試料32からの放射線を移動させて戻すことによりイメージガイドとして機能する。本開示のある態様では、中空16~18ゲージ針(図示せず)は、内視鏡装置のイメージガイドのための管路として機能することができ、これにより深い組織へのアクセスが提供される。

【0054】

試料32からの試料光信号はその後ビームスプリッタ20に到達し、ビームスプリッタは信号を検出器に向けて誘導する(ここでは電荷結合素子(CCD)26として示す)。図1では、試料放射線はエミッションフィルタ22を通過し、このフィルタは、確実に1つまたは複数の特別な波長が検出器に到達するように構成させることができる。例えば、特別な波長(または波長範囲)が試料からの二次放射線中に存在するかどうかを決定するのに興味がある場合、エミッションフィルタ22を使用して、無関係な波長または範囲をブロックしてもよい。同様に、図示していないが、図2の装置は、同様のフィルタリング技術を使用し、選択放射線の検出を支援してもよい。試料からの放射線はレンズ24を通過し、最終的にCCD26に至る。他の検出器型を、CCD26の代わりに、またはCCD26と共に使用してもよい。CCD26からの信号はその後、コンピュータ(図示せず)または他の適当なデータ取り扱い装置に入力され、最終分析および/または保存される。そのようなデータ取り扱い装置は、システム100または200と一体化させてもよく、または分離してもよい。

30

40

【0055】

CCD26からのデータは、当技術分野で公知のように、かなり多数の様式で示してもよい。例えば、実時間イメージをコンピュータスクリーン上に表示してもよい。イメージを後で使用するために保存してもよい。データはグラフで、またはテキスト形式で示してもよい。報告を手動で、自動で、または半自動で作成してもよい。そのような報告を使用して、診断または結果を送達してもよい。

【0056】

図1および2で示した態様では、ファイバ束30は、Sumitomo Electric Companyにより、下記仕様で作製される：外径400 μm 、画素要素の中心間距離約4 μm 、および使用可能な視

50

野300 μm 。さらに、この態様の束は2cmの曲げ半径を有し、装置の好都合な位置決めが可能であり、0.35のかなり高い開口数を有し、可能な限り多くの光が収集される。ファイバ束30の両端は、12、9、3、および1 μm ラップフィルムを用いて、機械的光ファイバポリシヤを用いて、光学的に平坦に磨いてもよい。

【0057】

次に図3について説明すると、例示的な針生検イメージングシステム300の別の概略図を蛍光モードで示す。図3のシステムは、グレーデッドインデックスレンズ(GRIN)レンズ装置31がファイバ束30の遠位端30bに追加されることを除いては、図1のシステムと同様である。図示していないが、GRINレンズ装置はまた、システム200の遠位端30bに追加してもよい。GRINレンズ装置31は、当業者に公知の任意の様式、例えば、光エポキシによるセメンチングなどにより遠位端30bに結合できる。GRINレンズ装置31は集束レンズではなく、拡大レンズとして機能する。GRINレンズ装置31の追加によりイメージングシステム300の解像度が改善され(イメージングシステム100または200に比べて)、2 μm 未満の物体の識別の可能性が提供される。

10

【0058】

下記でより詳細に説明されるように、GRINレンズは半径方向で変化する様々な屈折率の独特な特性を有する。これらの円柱レンズは、様々な小さな直径に製造することができ、大量生産するのにかなり安価であり、正確に整合するのが簡単である。これらのレンズを通して進行する光線の幾何学的経路は正弦波パターンにしたがい、標準複合凹または凸ガラスレンズシステムと全く同じ様式で実行するように設計できる。

20

【0059】

次に図4について説明すると、例示的な針生検イメージングシステム400の別の概略図を示す。図4で示した態様は、前に記載した態様と同じ一般原理の下で動作するが、部品においてある違いを含む。例えば、システム400のイメージガイドは、システム100および200のファイバ束30(または、システム300のファイバ束30およびGRINレンズ装置31の組み合わせ)ではなく、GRINレンズ装置130を含む。システム400の動作の概観を下記で示す。

【0060】

システム400は所望のイメージングを実行するのに十分な光または他の形態の放射線を放出する線源112を含む。示した態様では、線源112はLEDを含む。ある態様に対し望ましいスペクトル特性(20nm FWHMまでの小さな帯域幅)および照度(何百ミリワット)を有し、単位あたり数ドルしかコストがかからないLEDが現在利用可能である。そのようなLEDが何千時間の間機能できること、ならびに安価な代替コストのために、LEDがこの用途に特に適したものとされる。別の態様では、線源112はレーザ源であってもよく、および/または1つもしくは複数の線源であってもよい。

30

【0061】

レンズ116を使用して、線源112から放射線を光ファイバ光ガイド118に向かって誘導する。示した態様では、光ファイバ光ガイド118は1つの光ファイバガイドである。別の態様では、光ファイバ光ガイドは複数のファイバを含んでもよい。さらに別の態様では、光ビームまたは他の放射線源を誘導するための任意の光学部品を使用してもよい。

【0062】

40

線源112からの放射線(または「源放射線」)は光ファイバ光ガイド118から出て行き、レンズ117を通過し、その後、ダイクロイックミラーまたはビームスプリッタ120により対物レンズ128に誘導される。対物レンズ128は源放射線をGRINレンズ装置130に誘導する。対物レンズ128は当技術分野で公知のいくつかの市販のレンズのいずれかとしてもよく、その特性を、GRINレンズ装置130との結合およびイメージングが最適化されるように選択してもよい。源放射線はイメージングのために試料132に衝突する。例えば、蛍光モードでは、放射線は試料132自体および/またはマーカーを励起し、これらは特性二次放射線を放出する。反射率モードでは、源放射線は試料132から反射される。本明細書で使用されるように、試料132の反射または蛍光は、「試料放射物」または「試料光信号」として公知である。下記でより詳細に説明されるように、ある態様では、サンプルイメージングの

50

ために量子ドット(半導体ナノ結晶)および他のフルオロフォアを励起することが望ましい。

【0063】

試料放射物はGRINレンズ装置130に入り、対物レンズ128を通過して進み、ビームスプリッタ120を通過する。試料放射物はその後、「チューブ」レンズ124を通過し、検出器126に向かって誘導される。対物レンズ128から出て行くコリメート光は、検出器126の面上に集束させなければならない。そのため、チューブレレンズ124の焦点距離は重要である。チューブレレンズ124の焦点距離は光学構成の倍率に正比例し、これは簡単な関係により与えられる： $\text{倍率} = (\text{チューブレレンズの焦点距離}) / (\text{対物レンズの焦点距離})$ 。1つの態様では、対物レンズの焦点距離は18mmであり、チューブレレンズ焦点距離は250mmであり、全体の倍率は約14×である。

10

【0064】

示した態様では、検出器126は、配線140および制御モジュール127を介してディスプレイ装置129に電子的に結合されたCCDチップである。システム400はまた、最終分析および/または保存のために、コンピュータ(図示せず)または他の適当なデータ取り扱い装置を含んでもよい。そのようなデータ取り扱い装置は、システム400と一体化させてもよく、または分離してもよい。

【0065】

検出器126からのデータは、当技術分野で公知のように、かなり多数の様式で示してもよい。例えば、実時間イメージをコンピュータスクリーン上に表示してもよい。イメージを後で使用するために保存してもよい。データはグラフで、またはテキスト形式で示してもよい。報告を手動で、自動で、または半自動で作成してもよい。そのような報告を使用して、診断または結果を送達してもよい。

20

【0066】

システム400由来のGRINレンズ装置130の詳細図を図5に示す。図示されるように、GRINレンズ装置130は拡大鏡131およびリレーレンズ132を含む。GRINレンズ装置130を通過する試料放射線135は、半径方向に変化する様々な屈折率のために、概正弦波経路に従う。好ましい態様では、拡大鏡131は、試料132の一部を2倍に拡大し、リレーレンズ132は十分長く、GRINレンズ装置130が、生検針(図示せず)を通り、対象の特定の組織内に入ることができる。

30

【0067】

次に図6について説明すると、照明チャネルをイメージング経路から分離する別の態様を示す。示した態様では、レンズ116を使用して、線源112からの放射線を光ファイバ光ガイド119の近位端119aに向かって誘導する。放射線は、イメージングのために、光ファイバ光ガイド119の遠位端119bから放出され、試料132に衝突する。光ファイバ光ガイド119は1つまたは複数の光ファイバを含んでもよい。好ましい態様では、遠位端119bは試料132およびイメージガイド150に近接する。示した態様では、イメージガイド150は光ファイバを含み；別の態様では、イメージガイド150は図3または図4のイメージガイドと同様のGRINレンズ装置を含んでもよい。試料132からの試料放射物はイメージガイド150を通過し、対物レンズ128に入る。試料放射物はその後チューブレレンズ124を通過し、検出器128に向かって誘導され、ディスプレイ装置129に転送される。

40

【0068】

本開示の態様は光学構成をわずかに変化させると、蛍光および反射率イメージの両方に使用できる。例えば、好ましい態様では、蛍光イメージングは対物レンズ経路においてダイクロイックミラー、ならびにそれぞれ線源および検出器の前に配置された励起およびエミッションエッジパスフィルタの両方を使用する。この構成はイメージガイドの近位面を効果的に照射し、残りの励起光を検出器に入る前に除去する。反射率イメージングを使用する態様では、エッジパスフィルタを除去してもよく、ダイクロイックミラーを分極ビームスプリッタキューブ(PBS)により置換してもよい。このPBSキューブは入射する非分極光をsおよびp分極に分割し、1つのみがイメージガイドの近位面に送られる。この表面から

50

の鏡面反射は、検出器まで通過されることが好ましくない方向において極性のままである。ある態様では、ファイバ束の遠位端は10°の角度で磨くことができ、これは、この面から反射された光の量を、イメージガイド内の個々のファイバの受光錐の外側に誘導されることにより、減少させる。ある態様では、受光錐は、約0.35のファイバ開口数により規定される。

【0069】

前述したように、本開示のある態様は試料イメージングのために量子ドットを使用する。量子ドットは生物イメージングに対しいくつかの非常に好都合な特性を有する蛍光結晶である：ブロードな励起プロファイル、狭い、調整可能な放射プロファイル、制限された光退色、および表面上で標的抗体を受理するようにパッシベートされ、機能化される能力。量子ドットはまた、高い量子効率および大きなストークスシフトを示すが、このことは、信号を発生させるのに必要とされる励起光がかなり小さいことを意味し、この励起光は放射光から容易にフィルタリングされる。量子ドットおよび量子ドット-抗体コンジュゲートはまた組織を標識するのに十分なサイズであり、通常2~10nmの間である。これらの小さなサイズにより粒子は組織を通過し、細胞膜に接触することができ、細胞内標的を標識するために粒子を使用できる。量子ドットは現在、癌イメージング関連研究のために、インビトロで、ならびに小動物モデルで腫瘍細胞培養物を標識するために広く使用されている。抗体またはアプタマーの助けを借りる量子ドット蛍光マーカーのターゲティングにより、臨床医は、Her-2およびEGFR(上皮増殖因子受容体)のような細胞外受容体の発現レベルをモニタすることができる。トラスツズマブおよびセツキシマブなどの薬物はHer-2およびEGFR受容体をブロックし、それらの受容体を発現する乳癌において有益であることが示されている。治療過程の間、これらの受容体を直接可視化することにより、癌の進行および治療に対する応答を追跡できる場合がある。

【0070】

量子ドットは望ましい吸収断面を有し、そのためスペクトルの青色領域のブロードな波長範囲にわたる照明で十分であり、多くの蛍光分子の励起のための標準法であるレーザまたはアークランプの必要性が排除される。ある態様では、線源はLumileds社製のLuxeon III Star LEDであり、これはピーク放射波長455nm、FWHM 20nmで、400ミリワットの出力を放出する。反射率イメージングなどの別の用途では、この波長は、LEDモジュールを単に変更することにより、容易に、かつ迅速に変化させることができる。

【0071】

本明細書で記載されるように、本発明の態様を使用して、前のシステムおよび技術に関連する問題のいくつかなしで、試料のイメージングを実施できる。

【0072】

実施例

下記実施例は、本開示に関連する特定の実験の局面を説明するために含ませたものである。図7~12は、本開示の態様に関連するデータを示す。例として示した対象は、添付の本発明の特許請求の範囲に含まれ、または保護される対象を規定する特許請求の範囲に付加されてもよい。

【0073】

図7は、本明細書で記載したような針生検システムによりイメージングした、広帯域励起および620nmのロングパスフィルタを用いた、量子ドット(Qdot 655nm)標識癌細胞を示す。

【0074】

図8は、10%ゼラチンファントムにおける15μm直径の蛍光ポリスチレン球(Invitrogenにより製造)を示す。このイメージは、本明細書で記載したように、455nmピーク放射LED(Lumiledsにより製造)および500nmロングパスフィルタ(Thorlabsにより製造)を含む針生検システムを用いて獲得したものである。

【0075】

図9は、抗Her-2抗体(Neomarkers)および585nm放射量子ドット(Invitrogen)を用いて標

識したSK-BR-3(乳癌細胞系、American Type Culture Collection由来)乳癌細胞のイメージを示す。Her-2は多くの細胞の細胞膜中のチロシンキナーゼクラスの受容体であり、いくつかの型の乳癌で著しく過発現される。これは最近承認された薬物ハーセプチンの標的である。左側のイメージは、Zeiss LSM 510共焦点顕微鏡を組み入れ、458nmの励起波長および505nmのロングパスフィルタカットオフを使用して、蛍光共焦点イメージング技術を用いて獲得したものである。右側のイメージは微分干渉コントラスト(DIC)を使用して作製したものである。

【 0 0 7 6 】

図10については、左側は、コラーゲンファントムに懸濁させた抗Her-2および585nm量子ドット標識SK-BR-3細胞のイメージ、右側は、アイソタイプ対照抗体を用いた同じ調製物のイメージである。イメージの各々はファイバ束イメージガイドを組み入れた針生検システムにより獲得したものである。

【 0 0 7 7 】

図11はコラーゲン単層上でのトルイジンブルー標識扁平上皮癌細胞のイメージを示す。イメージは、別個の照明チャネルを用いて構成した態様を用いて収集したものであり、後方散乱光の回収に誘導されたコントラストを証明する。

【 0 0 7 8 】

図12は、イメージガイドにGRINレンズシステムを追加することにより達成できる改善された空間解像度を示す。左側のイメージはGRINレンズシステム無しで、光ファイバイメージガイドを組み入れた態様を用いて獲得したものである。右側のイメージは、イメージガイドの遠位端に結合された2X GRINレンズ(Grintechにより製造)を組み入れた光ファイバイメージガイドを使用する態様を用いて獲得したものである。イメージの上列により、得られた解像度の改善およびUSAF解像度標的上の視野の減少が証明される。下列により、コラーゲンファントムにおける抗EGFRおよび655nm 量子ドット標識1483細胞に対する効果が証明される。下は、提案したGRINレンズに基づく顕微鏡システムの概要である。

【 0 0 7 9 】

本開示の恩典を用いると、本明細書で主張され上記で記載された技術は、改変してもよく、多くの追加の、異なる用途に適用してもよく、同じまたは同様の結果が達成されることを、当業者は認識するであろう。添付の特許請求の範囲は本開示の範囲および精神内にあるそのような改変をすべて含む。

【 0 0 8 0 】

参考文献

下記参考文献の各々は、全体が参照により本明細書に組み入れられる。

1. 米国特許第6,766,184号
2. 米国特許第6,697,666号
3. 米国特許第6,639,674号
4. 米国特許第6,593,101号
5. 米国特許第6,571,118号
6. 米国特許第6,370,422号
7. 米国特許第6,258,576号
8. 米国特許第6,241,662号
9. 米国特許第6,187,289号
10. 米国特許第6,135,965号
11. 米国特許第6,095,982号
12. 米国特許第5,991,653号
13. 米国特許第5,929,985号
14. 米国特許第5,920,399号
15. 米国特許第5,842,995号
16. 米国特許第5,699,795号
17. 米国特許第5,697,373号

10

20

30

40

50

18. 米国特許第5,623,932号
19. 米国特許第5,612,540号
20. 米国特許第5,562,100号
21. 米国特許第5,421,339号
22. 米国特許第5,421,337号
23. 米国特許第5,419,323号
24. 米国特許第5,345,941号
25. 米国特許第5,201,318号

【図面の簡単な説明】

【0081】

10

これらの図面は明細書の一部である。図面は例を提供するが、本発明を限定するものではない。同じ要素符号の使用は、同一、または機能的に同様の部品を示す。図面は縮尺通りではない。

【図1】本開示の態様による、蛍光モードの針生検イメージングシステムの概略図である。

。

【図2】本開示の態様による、反射率モードの針生検イメージングシステムの概略図である。

【図3】本開示の態様による、蛍光モードの針生検イメージングシステムの概略図である。

。

【図4】本開示の態様による、針生検イメージングシステムの概略図である。

20

【図5】グレーデッドインデックスレンズシステムの詳細図である。

【図6】本開示の態様による、針生検イメージングシステムの概略図である。

【図7】本開示の態様による針生検イメージングシステムにより獲得した量子ドット標識癌細胞のイメージである。

【図8】本開示の態様による針生検イメージングシステムにより獲得した蛍光ポリスチレン球のイメージである。

【図9】先行技術の方法および装置により獲得した乳癌細胞のイメージである。

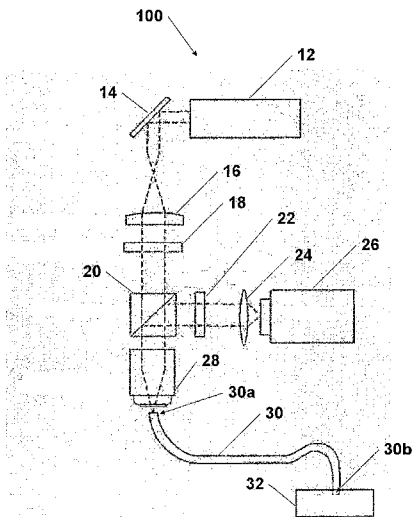
【図10】本開示の態様による針生検イメージングシステムにより獲得した乳癌細胞のイメージである。

【図11】本開示の態様による針生検イメージングシステムにより獲得した癌細胞のイメージである。

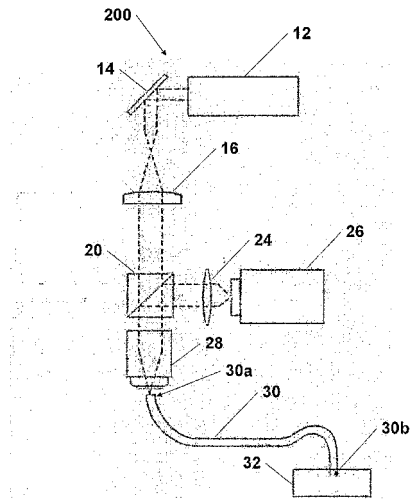
30

【図12】本開示の態様による針生検イメージングシステムにより獲得した標的ガイドおよび細胞のイメージである。

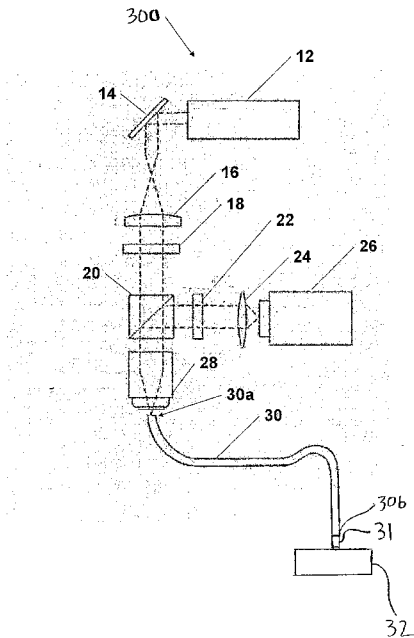
【図 1】



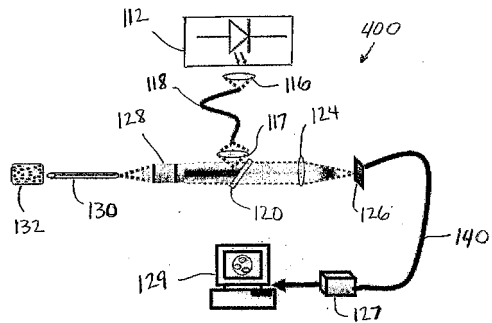
【図 2】



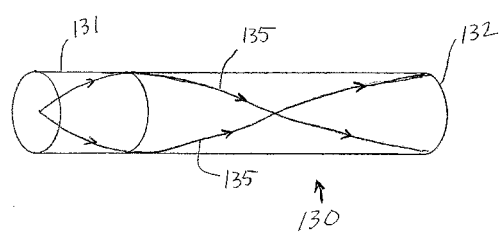
【図 3】



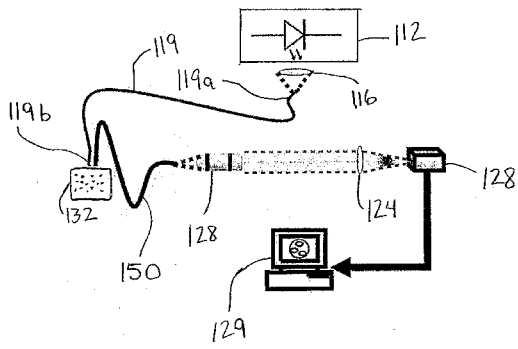
【図 4】



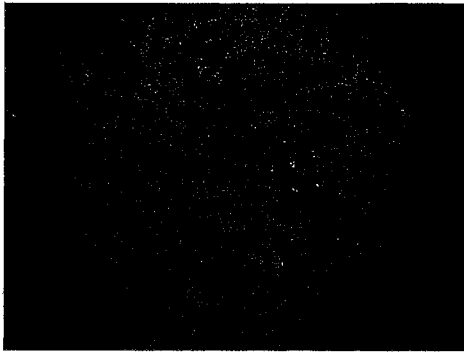
【図 5】



【図 6】



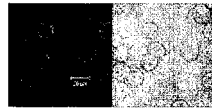
【図 7】



【図 8】

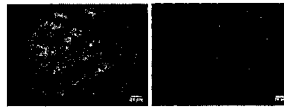


【図 9】

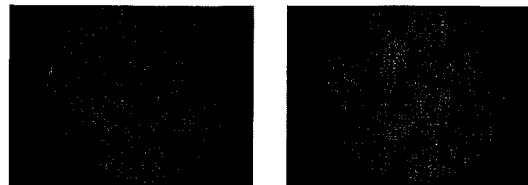


(先行技術)

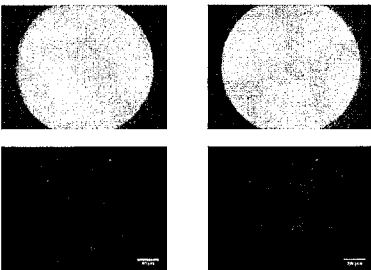
【図 10】



【図 11】



【図 12】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2006/031865

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61B1/04 A61B5/00 G01N21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61B G02B G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/008952 A (MAUNA KEA TECHNOLOGIES [FR]; GENET MAGALIE [FR]; VIELLE ROBE BERTRAND []) 29 January 2004 (2004-01-29) page 3, line 13 - page 9, line 21; figures 1-4 page 10, line 5 - page 19, line 2 ----- -/--	1-17, 38, 39

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "G" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 July 2007

Date of mailing of the international search report

02/08/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.O. 5818 Patentkan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Neef, Tatjana

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2006/031865

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KNITTEL J ET AL: "Endoscope-compatible confocal microscope using a gradient index-lens system" OPTICS COMMUNICATIONS, NORTH-HOLLAND PUBLISHING CO. AMSTERDAM, NL, vol. 188, no. 5-6, 15 February 2001 (2001-02-15), pages 267-273, XP004317426 ISSN: 0030-4018 page 268, left-hand column, paragraph 1 - page 270, right-hand column, paragraph 2; figures 1-3,5 page 271, left-hand column, last paragraph - page 272, left-hand column, last paragraph	1-9, 11-17, 38,39
X	FR 2 852 394 A1 (MAUNA KEA TECHNOLOGIES [FR]) 17 September 2004 (2004-09-17) page 1, line 4 - page 6, line 10; figure 1 page 7, line 19 - page 8, line 28 page 9, line 27 - page 11, line 10	1-17,38, 39
A	WO 01/72215 A (UNIV TEXAS [US]; RICHARDS KORTUM REBECCA R [US]; ZULUAGA ANDRES F [US]) 4 October 2001 (2001-10-04) page 1, paragraph 4 - page 3, paragraph 3; figures 1-15 page 5, paragraph 1 - page 8, last paragraph page 10, paragraph 2 - page 24, paragraph 1	1-17,38, 39
A	US 6 083 487 A (BIEL MERRILL A [US]) 4 July 2000 (2000-07-04) column 1, line 42 - column 3, line 11	1-17,38, 39
A	SUNG K B ET AL: "Near real time in vivo fibre optic confocal microscopy: sub-cellular structure resolved." JOURNAL OF MICROSCOPY AUG 2002, vol. 207, no. Pt 2, August 2002 (2002-08), pages 137-145, XP002443711 ISSN: 0022-2720 page 137, left-hand column, paragraph 1 page 138, right-hand column, paragraph 2 - page 143, right-hand column, paragraph 2	1-17,38, 39
	----- -/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2006/031865

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CLARK ANNE L ET AL: "Confocal microscopy for real-time detection of oral cavity neoplasia."</p> <p>CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 OCT 2003, vol. 9, no. 13, 15 October 2003 (2003-10-15), pages 4714-4721, XP002443712</p> <p>ISSN: 1078-0432</p> <p>abstract</p> <p>page 4714, right-hand column, paragraph 1 - paragraph 4</p> <p>page 4719, right-hand column, last paragraph - page 4721, left-hand column, paragraph 2</p> <p>-----</p>	<p>1-17,38, 39</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2006/031865**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **18-37**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by surgery
 Rule 39.1(iv) PCT - Diagnostic method practised on the human or animal body
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2006/031865

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004008952 A	29-01-2004	AU 2003273437 A1 CA 2491748 A1 CN 1681432 A EP 1523270 A1 JP 2005532883 T US 2005242298 A1	09-02-2004 29-01-2004 12-10-2005 20-04-2005 04-11-2005 03-11-2005
FR 2852394 A1	17-09-2004	NONE	
WO 0172215 A	04-10-2001	AU 5111401 A	08-10-2001
US 6083487 A	04-07-2000	NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100130845

弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(72)発明者 リチャーズ コルトウム レベッカ

アメリカ合衆国 テキサス州 オースティン オルーク レーン 1 0 5 0 1

(72)発明者 ソコロフ コスティア

アメリカ合衆国 テキサス州 オースティン ブリスタ ウェー 1 1 1 8

(72)発明者 デュエラ ジョーダン

アメリカ合衆国 テキサス州 オースティン レイク オースティン ブールバード 3 4 6 3
イー

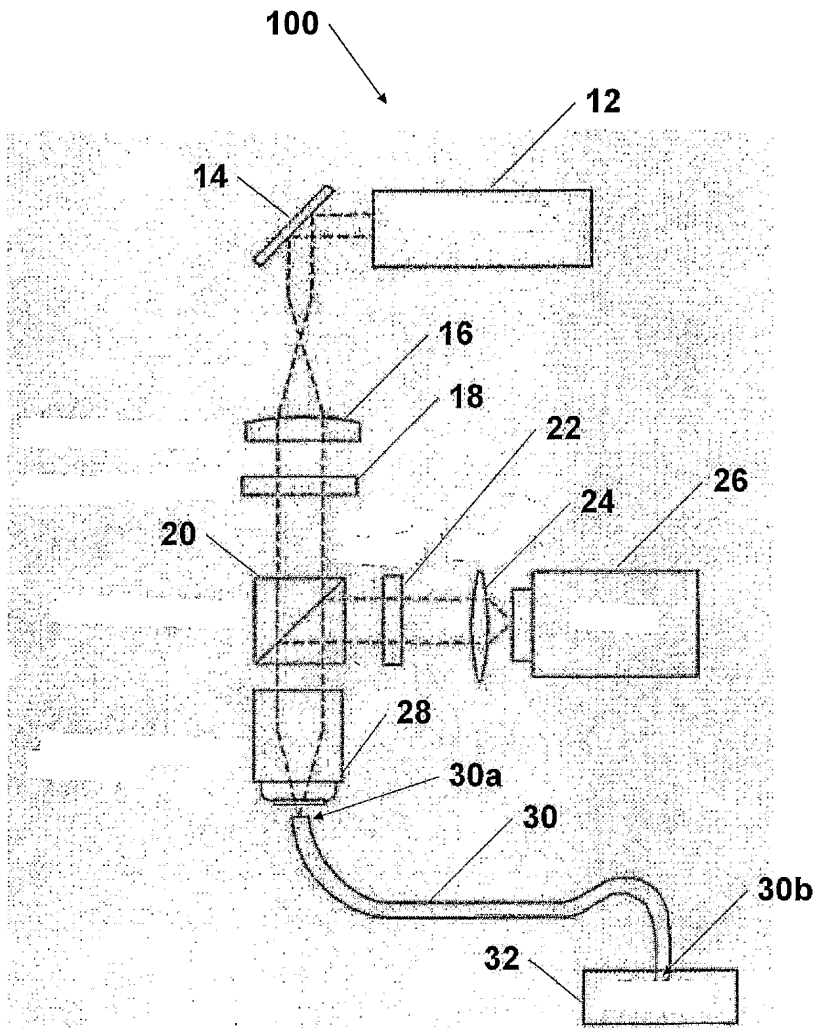
(72)発明者 マルドゥーン ティモシー ジェイ .

アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン ケンブリッジ 8 1 0 0 # 1 5 4

F ターム(参考) 4C061 BB02 CC03 CC04 LL03 QQ02 QQ04

4C096 AA11 AA18 AB41 AD19 FC14

【要約の続き】



专利名称(译)	针活检成像系统		
公开(公告)号	JP2009504333A	公开(公告)日	2009-02-05
申请号	JP2008527068	申请日	2006-08-15
申请(专利权)人(译)	得克萨斯州大学系统的校董会		
[标]发明人	リチャーズコルトウムレベッカ ソコロフコスティア デュエラジョーダン マルドゥーンティモシージェイ		
发明人	リチャーズ-コルトウム レベッカ ソコロフ コスティア デュエラ ジョーダン マルドゥーン ティモシー ジェイ.		
IPC分类号	A61B1/00 A61B5/055		
CPC分类号	A61B1/043 A61B1/00096 A61B1/00165 A61B1/0017 A61B1/0638 A61B1/07 A61B5/0068 A61B5/0071 A61B5/0084		
FI分类号	A61B1/00.300.Y A61B1/00.300.P A61B1/00.300.U A61B5/05.383 A61B5/05.390		
F-TERM分类号	4C061/BB02 4C061/CC03 4C061/CC04 4C061/LL03 4C061/QQ02 4C061/QQ04 4C096/AA11 4C096/AA18 4C096/AB41 4C096/AD19 4C096/FC14		
代理人(译)	清水初衷 小林智彦 渡边真一 井上隆一		
优先权	60/708301 2005-08-15 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

成像技术。使用具有细胞或亚细胞分辨率的内窥镜将辐射从源引导到样品上。内窥镜包括一根或多根纤维。纤维具有近端和远端，并且远端是无透镜的。内窥镜的焦平面基本上位于远端的尖端。来自样品的辐射被引导到检测器上以诊断或监测样品。

