

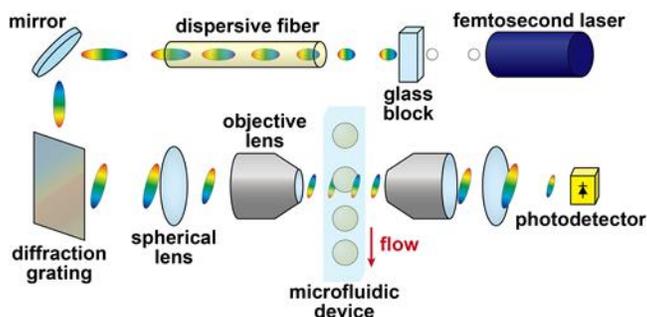
# STRUCTURAL CHEMISTRY

## Annual Research Highlights

### “Ultrafast image cytometer for cancer cell detection during operation”

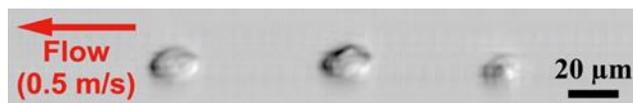
Often, cancer recurs after extraction of the original tumor, due to cancer metastasis. To prevent this, doctors perform biopsy on lymph nodes close to the tumor and look for cancer cells that cause metastasis. However, these cancer cells are overlooked for they are buried in millions of lymph and immune cells. Furthermore, the inspection is performed after operation, and even if cancer cells are found, patients must have another operation, which consumes both the patient’s vitality and medical expense.

In order to detect the rare cancer cells in lymph nodes during operation, we developed an ultrafast image-based flow cytometer that can detect rare cells according to their morphology. Using an ultrafast imaging technique called STEAM (serial time-encoded amplified microscopy) [1], we integrated it with microfluidic technology to construct a STEAM flow cytometer, which can capture images of cells in a high-speed flow of 8 m/s, corresponding to a record throughput of 200,000 cells/s [2]. With this flow cytometer, we aim to detect a single cancer cell out of a million white blood cells inside lymph nodes in less than a minute and perform several diagnosis during operation time (~30 min).



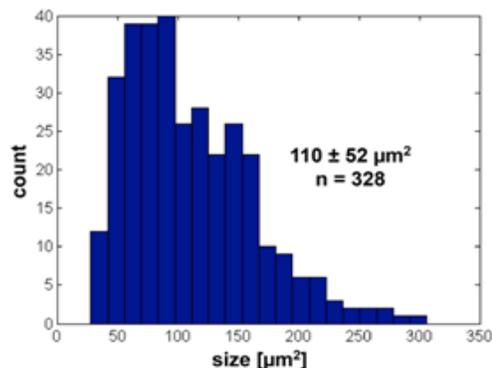
**Fig. 1** Schematic of STEAM flow cytometer.

Unlike the previous STEAM flow cytometer [2], we used an 800 nm femtosecond laser source for better optical resolution to capture the morphology of cells in more detail. The simplified optical setup is as in figure 1. First, we stretched the pulse temporally to map the spectrum of the pulse in the temporal domain. Then we used a diffraction grating to map the spectrum in 1D space, and targeted it to the cells flowing in the microfluidic device using an objective lens. The transmitted pulse was detected as a temporal spectrum using a high-speed photodetector and a digitizer. Finally, the repeated pulses were aligned in 2D to obtain images of cells.



**Fig. 2** Image of mice myeloma cells in 0.5 m/s flow.

With this setup, we were able to capture images of mice myeloma cells (about 15 μm in diameter) in a high-speed flow of 0.5 m/s (Figure 2). The speed limitation comes from the durability of the homemade microfluidic device. By improving this, it is possible to obtain images of cells at a flow of over 10 m/s. Furthermore, by obtaining images of several hundred cells, we were able to construct a size histogram according to the cross section (Figure 3). Therefore, with this technique, we are able to classify cells according to their size, which is a key factor to distinguish cancer cells from other cells.



**Fig. 3** Size histogram of 328 mice myeloma cells.

[1] *Nature*, **458**, 1145 (2009).

[2] *PNAS*, **109**, 11630 (2012).

With our STEAM flow cytometer, we were able to obtain images of several hundred cells in a high-speed flow. By integrating a field-programmable gate array (FPGA), we plan to process the image in real time in order to obtain images from millions of cells in a minute and simultaneously classify them according to their size and morphology. Once we are able to screen a large number of cells, we will perform clinical experiments, first with blood and then with lymph nodes from cancer patients.

研究ハイライト

術中癌細胞検出に向けた超高速画像フローサイトメトリー

癌は転移するため、腫瘍摘出後にも再発しやすい。これを防ぐために、医師が腫瘍に近いリンパ節生検を行い、転移を引き起こす原因となる残留癌細胞を探している。しかし、これらの癌細胞はリンパ細胞や免疫細胞に比較して非常に稀少であり、多くが見落とされてきた。また検査は手術後に行われるため、癌細胞が発見された場合であっても再手術を必要とする。

この問題に対して、手術中にリンパ節における稀少癌細胞を検出するために、我々は細胞形態を認識して稀少細胞を検出するための超高速透過画像フローサイトメーターを開発している。STEAM (serial time-encoded amplified microscopy) [1]とマイクロ流体技術を統合させる事により、8 m/s (200,000 細胞/秒の記録スループットに相当) の高速流内の細胞画像をキャプチャすることができるフローサイトメーターSTEAM フローを構築している [2]。このフローサイトメーターを用い、手術時間 (約 30 分) 中に、1 分未満で人リンパ節中の白血球に含まれる単一癌細胞を検出し、診断を行うことを目指している。

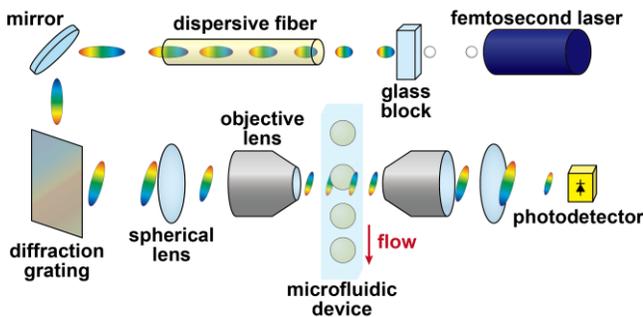


図1 STEAM フローサイトメーターの概略図

従来の STEAM[2]に比較し、開発中のシステムは 800nm のフェムト秒レーザー光源を使用しているため、空間解像度が向上して、より詳細に細胞の形態を捉えることができる。図 1 に示す光学系において、まず我々はパルスのスペクトルをマッピングするために時間方向にパルスを伸長させた。その後、空間方向にスペクトルをマッピングするために回折格子を使用し、対物レンズを使用して、マイクロ流体デバイス内を流れる細胞サンプルに照射した。そして最後に、サンプルを通過したパルス光を、高速光検出器とデジタルサイザーを使用して時系列スペクトルとして検出した。

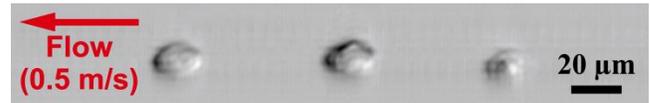


図2 STEAM により撮影された 0.5 m/s の流速で流路を流れるマウス骨髄腫細胞画像

本システムを用い、我々は 0.5 m/s (図 2) の高速流体中を流れるマウス骨髄腫細胞 (直径約 15 $\mu$ m) の画像を撮影することに成功している。現在の速度限界は、マイクロ流体デバイスの耐久性に起因している。これを改善することにより、10 m/s 以上の流速で細胞画像を得ることが可能となる。また、今回撮影した数百の細胞画像から、細胞サイズのヒストグラムを構築した (図 3)。この結果から、我々の STEAM セルサイトメーターは、サイズと言う重要なパラメーターに従って癌細胞を他細胞と区別することができると言える。

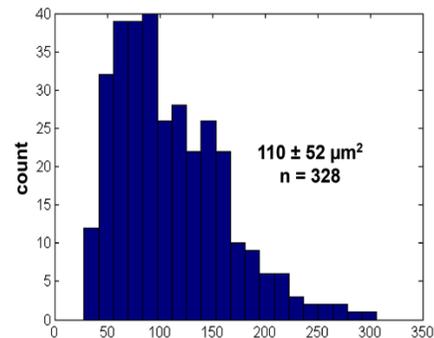


図3 328 のマウス骨髄腫細胞のサイズヒストグラム

- (1) *Nature*, **458**, 1145 (2009).
- (2) *PNAS*, **109**, 11630 (2012).

現在までに、開発中の新規 STEAM フローサイトメーターを用いて、0.5 m/s と高速に流れる細胞の、数百枚の連続撮影に成功している。今後は、FPGA (field-programmable gate array) と融合する事により、数百万の細胞画像をリアルタイムに撮影し、同時に細胞サイズや形態に基づいて判別・分取できるセルソーティングシステムへの発展を計画している。一度に数多くの細胞をスクリーニングできるようなシステムが確立し次第、臨床実験としてまずは癌患者の血液を、そしてリンパ節を測定する事を予定している。

## 1. 原著論文

### (1) Refereed Journals

- 1) K. Goda and B. Jalali, "Dispersive Fourier transformation for fast continuous single-shot measurements," *Nature Photonics*, **7**, 102-112 (2013).
- 2) H. Chen, C. Wang, A. Yazaki, C. Kim, K. Goda, and B. Jalali, "Ultrafast web inspection with hybrid dispersion laser scanner," *Applied Optics*, **52**, 4072-4076 (2013).
- 3) A. Mahjoubfar, K. Goda, G. Betts, and B. Jalali, "Optically amplified detection for biomedical sensing and imaging," *Journal of Optical Society of America A*, **30**, 2124-2132 (2013).

### (2) その他

- 1) 服部 竜己, 下田 勇一, 石井 晴幸, 斎藤 佳大, 中尾 敏之, 渡辺 正浩, 吉武 康裕, 合田 圭介: 「欠陥検査のための空間-時間列変換を用いた超高速撮像技術」, 第74回応用物理学会秋季学術講演会, 京都, (2013).
- 2) K. Goda, D. Di Carlo, and B. Jalali, "Ultrafast automated image cytometry for cancer detection," *35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Osaka, Japan (2013).
- 3) K. Goda, G. Yu, Y. Wakisaka, and H. Kobayashi, "High-throughput image cytometry for rare cell detection," *JSAP Autumn Meeting*, Kyoto, Japan (2013).
- 4) K. Goda, B. Jalali, K. Hashimoto, S. Ueno, and S. Yamada, "Dispersive Fourier transformation and application to cancer detection," *Frontiers in Optics*, Orlando, FL (2013).
- 5) B. Jalali, E. D. Diebold, A. Mahjoubfar, B. W. Buckley, and K. Goda, "Ultrahigh throughput single cell imaging," *Frontiers in Optics*, Orlando, FL (2013).
- 6) A. Fard, C. Wang, O. Malik, G. Fu, A. Quach, K. Goda, and B. Jalali, "Near-100 MHz optical coherence tomography at 800 nm," *Symposium on Optical Coherence Tomography for Non-Destructive Testing*, Linz, Austria (2013).
- 7) A. Mahjoubfar, K. Goda, C. Wang, A. Fard, J. Adam, D. R. Gossett, A. Ayazi, E. Sollier, O. Malik, E. Chen, Y. Liu, R. Brown, N. Sarkhosh, D. Di Carlo, and B. Jalali, "3D ultrafast laser scanner," *SPIE Photonics West, San Francisco*, CA (2013).
- 8) H. Chen, K. Goda, C. Wang, and B. Jalali, "Ultrafast surface inspection using hybrid dispersion laser scanner," *CLEO Applications and Technology*, San Jose, CA (2013).
- 9) A. Ayazi, K. Goda, C. K. Lonappan, J. Adam, J. Sadasivam, D. R. Gossett, E. Sollier, A. Fard, S. C. Hur, C. Murray, C. Wang, N. Brackbill, D. Di Carlo, and B. Jalali, "Real-time image processor for detection of rare cells and particles in flow at 37 million line scans per second," *SPIE Photonics West*, San Francisco, CA (2013).

## 2. 総説・解説

- 1) 合田圭介, 高橋めぐみ: 「医工連携を歩く(33)超高速光イメージング技術を用いた低コストがん診断法」映像情報 *Industrial*, **45**, 50-54 (2013).

## 3. 著書

## 4. その他