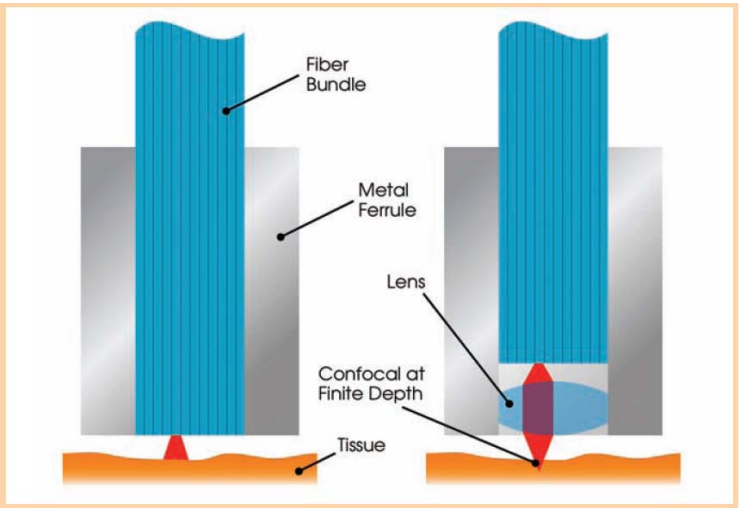
Confocal Microendoscope

Basic concept

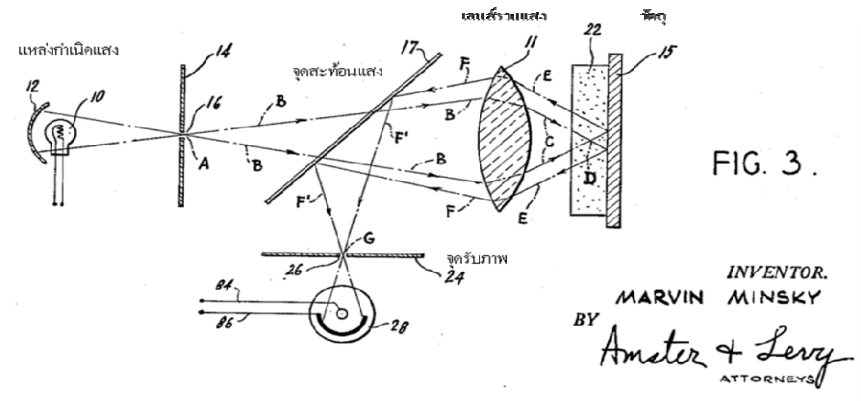
ในอดีตการตรวจหาเซลล์มะเร็งโดยการส่องกล้องจะใช้กล้องชนิด Wide-field fluorescence microscope ภาพที่ได้มีข้อเสีย คือ มีส่วนของบริเวณที่อยู่นอกโฟกัสของภาพมากเกินไปและไม่ได้ภาพในแนวดิ่งและภาพทั้งหมดของตัวอย่างได้ การตรวจวินิจฉัยจึงไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ทำให้ในปี ค.ศ. Marvin Minsky จึงพัฒนากล้องประเภท confocal microscopy ซึ่งหลักการของกล้องชนิดนี้ คือ การใช้ลำแสงในการส่องที่วัตถุที่ต้องการศึกษา และอาศัยการสะท้อนกลับของลำแสงโดยใช้ตัวรับสัญญาณรับภาพที่เกิดจากการสะท้อน โดยก่อนที่ลำแสงจะกระทบวัตถุที่ศึกษา จะผ่านเลนส์ทำให้แนวลำแสงมีช่วงโฟกัสที่แคบลงและทำให้เกิดความสามารถในการทะลุทะลวงทำให้สามารถเห็นภาพได้ในแนวลึก (ภาพที่ 1) ซึ่งปัจจุบันสามารถส่องได้ลึกจากพื้นผิวประมาณ 500-600 ไมครอน (ซึ่งถ้านึกภาพไม่ออก แบคทีเรียทั่วไปจะมีขนาดประมาณ 3-4 ไมครอน) ทำให้การวินิจฉัยเซลล์มะเร็งนั้นมีประสิทธิภาพสูงขึ้น (สามารถมองเห็นเซลล์ที่ผิดปกติได้) และยังทุ่นเวลาในการตรวจชิ้นเนื้อมาศึกษา



ภาพที่ 1: Wide-field fluorescence microscope (ซ้าย), confocal microscope (ขวา)

หลักการของ confocal microscope จะใช้ point illumination และ pinhole ในการรวมแสงที่ด้านหน้าของตัว detector เพื่อกำจัดสัญญาณที่อยู่นอกโฟกัสจึงเป็นที่มาของชื่อ “confocal” ลำแสงเป็นแสง fluorescence ที่อยู่ใกล้ๆ กับ focal plane ทำให้สามารถจับภาพได้อย่างคมชัดโดยเฉพาะตัวอย่างที่อยู่ในที่ลึกลงไป ซึ่งดีกว่า wide-field microscope อย่างไรก็ตาม แสง fluorescence ที่ออกจากตัวอย่างจะมีปริมาณมากซึ่งจะถูกสกัดโดย

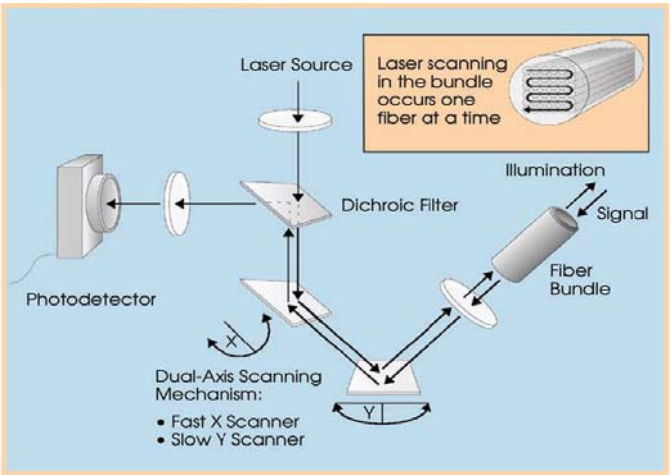
pinhole เพื่อเพิ่ม resolution เป็นเหตุให้ลด signal intensity ดังนั้น ในบางครั้งอาจจะมีปัญหาภาพไม่ชัดเนื่องจากการรบกวนโดยแสงที่สะท้อนจากตัวอย่าง จึงต้องทิ้งเวลาส่องบริเวณนั้นเป็นเวลานานขึ้น (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2: Principle of confocal microscopy

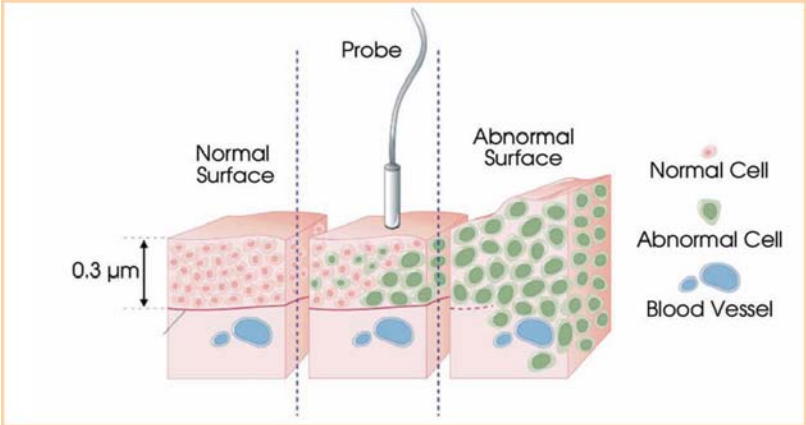
Fiber optic confocal microscopy technology เป็นเทคโนโลยีที่ช่วยให้การวินิจฉัยโรคทางการแพทย์ทำได้ง่ายขึ้นด้วยวิธีส่องกล้อง (endoscopy) โดยเฉพาะการตรวจหามะเร็งในระยะเริ่มต้น ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการพัฒนากล้องชนิดนี้ ดังแสดงในภาพที่ 3

มีการนำเส้นใยแก้วนำแสงหรือไฟเบอร์ออปติก (Fiber optic) ซึ่งเป็นตัวกลางของสัญญาณแสงชนิดหนึ่งที่ทำมาจากแก้วซึ่งมีความบริสุทธิ์สูงมาก เส้นใยแก้วนำแสงมีลักษณะเป็นเส้นยาวขนาดเล็ก สามารถนำสัญญาณแสงจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งได้ โดยมีการสูญเสียของสัญญาณแสงน้อยมากมาใช้ในการส่งภาพจาก probe ที่ส่องวัตถุสู่ตัวรับสัญญาณจากนั้นแปลงเป็นภาพซึ่งสามารถทำได้ทั้ง 2 และ 3 มิติขึ้นอยู่กับความต้องการและเครื่องมือที่ใช้ ทำให้สามารถสอดกล้องเข้าไปส่องอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายที่อยู่ไกลออกไปได้



ภาพที่ 3: Fiber optic confocal endoscopy

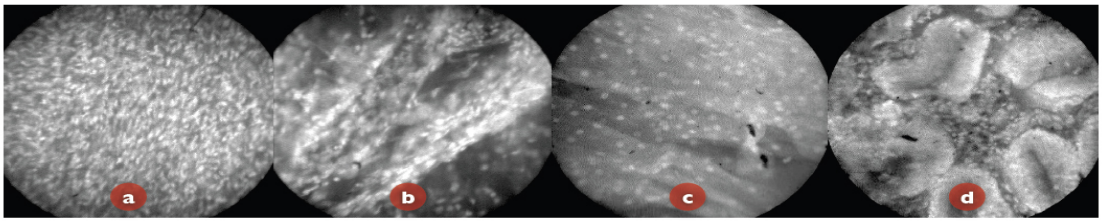
ดังนั้น จากหลักการทำงานของกล้อง confocal จึงนำมาใช้ในการศึกษาเซลล์มะเร็งได้ผลดี เพราะ การเกิดเซลล์มะเร็งในหลายชนิดจะเกิดความผิดปกติขึ้นในชั้น epithelia จึงสามารถใช้กล้องชนิดนี้ในการตรวจหาความผิดปกติของเซลล์ตั้งแต่ในระยะเริ่มต้นก่อนที่จะมีการพัฒนาไปเป็นก้อนเนื้อร้าย ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4: การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ปกติเป็นเซลล์ที่ผิดปกติในชั้น epithelia

Expanding applications

confocal microscopy สามารถตวรจพบเซลล์ที่มีความผิดปกตินี้ก่อนที่จะกระจายไปยังตำแน่งอื่นๆ ซึ่งกล้องระบบนี้ได้ทดลองใช้อยู่ใน clinic trial ซึ่งจากการศึกษา พบว่า สามารถตรวจพบเซลล์มะเร็งในระยะเริ่มต้นได้ โดยใช้ได้ดีกับ ระบบทางเดินอาหาร และระบบทางเดินหายใจ (โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับปอด) ดังแสดงในภาพที่ 5



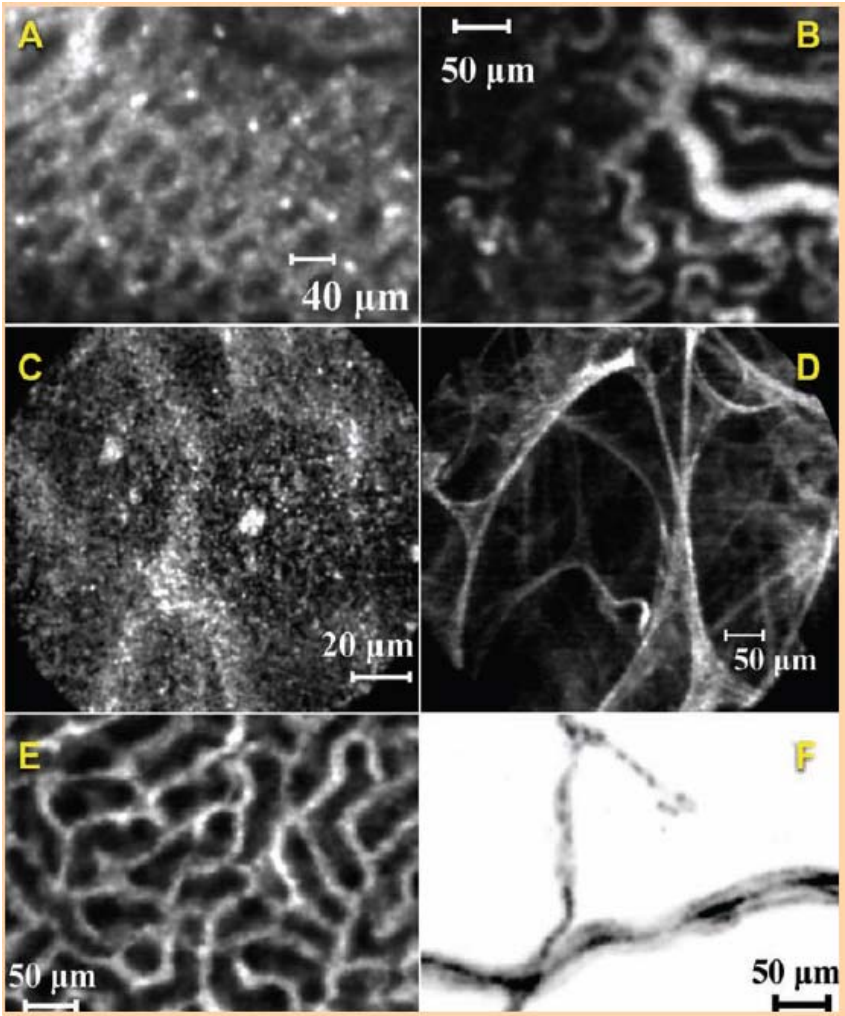
ภาพที่ 5: ตัวอย่างภาพ human tissue (in-vitro): เยื่อบุรังไข่ที่ปกติ (a), เยื่อบุรังไข่ที่ผิดปกติ (b), เยื่อบุหลอดอาหารที่ปกติ (c), เยื่อบุหลอดอาหารผิดปกติ (Barrett's esophagus) (d)

มีหลายการศึกษาที่ใช้เทคโนโลยีของ confocal microscopy ในการศึกษาในระดับเซลล์ของสัตว์ทดลอง เช่น ใช้ในการศึกษา เนื้อเยื่อหัวใจและปอดในหนู และใช้ในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์และผนังเซลล์ของเส้นเลือดในหนู

นอกจากนี้ยังมีการใช้กล้องชนิดนี้ในการศึกษาทางด้าน tissue engineering ในการตรวจสอบคุณภาพของการติดฉลาก stem cell (in vitro) และยังใช้ในการตรวจเซลล์ (in vivo) หลังจาก implantation

การศึกษาทางด้านอื่นๆ ก็ได้มีการใช้เพื่อนำเสนอภาพแบบ real-time เพื่อการศึกษาและสังเกต peripheral nerve และ motor end plate ในหนู และได้มีการใช้เพื่อนำเสนอภาพแบบ time-lapse ในการศึกษาในสมองส่วนที่ลึกลงไป คือ การ migration ของ neuron precursor

มีหลายการศึกษาที่ใช้กล้องชนิดนี้ในการศึกษาเซลล์ชนิดต่างๆ ทั้งในสัตว์ทดลองและในเซลล์ของมนุษย์ ซึ่งก็พบว่าผลการศึกษาที่ได้ให้ผลดี ดังแสดงในภาพที่ 6

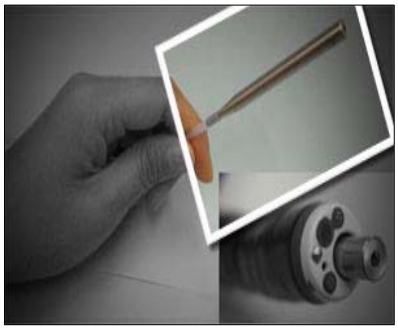


ภาพที่ 6: ตัวอย่างภาพที่ได้จากการศึกษาด้วยกล้อง confocal: in vivo mouse colon (A), in vivo tumoral angiogenesis (mouse) (B), human mouth mucosa (C), ex vivo human lung (D), mouse kidney (E), dendritic receptor (Thy1-YFP mouse) (F)

การพัฒนาของกล้อง confocal ในประเทศไทย

เมื่อไม่นานมานี้ ดร.วิบูลย์ ปิยวัฒนเมธา สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ได้พัฒนาต่อยอดกล้องชนิดนี้ขึ้น โดยอาศัยเทคโนโลยีแสงโฟโตนิกส์ (Photonics) ไมโครเทคโนโลยี (Microtechnology) และนาโนเทคโนโลยี (Nanotechnology) เพื่อตรวจค้นหามะเร็งพื้นผิวชั้นบนสุด (Epithelial Cancers) ในระยะเริ่มต้นเช่นที่ผ่านมาแต่มีกำลังขยายที่มากขึ้นกว่าเดิมที่ใช้อยู่ในระดับ pre-clinic ในประเทศสหรัฐอเมริกาในขณะนี้

Confocal Microendoscope ประกอบด้วย เมมส์ สแกนเนอร์ (MEMS Scanner) และเลนส์ขนาดเล็ก 2 เลนส์ โดยกล้องชนิดนี้จะอาศัยแสงระดับเนียร์อินฟราเรด (Near Infrared) ที่ความยาวคลื่น 785 นาโนเมตร ทำให้สามารถส่องได้ลึกจากพื้นผิว 500-600 ไมครอน กำลังขยาย 1,000 - 2,000 เท่า



Confocal Microendoscope ยังอยู่ในขั้นตอนของการพัฒนาต้นแบบ ในขั้นต้นมี 2 ชนิด คือ

1. กล้องขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ใช้ตรวจมดลูก รังไข่ และผิวหนังชั้นนอก

2. กล้องขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ใช้ตรวจลำไส้ทางเดินอาหาร และกระเพาะอาหาร เป็นต้น

ด้วยกล้องขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร เป็นกล้องที่ใช้ในการตรวจค้นหามะเร็งจากภายนอกร่างกาย จึงใช้ในการค้นหามะเร็งมดลูก รังไข่ และผิวหนังชั้นนอก วิธีการใช้งานก็โดยนำเครื่องมือไปแตะบริเวณที่สงสัย กล้องจะส่งภาพของพื้นที่ต้องสงสัยที่มีรายละเอียดลึกถึงโครงสร้างเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิม และนำภาพที่ได้มาประมวลผลแสดงในรูป 3 มิติให้เห็นอย่างชัดเจน ช่วยให้แพทย์สามารถบ่งชี้ได้ทันทีหากเป็นเนื้อร้ายที่จะกลายเป็นมะเร็งต่อไป และหากพัฒนาไปใช้ร่วมกับการฉีดตัวบ่งชี้มะเร็งแบบเรืองแสง (Fluorescence Tumor Marker) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นเป็นการเฉพาะ ก็จะรู้ถึงขอบเขตของมะเร็งและทำการรักษาได้ทันท่วงที ทั้งนี้ ราคาต่อเครื่อง ประมาณ 1.5–2 ล้านบาท ซึ่งหากนำเข้าจากต่างประเทศจะมีราคา 8–10 ล้านบาท ถ้าสามารถนำมาใช้ในคลินิกได้คาดว่าน่าจะมีประโยชน์ต่อวงการแพทย์เป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตาม คงต้องรอการรายงานผลการใช้ใน pre-clinic ว่าประสบผลสำเร็จเช่นไร

เอกสารอ้างอิง

1. Tanbakuchi A, Rouse A, Makhlouf H, Udovich J, Hatch K, Gmitro A. The multi-spectral confocal imaging system for optical biopsy in surgery. Department of Radiology and College of Optical Sciences, University of Arizona.

2. Abrat B, Master A. Endoscopic confocal microscopy moves in to the clinic. Biophotonics Intenational, Laurin Publishing Co. Inc. 2006.

3. Confocal microscopy. Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Confocal_microscopy. Accessed March 31, 2010.

4. Ra H, Piyawattanametha W, Taguchi Y, Solgaard O. Microtechnology enables endoscopic confocal microscopy. Newsroom. 10.1117/2.1200705.0742. Available at: http://spie.org/documents/Newsroom/Imported/0742/0742-2007-05-25.pdf. Accessed March 31, 2010.

5. เนคเทคเปิดตัว “กล้องอัจฉริยะตรวจมะเร็งโดยไม่ต้องตัดชิ้นเนื้อ”. Available at: http://www.nstda.or.th/index.php/news/1262-2010-03-25-07-25-14. Accessed March 31, 2010.