

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：13802

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15525

研究課題名(和文)電磁波による脳血流イメージング法の開発

研究課題名(英文)Development of the methods for brain function imaging by electromagnetic waves

研究代表者

山本 清二(Yamamoto, Seiji)

浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・理事

研究者番号：60144094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：長波長光を用いてラットの脳機能を評価できるか否かを検討し、脳表面から深部まで観ることができる簡便な方法の原理検証を行うために研究を行った。実験的にラット頭部に波長5.73 μm のレーザー光を照射し、その透過の検出を試みたが、特定のピークが得られなかった。血液、組織水、脳脊髄液により光が吸収がされること、散乱により光が直進せず光路長が一定しないことが計測を妨げる要因と考えられた。テラヘルツ波(0.8-1.5 THz、1 THz=波長300 μm)による脳スライスイメージング(キヤノンとの共同研究)を試みた。その結果、腫瘍領域で屈折率が高くなり、脳腫瘍と正常脳との鑑別が可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：To examine the principle of a simple method to image the brain function both in the surface and the deep parts, we investigated whether brain functions can be evaluated in rats using long wavelength light. Experimentally, the head of rats were irradiated with a laser beam having a wavelength of 5.73 μm , and detection of its transmission was attempted, but no specific peak was obtained. It is considered that light is absorbed by blood, tissue water, cerebrospinal fluid, light is not traveling straight due to scattering, and the optical path length is not constant, which is a factor impeding measurement. Brain slice imaging (collaborative research with Canon) by terahertz wave (0.8-1.5 THz, 1 THz = wavelength 300 μm) was attempted. As a result, the refractive index increased in the tumor area, and it became clear that it is possible to differentiate between brain tumor and normal brain.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脳機能イメージング 赤外光 テラヘルツ波 電磁波

1. 研究開始当初の背景

脳の神経活動を可視化する方法として、fMRI (functional magnetic resonance imaging)、SPECT (single photon emission tomography)、PET (positron emission tomography)、MEG (magnetoencephalography) などが用いられているが、装置そのものが大型で wearable ではないという欠点を持っている。NIRS (near infrared spectroscopy)、EEG (electroencephalography) は、装置が比較的小型で移動もできるという点で優れているが、脳深部の機能評価ができないことが最大の問題である。

2. 研究の目的

本研究では、fMRI、SPECT、PET、MEG、NIRS、EEG 等の方法に代わる新たな脳機能イメージング法として、長波長光 (電磁波) を用いてラットの脳血流の変化を検出できるか否かを検討し、表面から深部までの簡便な脳機能 (特に脳血流) イメージング法の原理検証を行うことを目標とする。これが実現できれば、臨床現場で比較的簡便な脳機能モニタリングが可能になる他、ブレインマシンインターフェイスに使える wearable な脳機能マッピング装置が実現できる。

3. 研究の方法

3-1) 適切な波長の検討

実験を進める上で適切な波長を選択することを目的に、脳すりつぶし標本において、フーリエ変換赤外分光光度計を用いて、赤外光における吸収と波長の関係を探る準備を行った。次に、ラットを全身麻酔下に定位脳手術装置に固定し、ラット頭部に、赤外光レーザー (波長 1~15 μm) の出力を変化させた場合の透過を計測しリファレンス光との比較により脳を透過する光とのピーク値とピーク時間を評価する準備を行った。適切な照射したレーザー光が決まれば、それによる脳障害の有無を神経学的スコアおよび病理検査 (HE 染色、Tunnel 染色) で検討する。また可能であれば、テラヘルツ光、電波 (マイクロ波) を赤外光に置き換えて可能性を検討することとした。

3-2) 長波長光によるイメージング法の探索

特定のピークが得られず、血液だけでなく、組織水、脳脊髄液により光が吸収がされること、散乱により光が直進せず光路長が一定しないことが計測を妨げる要因と考えられた。個体レベルではこれらの因子を除外することが困難であり、長波長光によるイメージング法の探索目的に、テラヘルツ波 (0.8-1.5 THz) による脳スライスイメージング (キヤノンとの共同研究) をテラヘルツ時間領域分光法により試みた。

SD (Sprague-Dawley) ラット脳スライス切片を用い、脳腫瘍組織と正常組織の差異をテラ

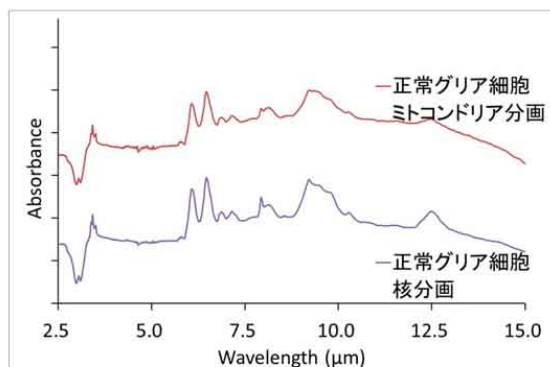
ヘルツ帯で観測できるか否かを検討した。テラヘルツ帯のスペクトル測定には、励起光源に 1.5 μm 帯のファイバレーザ (パルス幅約 30 fs) を使用して構築した反射型テラヘルツ時間領域分光装置を用いた。テラヘルツ波の発生、検出にはそれぞれ LT-In (インジウム) Ga (ガリウム) As (ヒ素) と LT-GaAs 光伝導素子を使用し、パルス幅 (FWHM) は 370 fs である。テラヘルツ光路を乾燥空気置換が可能な筐体で覆うことで水蒸気によるテラヘルツ波吸収の影響を抑制し、信号取得精度を向上させた。SD ラットの脳から切り出した生切片は試料台となる石英板に密着させて測定し、解析により生切片の屈折率スペクトルを得た。

4. 研究成果

4-1) 適切な波長の検討結果

フーリエ変換赤外分光光度計を用い、ラット脳組織・ラット培養グリア細胞において赤外光の吸収と波長の関係を探る。その結果、6 μm 、9 μm の波長で吸収のピークが見られた (図 1)。

図 1 グリア細胞における赤外光の吸収



これらの結果に基づき、ペルチェ冷却型量子カスケードレーザー (浜松ホトニクス社、波長 6.1 μm 、7.8 μm) の 2 種類を準備し、全身麻酔下にラットを定位脳手術装置に固定し、MCT 光導電素子 (赤外線入射により抵抗値が減少する素子) により赤外線を計測するシステムを構築した。

イソフルレン麻酔下にラット頭部に 5.73 μm の量子カスケードレーザー (浜松ホトニクス社) を照射し、その透過の検出を試みたが、特定のピークが得られなかった。血液だけでなく、組織水、脳脊髄液により光が吸収がされること、散乱により光が直進せず光路長が一定しないことが計測を妨げる要因と考えられ、光路長が実際の長さの 2~3 倍以上であり透過・吸収の評価がしにくいなどの問題が認識された。

4-2) 長波長光によるイメージング法の探索

0.8 THz から 1.5 THz の周波数帯域において、概ね屈折率差 $\Delta n=0.02$ を分解できる屈折率

スペクトルが取得可能な条件を得た。これは、プロトコルで臓器保管工程を排除する等、再現可能な準備方法を設定することで実現された。脳腫瘍 SD ラットの屈折率スペクトルでは、正常組織と脳腫瘍組織に測定精度以上の有意差 ($\Delta n = 0.02-0.04 @ 0.8-1.3 \text{ THz}$) が観測され、脳腫瘍領域の屈折率の方が高いことが分かった (図 2)。

図 2 腫瘍領域と正常領域の屈折率平均値

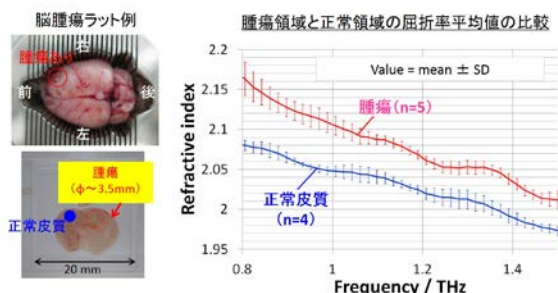


図 2 左は脳を上から見た写真で、直径 3.5mm 程度の腫瘍が存在することが分かる。右グラフでは、複数検体について、腫瘍領域と、左脳の正常領域における皮質領域の屈折率スペクトル測定結果正常領域と腫瘍領域で、測定精度 0 以上の屈折率差が確認でき、さらに、屈折率は腫瘍の方が高いことが分かる。この屈折率スペクトルの取得精度は SD ラット 6 検体で同程度であることを確認し、脳腫瘍組織と正常組織の屈折率スペクトル差異は、脳腫瘍 SD ラット全 3 検体で同様に観測された。観測された腫瘍領域と正常領域のスペクトルの差異要因について検討した。主な差異要因として、「細胞の密度や構造」と「水分量」の 2 つがあげられた。細胞の密度と屈折率差異の関係は H E 染色像との比較により考察すると、腫瘍領域では、正常領域として明らかに単位体積当たりの細胞核が占める割合が多く、細胞核は細胞の中でも密度が高いため、細胞核が多いほど屈折率が高いと考えられた。また、dry and wet 法 (組織の重量を摂氏 100 度で 24 時間乾燥させた前後に測定し、含有水分量を計測する方法) により脳腫瘍部分と正常脳組織の水分量を比較すると、腫瘍と正常脳との間では、腫瘍組織の方が水分量が多かった。

以上より、腫瘍と正常脳との間では、①細胞の密度 (腫瘍領域では単位面積あたりで細胞核の占める割合が高い)、②水分量の差により、腫瘍領域で屈折率が高くなり、脳腫瘍と正常脳との鑑別が可能であることが明らかとなった。この結果は、将来的にテラヘルツ波を前処理を必要としない生体組織のがん検出に適用できる可能性を示している。

【まとめ】

全身麻酔下にラットを定位脳手術装置に固定し、ペルチェ冷却型量子カスケードレーザーを照射して、MCT 光導電素子 (赤外線入射により抵抗値が減少する素子) により赤外線

を計測するシステムを構築した。その結果から、明確なピークを検出しにくいこと、透過光で何らかのピークが検出できても光路長が実際の長さの 2~3 倍以上であり透過・吸収の評価がしにくいなどの問題が認識された。

個体レベルではこれらの因子を除外することが困難であり、長波長光によるイメージング法の探索目的に、テラヘルツ波 (0.8-1.5 THz) による脳スライスイメージングを試みた。その結果、腫瘍と正常脳の間では、①細胞の密度 (腫瘍領域では単位面積あたりで細胞核の占める割合が高い)、②水分量の差により、腫瘍領域で屈折率が高くなり、脳腫瘍と正常脳との鑑別が可能であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Miura K, Yamamoto S

A scanning acoustic microscope discriminates cancer cells in fluid
Scientific Reports 5:15243 (2015)
DOI 10.1038/srep15243

2. Yamaguchi S, Fukushi Y, Kubota O, Itsuji T, Ouchi T, Yamamoto S

Origin and quantification of differences between normal and tumor tissues observed by terahertz spectroscopy
Physics in Medicine & Biology 61:6808-6820 (2016)
DOI 10.1088/00319155/61/18/6808

3. Yamaguchi S, Fukushi Y, Kubota O, Itsuji T, Ouchi T, Yamamoto S

Brain tumor imaging of rat fresh tissue using terahertz spectroscopy
Scientific Reports 6:30124 (2016)
DOI 10.1038/srep30124

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他] なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 清二 (YAMOMOTO, Seiji)
浜松医科大学 理事・副学長
研究者番号 (60144094)

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

福司 康子 (FUKUSHI, Yasuko)
浜松医科大学 光先端医学教育研究センター 特任研究員
研究者番号 (50722683)

高木 登紀雄 (TAKAGI, Tokio)
浜松医科大学 光先端医学教育研究センター 特任助教
浜松ホトニクス株式会社 中央研究所 研究員

(4) 研究協力者

山口 小百合 (YAMAGUCHI, Sayuri)
キャノン株式会社 テラヘルツイメージング研究室 研究員

尾内 敏彦 (OUCHI, Toshihiko)
キャノン株式会社 テラヘルツイメージング研究室 研究室長