

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03082

研究課題名(和文)空間位相変調型近赤外光音響イメージング装置の開発と医療診断機器への展開

研究課題名(英文)Near-infrared photoacoustic imaging instrument with spatial light modulation and its application to medical diagnosis

研究代表者

由井 宏治 (Yui, Hiroharu)

東京理科大学・理学部第一部化学科・教授

研究者番号：20313017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：医療診断機器として、健常組織と病変組織の弾性の差異に着目し、光音響信号の時間波形及びそのパワースペクトルから媒質に埋もれた試料の弾性が同定可能か、波形解析アルゴリズムを用いて研究した。試料のヤング率が高い程パワースペクトルの重心に相当する周波数は高周波数側へシフトする傾向を見出し、本実験系では、試料のヤング率が、乳がんの範囲に相当する約1 MPa領域まで、周波数から同定可能であることを示した。さらに、空間位相変調技術を用いて、生体透過性が高い近赤外光に対して、一点あたり数 μm サイズで任意の点数での多点化を実現し、生体組織を高速かつ高空間分解能で近赤外光音響イメージング可能な基本要素を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体組織の弾性は、これまで、超音波エラストグラフィによって計測されてきた。しかし当該手法では、皮膚表面から5 から10 cmの深さ領域の組織の弾性が計測可能であるが、用いる音波の波長から空間分解能が1 cmと低い欠点がある。本研究で開発した光音響信号のパワースペクトルから埋もれた物体の弾性情報を取得する新しい方法は、サブミリメートルの空間分解能を達成することができ、かつ血管などの組織を選択的に弾性をイメージング計測可能である。このことは、超音波エラストグラフィでは困難であった早期の乳がんのようなサブミリメートルオーダーの小さな病変を弾性情報から診断する新しい方法に発展していくことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：For the development of a novel instrument for medical diagnosis, we focused on the difference in elasticity between normal and pathological tissues. We investigated with an algorithm for waveform analysis whether the elasticity of objects buried into media was characterized from the temporal waveforms of photoacoustic signals and the corresponding power spectra. As the increase in Young's moduli of the objects, it was clarified that the frequency corresponding to the gravitational center of the power spectra became higher. In our experimental configuration, the elasticity of the objects was identified up to about 1 MPa of Young's modulus from the frequency, which corresponded to the range of elasticity for mammary gland cancers. Moreover, we achieved the multi-focus of an incident near-infrared laser light, where the diameter of a laser spot was a few micrometer, with the spatial light modulation technique, for fast near-infrared photoacoustic imaging of buried biological tissues.

研究分野：分析化学

キーワード：光音響効果 時間波形 パワースペクトル 弾性 乳がん 空間位相変調 波形解析アルゴリズム 近赤外光

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、人の深部における疾病の診断方法として、光音響イメージング法が注目を集めている。この方法では、ある特定の化学種の吸収波長を有する光を測定部位に照射し、その部位中に含まれる目的の化学種が光を吸収すると、吸収された光エネルギーが熱に変換されて体積膨張が起こり、その結果発生する疎密波である音響波を信号として検出する。医療診断装置として当該分光法を応用した場合、以下の利点が見込める。

- ・入射光の波長を変えつつ計測することで、化学種識別病変組織イメージングが可能
- ・生体組織そのものが吸収しない光を使用することで、非破壊・非侵襲で身体内部を計測可能
- ・波長が長く散乱されにくい音響波で信号を検出することで、数 cm を越える深部組織にも適用可能

近年、生体ダメージが少なく生体深部まで散乱されずに届く近赤外光を励起光源として使用した近赤外光音響イメージングの試みが始まっている。特に一般的な乳がん分析法である X 線マンモグラフィでは困難であったがん組織と乳腺組織の識別ができ、かつ高い空間分解能も備えた有効な新規早期診断方法として、その応用の検討が進みつつある(例: M. Heijblom, et al., *Opt. Exp.* **20**, 11582 (2012)、E. Fakhrejehani, et al., *PLoS ONE* **10**, e0139113 (2015))。

しかし国内外を問わず、以下の 2 つの課題に直面しているのが現状である。

1) 血管中のオキシヘモグロビン (Oxy-Hb) とデオキシヘモグロビン (Deoxy-Hb) の光音響信号の吸収強度の比のみの情報では、病変組織と健常組織の判別が困難

乳がん組織の診断パラメータとして血中酸素飽和度が有力視されており、吸収波長の異なる Oxy-Hb (825 nm) と Deoxy-Hb (756 nm) の光音響信号強度比をとる検討が進められている。しかし、乳がん組織の酸素飽和度は 20 % から 70 % と広い範囲の値をとることから、X 線マンモグラフィなどの従来法に比して、診断率の向上には至っておらず、新たな診断パラメータが求められている。

2) 目的患部前部にある組織によって入射光の波面が乱されることで、組織深部で焦点を結ばず、期待される空間分解能を出すことが困難

照射された光の位相波面が、前段の組織の屈折率不均一性により乱され、組織深部での効率的な集光が難しく、空間分解能が低下し、早期の小さな病変組織を検出することが困難である。

そこで本研究課題では、特に乳がんにおいてしばしば「しこり」と表現される、がん細胞が集合して形成された組織の弾性情報の差異に着目し、さらに早期発見のための空間分解能も妥協しない、新たな光音響弾性 3 次元イメージング装置を開発することを着想した。

まず本装置では、光音響信号の時間波形およびそのパワースペクトルから、目的部位の弾性情報を抽出することを着想した。これは、光音響信号が信号発生点における局所体積の膨張・収縮によって発生する疎密波である超音波であることから、膨張・収縮による体積変化に対して復元力である弾性が、発生する超音波の波形の周波数成分に影響を及ぼす基本物理に基づいている(例: F. Gao, et al. *Opt. Exp.* **23**, 20617 (2015))。

また、本開発装置の応用対象として想定しているステージ 0 から 1 の乳がんのサイズ数 mm から 1 cm 以下を十分に空間分解し、かつ組織の弾性情報を広範囲・高速でとらえられる 3 次元イメージング装置の仕様を目指すために、空間位相変調技術の導入を考案した。既に研究代表者のグループでは、近赤外光の空間位相変調技術を組み込んだ振動分光装置の開発を行っており(M. Banno, K. Onda, and H. Yui, *Anal. Sci.* **33**, 69 (2017))、これを本装置開発に活かす。具体的には、これまで開発してきた空間位相変調器による光位相変調並びに波面の整形プログラムを応用し、反復フーリエ変換に基づく自作アルゴリズムを用いて、一点あたりの空間分解能がサブミリメートルオーダーで、かつ複数位置での光音響信号を一度に計測する同時多点計測を実現する。

以上の技術を統合することにより、これまでの吸収の振幅強度だけでなく、光音響信号の時間応答波形を用いた弾性イメージングを実現する技術を開発することを着想した。

2. 研究の目的

研究開始当初の背景に記した着想に基づき、1) 光音響信号の波形解析による吸収音源部の弾性情報の抽出、2) 光位相変調技術による広範囲・高速・高空間分解イメージング、という 2 点の特徴とした、光音響弾性イメージング装置を開発する。特に、光音響分光法の応用が期待されている乳がん診断を志向し、装置開発の最適化、試験試料の作成をおこなう。

3. 研究の方法

上述の目的を達成するため、下記の順番で研究を推進した。

(1) 光音響信号の時間応答波形およびパワースペクトルからの弾性情報獲得の原理実証

- ① 試験試料 1: 媒質に埋もれた吸収音源 (ゴム)
- ② 試験試料 2: 乳がん模擬試料

- (2) 深部からの光音響信号の高感度検出のための、測定プローブの開発
- (3) イメージングの高速化のための、光位相変調技術を用いた入射レーザー光の多点化

4. 研究成果

- (1) 光音響信号の時間応答波形およびパワースペクトルからの弾性情報獲得の原理実証

光音響法において、発生する超音波は、物体の局所的な体積の膨張・収縮によって生じる圧縮波である。よって、体積変化に対して復元力として働く物体の弾性は、発生する超音波の周波数成分に影響を与えることが予想された。以下に示す系統的に弾性を変えた試験試料①、②を用い、検出される光音響信号の時間波形およびパワースペクトルから、その原理実証を行った。

① 試験試料①：媒質に埋もれた吸収音源（ゴム）

光吸収体（音源）として、異なるヤング率を持つ6種類のゴム（市販品）を準備した。レオメータ（Thermo Fisher Scientific Inc., HAAKE MARS III）による測定から、それぞれのゴムのヤング率は、0.38、0.71、0.99、1.70、1.86、2.03 MPaと見積もられた。図1に、試験試料①と光音響信号検出の概要図を示す。それぞれのゴムは、媒質である2 wt%アガロースゲル中に、ゲル表面から深さ2 cmの位置に埋め込まれた。試験試料①からの光音響信号検出のために、パルスレーザー（Photonic Solutions Ltd., Minilite, 波長：532 nm, 繰り返し周波数：10 Hz, パルス幅：7 ns, 出力：3 mW, ビーム径：3 mm）を試料に入射した。発生した超音波の検出のために、ハイドロフォン（東レ, H9C, 受信可能周波数：0.5~10 MHz）を暗視野配置で、光学系に組み込んだ。アガロースゲルとハイドロフォンとの音響カップリングのために、ゲルを純水で満たした。ハイドロフォンによって検出された超音波は、パルスレシーバー（オリンパス, モデル5073PR）で39 dB増幅し、それから超音波の時間波形をオシロスコープ（テクトロニクス, MD04104-6）を用いて記録した。

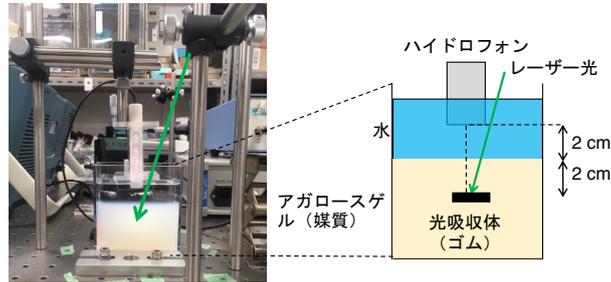


図1. 試験試料①からの光音響信号検出の概要図。

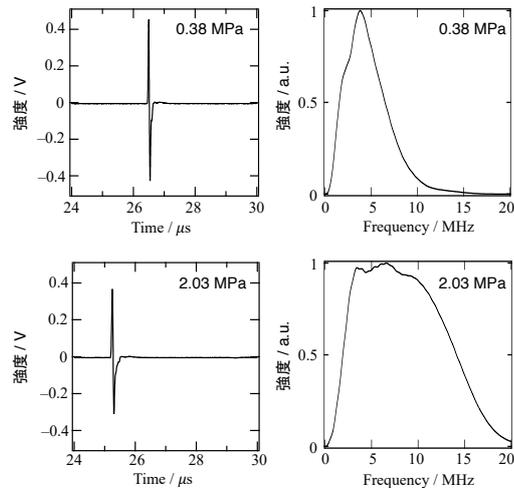


図2. 試験試料①からの光音響信号の時間波形とパワースペクトル。ゴムのヤング率：（上）0.38 MPa、（下）2.03 MPa。

図2に、試験試料①から得られた光音響信号の時間波形を示す。それぞれの試料にパルスレーザー光を照射した25 μ sから28 μ s後に、大きな強度をもつ信号を観測した。ハイドロフォンとゴムとの距離が4 cm、ゲルおよび水中の超音波の速度が1500 m/sであることから、音源（ゴム）から直進して到達する超音波の時間は、レーザー照射後約26.6 μ sと見積もることができる。計算値と実測値との一致から、観測された信号は、光音響効果によって発生した超音波由来であると帰属した。次に、得られた超音波の時間応答波形をフーリエ変換し、パワースペクトルを得ることで、信号に含まれる周波数成分を解析した。図2に示されているように、それぞれの試料のパワースペクトルは、0から20 MHzの周波数範囲で得られ、ゴムのヤング率が大きくなるにつれて、スペクトルはより高周波数側に広がった。スペクトルの周波数広がり进行评估するための指標として、スペクトルの重心位置に相当する周波数进行评估した。その重心周波数は、ゴムのヤング率が約1.9 MPaまで大きくなるにつれて、7.5 MHzまで増加した（図3）。一方、ヤン

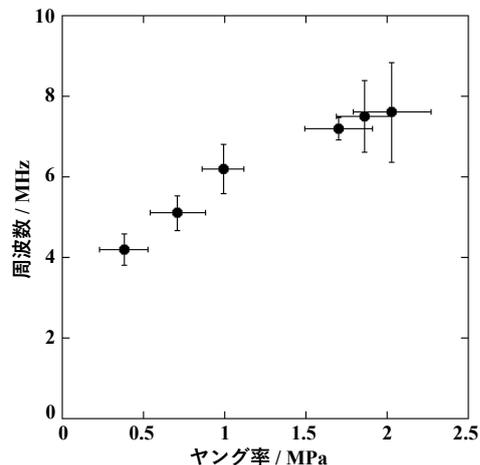


図3. ゴムのヤング率に対するパワースペクトルの重心周波数の依存性。

グ率が約 1.9 MPa より大きい領域では、周波数はほとんど変化しなかった。これらの結果は、光音響信号のパワースペクトルが、埋もれた試料の弾性を反映することを示しており、本研究の実験条件において、媒質に埋もれた物体のヤング率は、光音響信号のパワースペクトルの重心周波数から、約 1.9 MPa まで同定可能であることを示している。

② 試験試料②：乳がん模擬試料

これまでの光音響研究において、血管は光吸収体として広く利用され、乳がんのような組織の 3 次元分布イメージングを可能にしている。ここで、光音響効果による血管の膨張・収縮は、血管周囲の組織の弾性によって影響を受け、発生した超音波の周波数成分が血管だけでなく、血管と接した周囲の組織の弾性も反映すると予想した。そこで、図 4 に示す試験試料②を作成し、検証した。媒質であるアガロースゲルの中心に、ヤング率の異なるゲルをさらに埋め込み、ヘモグロビン / PBS 溶液 (15 g/dL, pH = 7.4) を注入した。このとき、埋め込むゲルのヤング率は、正常組織のヤング率 (20 kPa~300 kPa) または乳がん組織のヤング率 (300 kPa~1 MPa) を模倣した。ヘモグロビンの光励起によって発生した光音響信号の時間応答波形をフーリエ変換してパワースペクトルを得た結果、0~20 MHz の周波数帯域にブロードなピーク信号を観測した(図 5)。試験試料①と同様に、スペクトルの高周波数側への広がり

を反映させるために重心周波数を算出することで、試料のヤング率が高いほどパワースペクトルの重心に相当する周波数は、高周波数側へシフトする傾向を見出した(図 6)。この結果は、光音響信号のパワースペクトルが、血管のような光吸収体周囲の物体の弾性を反映することを示しており、実際の乳がんのような埋もれた生体組織でも応用可能であることを示す結果を得た。

試験試料①、②を用いて、光音響信号の時間応答波形およびパワースペクトルが、媒質に埋もれた試料の弾性を反映することを実証した。これまで、光音響信号の強度(振幅)が、物体の弾性評価のために測定されてきた。しかし、その方法では、試料に対して外部からの加圧が必要であり(P. Hai, et al., *Opt. Lett.* **41**, 725 (2016))、生体組織に対して垂直方向に対する均一な力の印加は極めて困難であることから、臨床への適用は極めて困難である。一方、本研究で示された新しい方法は、加圧を必要とせず、媒質に埋もれた弾性を約 1 MPa の範囲まで、非侵襲で同定できる利点を有している。また、臨床診断で用いられている超音波エラストグラフィでは、皮膚表面から 5 から 10 cm の深さ領域の組織の弾性が計測可能ではあるが、用いる音波の波長から、空間分解能が約 1 cm と低い欠点がある。我々が開発した方法では、光音響効果を利用していることから、組織内部でサブミリメートルの空間分解能を達成することができ、早期の乳がんのようなサブミリメートルオーダーの小さな病変を弾性情報から診断する新しい方法を開発したと言える。

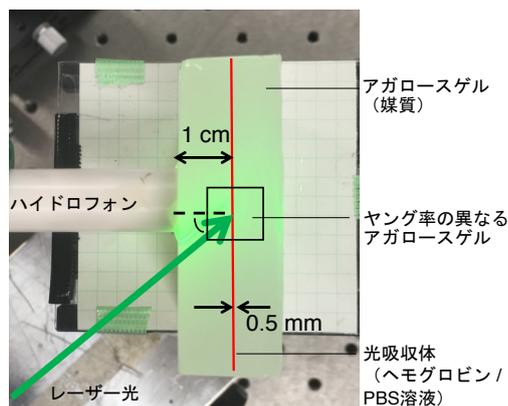


図4. 試験試料②からの光音響信号検出の概要図

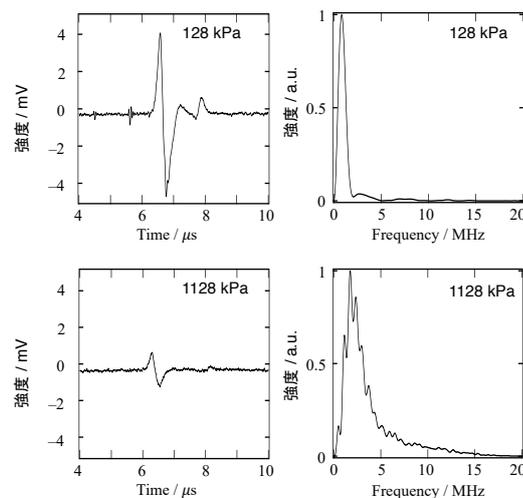


図5. 試験試料②からの光音響信号の時間波形とパワースペクトル。埋もれたゲルのヤング率: (上) 128 kPa、(下) 1128 kPa。

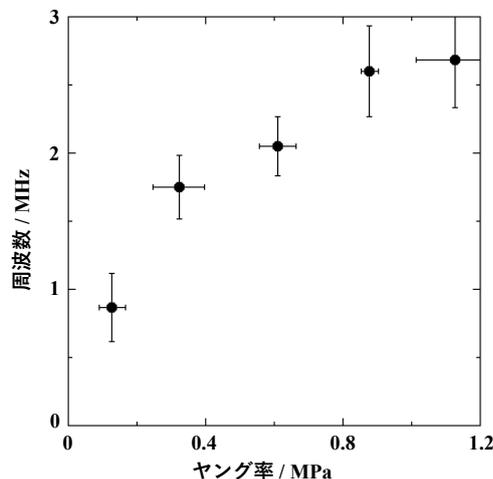


図6. ゲルのヤング率に対するパワースペクトルの重心周波数の依存性。

(2) 深部からの光音響信号の高感度検出のための、測定プローブの開発

試料深部からの光音響信号の高感度検出のために、測定プローブを独自に設計、ジャパンプローブ社に発注した。そのプローブでは、超音波検出機の素子を円環状にすることで、試料中の一点から発生した超音波を効率よく捕集できるようにし、さらにその中心部から光音響過程励起用レーザー光の入射が可能である(図7)。この円環状プローブを用いて、強散乱体であるイントラリピッドを混入したアガロースゲル内部に埋め込んだ光吸収体からの光音響信号の計測を行った。その結果、深さ8mmまでの信号を検出した。この結果は、従来の hidroフォンを用いた方法で得られた到達深さ5mmに対して、60%の向上に相当するものであり、埋もれた組織の粘弾性イメージングへの展開において、プローブ形状の最適化に向けた有力な設計・開発指針を得た。

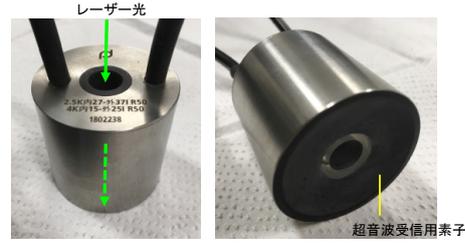


図7. 開発した新規超音波プローブ。

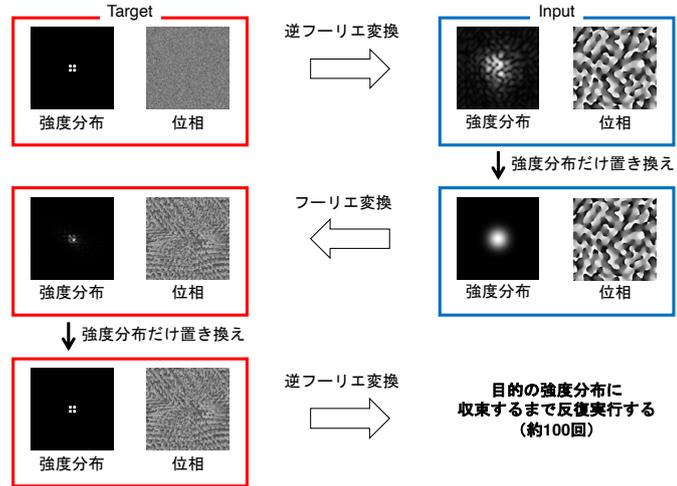


図8. 反復フーリエ変換法による多点形スポット成の概念図。

(3) イメージングの高速化のための、光位相変調技術を用いた入射レーザー光の多点化

本研究で示した手法を生体組織の広範囲かつ高速での3次元イメージング計測に展開するため、複数位置での信号を一度に計測する同時多点計測を検討した。計測に用いるレーザー光を多点分割するため、反復フーリエ変換に基づく自作アルゴリズムを用いて計算機合成ホログラム(CGH)を計算し、空間位相変調器(SLM)上に投影した(図8)。作製したCGHを用いて、近赤外パルス光の任意の点数での多点化を実現した(図9)。

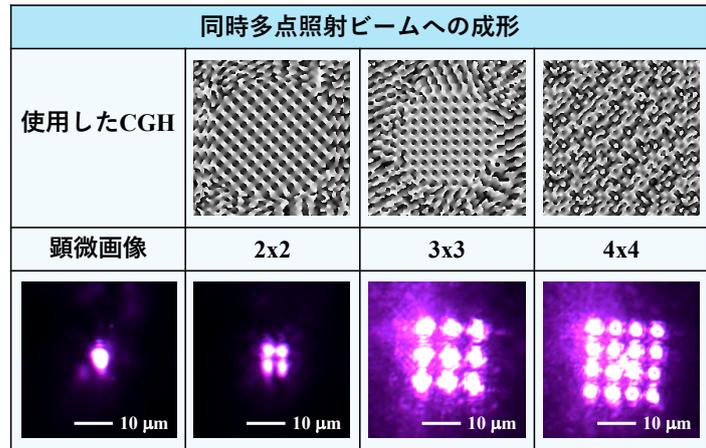


図9. 照射ビームの成形前(左)と成形後(2x2、3x3、4x4)の焦点形状。

(4) まとめ

本研究では、医療診断機器として、健常組織と病変組織との弾性の差異に着目し、光音響信号の時間応答波形およびそのパワースペクトルを用いて3次元弾性イメージングを実現する技術の開発に取り組んだ。波形解析アルゴリズムを用いて、光音響信号のパワースペクトルが、埋もれた試料の弾性を反映することを示すことができ、さらに実際の乳がんのような埋もれた生体組織でも応用可能であることを示す結果を得ることができた。また、生体組織深部からの光音響信号を高感度で検出するための新規超音波プローブの設計、さらには光位相変調技術を用いた独自アルゴリズムによる近赤外光の波面補正技術を取り入れることで、生体組織を高速かつ高空間分解能で近赤外光音響イメージング可能な基本要素を構築した。以上の本研究における技術開発によって、生体組織の弾性分布計測に広く用いられている超音波エラストグラフィでは計測困難であった、早期の乳がんのようなサブミリメートルオーダーの小さな病変を弾性情報から診断する新しい方法に発展していくことが期待される。現在は、近赤外光を用いて、光音響弾性計測の検討を進めている。実現すると近赤外光励起による生体組織の光吸収ダメージの低減、およびより深部での光音響弾性イメージングへの実現が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Toshinori Morisaku, Hitomi Onuki, Kenji Hashimoto, Kazuyuki Kuchitsu, and Hiroharu Yui	4. 巻 35
2. 論文標題 Development of a Near-infrared Laser-induced Surface Deformation Microscope and Its Application to the Dynamic Viscoelastic Measurements of Single Living Plant Cell Surfaces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1203-1207
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/analsci.19P227	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Motohiro Banno, Konosuke Onda, and Hiroharu Yui	4. 巻 33
2. 論文標題 Improvement of Spatial Resolution for Nonlinear Raman Microscopy by Spatial Light Modulation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 69-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/analsci.33.69	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中 彩香、木村 真衣子、森作 俊紀、浦島 周平、由井 宏治
2. 発表標題 レーザー光音響分光法を用いた生体組織深部レオロジー計測
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村 真衣子、中 彩香、森作 俊紀、浦島 周平、由井 宏治
2. 発表標題 レーザー光音響分光法を用いた毛細血管模擬試料の弾性計測
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浦島 周平 (Urashima Shu-hei) (30733224)	東京理科大学・理学部第一部化学科・助教 (32660)	
研究分担者	森作 俊紀 (Morisaku Toshinori) (00468521)	東京理科大学・研究推進機構総合研究院・助教 (32660)	
研究分担者	伴野 元洋 (Banno Motohiro) (40432570)	東京理科大学・理学部第一部化学科・講師 (32660)	