

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：31303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K01368

研究課題名(和文) 化学発光増強効果を利用した超音波タグ生体光断層画像計測技術の研究

研究課題名(英文) Study on ultrasound tagged optical tomography based on chemiluminescence enhancement effect

研究代表者

小林 正樹 (KOBAYASHI, Masaki)

東北工業大学・工学部・教授

研究者番号：90332981

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：光を利用して生体内部の情報を可視化する技術へのニーズと期待は大きい。可視、近赤外光は生体に対しての侵襲性が低く、また生体の形態情報だけでなく、光プローブ分子を使うことで生体の生理・機能情報を高感度に検出することができるという他の方法にない優位性を有している。しかしながら生体は強い光散乱媒体のため、生体深部における光情報を外部から画像化することは困難である。そこで我々は、超音波の生体内での直進性を光計測に補助的に利用する新しい生体光断層イメージング技術として、化学発光プローブと超音波の相互作用を用いた超音波タグ生体光断層画像計測技術を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した技術は、これまで我々が培ってきた極微弱発光検出技術に超音波技術を組み合わせたマルチモーダルな計測技術である。現在広く研究されている光音響効果を利用して生体内光吸収分布を超音波に変換して計測する光音響イメージングとは異なり、超音波の音響化学効果による化学発光の増強を光で検出するオリジナルな手法である。本研究では、この原理により生体深部における断層画像計測が実用的解像度で実現可能であることを示した。実際には化学発光プローブの生体への投与が必要であることから、まずは実験動物レベルでの代謝・生理機構や疾患メカニズムを解明するための新しいイメージング技術としての応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Optical technique applied for biomedical imaging has been expected for long time. The safeness and high sensitivity of optical methods are attractive; however, the light-scattering properties of a living body restrict the depth for imaging. We proposed an ultrasound assisted hybrid technique for optical imaging being available for biomedical tomography in the deep part. Ultrasonic tagging on chemiluminescence (CL) probes, which is observed as an enhancement of CL induced by sonochemical effect, is applied in the focused ultrasonic field to determine the spatial position of the CL probes in light-scattering media. We have developed a tomographic imaging system equipped with ultrasound phased-array transducers for electronic scanning of the ultrasound focus. The imaging performance using a body phantom including luminol CL reagents was demonstrated, suggesting the potential for tomographic imaging of CL probes with 1 mm resolution in ~20 mm depth of a living body.

研究分野：生体・医用光学

キーワード：生体画像計測 化学発光 超音波 断層画像 超音波併用光画像計測 イメージング 化学発光プローブ 活性酸素

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内部の構造や各種の生理作用、遺伝子発現、あるいは病態に関する情報を、光（蛍光、生物発光、化学発光）プローブを用いて可視化する技術は、*in situ*、低侵襲、リアルタイム、簡便さという利点から、生命科学研究において不可欠な手法として広く普及している。しかしながらその計測対象は、細胞レベルや組織表面など光散乱の影響を受けない範囲に限定されており、マクロなレベルでの生体深部計測に適用することは困難である。近年光散乱媒質内における光画像計測技術として、超音波を併用したマルチモーダルな光計測技術が注目されている。特にパルス光を用い、生体内物質の光吸収によって発生する熱弾性波を超音波として検出する超音響イメージング法の研究の進展は著しく、ヒトレベルでの実用に達している。これに対して、我々は超音波による音響光学効果に基づく光検出法として、蛍光を空間選択的に音響光学変調することにより、光散乱媒質内での蛍光画像計測を行う“超音波タグ光イメージング法”の研究を行ってきた。その過程で、蛍光プローブの代わりに化学発光プローブを用いると、超音波の音響化学効果により化学発光の増強が見られ、散乱媒質内での発光画像計測が可能であることを発見した。このような研究経緯を背景とし、本研究課題では、化学発光プローブによる生体内光断層画像計測のための超音波タグイメージング基礎技術の確立を目指した。

2. 研究の目的

化学発光プローブを用いた生体内画像計測に必要な性能を有する、超音波タグイメージング技術の開発を目的とした。生体内観察深度 20~30mm において空間分解能 1mm 程度での断層画像計測を目標とし、とくに各種疾患との関連やシグナル伝達機能が知られている活性酸素種をターゲットとした断層画像計測技術の開発を目指した。実用化を考慮し、超音波焦点の走査方法を従来の機械式からフェイズドアレイ超音波トランスデューサによる電子走査式とするための励振システムや駆動機構の開発、さらに空間分解能の向上を図るための検討を行い、生体内での活性酸素動態の画像計測への応用を視野に入れた研究を行った。

3. 研究の方法

集束超音波の発生源として、これまでは固定焦点型である集束超音波トランスデューサを用い、本体を自動ステージにより機械走査することで光散乱媒質内部を焦点走査する機構としてきたが、生体計測への実用を図る上で、走査方法を電子走査式とすることが必須であるため、フェイズドアレイ超音波トランスデューサを本計測に適用するための、音響化学効果の促進に適した制御系についての検討を行った。64 チャンネル水浸型フェイズドアレイ素子による、化学発光増強のための励振条件の探索、それに基づく位相遅延回路の設計・製作、電子走査制御プログラムの開発を行い、ハイドロフォンを用いた音圧分布計測によって焦点形状の評価を行うとともに、化学発光増強イメージングの効果と解像度の評価を行った。空間分解能は超音波焦点形状によって決まるため、解像度向上のための電子走査技術の改良や、とくに奥行き方向分解能の向上、すなわち走査面内の両軸分解能の均等化について問題の解決を図った。システム評価実験として、活性酸素種の検出を目的としたルミノール化学発光系を化学発光プローブとした生体模擬試料による断層画像計測実験を行った。

4. 研究成果

(1) フェイズドアレイ型超音波トランスデューサによる電子走査法の検討

① システム構成

計測システム全体の基本構成図を図 1 に示す。水を満たした水槽内に生体模擬試料を設置し、水槽内壁に固定した水浸型フェイズドアレイ超音波トランスデューサから超音波焦点を試料内部に形成し走査した。超音波焦点の空間走査と同時に、生体模擬試料内部からの微弱光を、超音波源と直交する水槽外側面近傍に設置した光電子増倍管 (PMT; 受光面直径 46mm) を用いて、光子計数法により計測した。試料水槽および PMT は暗箱内に設置した。使用したフェイズドアレイ超音波トランスデューサは、64 素子のリニアアレイ型であり素子間ピッチ 0.6mm、共振周波数 5MHz である。実際の計測においては、64 素子中の 16 素子を連続波により同時駆動し、各素子の駆動信号を位相制御することにより、超音波焦点を走査した。位相制御回路は、パーソナルコンピュータ (PC) からの制御信号に基づき、アレイ素子の各チャンネルに異なる位相で駆動信号を供給するため、デジタル遅延素子により 5MHz パルス発生器からの信号に位相差を与え、その後正弦波に変換する回路構成とした。焦点の電子走査は、試料内部を扇型に走査するセクタ走査、およびリニア走査の 2 種類で検討を行った。生体模擬試料内部からの極微弱発光計測のゲート時間に同期して、超音波焦点の走査を行った。

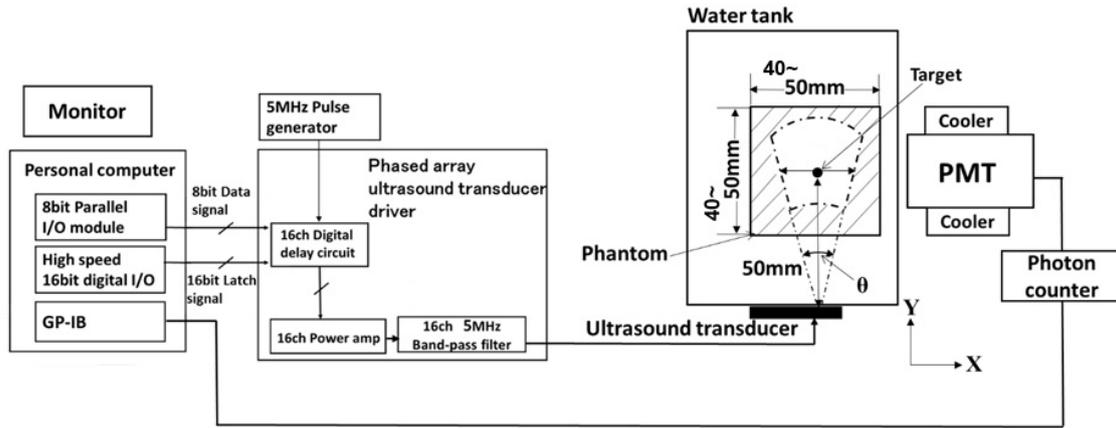


図1 フェイズドアレイ超音波トランスデューサによる電子走査機構を含むシステム全体の構成図

② 生体模擬試料

生体と同等の光散乱特性をもつ生体模擬試料として、イントラリピッド-10%を200mL/Lの濃度で含む寒天試料を作製した。外形寸法は50mm (X)×50mm (Y)×70mmまたは40mm (X)×40mm (Y)×70mmであり、その中心部に化学発光試料を包埋した。化学発光試料はルミノール・過酸化水素溶液とし、調製直後に内径2mm、高さ30mmのシリコーン製カプセルに封入した。作製した生体模擬試料の等価散乱係数はルミノール化学発光波長440nmにおいて 3.56mm^{-1} と見積もられる。

(2) 2次元電子走査による画像計測と空間分解能評価

超音波焦点を模擬試料内部で扇状に走査するセクタ走査による断層画像計測について検討を行った。試料内部をファン角 $\pm 10^\circ$ (θ)、超音波伝播軸方向(Y) $\pm 10\text{mm}$ で、それぞれ走査分解能 0.2° 、 1mm でセクタ走査した。図2に示すように模擬試料内部の横方向(X)測定範囲は、トランスデューサに近いところで模擬試料中心から $\pm 7\text{mm}$ 、最も離れたところで $\pm 10.5\text{mm}$ である。生体模擬試料には、 40mm (X)× 40mm (Y)× 70mm サイズのものを用いた。測定用生体模擬試料を透明アクリル製水槽に入れ、フェイズドアレイ超音波トランスデューサから模擬試料側面までの距離が 30mm となる位置に設置した。

図3はセクタ走査により得られた画像である。セクタ走査角度分解能 0.2° は試料中心部にて $170\mu\text{m}$ に相当する。化学発光強度は約 10^5 counts/sであり、超音波焦点が生体模擬試料内部の化学発光試料と一致したときの化学発光強度率は約1%であった。生体模擬試料内部での化学発光の増強を画像としてとらえている。この結果より内部に挿入した直径 2mm の試料が、横(X)方向においては約 4mm 程度のサイズで画像検出されている。しかしながら解像度は超音波焦点の形状に依存するため、焦点の伝搬軸方向の形状がブロードであることから縦(Y)方向では解像度が著しく劣化し、このことが画像化を行う上での大きな課題となった。

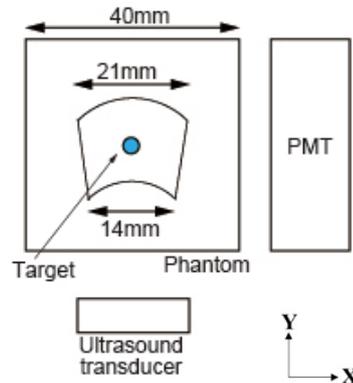


図2 セクタ走査による走査範囲

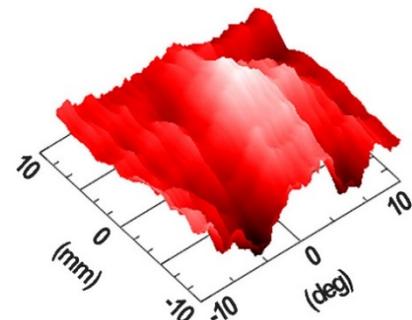


図3 セクタ走査による計測画像

(3) 空間分解能向上のためのデュアル方式による計測法の検討

5MHz フェイズドアレイ素子を用いることで、音場の横方向焦点サイズは 1mm 程度とすることができ、横方向においては本研究課題の目標とする解像度が実現可能であるという結論が得られた。しかし超音波伝搬軸方向である奥行き方向の焦点サイズ半値幅が横方向の約10倍程度であるため、一方からの超音波照射では両軸を目標とする解像度で画像化することは困難であることがわかった。そこで2台のフェイズドアレイ素子を直交配置するデュアル方式による、空間分解能の両軸均等化について検討を行った。直交配置した2台のフェイズドアレイ素子による同時照射焦点電子走査システムと、それに基づく2次元画像化法アルゴリズムを開発し、デュアル方式で超音波焦点を走査した際の音場分布の計測・評価を行い、その上で化学発光画像の2次元空間分解能の評価実験を行った。

図4にデュアル方式での超音波トランスデューサと生体模擬試料、光検出器の配置図を示す。測定システムは、直交する2方向から同時に超音波を照射する構成とし、増設したフェイズドアレイ超音波トランスデューサは光検出器の対抗面に配置した。測定試料は、その中心部が2台の

トランスデューサ表面から 55mm となるよう設置した。トランスデューサはともに共振周波数 5MHz、素子ピッチ 0.6mm の 64 素子タイプであり、16 素子を同時に励振し、両者から同一点に焦点を結ぶよう、デジタル遅延素子による位相制御を行った。

最初に透明な媒質中に化学発光試料の入ったカプセルを設置し、超音波による化学発光増強特性を計測し、両軸の空間分解能を評価した。イントラリピッドを含まない透明な寒天試料の中央部に、ルミノール化学発光溶液を封入した内径 2mm のシリコンカプセルを包埋した。走査範囲は両軸とも±10mm、走査分解能 0.2mm である。図 5 (a), (b) は、試料中心部を横切るように、X または Y 方向 (図 4) に 1 軸走査した結果である。どちらも、超音波による発光増強ピークが検出され、その半値幅はいずれも約 4mm となった。デュアル方式により両軸がほぼ同一の分解能で画像計測が可能であるという結果が得られた。直径 2mm の発光試料サイズに対して、半値幅 4mm で観測されており、超音波横方向サイズを考慮すると妥当な結果である。

次に、イントラリピッドを含む生体模擬試料を用いて、2次元画像計測実験を行った。生体模擬試料断面サイズは 40 (X) × 40mm (Y) であり、その中心部に化学発光試料カプセルを包埋した。得られた断層画像を図 6 に示す。従来の一方向からの超音波照射では、超音波伝搬軸方向に 2次元画像として十分な解像度を得ることができず形状の描出が困難であったが、デュアル照射方式では、両軸において均等な解像度で 2次元画像が得られた。

従来の一方向からの超音波照射では、超音波伝搬軸方向に 2次元画像として十分な解像度を得ることができず形状の描出が困難であったが、デュアル照射方式では、両軸において均等な解像度で 2次元画像が得られた。

(4) まとめ

超音波による音響化学効果を用いた、光散乱媒質内化学発光プローブイメージング技術の研究を行った。超音波焦点を電子走査することにより、生体と同等の光散乱特性を持つ光散乱媒質の内部を、深度 20mm において約 1mm の空間分解能で画像計測が可能であることを示した。本研究では、フェイズドアレイ素子により音響化学効果を効率的に促進するための超音波励振条件と、その条件で焦点を電子走査する基本システムを開発した。さらにフェイズドアレイ超音波トランスデューサを用いた音響化学イメージングの基本技術として、2軸空間分解能の不均等性を解決するためのフェイズドアレイ素子の直交配置によるデュアル方式電子走査機構を開発し、

実用的な解像度での断層画像計測のための基盤を確立した。一方で、生体に安全なレベルでの超音波照射による音響化学効果は、今回用いたルミノール化学発光系においては約 1% の増強率で発光強度変化を誘導したが、背景光であるベース化学発光によるショット雑音が検出限界を規定するため、より高い検出感度、すなわち高い精度での検出を実現するには、音響化学効果による発光増強率のより高い化学発光プローブの開発が求められる。そのような化学発光材料の探索やシステムのさらなる最適化設計をすすめてつつ、本研究課題が目的とした活性酸素種をターゲットとした生体画像計測の検討を今後も継続して進める。これまでに得られた基礎データをもとに、本システムを実験用小動物へ適用するための実用化研究として、現在の 2次元電子走査の 3次元化も視野に入れながら、生体計測への適合性を高めたシステムについて検討・改良を進めていく予定である。

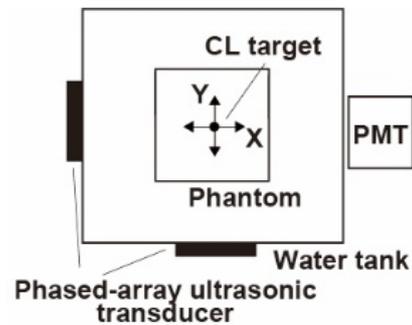


図 4 デュアル方式での超音波トランスデューサの配置

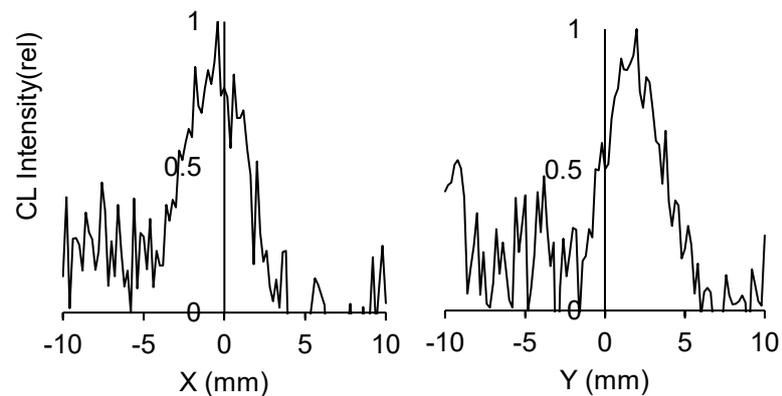


図 5 (a) 模擬試料中心部での X 方向プロファイル
(b) 模擬試料中心部での Y 方向プロファイル

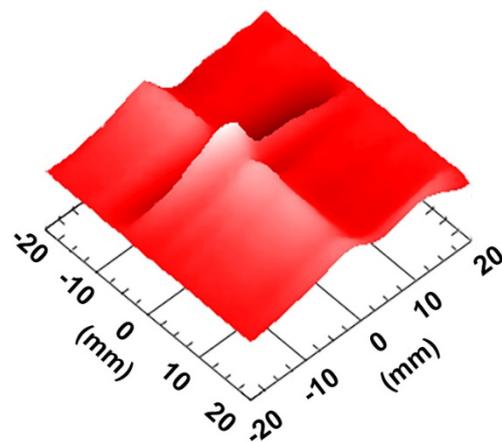


図 6 デュアル超音波照射方式による断層画像計測の結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林正樹
2. 発表標題 極微弱発光による生体計測 - 稲場生物フォトンプロジェクトからの30年 -
3. 学会等名 第38回レーザセンシングシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaki Kobayashi, Torai Iwasa
2. 発表標題 Ultrasound-Tagged Chemiluminescence Tomography in Turbid Media.
3. 学会等名 CLEO Pacific Rim 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩佐琥偉, 小林正樹
2. 発表標題 光散乱媒質内におけるルミノール化学発光の超音波タグイメージング2 -高分解能化の検討-
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩佐琥偉, 金澤賢史, 高橋遼麻, 小林正樹
2. 発表標題 光散乱媒質内におけるルミノール化学発光の超音波タグイメージング
3. 学会等名 第78回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩佐琥偉, 金澤賢史, 高橋遼麻, 小林正樹
2. 発表標題 超音波による化学発光増強効果を利用した光断層イメージング法の検討
3. 学会等名 応用物理学会東北支部第72回学術講演会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北工業大学 工学部 電気電子工学科 医工学・バイオ系 小林研究室
<http://www.eis.tohtech.ac.jp/study/labs/kobayashi/>

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------