

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23760297

研究課題名(和文)中空光伝送によるラマン分光用イメージガイドの開発原理

研究課題名(英文)Development Principle of Imageguide for Raman Spectroscopy by Hollow Light Guiding

研究代表者

片桐 崇史(Katagiri, Takashi)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90415125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：ラマンイメージング用中空イメージガイドの設計および製作を行った。画素数とスルーputにはトレードオフの関係があるが、外径1 mmで250 pixel以上の画素数が実現できる見通しを得た。stack-and-draw法により形成したホウケイ酸ガラス製キャピラリの内面に無電解めっき法によりAg薄膜を内装することにより、長さ18 cmのイメージガイドを製作した。製作したイメージガイドを用いて直接ラマンイメージング法による測定系を構築することにより、測定時間6 secで10 μmポリマー粒子のラマンイメージの取得に成功した。

研究成果の概要(英文)：A hollow fiber image bundle for Raman spectral imaging was designed and fabricated. Theoretical loss calculations indicated image bundles with over 250 pixels were feasible without significant increase in transmission loss. In fabrication, a glass capillary bundle with a honeycomb cross-section was formed by the stack-and-draw method, and a silver thin film was deposited on the inner surface of the bundle by silver plating technique. Raman images of 10 μm polymer beads were observed by using flexible Raman imaging system which consisted of fabricated hollow fiber image bundle and the thin film tunable filter based direct Raman imaging setup.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電子デバイス・電子機器

キーワード：ラマン分光 中空光ファイバ イメージング

1. 研究開始当初の背景

病理組織細胞学分野における病態解析手法としてラマン分光イメージングが注目されている。蛍光分子を用いた一般の分子イメージングに対し、ラマン分光イメージングは無染色でマルチカラーのイメージが得られ、生きた生体組織のありのままの状態を分子レベルで分析が可能である。しかし、現時点のラマン分光イメージングに関する研究は、個体から採取した病変組織の識別結果の報告に終止している。生きた生体組織（細胞）を観察するためには測定装置と個体を繋げる軟らかなイメージ伝送系が必要であるが、現在のところ、実用的なイメージ伝送は実現されていない。

こうした中で申請者は、ポイント測定用の中空光ファイバプローブを開発し、生きたラット胃内壁のラマンスペクトルの取得に貢献した。すなわち、中空コアとラマン不活性な金属クラディングから成る中空光ファイバは原理的に不要背景光が発生しないため、微弱なラマン信号を高いコントラストで検出できるというものである。また、この中空光ファイバをコヒーレントにバンドル化したイメージガイドの製作プロセスを見出し、フレキシブルなラマン分光イメージングが実現できる見通しが得られた。そこで、新規デバイスである中空イメージガイドについて、励起波長の影響、および表面増強ラマン散乱（SERS）効果の適用可能性を加味した詳細な調査に基づく設計指針とその製作プロセスの検討が必要であるとの見解に達し、本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究では以下のことを調査する。

- (1) 細径素線から成る低損失・フレキシブルな中空イメージガイドの製作プロセス。
- (2) 励起波長とスループット・解像度の関係、および共鳴ラマン効果の寄与。
- (3) SERS 活性中空イメージガイドの増強因子とその内訳。

上記を総合して、中空イメージガイドのスループットと解像度の限界を明らかにし、十分な解像度を有するイメージガイドを実現するための必要条件とその機構を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 内装金属と素線数の異なる評価用中空イメージガイドを製作する。
- (2) 励起波長とスループット・解像度の関係調査では、紫外、可視、近赤外レーザとラマン分光器を用いて評価用サンプルのラマン分光イメージを取得し SNR の測定より画像品質を相対評価する。
- (3) 共鳴ラマン効果の調査では、生体組織の共鳴ラマン効果に関する過去の報告に基づいて3種類の発色団を選択し、高速ラマンイメージングのスループットを評価する。

(4) SERS 増強因子の調査では、金ナノ粒子構造を形成したレンズを具備した SERS 活性中空イメージガイドを製作し、ラマン分光器を用いて増強因子とその面内均一性を測定する。

4. 研究成果

図1に示すように、イメージガイドはハニカム構造のガラスマルチキャピラリの空孔内壁に Ag 薄膜を内装した構造を有し、光は Ag 薄膜の表面反射により中空コア内に閉じ込められ伝搬する。

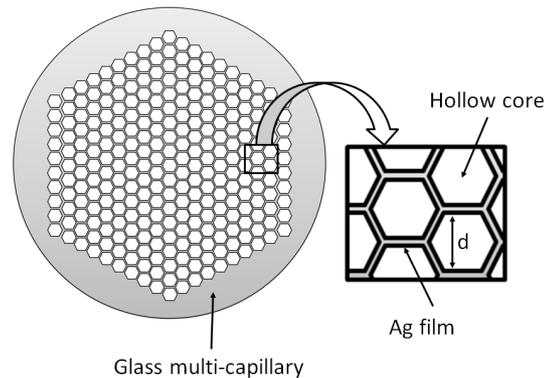


図1 中空イメージガイドの断面構造。

図2は、コア径と、基本モード損失、および最大画素数との関係を示したものである。ここで、目的波長は 785 nm、プローブ外径は 1 mm とした。図より、コア径が 55  $\mu\text{m}$  以下では損失が 3 dB/m を上回ることから、微弱なラマン光の検出は困難となることが予想される。このとき最大画素数は約 270 pixel であることが分かった。

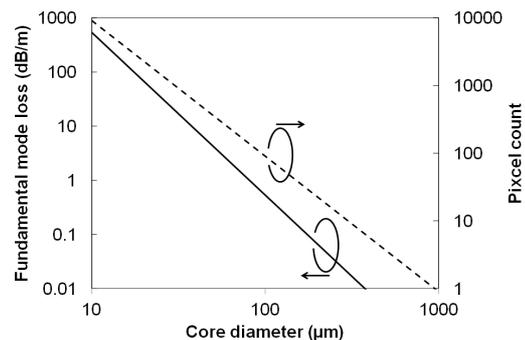


図2 コア径に対する、基本モード損失、最大画素数の計算値。

イメージガイドは、ホウケイ酸ガラスを母材とする stack-and-draw 法を応用して製作した。まず、外径 1 mm、内径 0.88 mm のガラスキャピラリを外径 20 mm、内径 15 mm のガラスチューブ内に隙間なく挿入したものをプリフォームとし、炉心温度 880 の電気炉を用いて熔融延伸することにより、ハニカム構造を有するガラスマルチキャピラリを製

作した。ここで、予めキャピラリの片側を封止しプリフォーム内を減圧しながら延伸することにより、キャピラリ間の空隙が消滅し、断面に均一なハニカム構造が形成される。空孔比は大きいほど結合損失を低減できる。そこで、プリフォームを延伸する際に、キャピラリ内部から加圧を行うことにより空孔率の向上を試みた。通常通り線引きを開始し、外径が安定した時点でプリフォーム下方(ファイバ側)から窒素ガスを流入することにより、キャピラリ内部からの加圧が可能となった。加圧による構造のひずみを防ぐため、窒素の流量を 10 ml/min を上限として制御した。図 3 は加圧前と加圧後のハニカム構造の断面 SEM 写真である。加圧の効果により極めて肉薄なハニカム構造が形成されているのがわかる。減圧のみの場合と比較して空孔比を約 10% 向上させることに成功した。

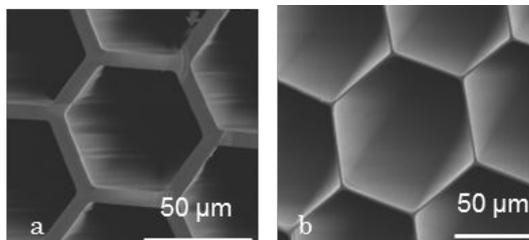


図 3 加圧による空孔率向上の効果。

製作した母材の内面に無電解めっき法により Ag 薄膜を形成する。従来、めっき液の送液には真空ポンプが用いられていたが、素線の内径が 100 μm 以下ではキャピラリ内で生じる圧力損失により、流量の確保が困難である。そこで、加圧ポンプを導入し、真空ポンプと併用することで改善を試みた。図 4 にメッキ装置の概略図を示す。加圧ポンプには、最大で 1.5 MPa が得られる電磁ポンプを 2 台使用し、それぞれ銀液と還元液を送液する。これらの溶液は流路中で混合されキャピラリ内を通過する際に Ag 薄膜が形成される。送液中、流路内で析出した Ag が剥離しキャピラリ端面に堆積することを防ぐため、キャピラリへの流入直前にフィルタを設置した。経験則より流量 10 ml/min 以上において良質な Ag 膜が形成されるが、加圧系の導入により約 10 倍の流量が得られ、良質な Ag 膜の形成が可能となった。

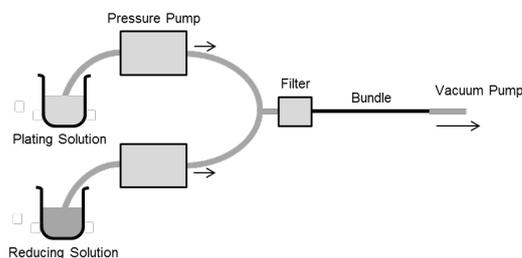


図 4 Ag 製膜装置の概要。

製作した中空イメージガイドの顕微鏡写真を図 5 に示す。端面からの不要背景光発生を防止するため、最後に劈開し端面にスパッタリング法により Ag をコーティングした。製作したイメージガイドは外径 1.1 mm、コアの平均内径 70 μm、素子長 18 cm、空孔比 0.93 である。図 6 に従来法と加圧ポンプを用いて製作したバンドルそれぞれの伝送損失を示す。伝送損失は、ファイババンドル端面よりコア径 600 μm のマルチモードファイバを介して白色光を入射し、出射光をスペクトルアナライザにより検出することにより測定した。ここで、測定領域は比較的案内光強度の変動係数の小さいバンドル中心部分とした。図 6 より、加圧系の導入により伝送損失が大幅に低減されたことが分かる。損失の主な内訳はモード損失と Ag 膜表面粗さによる散乱損失であり波長 800 nm 付近で極小値となった。空孔比より見積もった結合損失は 0.5 dB である。波長 700 nm から 1000 nm で平滑なスペクトルを有しており、生体計測で有効な 800 nm 帯の励起波長を用いてストークス光を検出可能な帯域を有している。

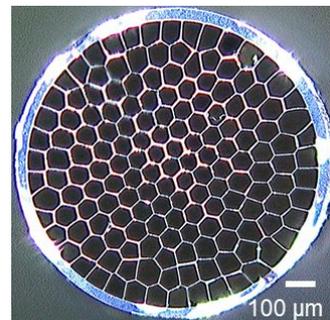


図 5 製作した中空イメージガイドの断面顕微鏡写真。

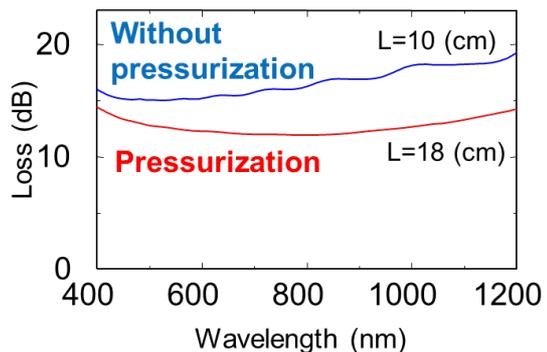


図 6 可視 近赤外損失スペクトル。

製作したイメージガイドを用いて、直接イメージング法による測定系を構築した。図 7 に測定系の概略を示す、半導体レーザーからの励起光 (785.2 nm, cw) をイメージガイド端面に均一に入射することにより、サンプルの観察領域全面を同時に励起する。試料からの後方散乱光は、イメージガイドを伝搬し、ダイクロイックミラー (エッジ波長 789 nm) を透過し、可変帯域フィルタ TBF で目的とする波長のみが抽出され、ノッチフィルタ NF (785

nm)によりレイリー散乱光を除去した後にラマン分光器に入射される。イメージ測定ではスリットを開放とし、ファイバ端面のイメージが分光器内のミラーを介して CCD 上に結像する。

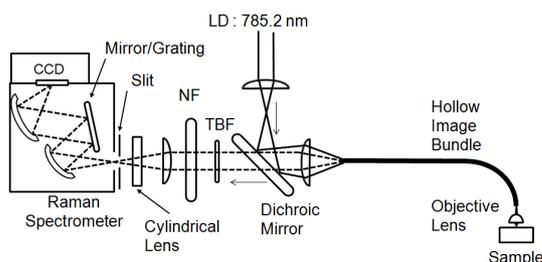


図 7 測定系 .

直接イメージング法によるラマンイメージングは、面内のラマン散乱光を CCD により同時に検出することから、特定のラマンバンドに着目したイメージを取得する場合、高速化が容易である。一方、複数バンドの測定には高性能な可変帯域フィルタによる波長スキャンが必要となる。そこで、本研究では、入射角を変化させることにより透過波長域をチューニング可能な可変帯域薄膜フィルタを使用した。本フィルタは、入射角  $0 - 60^\circ$  において、中心波長が  $900 - 787 \text{ nm}$  まで変化し、帯域幅 (FWHM) は約  $18 \text{ nm}$  で一定である。フィルタ特性は偏光に無依存であり、透過域において  $90\%$  以上の透過率を有する。励起波長  $785.2 \text{ nm}$  のとき、ラマンシフトに換算すると、測定範囲は  $29 - 1624 \text{ cm}^{-1}$  となり、たんぱく質や脂肪など生体由来のラマンバンドの測定には十分であることが分かる。一方、帯域幅は  $222 - 291 \text{ cm}^{-1}$  と広いため、スペクトル分解能は不足する。そこで、2 枚のフィルタを組み合わせることで、最小で  $2 \text{ nm}$  のスペクトル分解能が重大な損失の上昇を与えることなく得られることを確認した。

構築した測定系を用いてラマンイメージを測定した。ここで、粒径約  $10 \mu\text{m}$  のポリスチレンと PMMA の混合粒子をアルミ板上に分散させたものを試料とした。拡大倍率と集光効率を向上するため、中空光ファイババンドルと試料の間に非球面レンズ (焦点距離  $3 \text{ mm}$ , NA  $0.68$ , 有効径  $5 \text{ mm}$ ) を配置し、拡大倍率 15 倍のレンズ系を構築した。図 8 に試料の任意の位置で測定したラマンスペクトルを示す。図より、ポリスチレン由来のラマンバンド  $1015 \text{ cm}^{-1}$ 、および PMMA 由来のラマンバンド  $819 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1485 \text{ cm}^{-1}$  が確認できる。

イメージ測定では、図 8 に示すように、 $819 \text{ cm}^{-1}$  および  $1015 \text{ cm}^{-1}$  のバンドをそれぞれ TBF で選択し励起時間  $6 \text{ sec}$  で測定を行った。測定結果を図 9 に示す。PMMA とポリスチレンは共に透明色であるため顕微鏡画像からは試料の分布状態は判別できないが、ラマンイメージではポリスチレンと PMMA の分布

が確認できる。

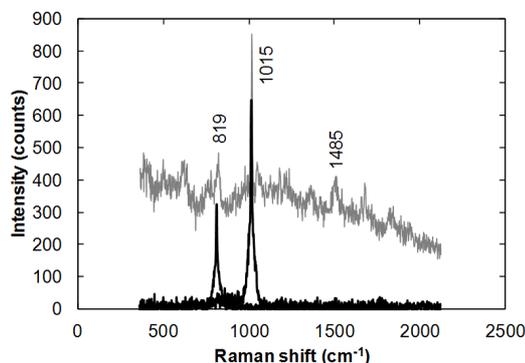


図 8 ポリスチレン/PMMA 混合粒子のラマンスペクトル .

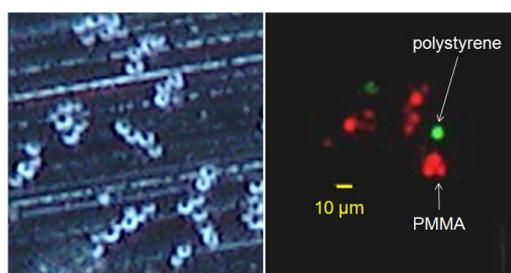


図 9 ポリスチレン/PMMA 混合粒子の (左) 顕微鏡写真と (右) ラマンイメージ .

次に、生体組織のラマンイメージを測定した。図 10 に豚肉の赤身と脂質の境界で測定したラマンスペクトルとラマンイメージを示す。ラマンスペクトルより、タンパク質由来のラマンバンド  $998 \text{ cm}^{-1}$  と脂質由来のラマンバンド  $1437 \text{ cm}^{-1}$  が確認できる。ラマンイメージでは  $1437 \text{ cm}^{-1}$  のバンドについてイメージ測定を行った。ここで試料面における励起光強度は  $48 \text{ mW}$  とし、励起時間  $10 \text{ sec}$ 、積算回数 2 回とした。図の矢印はファイババンドルの欠陥要素により生じた画像の点欠陥である。図より、脂質が明確に識別されていることから、本測定系により、生体組織のラマンイメージが取得可能であることを確認した。

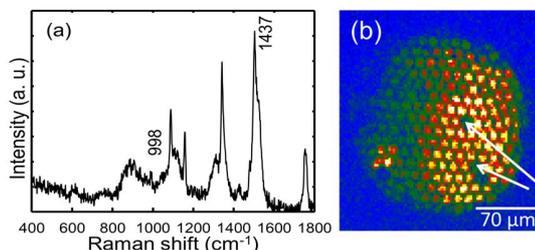


図 10 豚肉の赤身と脂肪境界における (a)ラマンスペクトルと(b)ラマンイメージ .

次に、SERS 効果の適用可能性を調査するために、中空光ファイバの先端に Au ナノ構造薄膜を形成したレンズを具備した SERS 活

性ファイバプローブを製作し、その特性の評価を行った。製作したプローブの構造を図 11 に示す。励起光の集光と受光効率の向上のため、中空光ファイバの先端に直径 1 mm のサファイア製ボールレンズを装着した。SERS を発現させる Au ナノ構造体はテトラクロロ金 (III) 酸とクエン酸三ナトリウムを混合した溶液にプローブを浸漬し、中空光ファイバを介して He-Ne レーザ光を照射して還元する方法により、ボールレンズ先端に形成した。ラマン分光計測の励起光には波長 785 nm の半導体レーザを使用し、ラマン分光器と電子冷却 CCD によってスペクトルを測定した。

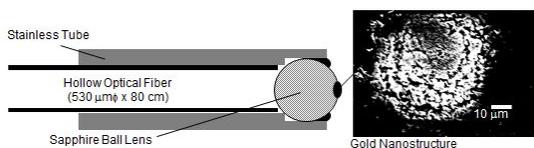


図 11 SERS 活性ファイバプローブの構造。

He-Ne レーザ照射時間を変化させて製作したプローブを用いて測定した SERS 強度と、金ナノ構造体の SEM 画像を図 12 に示す。測定試料には 1 μM のローダミン 6G 水溶液を使用し、772 cm<sup>-1</sup> のピーク強度を用いて SERS 強度を評価した。測定の結果、3~5 時間程度のレーザ照射によって最大の SERS 強度が得られることが確認された。SEM 画像から、レーザ照射 1 時間の場合は十分な金ナノ構造体が形成されていないために SERS 強度が弱く、8 時間の場合は SERS に必要なナノスケールの表面粗さが失われたために SERS 強度が低下したと考えられる。

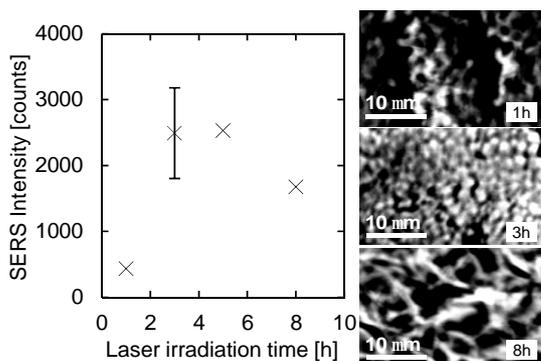


図 12 レーザ照射時間による SERS 強度の変化。

生体関連試料として 1 mM ウラシル水溶液と 2 M グルコース水溶液の測定を行った結果を図 13 に示す。ウラシルは SERS により明瞭なラマンスペクトルが得られたのに対し、グルコースは SERS によるラマン散乱光強度の増強は確認されなかった。SERS は金属ナノ構造体表面に吸着した分子で発現するが、グルコース分子は金属表面への親和性がないために SERS を示さないと考えられる。同様

に豚肉組織へプローブを押し付けての測定を試みたが、SERS によるラマンスペクトルの増強効果は確認されなかった。

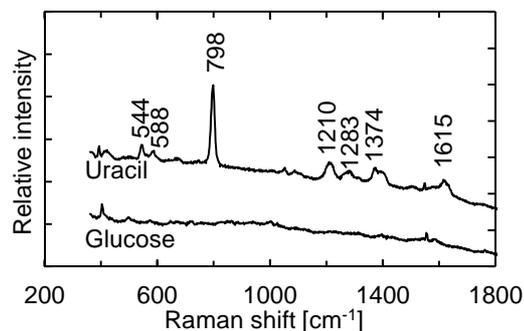


図 13 ウラシルとグルコースの SERS 測定。

得られた成果の国内外における位置づけとインパクト、今後の展開について、以下に示す。

(1) 中空イメージガイドの製作プロセス開発  
高解像かつフレキシブルな中空イメージガイドを実現するために、2 つの加圧工程が重要であった。すなわち、空孔比を確保するための加圧線引き工程と、細径マルチキャピラリーに均一にめっきを行うための加圧成膜工程である。これらの技術の開発により素子長数十センチのイメージガイドの安定した製作が初めて可能となり、開発の基盤が構築された。また、損失が最低となる波長 800 nm 帯が励起波長として有力な候補であることが示唆された。

(2) 生体組織の高速ラマンイメージング  
中空イメージガイドと直接イメージング法の組み合わせにより、数秒の励起時間で生体組織のラマンイメージを取得可能であることを示した。ファイバを介して生体組織のラマンイメージを取得した例にはない。医療分野への応用では、測定するラマンバンドを限定した速度優先の測定系が一つの現実的な方向性であろう。実用に向け、長尺化、高強度化、先端レンズ系の実装が今後の課題である。

## 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 10 件)

Kobayashi, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Microstructured tube-leaky glass waveguide for delivery of high-powered Er:Yag laser," Journal of Lightwave Technology, 32 (5), art. no. 6693705, pp. 986-990 (2014). (査読有)  
10.1109/JLT.2013.2295838

Kobayashi, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Large-core tube-leaky waveguide for delivery of high-powered Er:YAG laser," Progress in Biomedical Optics and Imaging

- Proceedings of SPIE, 8938, art. no. 89381A, (2014). (査読有)  
10.1117/12.2037467  
Nagaoka, M., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Hollow fiber based SERS probe for analysis of biological molecules," Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE, 8938, art. no. 89380Y, (2014). (査読有)  
10.1117/12.2039185  
Ichikawa, R., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Fabrication of low-loss hollow waveguide with multiple dielectric layers for infrared cavity ring-down spectroscopy," Optical Engineering, 52 (10), art. no. 106104, (2013). (査読有)  
10.1117/1.OE.52.10.106104  
Seki, R., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Hollow-optical-fiber-based laser-induced breakdown spectroscopy system and its use in soil salinity measurements," Applied Physics Express, 6 (10), art. no. 102402, (2013). (査読有)  
10.7567/APEX.6.102402  
Takahashi, Y., Kino, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Design and optimization of hollow-optical-fiber gas cell for infrared spectroscopy," Optical Engineering, 52 (1), art. no. 013601, (2013). (査読有)  
10.1117/1.OE.52.1.013601  
Ichikawa, R., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Hollow waveguide with multiple dielectric layer for infrared cavity-ring-down spectroscopy," Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE, 8576, art. no. 85760S, (2013). (査読有)  
10.1117/12.2008272  
Sato, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Fabrication method of small-diameter hollow waveguides for terahertz waves," Journal of the Optical Society of America B: Optical Physics, 29 (11), pp. 3006-3009 (2012). (査読有)  
10.1364/JOSAB.29.003006  
Huang, C., Kino, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Remote Fourier transform-infrared spectral imaging system with hollow-optical fiber bundle," Applied Optics, 51 (29), pp. 6913-6916 (2012). (査読有)  
10.1364/AO.51.006913  
Huang, C., Kino, S., Katagiri, T., Matsuura, Y. "Infrared spectral imaging by hollow-optical fiber bundle," (2012) Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE, 8218, art. no. 82180C, (査読有)  
10.1117/12.912195

[学会発表](計30件)

井上 里美, 片桐 崇史, 松浦 祐司,

“ラマンイメージング用中空ファイババンドルの画像伝送特性,” 第61回応用物理学会春季学術講演会 (2014年3月17日, 相模原) 17aE65

小林 駿, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “赤外イメージング用全誘電体中空光ファイババンドルの提案,” 平成25年度電子通信情報学会ソサイエティ大会 (2013年9月18日, 福岡) c-3-36

永岡 正浩, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “スパッタリングによる中空光ファイバSERSプローブ製作法の検討,” 第74回応用物理学会秋季学術講演会 (2013年9月17日, 京田辺) 17p-C1-8

T. Katagiri, S. Inoue, and Y. Matsuura, “Direct remote Raman imaging using hollow fiber bundle,” JSAP-OSA Joint Symposia 2013 (Sep. 17 2013, Kyotanabe) 17a-D4-4

永岡 正浩, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “中空光ファイバSERSプローブによる生体試料分析の試み,” レーザー学会学術講演会第33回年次大会 (2013年1月28日, 姫路) I128a\_03

小林 駿, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “赤外光伝送用全誘電体中空光ファイバの提案と試作,” 電子情報通信学会2012年ソサイエティ大会 (2012年9月12日, 富山) B-13-21

T. Katagiri, T. Tomiyama, Y. Matsuura, “Hollow optical fiber bundle for Raman imaging,” 23rd International conference on Raman spectroscopy (ICORS 2012) (Aug. 17 2012, Bangalore / India) Paper Tu-045

富山 達弘, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “中空光ファイババンドルの細径化と生体ラマン分光イメージングの検討,” 電子情報通信学会2012年ソサイエティ大会 (2011年9月13日, 札幌) c-03-025

[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]  
特になし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

片桐 崇史 (Katagiri Takashi)  
東北大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 90415125