

令和 6 年 6 月 1 7 日現在

機関番号：8 2 4 0 6

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：2 2 K 2 0 5 1 8

研究課題名（和文）光音響原理に基づく非侵襲な熱分布イメージング技術の開発

研究課題名（英文）Development of a photoacoustic technique for non-invasive temperature imaging

研究代表者

石川 智啓（Ishikawa, Tomohiro）

防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・医用工学・助教

研究者番号：9 0 7 7 7 8 1 4

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：光音響イメージングはヘモグロビンやメラニンなどの生体内に存在する光吸収体を非侵襲に可視化する生体イメージング技術である。本研究では光音響技術を応用し生体内の組織の温度を非侵襲に計測するための技術開発および光音響装置の構築に取り組んだ。また、生物試料を用いて本技術を検証するため、対象とする褐色脂肪細胞の光音響スペクトルの計測および薬剤による活性化手法の確認を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

風邪をひくと発熱し免疫が活性化するように、温度は生体活動を知る上で重要な特性の一つである。生体の温度計測におけるゴールドスタンダードは体温計であるが、生体表面に限られ、体内組織の温度は計測できない。生体内においてがんや炎症を伴う部位、褐色脂肪などは周辺組織に比べて高い温度を示す。光音響技術によって生体内の組織の温度を非侵襲に計測する技術が確立すれば、温度計測によってがんや炎症の検出や運動によらずエネルギーを消費する褐色脂肪の活性評価を行うことなどが期待される。

研究成果の概要（英文）：Photoacoustic imaging is a biomedical imaging technique which non-invasively visualizes a distribution of optical absorbers such as hemoglobin or melanin in a living tissue. In this research, we developed a temperature measurement method using the photoacoustic effect and constructed a photoacoustic system. To verify the technique by using a biological sample, a photoacoustic spectrum of brown adipose cell was measured and a stimulation method was investigated.

研究分野：医用工学

キーワード：光音響 温度計測 スペックル照明

1. 研究開始当初の背景

風邪をひくと発熱し免疫が活性化するように、温度は生体活動を知る上で重要な特性の一つである。生体の温度計測におけるゴールドスタンダードは体温計である。しかし、生体表面に限られ、体内組織の温度は計測できない。がんや炎症を伴う部位、褐色脂肪は周辺の組織と比べ、体内において高い温度を示すことがわかってきている。そのため、生体内にある組織の温度を非侵襲に計測する技術の開発が推進されており、例えば、MRI や熱流束計を用いる方法が提案されている。

光音響イメージングは生体への光パルスの照射によって生じる超音波を超音波センサにより検出し、生体内の光吸収体の分布を可視化する生体イメージング技術である。光パルスの照射から超音波センサによって超音波が検出されるまでの時間差が光吸収体の深さに相当し、生体の深さ 10~20 mm 程度までの範囲を計測できる。また、光パルスと超音波センサを走査することで光吸収体の 3 次元分布を取得できる。光パルスの照射によって生じる超音波の強さは光吸収体が吸収するエネルギーおよび変換効率を示すグリュナイゼン係数によって求められる。グリュナイゼン係数は光吸収体の温度によって変化するため、超音波の強さの変化を計測することで光吸収体の温度変化を求めることが可能である。

2. 研究の目的

本研究の目的は光音響技術に基づく温度計測装置を開発し、細胞や組織などの生物試料の温度変化を計測することによって開発手法を検証することである。本検証のため、既存の光音響装置を改良することで温度計測装置を構築する。また、対象とする生物試料の光音響特性の計測および温度変化を引き起こすための活性化手法の調査を実施する。これらに加え、生体内で光吸収体が疎に分布する条件において光音響信号を増強する手法として、粒状の空間光強度分布を有するスペックル光を照射する方法を検討する。

3. 研究の方法

(1) 温度計測に向けた光音響装置の構築

温度計測が可能な光音響装置の構築に向け、光音響顕微鏡の改良を行った。光パルスの照射によって生じる超音波の強さが温度依存性を示すことを確かめるため、既存の光音響顕微鏡に加温装置および温度計測器を加えた。加温装置によって試料全体の温度を変化させ、試料の温度と検出される超音波の強さの関係を調べた。試料として、ニューコクシン溶液でチューブ内を満たしたものを使用した。また、光パルス列を照射することで絶対温度を推定する手法[1]を導入するため、光パルス列の生成システムの構築に取り組んだ。

(2) 光音響特性の計測と活性化手法

生体内で周辺組織より高い温度を示す褐色脂肪を計測することを想定し、褐色脂肪細胞の光音響スペクトルを計測した。励起光源として光パラメトリック発振器を備えた Nd:YAG レーザを使用した。光パラメトリック発振器により試料へ照射する光パルスの波長を変化させ、光パルスの照射により生じる超音波を単素子の超音波センサによって計測した。

褐色脂肪の温度変化を引き起こす手法として、ミトコンドリア脱共役剤を投与する手法を検証した。褐色脂肪では細胞内のミトコンドリアが脱分極を生じることで発熱するとされている。本検証のため、取り扱いが容易である HeLa 細胞のミトコンドリアを MitoTracker で蛍光染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

(3) スペックル照明による信号増強の検証

空間分解能が超音波センサの空間分解能によって与えられる音響分解能光音響顕微鏡を使用した。スペックル光を生成するため、励起光の光路へ拡散板を加えた。この拡散板を出し入れすることで、従来の均一な空間光強度分布の照明とスペックル照明を切り替えた。また、拡散板は回転機構に取り付けられ、拡散板を回転させることでスペックルパターンを変化させた。マトリゲル中に赤血球を分散させて固定し、光吸収体が疎に分布する試料とした。

4. 研究成果

(1) 温度計測に向けた光音響装置の構築

試料全体の温度を 40℃から 26℃まで低下させ、温度が 2℃変化するごとに光音響信号を取得した。結果を図 1 に示す。試料の温度が低下するにつれて、光音響信号の強度の低下が認められた。各温度の値を用いて近似直線を引くことで、温度変化 1℃あたりの光音響信号の強度変化は 3.4%/℃と求められた。この結果から、光音響信号の強度変化から光吸収体の温度変化を推定できることを確かめた。

また、光ファイバーを用いて光パルス列の生成システムを構築した。

(2) 光音響特性の計測と活性化手法

波長 405 nm から波長 700 nm まで 5 nm 間隔で計測し、波長 425 nm にピークを有する光音響スペクトルが得られた。長波長側に向かうにしたがって信号が低下し、波長 600 nm 付近まで信号が得られた。褐色脂肪細胞はミトコンドリアを多く含むことや、得られた光音響スペクトルの形状がミトコンドリア内に存在するシトクロム c の光吸収スペクトルに似ていることから、褐色脂肪細胞から得られる光音響信号はミトコンドリアの光吸収に由来すると考えられる。

ミトコンドリアを MitoTracker で蛍光染色した HeLa 細胞へ脱共役剤である CCCP を与えると、蛍光色素がミトコンドリアから離散することを確認した。MitoTracker はミトコンドリアの膜電位に捕捉される蛍光色素であり、脱分極が生じて膜電位が低下すると蛍光色素はミトコンドリアから解放される。この様子が見られたことから、CCCP によってミトコンドリアの脱分極が得られることを検証した。

(3) スペックル照明による信号増強の検証

図 2 は試料へ照射する光パルスのパルスエネルギーを一定とし、均一な照明またはスペックル照明を行った時に得られた光音響信号の比較である。拡散板を回転してスペックルのパターンを変化させると、均一な照明に比べて信号が強くなる条件があることを確かめた。試料中の光吸収体として着色ビーズを用いた時も同様の結果が得られた。

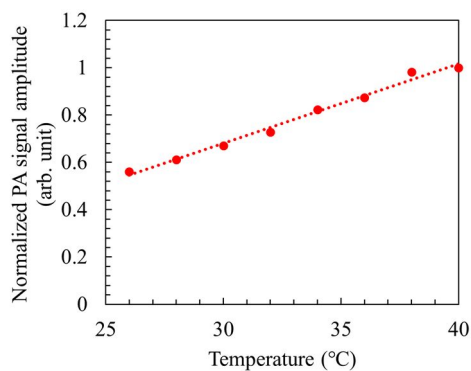


図 1 光音響信号の温度依存性

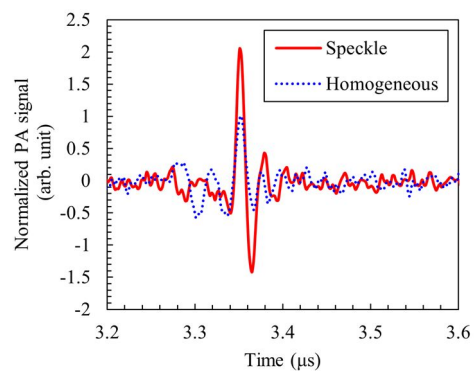


図 2 均一な照明とスペックル照明の光音響信号の比較

< 引用文献 >

- [1] Y. Zhou, M. Li, W. Liu, G. Sankin, J. Luo, P. Zhong, and J. Yao, "Thermal memory based photoacoustic imaging of temperature," Optica 6, 198-205 (2019).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishikawa Tomohiro, Hirasawa Takeshi, Miyashita Manami, Ishihara Miya	4. 巻 128420T
2. 論文標題 Photoacoustic signal enhancement of heterogeneously distributed optical absorbers by using speckle illumination	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Proc. SPIE 12842, Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2024	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/12.3008654	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirasawa Takeshi, Tsuchiya Masato, Kubo Satoshi, Ishikawa Tomohiro, Azuma Ryuichi, Ishihara Miya	4. 巻 1284210
2. 論文標題 Multiscale photoacoustic imaging of lymphatic vessels in rabbit ears with lymphedema	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Proc. SPIE 12842, Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2024	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/12.3005338	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirasawa Takeshi, Tachi Kazuyoshi, Ishikawa Tomohiro, Miyashita Manami, Ito Keiichi, Ishihara Miya	4. 巻 29(S1)
2. 論文標題 Photoacoustic microscopy for real-time monitoring of near-infrared optical absorbers inside biological tissue	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 S11527
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/1.JBO.29.S1.S11527	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 Hirasawa Takeshi, Tachi Kazuyoshi, Miyashita Manami, Ishikawa Tomohiro, Ito Keiichi, Ishihara Miya	4. 巻 123790Y
2. 論文標題 Photoacoustic microscopy using supercontinuum light for in vivo microscopic imaging of living tissue dynamics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc. SPIE 12379, Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2023	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/12.2652280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tomohiro Ishikawa, Takeshi Hirasawa, Manami Miyashita, Miya Ishihara
2. 発表標題 Photoacoustic signal enhancement of heterogeneously distributed optical absorbers by using speckle illumination
3. 学会等名 SPIE Photonics WEST BiOS 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takeshi Hirasawa, Masato Tsuchiya, Satoshi Kubo, Tomohiro Ishikawa, Ryuichi Azuma, Miya Ishihara
2. 発表標題 Multiscale photoacoustic imaging of lymphatic vessels in rabbit ears with lymphedema
3. 学会等名 SPIE Photonics WEST BiOS 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 石川 智啓、平沢 壮、新橋 諒、宮下 愛美、石原 美弥
2. 発表標題 スペックル照明の光音響顕微鏡への応用に関する検討
3. 学会等名 レーザー学会 光音響イメージング技術専門委員会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takeshi Hirasawa, Kazuyoshi Tachi, Manami Miyashita, Tomohiro Ishikawa, Keiichi Ito, Miya Ishihara
2. 発表標題 Photoacoustic microscopy using supercontinuum light for in vivo microscopic imaging of living tissue dynamics
3. 学会等名 SPIE Photonics WEST BiOS 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川 智啓、平沢 壮、櫛引 俊宏、石原 美弥
2. 発表標題 光音響顕微鏡における励起パルス幅が光音響信号へ与える影響の検討
3. 学会等名 電気学会 光・量子デバイス研究会
4. 発表年 2022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

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