

平成30年6月4日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14275

研究課題名（和文）生体用デジタルEPR分光器の開発

研究課題名（英文）Development of digital CW EPR spectrometer for in-vivo applications

研究代表者

赤羽 英夫（Akaba, Hideo）

大阪大学・基礎工学研究科・准教授

研究者番号：00552077

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：生体用電子スピン共鳴（EPR）分光器の高感度化、低コスト化を目指し、デジタルEPR分光器の開発を実施した。L-band帯の高周波信号を周波数変換すること無く受信できるFPGA受信ボードを製作し、連続波EPR法による磁気共鳴信号の取得に成功した。また、反射波のデジタル自動抑制制御法を新たに提案し、その動作をFPGA上に実装した信号処理アルゴリズムを用いて検証した。その結果、生きた動物において安定に動作可能なデジタルEPR分光器の開発に成功した。

研究成果の概要（英文）：The goal of the present work was developing a digital electron spin resonance (EPR) spectrometer aiming at high sensitivity and low cost. We succeeded in acquiring magnetic resonance signal by continuous wave EPR method by fabricating an FPGA receiver board that can acquire high frequency signal of L-band without frequency conversion. In addition, we proposed a new digital automatic suppression control method of reflected wave, and verified it using the signal-processing algorithm implemented on the FPGA. As a result, we successfully developed a digital EPR spectrometer that can operate stably to acquire EPR signals from living animals.

研究分野：センシング工学

キーワード：磁気共鳴分光器 電子スピン共鳴 生体EPRイメージング

1. 研究開始当初の背景

生体内における活性酸素やフリーラジカルに起因する酸化還元反応は、がん、脳梗塞などの生活習慣病と関連していることが示唆されている(例えば、S. P. Hassan *et al.*, *Nature Rev. Cancer* 3, 276, 2003)。そのため、生体組織の酸化還元能を評価することは、これらの病気を解明する上で重要である。これまで、マウス頭部におけるフリーラジカルを10秒間隔で可視化することが可能な生体用電子スピン共鳴(EPR)イメージング装置が開発され、脳内における酸化還元能の評価が進められている(例えば、M.C. Emoto *et al.*, *Neurosci. Lett.* 608, 40, 2015)。しかし、現状の装置は、高価な市販計測装置や特殊なアナログ回路から構成されるため、その導入が難しく、多くの研究者が生体用 EPR を使える状況にはなっていない。一方、低コスト化には生体用 EPR 技術のフルデジタル化が有用であるが、これまで国内外において実現していない。本課題では、従来用いられているアナログ回路のデジタル化を進め、世界で初めての生体用サブ GHz フルデジタル EPR 分光技術の確立に挑戦した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体用 750MHz 電子スピン共鳴(EPR)分光器の高感度化、低コスト化を目指したデジタル EPR 分光器を開発することである。これまで生体用 L-Band CW-EPR 分光器として開発されてきたもの多くは、EPR 信号の検出部にアナログ回路が用いられている。反射型ブリッジ回路からなる CW-EPR 分光器においては、共振器からの反射波に磁気共鳴信号の吸収・分散成分が含まれているので、位相検波を行うことにより、それぞれの成分を取り出すことが必要となる。この位相検波をアナログ回路により行うものが EPR アナログ検出であり、一方デジタル回路により行うものがデジタル検出である。

生体用アナログ EPR 分光器は、高周波位相検波回路、低周波ノイズを除去する磁場変調復調回路、動物の動きによる不整合をキャンセルする共振器自動同調・整合制御回路など、複数のアナログ回路を組み合わせ構成している。しかし、高感度な計測では、EPR 信号が非常に微小であるため、アナログ回路の最適化や回路へのノイズ混入などが問題となる。そこで、回路の再構成・最適化が容易な FPGA にすべての要素を構築し、またノイズに強いデジタル信号

処理技術を駆使することで、生体用 EPR 分光器の高感度化と低コスト化を目指した。

3. 研究の方法

本研究課題は 2 つのサブプロジェクトから構成されている。

(1) デジタル EPR 分光器の開発

① 反射型ブリッジ回路について

連続波(CW)EPR 信号は、送信波を連続してサンプルを含む共振器に照射し、僅かな EPR 共鳴信号を反射波から抽出する必要がある。そのため、送信波が直接受信部に漏れないように、サーキュレータや、方向性結合器からなるブリッジ回路を用いるのが一般的である。本研究では、サーキュレータと受信用低ノイズアンプからなるブリッジ回路基板を製作した。また、共振器には、マウス頭部のイメージングを想定し、パラレル・ループギャップ共振器を用いた。

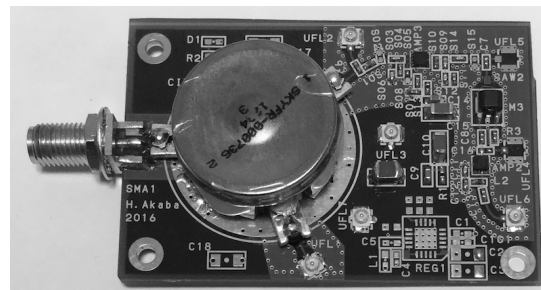


図1 受信アンプ内蔵ブリッジ回路

② 受信用 FPGA ボードについて

生体用 EPR 分光器の場合、対象物に起因する誘電損失の問題から、EPR 周波数として主に L-band 帯が使用されている。EPR 周波数は、印加する外部磁場により決まり、信号の帯域幅もあまり広くない。そのため、SAW フィルタなどの狭帯域通過フィルタを用いて、関心のある帯域以外のノイズを予め除去した後、アンダーサンプリングすることにより、一般的なオーバーサンプリングの時と同じ信号を再現することができる。この原理を用いることで、EPR 周波数に比べ、比較的低速な ADC を使用して、周波数変換すること無く、信号をデジタル化することが可能である。

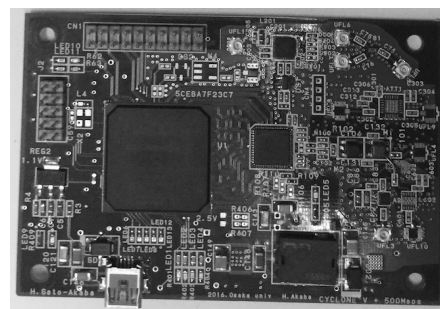


図2 受信用 ADC/FPGA ボード

本研究では、アナログ・デジタルコンバータ(ADC)に最大 500Mpsps でデジタル化可能な素子とその駆動用サンプリングクロックの生成に、付加位相ノイズが-150 dBc/Hz 程度である分周器 IC を用いた (図 2 参照)。ADC でデジタル化された信号は、転送先の FPGA IC 内にて位相検波され、ベースバンド信号に変換される。その後、EPR 制御&データ処理基板に転送するように設計した。

③ 制御・信号処理ボードの作成

受信ボードから転送された反射波のベースバンド信号は、位相調整されたのちに、バンドパスフィルタを通過し、磁場変調により変調された EPR 信号を復調することで、微分型 EPR 信号を取得することができる。また、共振器と送受信回路との不整合により発生する反射を抑制するために、2つの可変コンデンサを電圧信号で制御する方法を用いた。また、送信波の周波数を制御するための電圧信号や、磁場勾配、磁場変調などの制御信号を生成するために、複数個の DAC IC が必要となった。開発した制御・信号処理ボードの写真を図 3 に示す。PC から制御可能にするため、USB-IO を実装し、パラメータの送信やデータの受信を行うことができる。また、各種制御電圧として、+20 から-10V の出力を可能にするため、DC-DC コンバータを実装した。

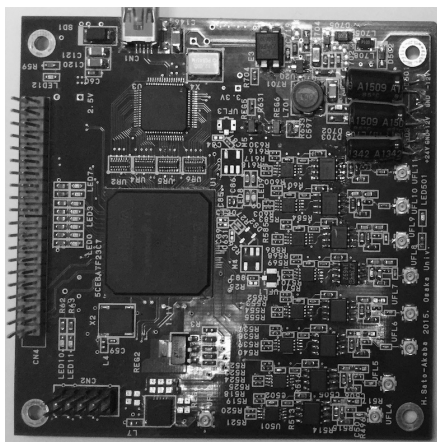


図 3 制御・信号処理 FPGA ボード

(2) 超低位相ノイズ 高周波生成回路の開発

サンプリングされたデジタル信号から、EPR 信号を抽出するには、位相検波を行い反射波に含まれる EPR 吸収信号を取り出す必要がある。その方法として、バンドパス・サブサンプリング法を用いた。

反射波をサンプリングする時に、図 4 のように送信波周波数の 4 倍にサンプリング周波数を合わせると、1 周期の間に 90°ずつ位相がずれた 4 点を信号として取得することができる。位相が 0°の点の値と 180°の点を反転させた値はベースバンド信号の直交成分、90°の点の値と 270°の点を反転させた値は、同相成分となる。更に、反転の代わりに減算処理をすることにより位相検波に加え、ADC オフセット除去が同時に可能

となる。

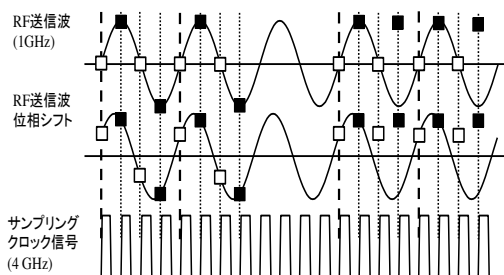


図 4 直接サンプリングと位相検波

この関係は、奇数分の 4 倍の周波数を用いてサンプリングした場合にも適用することが可能であり、ADC の最大サンプリング周波数以下となるように奇数値を選ぶことで、通常の直接サンプリングと同じ効果がある。また、間引き処理と減算処理のみにより、周波数変換が可能であることから、低コストな FPGA においても信号処理の実行が可能であった。

この方法を用いたデジタル位相検波には、分周回路が必要となる為、専用の高周波生成回路を開発した。まず、目的の周波数を発生する方法として、市販の電圧制御発振器を用い、1/4 倍に分周することにより送信波を生成し、1/7 倍に分周することにより ADC のクロック周波数を生成した。開発した高周波生成回路の特性を評価するため、送信波の出力と受信部のノイズの関係について、評価を行った。

4. 研究成果

(1) 反射波の抑制制御

反射波抑制の自動制御が正しく行われているかを示すデータの一例として、自動制御を止めた後に、周波数をスキャンしながら反射波を計測した結果を図 5 に示す。

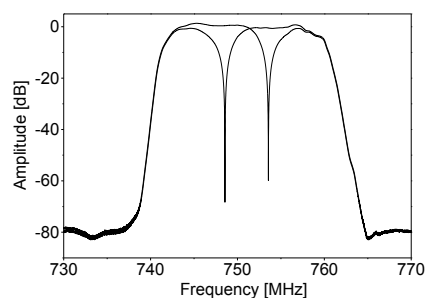


図 5 共振時の反射波の周波数依存性

同図は、共振器の設定周波数が異なる 2 つの結果を重ねている。帯域通過フィルタの役割がある SAW フィルタを用いているので、反射波の強度は、帯域外では 80 dB 程度に減衰していることが確認できる。一方、中央付近で鋭く減衰して dip になっているが、これは設定した周波数のところで整合したことを示している。また、二つの dip が見られるが、どちらの設定共振周波数の場合も自動制御によ

て同じように同調できたことを意味する。

(3) 分光器の雑音指数

EPR 信号強度は、RF 周波数、共振器の Q 値、充填率、電子スピン濃度、緩和時間等、様々な因子により決定される。一方、ノイズは、一段目のアンプより前段にある回路等の熱雑音が支配的となるため、整合が取れたシステムにおいては、共振器の Q 値に関わらず一定となる。そのため、受信回路の雑音指数を算出することで、装置の性能を評価できる。

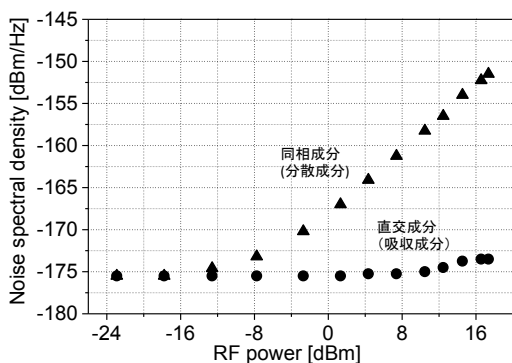


図6 送信電力に対する吸収・分散成分のノイズスペクトル密度 (100 kHz offset @750 MHz)

図6は、送信電力を-24 dBm から 18 dBm まで変化させた時の受信データに含まれるノイズ電力を解析したものである。また、送信波と同相な成分(EPR 信号の分散成分に相当)と直交成分(EPR 信号の吸収成分に相当)のそれぞれに分けてプロットしている。直交成分のノイズは、送信電力が 8 dBm 以下では、ほとんど変化がなく、熱雑音が支配的となっているのに対して、8 dBm 以降では、ノイズが付加されているのが分かる。室温での熱雑音は理論値より-174 dBm/Hz であることから、それぞれの成分に等分すると-177 dBm/Hz に相当する。この値からの差をシステムの雑音指数(NF)と定義することができる。EPR 吸収スペクトルの計測に対して NF は、送信電力 18 dBm において 5 dB 程度であるのに対し、分散スペクトルに対して、雑音指数が高い理由は、送信波の雑音が支配的となっているからである。この結果より、EPR 信号吸収成分の SNR を向上するには、直交成分のノイズの原因となっている付加位相ノイズを低減させることが有効であることを示している。

(2) EPR 信号の取得

図7に MCP 水溶液 (濃度 0.83 mM, 体積 4.4 ml) を変調磁場強度 0.2 mT, RF 送信周波数 752 MHz, RF power 17.4 dBm, フィルタバンド幅 ~2 kHz, 取得時間 50 ms, 積算 1 回で取得した EPR 信号を示す。開発したデジタル CW-EPR 分光器で明瞭に EPR スペクトルが取得できた。以上の結果より、生体用デジタル EPR 分光器を開発するとい

う当初の目的を達成することができた。

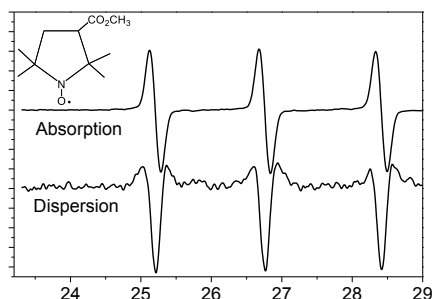


図7 MCP 水溶液からの EPR 信号

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 1 件)

Hideo Sato-Akaba, Miho C. Emoto, Hiroshi Hirata, Hirotsada G. Fujii, Design and testing of a 750 MHz CW-EPR digital console for small animal imaging, Journal of Magnetic Resonance, 284, 48-58, 2017, DIO: 0.1016/j.jmr.2017.09.008

[学会発表] (計 4 件)

① 大野将希, 宮戸祐治, 赤羽英夫, CW-EPR 生体イメージング用磁場制御電源の開発、第 55 回電子スピンサイエンス学会年会、2016.

② Miho C. Emoto, Hideo Sato-Akaba, Hirotsada G. Fujii, Brain redox imaging using blood-brain-barrier nitroxides by digital EPR imaging system, The ISMRM 25th Annual Meeting & Exhibition (国際学会) 2017

③ 濱垣研太, 宮戸祐治, 赤羽英夫, 生体用デジタル CW-EPR イメージング装置の開発、第 56 回電子スピンサイエンス学会年会、2017

④ 赤羽 英夫, 生体用デジタル CW-EPR イメージング装置の開発、第 56 回電子スピンサイエンス学会年会、2017

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 電子スピン共鳴装置

発明者: 赤羽英夫, 藤井博匡, 江本美穂

権利者: 大阪大学, 札幌医科大学

種類: 特許

番号: 2017-050576

出願年月日: 平成 29 年 3 月 15 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤羽 英夫 (AKABA, Hideo)

大阪大学・基礎工学研究科・准教授

研究者番号: 00552077