

令和元年6月14日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16413

研究課題名(和文) 光音響技術を用いた血液酸素飽和度分布画像化装置の高精度化及び性能評価

研究課題名(英文) Improvement and evaluation of blood oxygenation measurement system based on photoacoustic technique

研究代表者

平沢 壮 (Takeshi, Hirasawa)

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：60583086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：生体にパルス光を照射し、生体内部の血液が光を吸収して発生する超音波を観測する光音響技術を利用し、局所血管の血液酸素飽和度を採血することなく計測する手法を開発することを目的とした。本研究では、光音響技術による血液酸素飽和度計測のための計測装置及び計算法を開発、精度評価用の動物実験モデルの作製、及び動物実験による精度評価を実施した。さらに、光音響技術を用いた血液酸素飽和度計測法の誤差要因となる、光減衰及び超音波減衰の影響を受けにくい新しい血液酸素飽和度計測法を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液酸素飽和度は、生体内におけるエネルギー産生に必要な酸素の供給状態を把握するうえで、重要な指標の一つです。採血した血液を分析する手法が標準的な計測法ですが、患者に対する負担が大きい問題があります。全身的な酸素供給状態を把握する目的では、採血を伴わないパルスオキシメータを使用可能ですが、局所的な酸素供給状態の把握する目的では依然として患者への負担を伴う手法がとられています。そこで本研究では、生体局所の血管内の血液酸素飽和度を体表から繰返し計測可能な技術を開発するための技術を開発し、評価しました。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study is to develop a non-invasive blood oxygen saturation measurement method based on photo acoustic imaging technique. In photoacoustic imaging, pulsed light was irradiated to a biological tissue, and then ultrasound that was produced from blood inside biological tissue that absorbed pulsed light was measured. In this research, we developed both device and algorithm for blood oxygen measurement, established animal model, and performed animal experiment to evaluate the accuracy. In addition, we discussed a new blood oxygen measurement technique that is not suffered from attenuation of light and ultrasound inside biological tissue, those were main cause of measurement error in existing photoacoustic technique.

研究分野：医用工学

キーワード：光音響イメージング 血液酸素飽和度計測 分光イメージング 非侵襲計測

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

光音響画像化技術は、パルス光を生体に照射し、光を吸収したヘモグロビン等の光吸収体が発生する超音波（光音響信号）を、超音波エコーと同様のセンサで計測して生体内の光吸収体の分布を画像化する技術である（図1）。生体内の主要な光吸収体であるヘモグロビンを高コントラストに描出できる特徴を利用し、腫瘍血管を指標としたがん診断や、脳機能の計測等への応用が検討されている。また、複数の波長のパルス光を用いた計測により各波長における吸光度に関連する情報を取得することで、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンを分光的に弁別できるため、この原理を用いた血液酸素飽和度計測が研究されている。

血液酸素飽和度を無侵襲に計測する技術としてパルスオキシメータが広く普及しているが、計測部位が生体の末梢動脈（指先、耳たぶ等）であるため、全身的な酸素供給状態に関する情報は得られるが、局所的な虚血状態等の情報は得られない。循環系の異常や外傷等に由来する特定の組織への酸素供給状態の異常を評価するためには、局所血管の酸素飽和度の計測が必要であり、オキシメトリカテーターの留置や採血が行われている。侵襲性が高くマンパワーを要する操作であるため、患者及び医療従事者双方の負担となっている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、生体内のヘモグロビンを超音波エコーと同等の空間分解能で高コントラストに検知できる光音響画像化技術を利用して、生体内の局所血管の血液酸素飽和度を非侵襲的に繰り返し計測可能な技術を開発することである。

光音響法による血液酸素飽和度計測の精度は、光音響信号から吸光度を算出する精度に強く依存する。従来は、光音響信号の振幅を血液の吸光度として用いる振幅法が広く検討されているが、光が生体内を伝播して血液に到達する過程での光減衰が誤差要因となることが知られている。これに対し申請者は、光が生体内を伝播する過程での光減衰の影響を受けにくい特徴を有する、光音響信号の波形を用いて吸光度を計測する波形法を提案している（参考論文）。

そこで本研究では、光音響画像化技術を用いた血液酸素飽和度計測法を開発し、精度評価用に確立した動物実験モデルにより評価すること。及び、波形法と振幅法についてシミュレーションにより比較することで、波形法による血液酸素飽和度測定精度の改善可能性について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 血液酸素飽和度計測の精度評価用動物実験モデルの検討

光音響画像化技術による血液酸素飽和度の計測値と、従来のゴールドスタンダードである採血した血液を対象とした血液ガス分析とを比較可能な動物モデルを確立し、光減衰の影響を受けない条件での光音響法による血液酸素飽和度計測の精度について評価した。なお、一連の実験は、防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 13091）。

計測対象は日本白色家兎とし、気管内チューブを気管内に挿入して動物実験用人工呼吸器に接続した。動物実験用麻酔器を用いて人工呼吸器からの送気中に 0.5 - 2.0 % のセボフルランを混合することで吸入麻酔とした。右総頸動脈を外科的に露出して留置針を挿入し、カテーター先端が右鎖骨下動脈からの分岐部に来るように固定し、採血ルートを確認した。さらに、右鎖骨下動脈を外科的に露出し、光音響法により生体組織を介することなく計測可能な状態とした（雑誌論文）。本動物モデルでは、人工呼吸器での 1 分当たり呼吸回数を調整することにより、血液酸素飽和度を制御可能である（参考論文）。

光音響計測は、図2に示す実験系により実施した。光源としてナノ秒パルス波長可変 OPO を使用し、パルス光を集光光学系により集光してコア径 600  $\mu\text{m}$  のマルチモード光ファイバに導入した。リング状の検出素子（内径 1.4 mm、外径 5.0 mm、曲率 8.0 mm）を有する超音波センサの中央に光ファイバの出射端を固定し、光の照射と超音波の検出を同軸で実施可能な光音響センサを構成した。外科的に露出した右鎖骨下動脈に透明な超音波ゼリーを塗布し、光音響センサを鎖骨下動脈から 8 mm 離して固定し、鎖骨下動脈にパルス光を照射して発生する光音響信号を計測した。このとき、パルス光の波長は 750 nm から 850 nm の範囲で 10 nm 刻みに変化させた。光音響計測の前後に、総頸動脈に留置したカテーターから採血を行い、血液酸素飽和度を計測し、光音響法による計測値との比較データとした。

研究開始当初は、血液酸素飽和度を算出する過程で血液に含まれる酸素化ヘモグロビン ( $\text{HbO}_2$ ) と脱酸素化ヘモグロビン ( $\text{Hb}$ ) との割合を求めるために、 $\text{HbO}_2$  と  $\text{Hb}$  との吸収スペクトルの文献値を利用した重回帰分析を行っていたが、血液内部での光散乱の影響により吸光度と光音

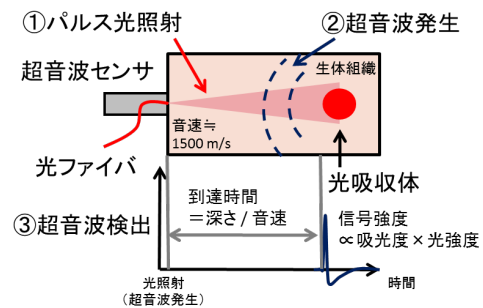


図1 光音響画像化技術の画像化原理  
観測対象にパルス光を照射し、パルス光を吸収した光吸収体が発生する超音波を観測する。光を照射してから超音波を検出するまでの時間差からセンサから光吸収体までの距離情報を、超音波の強度から光吸収体の吸光度を反映する情報を得られる。

響信号強度とが比例関係にならないことが判明し、これにより血液酸素飽和度の計測値に誤差が生じることを明らかにした。よって、対象とする血管と同等の径のチューブ内に、酸素飽和度 100%の血液と酸素飽和度 0%の血液とをそれぞれ封入し、これらを対象に計測した光音響スペクトルを用いて重回帰分析を行う手法を適用した。

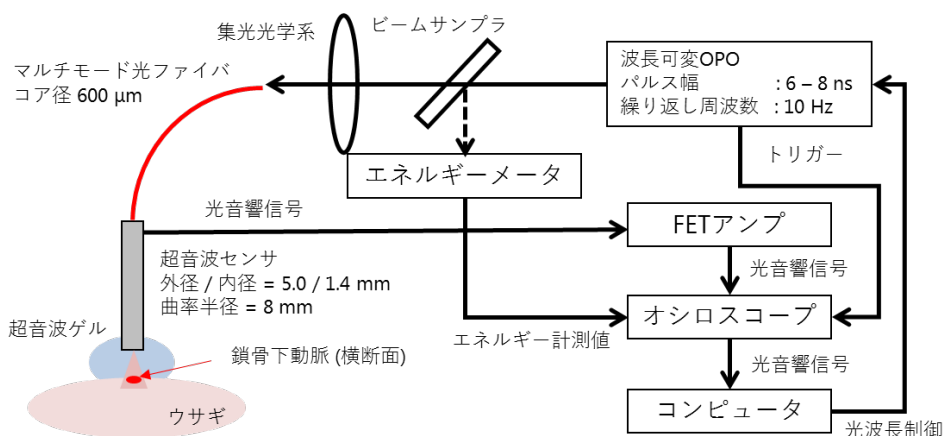


図 2 光音響法による血液酸素飽和度計測実験の実験系

### 血液酸素飽和度計測の精度評価実験

3 - で確立した動物モデルを用いて、光音響画像化技術を用いた非侵襲血液酸素飽和度計測の精度について *in vivo* で評価した。なお、一連の実験は、防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 16013）。

計測対象は日本白色家兎とし、右鎖骨下動脈の露出を除き、3 - と同様の前処置を実施した。光音響計測は、超音波イメージング用のアレイ型超音波センサの両端に、光ファイバを固定したイメージング用光音響センサ（図 3）を用いて行った。本装置では超音波エコー画像と光音響画像とを同時に取得可能であり、超音波エコーで得られる B モード画像により鎖骨下動脈の位置を非侵襲的に同定して光音響画像を撮像し、照射するパルス光の波長を変化させたときの鎖骨下動脈における光音響画像輝度値の変化に基づき血液酸素飽和度を算出した。光音響画像の輝度値を基に算出した血液酸素飽和度と血液ガス分析装置により計測した血液酸素飽和度とを比較した。

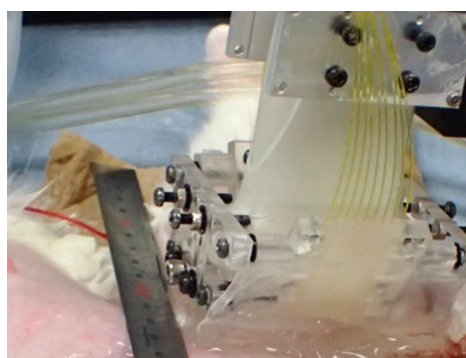


図 3 アレイ型超音波センサと光ファイバを組み合わせたイメージング用光音響センサ

センサの検出面をウサギの頸部に接触させて、鎖骨下動脈の血液酸素飽和度を計測している

### 波形法による血液酸素飽和度計測制度改善の検討

光音響信号の強度を用いて吸光度を算出する振幅法が広く検討されているが、体表面から血液までパルス光が伝播する過程での光減衰、血液内での光散乱、生体内部での音響減衰などが誤差要因となり、光音響信号強度をそのまま吸光度と対応付けて血液酸素飽和度を算出すると、計算誤差を生じる。一方で、光音響信号の波形を用いた波形法は、体表面から血液までパルス光が伝播する過程での光減衰の影響を受けにくい特徴を有する。本研究では、この波形法を発展させて、血液内での光散乱の影響を加味した上で、生体内部での音響減衰の影響を受けにくい波形パラメータを基にした血液酸素飽和度算出法について検討した。

体表面から 5 mm の深度を走行する直径 3 mm の血管内の血液が発生する光音響信号をシミュレーションした。3 次元モンテカルロ法による光伝播解析により血管内部での光吸収分布を算出し、光吸収により発生する超音波の伝播について波動方程式に基づいて計算した（参考文献）。超音波を検出するセンサは、径 12 mm、曲率 25 mm の P(VDF-TrFE) フィルム製の超音波センサとし、当該センサの印パルス応答の絶対値をシミュレーション結果に畳み込むことにより、実験的に観測できる光音響信号と等価な信号を算出した。体表面と血管との間に介在する組織は筋組織、血管内は 15 g/dL のヘモグロビンを含む血液にそれぞれ設定し、計測波長を 750 nm と 800 nm の 2 波長とし、文献値を基に光学特性を設定した。

シミュレーションにより得た光音響信号波形に対してウェーブレット変換を施すことにより、光音響信号波形に含まれる周波数成分を時分解で解析し、血液酸素飽和度を高精度に算出可能な波形パラメータを抽出した。また、シミュレーションにより得た光音響信号の強度と、血液の吸光度との関係についても分析した。



#### 4. 研究成果

##### 血液酸素飽和度計測の精度評価用動物実験モデルの検討

作製した動物モデルにおいて、光音響計測前後に光音響計測部位近傍での採血が可能であり、呼吸回数を変化させることにより血液酸素飽和度を変動させることが可能であり、光音響計測法による血液酸素飽和度計測の精度評価モデルとして機能することを確認した。

本モデルを用いて、光減衰の影響を受けない条件での光音響法による血液酸素飽和度計測の精度評価を実施した。報告段階で6匹の動物から合計27条件のデータを取得し、血液ガス分析装置による計測値と光音響法による計測値とを比較した。この結果、光音響法による計測値と血液ガス分析装置による計測値は、平均誤差0.80%、誤差標準偏差2.89%の精度で一致することを確認した。血液ガス分析装置の誤差範囲が $\pm 2\%$ であることから、同等の精度が得られている。

##### 血液酸素飽和度計測の精度評価実験

報告段階で1例の動物実験を実施し、1例（酸素飽和度条件：90%から100%の範囲で3水準）の計測結果ではあるものの、体表から8mmの深度を走行する鎖骨下動脈の血液酸素飽和度について、血液ガス分析による計測結果と光音響計測結果とが連動して変化することから、局所の血管の血液酸素飽和度の経時的な変化に関する情報を取得可能なことを確認した。一方で、血液酸素飽和度の絶対値計測の精度は、これまでに計測した一例では血液ガス分析での計測結果とよく一致したものの、症例数及び測定点数を増加することにより統計的に分析する必要がある。加えて、計測可能深度などの性能の評価も並行して実施する必要がある。

##### 波形法血液酸素飽和度計測精度改善の検討

シミュレーションした光音響信号に振幅法を適用して算出した血液酸素飽和度を、シミュレーション条件として設定した値と比較した結果、0-100%の範囲に20%刻みで設定した6水準での平均で9%程度の誤差が生じることを確認した。この結果より、波形法の適用による血液酸素飽和度計測精度の改善の必要性が示唆された。

図4に、血液酸素飽和度100%の血液に800nmの波長のパルス光を照射したときに観測できる光音響信号のシミュレーション結果に対してウェーブレット変換を施した結果を示す。横軸は信号到達時間に音速を乗じることで、センサからの距離に換算している。Z=25mmの前後にそれぞれ強度ピークが観測される。これらのピークのうち、2つ目のピークが吸光度情報を反映する（参考文献）ことから、2つめのピークに相当する25mm~26mmの範囲内の最大値をとることで、周波数スペクトルを算出した。吸光度が大きい光吸収体が発生する光音響信号には高周波数の信号成分が含まれるため、低周波数の信号強度と、高周波数の信号強度との比率をとることで吸光度を反映するパラメータを得た。さらに、同一の光吸収体について、750nmと800nmの2波長で光音響信号を計測し、当該パラメータをそれぞれ算出し、それらの2波長間での比を算出した。光の波長に対して独立で、750nmと800nmでそれぞれ計測した光音響信号に等しく寄与する音響減衰の影響は、比を算出する過程で除去できる。血液酸素飽和度を变化させた条件において750nmと800nmでの比率を算出したところ、血液酸素飽和度に非常によく相関することを確認でき、血液酸素飽和度を算出するためのパラメータとしての使用可能性が示唆された（図5）。

今後は、径の細い血管を想定したシミュレーションを実施した結果、血管内の血液の吸光度に依存した信号波形の変化が観測されず波形法の適用が困難であった、これまでに血液の吸光度と散乱係数とで計算できる光侵達長との関連を確認しており、これを基に波形法を適用可能な血管の径を検討する必要がある。また、センサの検出軸と血管の走行方向と直交しない場合に計測誤差が生じるため、正確なアライメント方法と角度依存性の除去の両面での対策を検討する必要がある。

図4に、血液酸素飽和度100%の血液に800nmの波長のパルス光を照射したときに観測できる光音響信号のシミュレーション結果に対してウェーブレット変換を施した結果を示す。横軸は信号到達時間に音速を乗じることで、センサからの距離に換算している。Z=25mmの前後にそれぞれ強度ピークが観測される。これらのピークのうち、2つ目のピークが吸光度情報を反映する（参考文献）ことから、2つめのピークに相当する25mm~26mmの範囲内の最大値をとることで、周波数スペクトルを算出した。吸光度が大きい光吸収体が発生する光音響信号には高周波数の信号成分が含まれるため、低周波数の信号強度と、高周波数の信号強度との比率をとることで吸光度を反映するパラメータを得た。さらに、同一の光吸収体について、750nmと800nmの2波長で光音響信号を計測し、当該パラメータをそれぞれ算出し、それらの2波長間での比を算出した。光の波長に対して独立で、750nmと800nmでそれぞれ計測した光音響信号に等しく寄与する音響減衰の影響は、比を算出する過程で除去できる。血液酸素飽和度を变化させた条件において750nmと800nmでの比率を算出したところ、血液酸素飽和度に非常によく相関することを確認でき、血液酸素飽和度を算出するためのパラメータとしての使用可能性が示唆された（図5）。

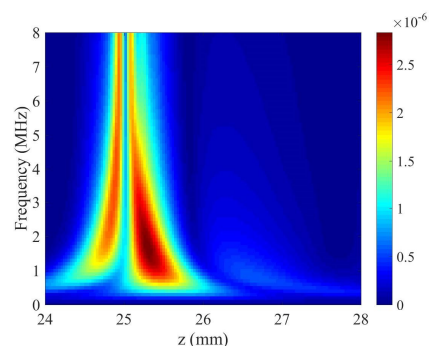


図4 光音響信号波形のウェーブレット変換の一例

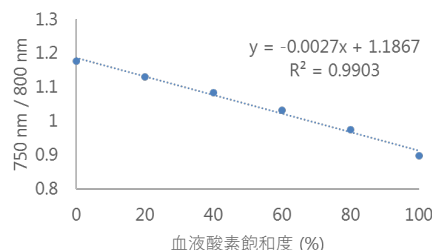


図5 ウェーブレット変換により算出した波形パラメータと血液酸素飽和度との関係

#### 参考文献

T. Hirasawa, M. Fujita, S. Okawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Quantification of effective attenuation coefficients using continuous wavelet transform of photoacoustic signals," *Applied Optics* 52, 8562-8571 (2013).

K. Sei, M. Fujita, S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, H. Sasa, K. Furuya, and M.

Ishihara, "Appropriate timing of blood sampling for blood gas analysis in the ventilated rabbit," *Journal of Surgical Research* 206, 325-336 (2016).

T. Hirasawa, S. Okawa, M. Fujita, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Quantification of optical attenuation coefficient based on continuous wavelet transform of photoacoustic signals measured by a focused broadband acoustic sensor," *Proceedings of SPIE* 8943, 89435Z (2014).

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5件)

K. Sei, M. Fujita, T. Hirasawa, S. Okawa, T. Kushibiki, H. Sasa, K. Furuya, and M. Ishihara, "Measurement of blood-oxygen saturation using a photoacoustic technique in the rabbit hypoxemia model," *Journal of clinical monitoring and computing* 33, 269-279 (2018).

<https://doi.org/10.1007/s10877-018-0166-8>

T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, M. Fujita, Y. Urano, and M. Ishihara, "Spectral-differential-based unmixing for multispectral photoacoustic imaging," *Applied optics* 57, 2383-2393 (2018).

<https://doi.org/10.1364/AO.57.002383>

T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic imaging of tumours in mice injected with an enzyme-activatable photoacoustic probe," *Journal of Optics* 19, 014002 (2017).

<https://doi.org/10.1088/2040-8978/19/1/014002>

[学会発表](計 7件)

T. Hirasawa, S. Okawa, K. Tsujita, T. Kushibiki, M. Fujita, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic tomography for detection of small tumors inside biological tissues," *Proceedings of SPIE* 10494, 104943M (2018).

T. Hirasawa, S. Okawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, Y. Urano, and M. Ishihara, "Effect of reference spectra in spectral fitting to discriminate enzyme-activatable photoacoustic probe from intrinsic optical absorbers," *Proceedings of SPIE* 9708, 970834 (2016).

[その他]

該当なし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。