

平成22年 5月31日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19360098

研究課題名（和文） 生体内光源物質特性分布を画像化する技術の高度化に関する研究

研究課題名（英文） Advanced Imaging Method of Light Source Distributions  
in Biological Tissues

研究代表者

山田 幸生 (YAMADA Yukio)

電気通信大学・電気通信学部・教授

研究者番号：10334583

研究成果の概要（和文）：新薬開発などにおけるコストと犠牲動物の低減を目指し、分子イメージング技術の一つである蛍光トモグラフィ法の高度化を目的として、画像再構成法の開発とシミュレーション、および、生体模擬試料やマウスを用いた実験を行った。画像再構成法の新しい手法を開発し、実験によりその手法を実証することができた。結果として、マウス体内に埋め込んだ蛍光物質の濃度分布に関する断層画像を得た。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of the reduction of the costs and sacrifices for the development of new drugs, a study of fluorescence tomography has been conducted as one of the methods of molecular imaging. Simulation of a newly developed image reconstruction algorithm was made, and the algorithm was validated by experiments using phantoms and mice. Resultantly, images of the concentration distribution of a fluorophore embedded in mice were successfully reconstructed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	6,500,000	1,950,000	8,450,000
2008年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2009年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：熱・物質移動

## 1. 研究開始当初の背景

新薬開発などにおいては、マウスなどの小動物を用いた前臨床試験が欠かせない。小動物試験では、通常、多くの小動物が犠牲になると共に多大なコストが課題となっている。1個の個体における薬物動態を継続的に観察できる分子イメージング技術によりコス

トと犠牲動物の低減が期待されている。分子イメージング技術の一つとして、蛍光トモグラフィ法が注目されており、その研究開発が行われている。

研究開始当初は、主にマウスを対象として、投与された薬物に標識された蛍光あるいは発光物質（あわせて光源物質と呼ぶ）から発

せられる光を体表で観察する蛍光・発光イメージング装置が市販されていたが、画像は主に体表面に現れた蛍光・発光強度分布を表しており、体内における蛍光・発光物質の分布を表す場合でも画像は定量性に欠けていた。そのため、蛍光・発光物質の濃度分布や蛍光寿命の断層画像を定量的に再構成することが強く望まれていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、上記の背景を鑑み、マウスなどの小動物の体内に投与された蛍光あるいは発光物質、いわゆる光源物質を対象として、その濃度や蛍光寿命などの特性を断層画像として描き出す蛍光トモグラフィーの技術を定量性や位置情報などについて高度化することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、生体透過性の高い近赤外光を用い、生体内の血液状態に関する断層画像を描き出す「拡散光トモグラフィー」の技術を発展させて、「蛍光トモグラフィー」の技術を高度化させる。

拡散光トモグラフィーのこれまでの研究においては、まず、波長が約 800 nm の近赤外光で、パルス幅が約 100 ps の極短パルスを生体表面に照射し、内部を伝播した後、再び表面に現れたパルス光を多くの位置で測定する。一方で、生体内の血液状態を仮定して、パルス光の伝播を表す方程式を解いて生体表面で測定される光強度を計算する。計算結果が測定結果と一致するように、いわゆる逆問題を解いて、生体内部の血液状態の分布を求めることにより、拡散光トモグラフィーの画像を得る。

蛍光トモグラフィーにおいては、生体表面に照射された励起光が生体内の蛍光物質に到達し、生じた蛍光が生体表面において測定される。したがって、励起光と蛍光の測定および計算が必要となるが、本研究では新たに Total light 法を提案し、計算および測定を簡素化・迅速化する。

研究はつぎのように段階を追って進められた。

- (1) Total light 法による画像再構成アルゴリズムの開発と確立
- (2) 生体模擬試料を用いた蛍光トモグラフィーの検証実験
- (3) マウスを用いた蛍光トモグラフィーの実証実験

## 4. 研究成果

上記の段階ごとに次のような研究成果が得られた。

- (1) Total light 法による画像再構成アルゴリズムの開発と確立

ピコ秒パルス光を用いる、いわゆる時間分解計測法を用いた蛍光トモグラフィーの新しい画像再構成アルゴリズムとして、Total light 法を提案し、その基礎理論を定式化し、理論に基づいたアルゴリズムを開発した。シミュレーションにより作成した測定データを入力データとして、Total light 法のアルゴリズムを用いて蛍光トモグラフィーの画像を再構成することができた。この成果は当該分野の学術雑誌に掲載された。(後出、雑誌論文 6)

### (2) 生体模擬試料を用いた蛍光トモグラフィーの検証実験

Total light 法による蛍光トモグラフィーの検証実験を生体模擬試料を用いて行った。生体模擬試料(ファントム)には、生体組織と類似の光散乱特性を持つプラスチック(ポリアセタール樹脂)を用いた。直径が 30 mm のポリアセタール円柱に、直径が約 5 mm の円柱状の穴を軸方向に設け、そこに蛍光物質を含む乳剤を注入した。蛍光物質としては、800 nm 付近に励起および蛍光波長を持つインドシアニンググリーン(ICG)を用いた。測定装置は、ピコ秒の時間分解能を持つ 16 チャンネルの時間分解計測装置である。励起光波長は 759 nm であり、蛍光は 800 nm 以上の近赤外光を透過するフィルターを通して計測した。

なお、蛍光物質の ICG については、その蛍光特性(吸収スペクトル、蛍光スペクトル、および蛍光寿命)を、各種の条件下で別途測定した。

その結果、図 1 に様に真の画像に近い ICG 分布の断層画像を得ることができた。図中、赤丸が蛍光物質の真の位置であり、ほぼ同じ位置と形に蛍光物質が再構成されている。また、真の ICG 濃度  $0.5 \cdot M$  に対し、再構成された濃度のピーク値は  $0.4 \cdot M$  であった。このファントム実験により、開発した Total light 法を用いるアルゴリズムが検証された。(後出、学会発表 19)

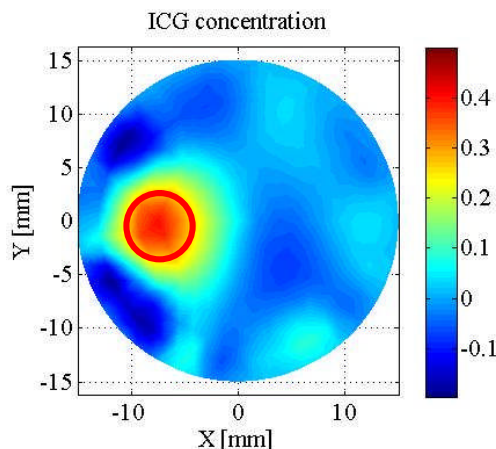


図 1. ファントム実験での再構成画像。

### (3) マウスを用いた蛍光トモグラフィーの実証実験

ファントムを用いた検証実験に引き続き、マウスを用いた実証実験を行った。麻酔したマウスの腹部皮下に濃度  $10 \mu\text{M}$  の ICG を封入した外径 6 mm, 長さ 30 mm のビニールチューブを埋め込み、マウス全体を外径 30 mm のポリアセタール樹脂製のホルダーに設置した。励起光および蛍光はホルダーの表面から測定し、画像再構成はホルダーとマウスを一体化して行った。その結果、図 2 に示すような ICG 分布の断層画像を得ることができた。図 2 中の白丸内にマウスが存在し、赤丸が真の ICG カプセルの位置である。

再構成された ICG 濃度分布の中心位置は、真の位置よりも数 mm 内部にあり、また、形状も真の形とは異なっている。再構成された ICG 濃度のピーク値は  $1.4 \mu\text{M}$  であり真の値の 14% であった。ファントムとは異なり、マウス腹部は各種臓器のために光学特性値が一様ではなく、特に、樹脂ファントムに比べ、吸収が強い。その影響により、ICG 濃度を  $10 \mu\text{M}$  まで高くする必要があった。

小動物内の蛍光物質の断層画像を得ることは実証できた。しかし、画像の質については、今後、真の位置、真の濃度で、できるだけ低い濃度での再構成が可能となるように、アルゴリズムや実験手法の改善が必要である。

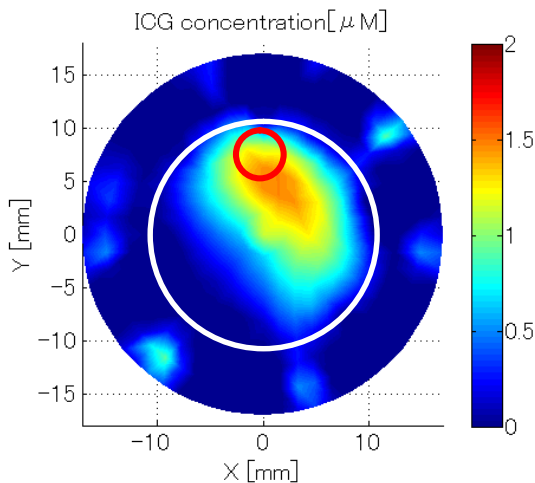


図 2. マウス皮下に埋め込んだ ICG カプセルの再構成画像

### 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 22 件)

1. K. Uchida, S. Okawa, S. Matushashi, Y. Hoshi and Y. Yamada, “Effective optode configuration for the image

reconstruction in diffuse optical tomography,” *Med. Laser Appl.*, (2010) (accepted for publication). (査読有)

2. Y. Hoshi, J. Huang, S. Kohri, Y. Iguchi, M. Naya, T. Okamoto, S. Ono, “Recognition of human emotions from cerebral blood flow changes in the frontal region: a study with event-related near-infrared spectroscopy,” *J. Neuroimaging*, (2010) (in press). (査読有)
3. M. Shimada, C. Sato, Y. Hoshi, and Y. Yamada, “Estimation of the absorption coefficients of two-layered media by a simple method using spatially and time-resolved reflectances,” *Physics in Medicine and Biology*, Vol. 54, No. 16, pp. 5057–5071 (Aug. 2009). (査読有)
4. T. Hirono, H. Arimoto, S. Okawa and Y. Yamada, “Microfluidic image cytometry for measuring number and sizes of biological cells flowing through a microchannel using the micro-PIV technique,” *Meas. Sci. Tech.*, Vol. 19, Paper No. 025401 (2008). (査読有)
5. A. Marjono, A. Yano, S. Okawa, F. Gao, Y. Yamada, “Total light approach of time-domain fluorescence diffuse optical tomography,” *Optics Express*, Vol. 16, No. 19, pp. 15268–15285 (2008). (査読有)
6. F. Gao, H. Zhao, L. Zhang, Y. Tanikawa, A. Marjono, Y. Yamada, “A self-normalized, full time-resolved method for fluorescence diffuse optical tomography,” *Optics Express*, Vol. 16, No. 17, pp. 13104–13121 (2008). (査読有)
7. C. Sato, T. Yamaguchi, M. Seida, Y. Ota, I. Yu, Y. Iguchi, M. Nemoto, and Y. Hoshi, “Intraoperative monitoring of depth-dependent hemoglobin concentration changes during carotid endarterectomy by time-resolved spectroscopy,” *Applied Optics*, Vol. 46 (2007), pp. 2785–2792. (査読有)
8. Y. Hoshi, “Functional near-infrared spectroscopy: current status and feature prospects,” *J. Biomedical Optics*, Vol. 12, No. 6, paper No. 062106 (CID) (2007). (査読有)
9. H. Zhao, F. Gao, Y. Tanikawa, and Y. Yamada, “Time-resolved diffuse optical tomography and its application to *in vitro* and *in vivo* imaging,” *J. Biomedical Optics*, Vol. 12, No. 6, paper No. 062107 (CID) (2007). (査読有)

10. A. Marjono, S. Okawa, F. Gao, and Y. Yamada, “Light Propagation for Time-Domain Fluorescence Diffuse Optical Tomography by Convolution Using Lifetime Function,” *Optical Review*, Vol. 14, No. 3, pp. 131-138 (2007). (査読有)

他 12 件

[学会発表] (計 69 件)

1. (Invited talk) Y. Hoshi, “What can combined NIRS-EEG measurements tell us about brain function?,” UK-Japan Workshop Multimodal Measurements for Brain Function, Jan. 27, 2010, UK Embassy, Tokyo, Japan.
2. (Invited talk) Y. Hoshi, “Functional near-infrared spectroscopy: basic principles and applications,” Korean Society of Human Brain Mapping, Nov. 6, 2009, Soul University, Soul, Korea.
3. (Invited talk) Y. Yamada, “Diffuse Light Spectroscopy and Imaging for Biomedical Engineering,” Workshop on Information, Nano and Photonics Technology 2009, Kobe University, Kobe, Japan, Dec. 1, 2009.
4. S. Okawa and Y. Yamada, “3D light source reconstruction with spatial filter for fluorescence / bioluminescence diffuse optical tomography,” ECBO (European Conference on Biomedical Optics), Munich, Germany, June 14, 2009, Proceedings of SPIE, Vol. 7369, Article No. 736916 (Jul. 9, 2009).
5. S. Matsushashi, R. Fukuzawa, S. Okawa, Y. Hoshi, and Y. Yamada, “Effects of the movement of probes on the images of diffuse optical tomography,” The 4th Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics (APBP2009), Jeju, Korea, May 27-29, 2009, Proceedings of APBP2009, pp. 139-140.
6. A. Yano, A. Marjono, K. Uchida, T. Abe, S. Okawa, G. Nishimura, Y. Hoshi, F. Gao, and Y. Yamada, “Phantom experiments of fluorescence diffuse optical tomography,” The 4th Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics (APBP2009), Jeju, Korea, May 27-29, 2009, Proceedings of APBP2009, pp. 137-138.
7. M. Oki, N. Shibahara, R. Togashi, S. Okawa, Y. Hoshi, and Y. Yamada, “Effects of the anatomy of the head on optical mapping of brain activities,” The 4th Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics (APBP2009), Jeju, Korea,

May 27-29, 2009, Proceedings of APBP2009, pp. 129-130.

8. Shuping Wang, N. Shibahara, D. Kuramashi, S. Okawa, N. Kakuta, E. Okada, A. Maki, and Y. Yamada, “Effects of Spatial Variation of Skull and Cerebrospinal Fluid Layers on Optical Mapping of Brain Activities,” The 4th Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics (APBP2009), Jeju, Korea, May 27-29, 2009, Proceedings of APBP2009, pp. 114-115.
9. (招待講演) 星 詳子, 「光を用いた脳と心の探究」, 第 112 回日本小児科学会, 2009 年 4 月 17 日, 奈良県新公会堂 (奈良).
10. 福沢 遼, 松橋翔子, 大川晋平, 高峰, 星 詳子, 山田幸生, 「未熟児頭部の拡散光トモグラフィの研究」, 日本光学会 Optics & Photonics Japan 2008 (OPJ2008), 2008 年 11 月 6 日, つくば市.
11. 谷川ゆかり, 高峰, 宮崎康彰, 岩田直之, 中村康雄, 大川晋平, 山田幸生, 木竜徹, 宮川道夫, 「拡散光トモグラフィを用いたハンドグリップ運動時のヒト前腕の *in vivo* 測定」, 日本機械学会 第 19 回バイオフロンティア講演会, 2008 年 9 月 24 日, 八王子市.
12. 高橋 徹, 白川英樹 「哺乳類受精時の  $Ca^{2+}$  反応における  $Ca^{2+}$  流入の機能的な関与の検証」, 日本動物学会第 79 回大会, 2008 年 9 月 6 日, 福岡市.
13. T. Kusaka, S. Okawa, M. Ueno, R. Fukuzawa, T. Nishida, K. Isobe, Y. Tanikawa, F. Gao, C. Sato, Y. Hoshi, and Y. Yamada, “Optical brain imaging in infants by use of near-infrared diffuse optical tomography,” The 36th Annual Conference of International Society of Oxygen Transport to Tissue (ISOTT2008), Aug. 3-7, 2008, Sapporo, Japan.
14. (Invited talk) Y. Hoshi, “The accuracy and reliability of near-infrared spectroscopy in measuring neuronal activity-related cerebral oxygenation changes,” The 36th Annual Conference of International Society of Oxygen Transport to Tissue (ISOTT2008), Aug. 3-7, 2008, Sapporo, Japan.
15. (Invited talk) Y. Yamada, “Physical fundamentals of optical mapping and diffuse optical tomography using NIRS,” The 36th Annual Conference of International Society of Oxygen Transport to Tissue (ISOTT2008), Aug. 3-7, 2008, Sapporo, Japan.
16. (教育講演) 山田幸生 「光脳機能イメージ

- ングの原理」, 第9回日本光脳機能イメージング研究会, 2008年7月19日, 東京都.
17. 谷川ゆかり「NIRS計測の原理と時間分解分光法の応用—拡散光を用いた生体診断—」, モバイルセミナー「NIRS計測原理と医用・工学的応用、およびデータ解析法」, 2007年9月6日, 茨城県つくば市.
  18. (Invited talk) Y. Hoshi, “Frontiers of cognitive neuroscience with near-infrared spectroscopy: applications to developmental psychology and psychiatry,” Organization for Human Brain Mapping 13th Annual Meeting, 2007年6月14日, Chicago, USA.
  19. S. Okawa, Y. Yamada, “Source estimation with spatial filter for fluorescence diffuse optical tomography,” 2008 Biomedical Optics Topical Meeting, OSA, Florida, USA, Mar. 16-19, 2008. (Poster No. BSuE41)
  20. A. Marjono, A. Yano, S. Okawa, Y. Yamada, “Full Time-Resolved Fluorescence Diffuse Optical Tomography using Total Light Approach,” 2008 Biomedical Optics Topical Meeting, OSA, Florida, USA, Mar. 16-19, 2008. (Poster No. BMD33)
  21. 大川晋平, 山田幸生, 「光学特性値分布の特徴を考慮した拡散光トモグラフィ」, 日本光学会年次学術講演会, 2007年11月26日, 大阪大学.
  22. M. Ueno, R. Fukuzawa, S. Okawa, Y. Yamada, T. Kusaka, T. Nishida, K. Isobe, Y. Tanikawa, F. Gao, C. Sato, Y. Hoshi, “*In vivo* measurement of premature neonate head using diffuse optical tomography,” APBP 2007, 3rd Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics, Abstract Book, pp. 43-44, July 9-11, 2007, Cairns, Australia.
  23. T. Hirono, S. Okawa, H. Arimoto, Y. Yamada, “Microfluidic Image Cytometry for Measuring of Number and Sizes of Biological Particles,” APBP 2007, 3rd Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics, Abstract Book, pp. 65-66, July 9-11, 2007, Cairns, Australia.
  24. N. Shibahara, S. Okawa, Y. Yamada, “Effects of the CSF Layer on the Optical Mapping of Brain Activity,” APBP 2007, 3rd Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics, Abstract Book, pp. 95-96, July 9-11, 2007, Cairns, Australia.
- 他 45 件.

〔図書〕 (計 8 件)

1. 山田幸生, 「生体のふく射 in 伝熱工学資料 改訂第5版」, pp. 157-158, 2009, 日本機械学会.
  2. 星 詳子, 「酸素代謝を利用した脳機能イメージング In: からだと酸素の事典」, 酸素ダイナミクス研究会編, p. 583, 2009, 朝倉書店.
  3. Y. Hoshi, “Book Series of Thinking,” Vol. I Neural Correlates of Thinking, p. 285, 2008, Springer.
  4. Y. Hoshi, “Complex Medical Engineering,” pp. 469-479, 2007, Springer.
  5. 山田幸生, 「非侵襲・可視化技術ハンドブック」, pp. 272-284, pp. 339-349, pp. 375-382, 2007, (株) エヌ・ティー・エス.
- 他 3 件.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

出願 1 :

名称 : 計測対象保持具

発明者 : 山田幸生, 清水仁

権利者 : 電気通信大学, 富士フィルム (株)

種類 : 特許

番号 : 特願 2009-020331

出願年月日 : 2009年11月30日

国内外の別 : 国内

出願 2 :

名称 : 光断層像の生成法

発明者 : 山田幸生, 大川晋平, 山本拓明

権利者 : 電気通信大学, 富士フィルム (株)

種類 : 特許

番号 : 特願 2009-020330

出願年月日 : 2009年11月30日

国内外の別 : 国内

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

1. 新聞報道

日経産業新聞 2010年1月22日(金), 先端技術面, 「筋肉活動, 内部まで計測」(電気通信大学 山田幸生研究室).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 幸生 (YAMADA YUKIO)

電気通信大学・電気通信学部・教授

研究者番号 : 10334583

(2) 研究分担者

大川 晋平 (OKAWA SHINPEI)

電気通信大学・電気通信学部・助教

研究者番号 : 20432049

白川 英樹 (SHIRAKAWA HIDEKI)  
電気通信大学・電気通信学部・准教授  
研究者番号：40241070

星 詳子 (HOSHI YOKO)  
(財) 東京都医学研究機構・精神医学総合  
研究所・副参事研究員  
研究者番号：50332383

谷川 ゆかり (TANIKAWA YUKARI)  
(独) 産業技術総合研究所・主任研究員  
研究者番号：20344202

(3) 連携研究者  
なし

(4) 研究協力者  
高 峰 (GAO FENG)  
天津大学・精密機械・光電子工学科・教授