

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：萌芽研究  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19656060  
 研究課題名（和文） 皮膚内診断に向けた時間分解共焦点レーザー顕微鏡の検討  
 研究課題名（英文） A Study on Time-resolved Confocal Laser-scanning Microscopy for Diagnosis of Human Skin  
 研究代表者  
 山田 純 (Yamada Jun)  
 芝浦工業大学・工学部・教授  
 研究者番号：40210455

## 研究成果の概要：

皮膚内部の構造や組織を観察するために、時間分解計測とレーザー顕微鏡の原理を組み合わせたシステムの可能性に関して、実験およびコンピュータシミュレーションにより調べた。これまでのレーザー顕微鏡で、皮膚内部の観察をすると、観察しようとしている皮膚組織からの反射光が、その周囲の組織で散乱された光とかさなり、観察画像がぼやけてしまう問題があった。本システムにより 20～50%（コントラスト比）で改善できることが分かった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,200,000	0	1,200,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	0	3,200,000

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

近年、皮膚ガンやシミ、アザなど、人の皮膚に関わるトラブルに強い関心が寄せられている。そのうちシミ、アザについては、緊急性は高くないものの、女性（加えて、男女をとわず高齢者）にとっては深刻な問題で、治療法確立への期待は高い。そのような背景のなか、極短パルスレーザーの実現をきっかけに、ルビーパルスレーザーやYAGパルスレーザーによる治療法が考案され、急速な広がりを見せている。しかしながら、その治療による効果は、人それぞれで、少なからずトラブルも報告されている。その原因の1つに、レーザーごとに浸透深さが変わるにも関わらず、シミの深さ方向の位置情報が曖昧なまま、

治療が行われることがあげられる。このレーザー治療に関しては、効果の学術的な研究を待たずに、臨床が専攻しているような印象すら受ける。

皮膚ガンに関しては、国内での関心はさほど高くないものの、オゾンホール拡大による紫外線量増加の影響か、オーストラリアをはじめとする南半球の国々で、深刻な問題となっている。その治療において、皮膚ガンの広がりや転移の有無を正確に知ることは、無駄な切除手術を避ける上で、また、再発防止上、極めて重要と言える。

これら以外にも、皮膚に関しては、血流量や生体化学物質の濃度など、生態情報を得ようとする様々な試みがなされている。

このように、皮膚の生体組織構造、状態、疾患有無、および物理化学的な生体反応を明らかにしたいという要求は非常に高い。しかしながら、対象を生体から分離せず (in vivo)、高い解像度で観察できる手法は国内外を通じて報告されていない。

## 2. 研究の目的

皮膚の生体組織構造、状態、疾患有無、および、物理化学的な生体反応を明らかにしたいという要求は非常に高い。しかしながら、対象を生体から分離せず (in vivo)、高い解像度で観察できる手法は国内外を通じて報告されていない。これまで確立されている技術では、共焦点レーザー顕微鏡に近赤外レーザーを用いれば、その用途に利用できそうに見える。しかし、この方法では、皮膚が強い散乱性媒体であるため、散乱光がノイズとして観察され、高い解像度は期待できない。

ところで、皮膚に極短パルス光を照射し、その際、生じる反射光を時間領域で観察すると、散乱を繰り返した光が遅れて観察されることが知られている。本研究では、観察時間を制限することで、散乱光のノイズを低減出来る可能性があることから、観察時間を制限できる光学システムを組み込んだ共焦点レーザー顕微鏡を試作し、その有用性を、実験的、解析的に検討することを目的としている。

## 3. 研究の方法

基本となる共焦点レーザー顕微鏡の簡易システムを設計、可視光用の光学系で製作を行い、その機能確認を行う。また、簡易的な数値シミュレーションにより、本システムの可能性に関して検討をおこなう。その結果、本システムにおいて、シミなどの異物が皮膚に存在する場合、その深さ方向の情報が得られる。

時間分解計測システム部分を除く、赤外線での共焦点レーザー顕微鏡システムを完成させるとともに、貸与を予定している時間分解計測システム(極短パルスレーザー、ストリークカメラ)とカップリングすることで、提案するシステムの有用性を評価する。計測対象としては、生体ファントムの内部にマーカをおき、その画像を得ることを目標とする。

さらに、本システムの有用性や適応範囲を検討するために、モンテカルロ法による厳密な数値解析を実施する。そのために、本数値解析では、共焦点レーザー顕微鏡光学系を厳密に、この解析を通じて、最適な計測条件(計測時間幅)および本手法の適用範囲(視認限界深さ)を明らかにする。

## 4. 研究成果

### (1)共焦点レーザー顕微鏡の簡易システムの製作

基本となる時間分解能を持たない共焦点レーザー顕微鏡の簡易システム(図1)を自作し、動作確認を行った。本計測に必要な光源は近赤外光源であるが、ここでは、可視光源である He-Ne レーザーを用いて、自作した共焦点光学系が機能するか確認を行った。図2に、光軸方向に観察ステージを走査した際の光量変化について示す。ステージを走査する事により、対物レンズの焦点位置をピークとして光検出器で検出する光量が変化する事が得られた。しかしながら、共焦点位置に配置したピンホールにより、観察光の大半が遮断されてしまう為、光検出器で得られる光量が微小となるという事が得られた。

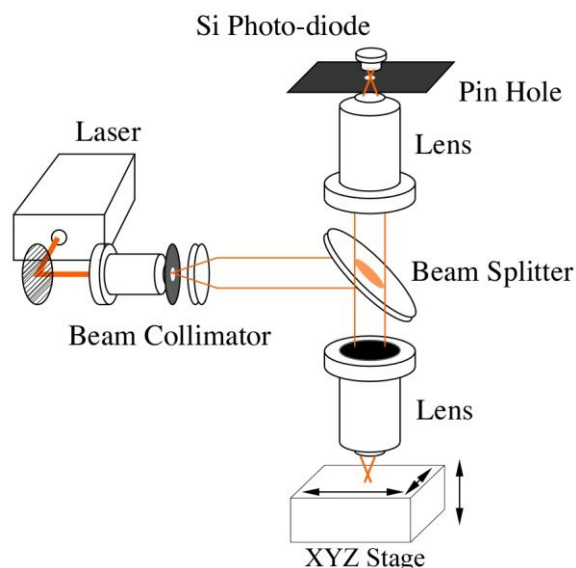


図1 共焦点レーザー顕微鏡簡易システムの光学系

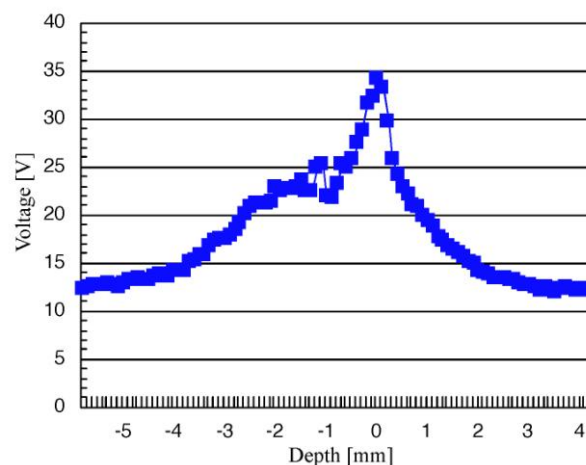


図2 共焦点光学系による観察光量の変化

(2) 数値シミュレーションによる時間制限計測の有効性の検討

皮膚内部に存在する異物（シミ）を、パルスレーザーを光源として観察する（反射光の空間分布計測を行う）ことを想定した数値解析シミュレーションを作成し、観察されるであろう顕微鏡画像を数値解析により求めた。このシミュレーションにおいて、時間制限観察の有無が、シミ画像の解像度に与える影響を調査した。

本解析では、肌を散乱・吸収を伴う連続媒体として取扱い、皮膚内の光の伝播を光の輸送方程式によって求める。図3に本解析に用いる解析モデルを示す。解析領域は図に示す立方体（10 mm角）である。側面を周期境界とする事で、皮膚の様な無限に広い媒体を取扱える様にしている。皮膚の光学厚さは十分に厚く、皮膚背面の生体組織は光伝播に影響を及ぼさないと仮定し、底面は完全吸収境界としている。皮膚表面に相当する解析モデル上面は、滑らかな平面と仮定し、その面において、光はFresnel則反射に従うとした。解析モデル中心部に、シミと見立てたふく射物性が異なる領域（広がり1 mm × 1 mm で厚さ 0.1 mm）を設定し、その深さを、解析モデル上面から背面である2 mmまで変化させて、観察されるであろう画像を数値解析で求めた。

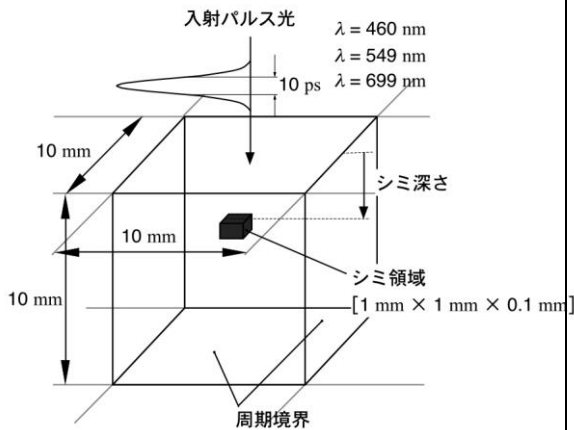


図3 数値解析モデル

解析で想定した光の波長は、既存のレーザーを意識せず、皮膚における光の減衰性質が異なる460 nm, 549 nm, 699 nmの3波長とした。これらの波長における皮膚のふく射物性値（減衰係数 $b$ , アルベド $w$ )は、本研究室がこれまでに開発した計測法（山田純, 有田悠一, 安柄弘, 三

浦由将, 高田定樹, 2008.9空間分解反射光計測に基づく皮膚のふく射物性の推定, 日本機械学会論文集 (B編) Vol. 74, No. 745, pp. 2034-2039) で得た値を用いている。なお, 本解析では, Monte Carlo法を用いて光の輸送方程式を解いている。

Monte Carlo法では, 光が皮膚（解析モデル）内を移動した経路長から, 光のフライト時間を知ることができる。従って, 皮膚内部に浸透したパルス光が皮膚表面から射出される際, 光強度の空間分布だけでなく, その時間分布（時間毎の光強度の空間分布）を知ることができる。すなわち, 時間分解光学系を組み込んだ際の観察画像が得られる。また, その結果を時間積分すれば, 非時間分解に相当する観察画像が得られる。

①皮膚内部に存在するシミの深さと観察光の波長がシミの見え方に与える影響

時間分解計測の有効性を検討する為に, 数値解析を用いて非時間分解計測時のシミの見え方を予測した。ここでは, シミが存在する領域の深さと観察に使用する光の波長を変化させ, 解析モデル上面における反射光強度の空間分布を求めた。

波長毎にシミの深さを变化させた時の空間分布の様子を図4に示す。また, 画像を比較する為に, 各画像の最大光強度が1となる様に標準化している。

図5に各シミ深さにおける解像度を示している。ここでは, 解像度の指標として, 「シミ部の光強度と解析モデル上面の平均光強度との差」に対する「解析モデル上面の平均光強度」の比をコントラストとして導入した。コントラストが大きい画像は, 解像度が高く（シミ部が明瞭）, コントラストが小さい画像は, 解像度が小さい（シミ部が不明瞭）。

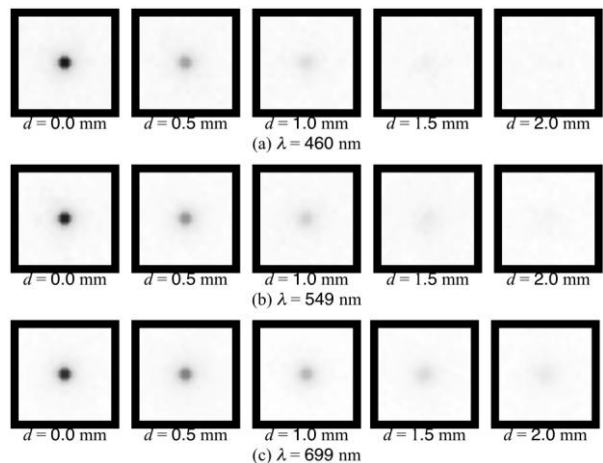


図4 各波長のシミの深さと光の空間分布

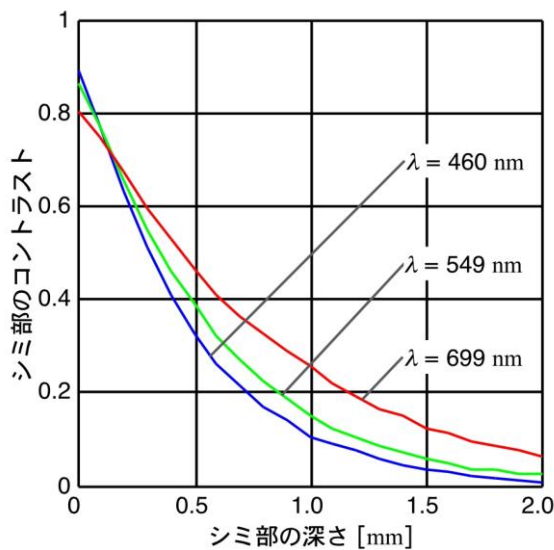


図5 シミ深さとコントラストの関係

図4より、シミの存在する位置が深くなる程、シミ部が不明瞭になり、シミ部の領域や位置を特定する事が困難となる事が示された。同様に図5より、シミの存在する位置が深くなる程、コントラストが減少し、シミの観察が困難になる事が示された。また、今回計算に使用した波長では、699 nmを採用した場合に、高いコントラストが得られる事が示された。これは、今回計算に使用した波長の中で、皮膚の減衰係数が最も小さい事に起因していると考えられる。

### ②時間制限計測

解析結果を図6と図7に示す。図6は、699 nmにおける反射光強度の空間分布を、観察された時間（パルスレーザーの照射時から経過時間）毎に示している。(a)～(c)は、シミ深さの違いである。図7は、699 nmにおけるシミ部のコントラスト（上述）の時間変化を示している。コントラストは、一度ピークを持った後、時間と共に徐々に減少する事が分かる。ピーク後の光は、解析モデル内部で散乱を繰り返した光であり、時間分解計測によりピーク後の光を制限する事により、画像改善が期待される。また、シミが存在する深さに応じて、コントラストが上昇するまでに要する時間が異なる事が示されている。コントラストが上昇するまでに要する時間は、直達光がシミ深さを往復するのに要する時間と一致する。従って、時間分解計測を行う事により、シミが存在する深さを特定する事が可能

である。

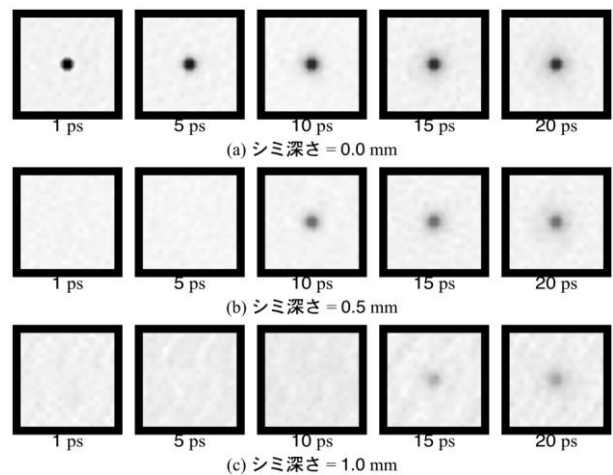


図6 時間分解計測がシミ部の見え方を与える影響

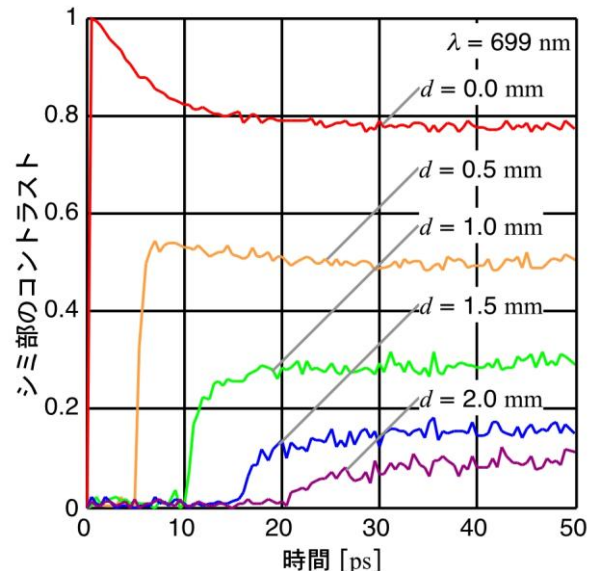


図7 シミ部のコントラストの時間変化

### ③時間分解計測の有効性の検討

図8に、時間分解計測モデルにおいて各シミ深さにおけるコントラストの最大値と非時間分解計測モデルにおける各シミ深さにおけるコントラスト値の比較を示す。この図から、全ての波長、各シミ深さにおいて、時間分解計測モデルを行った際に非時間分解計測時よりも高コントラストとなる事が示された。特に、非時間分解計測時において計測が困難であった皮膚深部に存在するシミ観察時において、時間分解計測を行う事により、観察可能となる事が得られた。

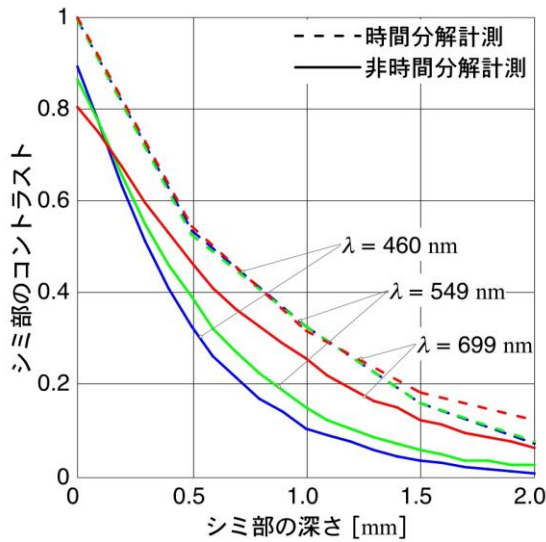


図8 時間分解計測が見え方に与える影響

④時間分解能の影響（露光時間の影響）

時間分解計測を用いて皮膚内部の異物を観察する為には、観察に適した観察時間の範囲を決定する必要がある。ここでは、時間分解能が皮膚内部に存在する異物（シミ）の見え方に与える影響を検討する為、時間分解能を変化させて解析を行った。上述したコントラストもピーク後からの時間を観察時間とし、検討した時間分解能は、1 ps, 5 ps, 10 psとした。各時間分解能におけるコントラストの比較を図9に示す。図9より、時間分解能を向上させた（観察時間を短くする）場合、皮膚内部の異物部のコントラスト値が向上する事が得られた。しかしながら、時間分解能を10 psから1 psに変更した際に得られるコントラストの向上は、皮膚の平均厚さである2.0 mmにおいて2%程度であり、大幅なコントラストの向上は見込めないという事が得られた。この解析により、本計測に用いるレーザー光源として、射出パルス幅が数ps程度のパルスレーザーが必要となる事が得られた。

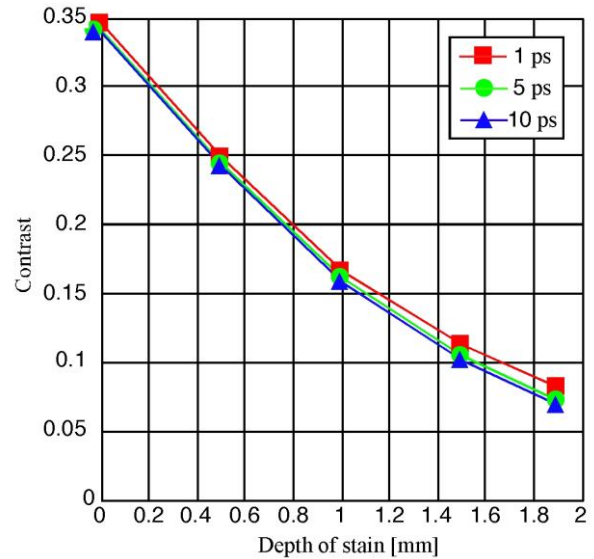


図9 時間分解能が見え方に与える影響

⑤共焦点光学系による影響

共焦点光学系が皮膚内部存在する異物（シミ）の見え方に与える影響を調べた。図10に共焦点光学系の有無によるシミの見え方を、図11に解析モデル表面上の位置におけるコントラスト変化を示す。図11より、共焦点光学系ではシミ部のエッジが鮮明となるという事が得られた。これは共焦点光学系が、ノイズとなる対物レンズの焦点位置以外からの光を遮断する事によるものであると考えられる。しかしながら、焦点位置からの光量は、焦点位置以外からの光量と比較して少量である。従って、共焦点光学系を採用すると画像化の際に必要な光量を得る為に、計算コストが増大するという事も得られた。

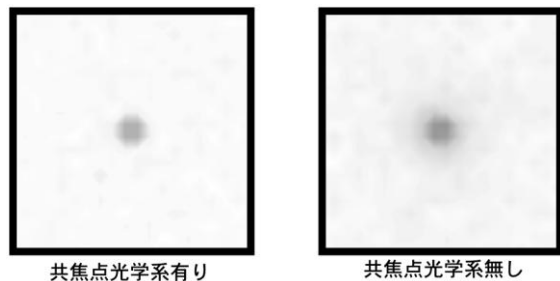


図10 共焦点光学系の有無がシミの見え方に与える影響

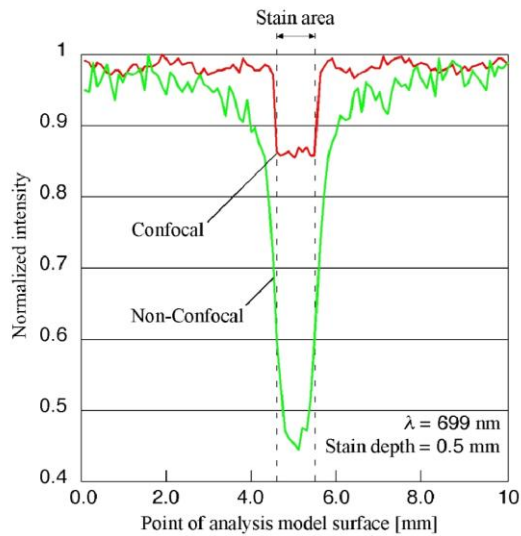


図 11 共焦点光学系の有無が解析モデル上面での光強度分布に与える影響

## 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)

〔学会発表〕(計 1 件)

山田純, 小柴誠一郎, 菊池久美子, 高田定樹,  
皮膚の内部構造可視化に向けた時間分解共  
焦点顕微鏡の検討  
第 45 回日本伝熱シンポジウム講演論文集,  
Volume 1, pp.255-256, 2008 年 査読有

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山田 純 (Yamada Jun)  
芝浦工業大学・工学部・教授  
研究者番号：40210455

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

小柴 誠一郎