

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K04085

研究課題名（和文）近赤外光生体イメージングと血管新生シミュレーションによる創傷治癒過程の定量的計測

研究課題名（英文）Quantitative imaging of wound healing process and related parameters based on optical imaging and simulation of angiogenesis

研究代表者

大川 晋平（Okawa, Shinpei）

浜松医科大学・光医学総合研究所・教授

研究者番号：20432049

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：光音響トモグラフィ等により、ヘモグロビン分布を画像化し、がんや創傷治癒過程における血管新生を経時的に画像化して、そこから血管新生の数理モデルを介して血管新生に関わるパラメータを計測する方法の確立を目的とした。この方法では、血管新生のシミュレーションと実測した光画像との誤差を最小化する血管新生パラメータを計算する。そのために、血管新生をモデル化した拡散方程式を有限要素法によって計算し、パラメータ推定のシミュレーションを行った。また、レーザーダイオードとロックインアンプを用いた周波数領域光音響測定系を構築した。さらに、より生体深部を画像化する拡散光トモグラフィ画像再構成アルゴリズムを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、光を用いて非侵襲的に生体機能をイメージングする技術の多くは近赤外光を用いた血流量・ヘモグロビン濃度変化を捉えるものが主であった。光を用いて生体深部を測定するには近赤外光を用いることが必要となり、そのために、近赤外光を吸収しやすいヘモグロビンを画像化の対象となってきた。本研究で得た要素技術を組み合わせることで、従来の光イメージングをさらに発展させて、光による測定対象を拡大し、生体のメカニズムの解明や創薬等への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：By taking advantages of optical imaging technology such as photoacoustic tomography and diffuse optical tomography which employ near-infrared light to image blood vessels and hemoglobin concentration, a method to measure the parameters in mathematical model describing angiogenesis has been studied. In the method, the parameters which minimized the error between model-based computation and the temporal sequence of optical image. The finite element method to compute diffusion equation describing angiogenesis, estimation method of angiogenesis parameter, the frequency-domain photoacoustic measurement system, and the image reconstruction algorithm for diffuse optical tomography were developed.

研究分野：計測工学

キーワード：生体光イメージング 光トモグラフィ 生体計測 逆問題 血管新生

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近赤外光を用いた生体イメージング・計測技術は非侵襲的であり、近赤外光トポグラフィーの脳科学への応用をはじめとして広く用いられるようになった。近年では光音響イメージングが注目されている。光音響波は、生体に光を照射した際にヘモグロビンなどの色素が発生する超音波を検出して生体深部の血管をイメージングする技術である。超音波は光と比較して散乱されにくいいため、これまでの近赤外光イメージングにはない高い空間分解能で血管を画像化することができる。乳がんや前立腺がん等の血管新生に伴う血管分布の異常を生じる病変の診断への応用が盛んに研究されている。

光音響イメージングをはじめとした近赤外光イメージングでの生体深部画像化では、原理的に生体透過性の高い近赤外光を用いる。その場合、近赤外光は主にヘモグロビンで吸収され、ヘモグロビン濃度やそれに関連する血液酸素飽和度の情報を得ることができる。また、近赤外蛍光イメージングでは、ヒトに応用できる蛍光色素であるインドシアニングリーンが用いられる。これらの方法では血液分布を通して生体の状態を診断することができるが、蛍光共焦点顕微鏡画像のように多様な蛍光分子プローブを使用して細胞・組織の機能を反映する様々なタンパク質などを介して血液分布以外の情報を得ることは難しい。

一方で、血管新生や細胞の増殖・移動に関する数理モデルは理論的な研究が以前から多くなされてきた。血管新生の数理モデルを用いてヘモグロビン濃度・血管分布とそれ以外のパラメータを結び付け、光音響イメージングで画像化できる対象を拡張することで光を用いた生体イメージングの可能性を広げることができ、医学・医療への応用の可能性を高めることが期待された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、近赤外光イメージングを用いたヘモグロビン濃度や酸素飽和度以外の生体の状態や機能を反映するパラメータを計測するシステムの開発であった。がんの進行や創傷治癒過程での血管新生における毛細血管の増殖の際のランダムな移動を規定する拡散係数の空間的な分布や、細胞の遊走に関わる血管内皮細胞増殖因子の濃度分布の時間的・空間的な変化をイメージングする方法を確立することを目指した。

このときに、一般的には新規の蛍光分子プローブを開発するなどのアプローチが考えられるが、本研究では特殊な蛍光分子プローブ等を用いずに、近赤外光照射や蛍光色素インド紙ア人グリーン (ICG) といったこれまでの近赤外光イメージングで使用される技術だけを利用して、血管新生に関する数理モデルを援用することによって間接的にパラメータを計測することが独自性である。

上述の目標を達成でき、がんの進行や創傷治癒過程における血管新生に関する数理モデルのパラメータを計測することができれば、がんの悪性度や治療効果を定量的に評価することが可能になり、さらに数理モデルを用いた数値シミュレーションによって、各種パラメータへの薬剤による治療の影響を解明し、様々な条件下での治療経過を予測することが可能になる。このことによってテーラーメイド治療のための計画策定を支援することが可能になる。

3. 研究の方法

上記の計測システムを構築するために、システムに必要な要素について以下の(1)~(3)の方法によって研究開発を行った。

(1) 血管新生に関する数理モデルによるシミュレーション技術と非線形最適化技術を用いて、数理モデル計算結果と、血管新生を捉えた光イメージング画像との誤差を最小化する血管新生に関するパラメータを推定するアルゴリズムを構築した。血管新生の数理モデルには、毛細血管先端がランダムに(拡散的に)移動し、血管内皮細胞が遊走して広がっていくこと(それによって血管が形成され、ヘモグロビン濃度が上昇すると仮定した)を記述した拡散方程式を用いた。in vitroの血管内皮細胞の増殖実験やマウスの創傷治癒モデルを対象とした2次元数理モデルを利用したアルゴリズムの数値シミュレーションによるパラメータの推定実験を行った。

(2) 生体深部の血管、あるいはヘモグロビン濃度の経時的な変化を測定するために、光音響測定系を構築した。一般的に光音響測定にはナノ秒パルスレーザーを用いることが多い。しかしながら、パルスレーザーを用いた測定系は比較的大型になってしまうこと、取り扱いにレーザーに関する専門的な知識と技術が必要であることなど、医学生物学系の研究室で用いることが困難であることが考えられる。本研究では、比較的扱いが容易で小型化に向けたレーザーダイオードからの光強度を変調して光音響を発生させ、ロックインアンプを用いてそれを検出する周波数領域光音響測定系を構築した。

(3) 光音響測定系で得られた測定値から血管やヘモグロビン濃度分布を画像化するための画像再構成アルゴリズムが必要となる。定量的な画像再構成を行うためには、生体組織による光の散乱と吸収による減衰を考慮するために生体内光伝播シミュレーションを行う必要があり、そ

れを用いて測定値を再現する光吸収係数（ヘモグロビン濃度に比例する）を求める。超音響画像と、光測定値から画像再構成したバックグラウンドの生体組織の吸収係数分布を用いて、ヘモグロビン濃度の定量性を改善することができる。MRI や超音波画像から得られる生体深部の構造情報を模した有限要素モデルと光拡散方程式に基づく生体内光伝播シミュレーションを用いて計算光測定値から吸収係数を画像再構成するアルゴリズムを構築した。

4. 研究成果

(1) 血管新生をモデル化した拡散方程式の有限要素計算コードとパラメータ推定アルゴリズムを作成した。そのコードを使用し、円形の創傷部位で血管内皮細胞の移動を規定するパラメータ（拡散係数）が、薬剤やその他の要因によって空間的に変化した状態を模した計算を行った（図1）。計算結果では血管内皮細胞が移動していく様子が観察された。この血管内皮細胞の移動にもなって血管新生が起き、血管密度（ヘモグロビン濃度）が上昇したこと、そしてその変化を超音響イメージングなどの光画像化技術で画像化したことを仮定して、その画像を計算によって再現できるように、画像と計算結果の誤差を最小化する拡散係数の推定を行った。その結果、空間的に変化した拡散係数の分布を再現することができた。

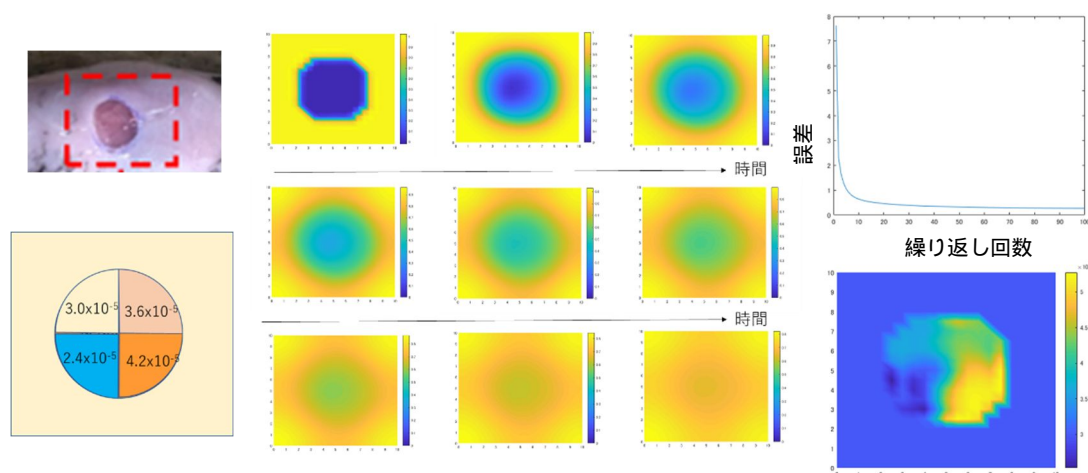


図1 血管新生数理モデル計算とパラメータ推定：円形の創傷部位のイメージ（左上）、創傷部位に仮定した拡散係数分布（左下）、計算された創傷部位内の血管内皮細胞分布の経時的変化（中央）、パラメータ推定のための繰り返し計算回数とモデル計算と画像との誤差の変化（右上）、拡散係数分布の推定結果（右下）

(2) 2 MHz 程度で強度変調レーザーダイオードを超音響の励起光として用い、ロックインアンブで超音響信号を検出する周波数領域超音響測定系を構築した。周波数領域超音響測定は、通常のパルスレーザーを用いる方法と比較して、信号雑音比が低いといわれており、ヘモグロビンなどの光吸収物質の濃度が低い場合は、そこから発生する超音響を測定することが困難であるため、レーザーダイオードからの光強度の振幅を低い周波数で変調し、それと同じ周波数で変化する超音響信号を周波数解析によって抽出する方法を採用した。ICG を光吸収物質として用いて、水槽中で発生した超音響信号を検出する実験を行った。その結果、高い周波数で乱された測定値から信号成分を抽出することができるようになり、周波数解析を行わない場合と比較して、ICG 濃度が低い場合においても信号を検出することができた（図2）。

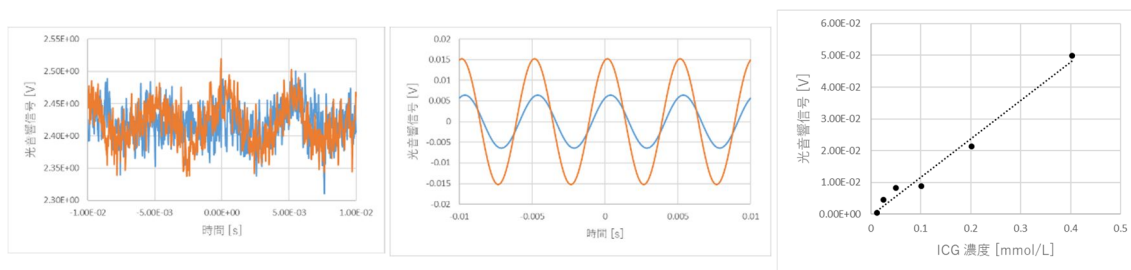


図2 周波数領域超音響測定の結果の例：周波数解析を行わなかった場合の超音響信号を含む測定値（オレンジ色）とノイズレベルの測定値（青色）（左）、周波数解析後の超音響信号とノイズレベルの測定値（中央）、測定された ICG 濃度と超音響信号の関係（右）

(3) MRI や超音波画像をもとにした有限要素モデルによる生体内光伝播シミュレーションと、吸収係数の画像再構成アルゴリズムを開発した。動作確認のためのサンプルとしてヒト頭部の MRI 画像を模したグレースケール画像スライスから、3次元有限要素法により、皮膚、頭骨、脳脊髄液、灰白質、白質といった層構造を持つ円柱状の頭部構造モデルを構築した。このモデルに

先行研究で用いられた光学特性値を設定して、光拡散方程式を用いて、頭皮上からパルス光を照射した場合の光伝播をシミュレーションした。このシミュレーションから、頭皮上の複数個所で時間分解測定を行った際の測定値を作成し、これを用いて大脳皮質での血流変化に伴う光吸収係数変化を画像化する数値実験を行った。その結果、光吸収係数の変化を画像化することができた(図3)。この画像再構成アルゴリズムによって、光測定値から光音響を発生する光吸収物質の周囲の光学特性を定量することができ、生体内光伝播を予測することが可能になり、光音響信号から光吸収物質の定量的イメージングが可能になる。

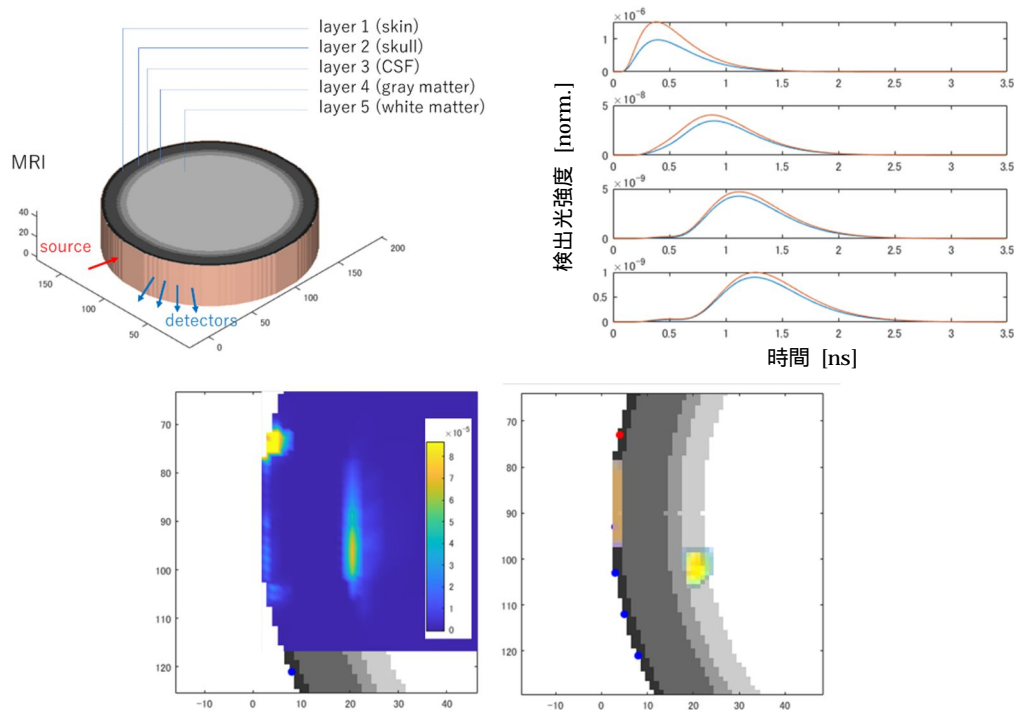


図3 生体内光伝播シミュレーションと光吸収係数の画像再構成：頭部MRIを模した画像から構築した有限要素モデル(左上)、複数の光検出器による血流変化あり(青)・なし(赤)での時間分解波形のシミュレーション(右上)、再構成画像(左下)と設定した光吸収係数の真値(右下)

以上の(1)~(3)の要素技術を発展させ、組み合わせることで、本研究課題で目的としていたがんの進行や創傷治癒過程における血管新生に関する数理モデルのパラメータを計測技術確立することができる。各要素技術の研究成果は今後、関連学会および学術誌において発表していく予定である。

<引用文献>

大川晋平, 石原美弥, 西村吾朗, 星 詳子, “近赤外光を用いた次世代生体イメージング: 拡散光・蛍光・光音響トモグラフィー,” 計測と制御 56(11), 2017, 863-868.

M. J. C. Machado, M. G. Watson, A. H. Devlin, M. A. J. Chaplain, S. R. Mcdoucall, C. A. Mitchell, “Dynamics of angiogenesis during wound healing: a coupled in vivo and in silico study,” Microcirculation, 18, 2011, 183-197.

P. LeBoulluec, H. Liu, B. Yuan, “A cost-efficient frequency-domain photoacoustic imaging system,” Am. J. Phys. 81(9), 2013, 712.

大川 晋平, 平沢 壮, 辻田 和宏, 櫛引 俊宏, 石原 美弥, “光音響的作用の数値計算とその画像診断・治療支援への応用の可能性,” 日本レーザー医学会誌 40(4), 2020, 348-358.

S. Okawa, Y. Hoshi, “A review of image reconstruction algorithms for diffuse optical tomography,” Appl. Sci. 13(8), 2023, 5016.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Hirasawa Takeshi, Tachi Kazuyoshi, Miyashita Manami, Okawa Shinpei, Kushibiki Toshihiro, Ishihara Miya | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Spectroscopic photoacoustic microscopic imaging during single spatial scan using broadband excitation light pulses with wavelength-dependent time delay | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Photoacoustics | 6. 最初と最後の頁 100364 ~ 100364 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pacs.2022.100364 | 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 Okawa Shinpei, Hoshi Yoko | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 A Review of Image Reconstruction Algorithms for Diffuse Optical Tomography | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Applied Sciences | 6. 最初と最後の頁 5016 ~ 5016 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app13085016 | 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 Okawa Kiguna Sei, Hirasawa Takeshi, Okawa Shinpei, Fujita Masanori, Ishihara Miya | 4. 巻 146 |
| 2. 論文標題 Real-time fetal monitoring using photoacoustic measurement of placental oxygen saturation in a rabbit hypoxia model | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Placenta | 6. 最初と最後の頁 110 ~ 119 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2024.01.005 | 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 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 大川晋平 |
| 2. 発表標題 定量的な生体ひかりトモグラフィのための画像再構成に関する研究 |
| 3. 学会等名 筑波大学計算科学研究センター 計算メディカルサイエンス ワークショップ2022 (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大川晋平、星 詳子 |
| 2. 発表標題 拡散光トモグラフィ：これまでとこれから |
| 3. 学会等名 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2023 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 星 詳子、山田 幸生、岡田 英史、川口 拓之、西條 芳文、渡辺 英寿 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 エヌ・ティー・エス | 5. 総ページ数 628 |
| 3. 書名 生体ひかりイメージング 基礎と応用 | |

〔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 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 土屋 壮登 (Tsuchiya Masato) (20866735) | 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・病院形成外科・講師) (82406) | |
| 研究分担者 | 平沢 壮 (Hirasawa Takeshi) (60583086) | 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) (82406) | |

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 |
|---------|---------|