

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300175

研究課題名（和文）音響放射圧の高周波数超音波トラッキングによる皮膚のスマート・エイジング評価

研究課題名（英文）Smart-ageing Evaluation of Skin by Acoustic Radiation Force Tracked with High Frequency Ultrasound

研究代表者

西條 芳文（SAIJO YOSHIFUMI）

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号：00292277

研究成果の概要（和文）：対象物に1 MHzの音響放射圧アプリアケータにより微小な変位を生じさせ、その変位を中心周波数120 MHzの高周波数超音波の位相差トラッキングで計測することで、計測対象の粘弾性特性を計測する手法を開発した。3層構造を有する人工皮膚における本手法の有用性を実証し、皮膚のスマート・エイジング評価が可能になることが示された。

研究成果の概要（英文）：Acoustic radiation force (ARF) was applied to the object with 1 MHz ultrasound applicator and the small displacement was measured by phase tracking method of 120 MHz ultrasound. The viscoelastic properties were obtained by analyzing the temporal response of the object to ARF. The efficacy of the method was validated by the measurement of artificial skin with three-layered structure. The method may contribute to smart-ageing evaluation of skin.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2011年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：超音波、音響放射圧、位相差トラッキング、皮膚、スマート・エイジング

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ

近年、国民の健康に対する意識向上は著しく、「がん(悪性新生物)」「急性心筋梗塞」「脳卒中」の三大疾患に代表される病気の予防・治療だけではなく、加齢に伴う脳機能や皮膚の変化にも大きな関心が注がれている。最近では、エイジングによる経年変化に賢く対処し、個人・社会が知的に成熟することで、(アンチエイジングのように高齢期を認めたく

ない・遭遇したくないという意味が込められたネガティブな概念ではなく)、高齢期を知的に成熟する人生の発展期として積極的に受容しようという、スマート・エイジングという概念が提唱されるようになった。

皮膚のエイジングによるたるみやシワには、加齢による真皮のコラーゲン量の減少や、コラーゲンの質の変化による柔軟性や収縮性の低下が強く関与している。従来行われてきた、吸引や引っ張りによる生体皮膚弾性の機械的評価方法では、表皮と真皮の両方を

合わせた特性しか計測できず、真皮のみの弾性計測には皮膚の内部構造を可視化しつつ弾性を計測する方法の開発が不可欠である。皮膚内部の可視化方法としては、共焦点レーザー生体顕微鏡、光干渉断層法 (OCT)、超音波断層法などが用いられてきた。このうち、光学的な手法は高解像度であるもののメラニン色素を多く含む場合に真皮まで光が届かないため観察できず、臨床応用されている 20 MHz の超音波断層法では解像度が 80 ミクロンに留まり表皮と真皮が十分に判別できないため、イメージングに主眼を置いた研究は行き詰っていた。

近年、Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging と呼ばれる、音響放射圧の伝搬特性解析により、肝組織の線維化や組織弾性を評価する方法が臨床応用されている。これは、音響放射圧で組織にひずみを発生させ、その伝搬速度を数 MHz 帯域の超音波診断装置で計測し、伝搬速度の 2 乗が弾性に比例するという原理を応用して線維化の程度や腫瘍の弾性を計測しようとする方法で、すでに多くの臨床研究においてその有用性が実証されている。

(2) 応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯

研究代表者の西條は、平成 18~21 年度 NEDO「三次元複合臓器構造体研究開発」事業において、再生医療によって作製された皮膚の評価のために中心周波数 120 MHz の三次元超音波顕微鏡を開発し、ヒト皮膚で *in vivo* 検証を行った結果、このシステムで表皮と真皮が判別可能で、かつ真皮の最奥層まで観察可能であることを確認した。また、研究分担者の金井らは、動脈を伝搬する微小振動の位相差トラッキング法により、動脈壁の厚み変化を 1 ミクロン以下の精度で計測し弾性率分布を可視化している。さらに、研究分担者の穂積らは半導体の高速スイッチング技術を応用した超音波パルサーの開発と受信信号の周波数解析による組織の定量的診断方法をベースにした新しいタイプの超音波顕微鏡を開発している。したがって、これらの技術を複合することで、高解像度で皮膚の弾性計測およびイメージングが可能であるとの着想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、皮膚のスマート・エイジング評価のために、皮膚、特に真皮の弾性を高精度に計測するイメージングシステムを構築することである。具体的には、100~500 Hz のパルス組織に与え、その音響放射圧による微小変位を高周波数超音波の位相差トラッキング法により解析し、組織変位の伝搬速度を計測し、弾性を画像化することを目

的とする。

本研究の学術的特色は、従来は Mass としての弾性を計測する手法であった ARFI および弾性イメージングを、皮膚のような薄い組織にも適用可能であるかどうかについて、いずれも世界最高レベルと認知されている、高周波数超音波イメージング技術と高精度位相差トラッキング法を融合させることで、40 nm の高精度で計測し解決を図る点である。超音波を用いた場合、表皮と真皮の鑑別には 100 MHz 以上の高周波数が必要であるがその解像度は 10 ミクロン程度であり、本研究と同等精度の検討は全くなされていない。

皮膚の弾性は年齢と相関することが知られているが、本研究による計測によって、皮膚の弾性変化が真皮の弾性変化に起因するものであるかが明らかにされる。さらに、皮膚のスマート・エイジングを目指した薬物・化粧品等の開発の際の定量的指標としても重要な役割を果たすことが期待される。

3. 研究の方法

(1) 計測システムの設計

1 台のワークステーションで、高周波数パルスの発生・音響放射圧パルスの発生・それぞれの発信の制御・データ取得・データ解析などの全てを行うことができるようにシステムをデザインする。

(2) 生体ファントムの作製

近年、生体模擬ファントムの材料として高分子材料である PVA (Polyvinyl alcohol) ゲルが注目されている。PVA の機械特性は製作過程における温度の増減速度、凍結時の最低温度、凍結サイクルの回数に依存する。超音波用ファントムとして適切な反射信号を得るために、散乱体としてセルロース粒子を加えたものを生体ファントムとする。

(3) 音響放射圧アプリケーション

高周波数超音波の強度は微弱であり、音響放射圧の計測可能領域は高周波数振動子の焦点付近に留まることが予想される。したがって、アプリケーションの形状としては高周波数超音波振動子を取り囲むようなドーナツ型の凹面振動子を作製し、音場および音響放射圧の測定を行う。

(4) パルスの強度・周波数・持続時間 (パルス数) などの検討

アプリケーションにファンクションジェネレーターで発生させたパルスを入力し、生体ファントムに音響放射圧を発生させる。適度な強度および持続時間を与えたときの皮膚ファントムの挙動をレーザードブラ振動計で計測し、最適なパルス特性を決定する。

(5) 受信超音波の位相差トラッキング

音響放射圧による変位を位相差トラッキング法により計測し、その時間経過の計測から組織の粘弾性特性を算出する。

(6) 計測対象の粘弾性計測

関心部位に対しての音響放射圧照射により生じる変位と Voigt モデルより粘弾性を推定する。

(7) 人工皮膚 (ペルナック®) の粘弾性計測

人工皮膚として市販されているペルナック®は、表皮に相当するシリコン層および強化メッシュ層、真皮に相当するコラーゲンスポンジ層の3層から構成される。本研究では PVA による計測の後に、人工皮膚の層ごとの粘弾性を計測する。

4. 研究成果

(1) 計測システム的设计

図1は計測システムの模式図を示す。1台のワークステーションで、高周波数パルスの発生・音響放射圧パルスの発生・それぞれの発信の制御・データ取得・データ解析などの全てを行うことが可能であった。

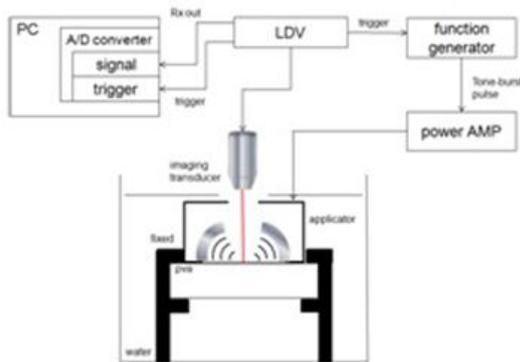


図1 計測システム

(2) 生体ファントムの作製

以下の通りに PVA を作製した。初めに 15 wt.% となるように PVA 粒子を 80 wt.% 濃度のジメチル・スルホキシド (DMSO) 水溶液に溶かし、2 時間 373.15 K の温度で攪拌した。この溶液に超音波散乱体としてセルロース粒子 (直径 38 μm , 3wt.%) を加え、2 時間攪拌の後、1 時間 316.15 K で脱気、その後 24 時間 253.15 K で冷却しゲル化を促進させて生体ファントムとした。

(3) 音響放射圧アプリケーション

図2は作製した音響アプリケーションの外観である。中央の穴からレーザードプラ振動計のレーザー光や計測用の高周波数トランスデューサーを通して同軸で計測を行うこと

が可能であった。



図2 音響放射圧アプリケーション

図3は音場の計測結果である。焦点は 9.62 mm 付近にあり、焦点位置の法線方向の幅は 1MHz の超音波のほぼ半波長に等しいことがわかった。

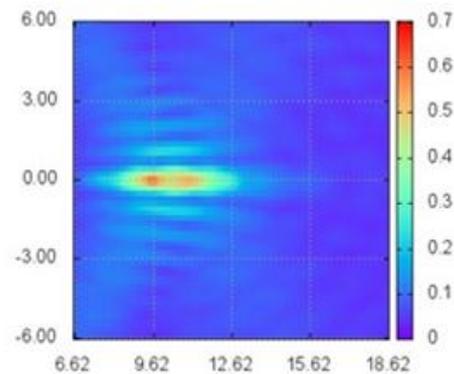


図3 音場の計測結果

(4) パルスの強度・周波数・持続時間 (パルス数) などの検討

アプリケーションに入力電圧を 10 Vpp 固定、バースト波の数を変更した際の焦点位置における音場計測結果を図4に示す。バースト波(a) 10、(b) 20、(c) 30、(d) 50 と変更した。黒線は計測した音圧の包絡線を示す。

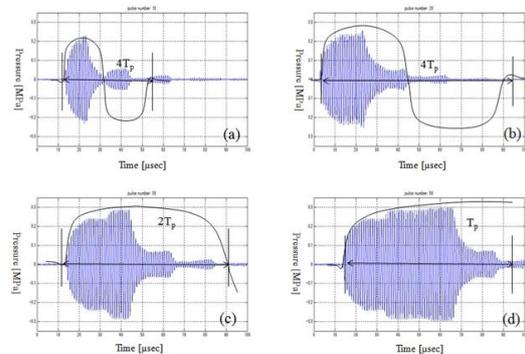


図4 焦点位置における音場

アプリケーションに ~ Vpp と変化させた際の音圧は、この範囲で入力電圧に比例していた。

(5) 受信超音波の位相差トラッキング

入力電圧 20 Vpp 、バースト継続時間 $80 \mu\text{s}$ に設定した。変位計測のトランスデューサーを固定し、PVA ゲル表面からの反射 RF 信号を取得した。取得 RF 信号から M モード画像を再構築した。この M モード画像から PVA 表面の初期位置を決定し、位相差トラッキング法を用いて変位を推定した。図 5 に推定された変位を示す。

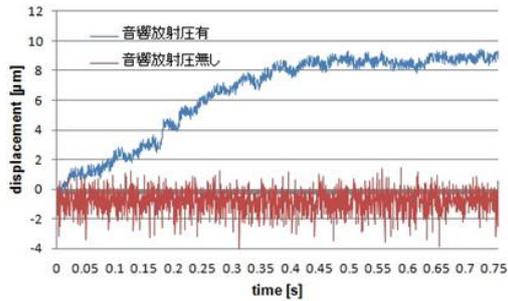


図 5 推定された変位

(6) 計測対象の粘弾性計測

以下の手順で粘弾性を計測した。

- ① PVA ゲルの深さ方向に 1000 点、X 軸に 300 点 ($50 \mu\text{m}$ 間隔) の B モード画像を作成する。作成した B モード画像を元に粘弾性の計測点を 4 点決定する。
- ② ① で決定した計測点にアプリケーション、イメージング用のトランスデューサーを挿入・固定し、音響放射圧を照射しない場合の M モード画像を作成する。
- ③ 音響放射圧を照射し、PVA ゲルに対して変位を生じさせる。
- ④ 各深さに音響放射圧照射により生じた変位の計測を行う。
- ⑤ 計測変位から相対粘弾性の推定を行う。関心部位に対しての音響放射圧照射により生じる変位と Voigt モデルより粘弾性を推定する。

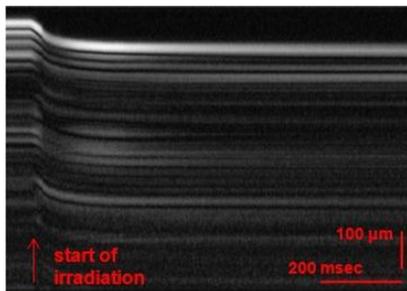


図 6 PVA の変位の M モード画像

10 wt. % PVA ゲルに音響放射圧した際の M モード画像を図 6 に示す。矢印は音響放射圧の開始時間を示し、音響放射圧により変位が生じている。

図 7(a) は推定相対弾性率、図 7(b) は推定相対粘性率である。従来の報告通り、指数関数的に弾性が増加している。

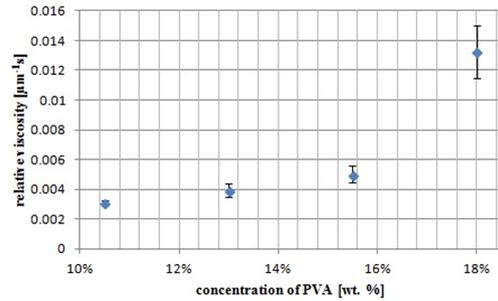


図 7(a) 推定相対弾性率

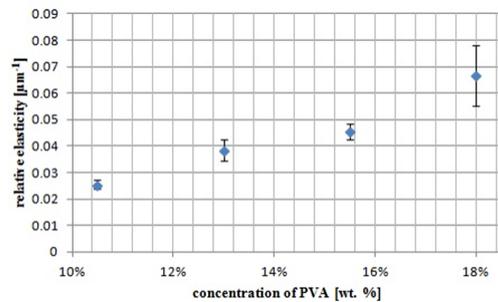


図 7(b) 推定相対粘性率

(7) 人工皮膚（ペルナック®）の粘弾性計測
人工皮膚の超音波 B モード画像を図 8 に示す。

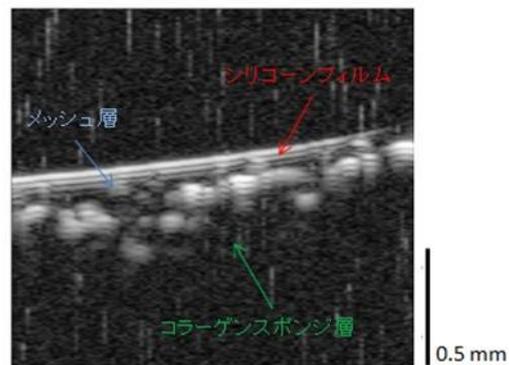


図 8 人工皮膚の B モード画像

推定された人工皮膚の粘弾性特性を図 9(a)、図 9(b) に示す。メッシュ層において、相対弾性率が非常に高値を示し、相対粘性率は非常に低値を示した。このことから、メッシュ層は固体的特性を持っていることが推測され

る。また、コラーゲン層において、相対弾性率が非常に低値であり、機械的に軟らかいと考えられる。一方で、相対粘性率は非常に高値を示し、コラーゲンが外力に対して緩衝材的な役割を有していると考えられる。

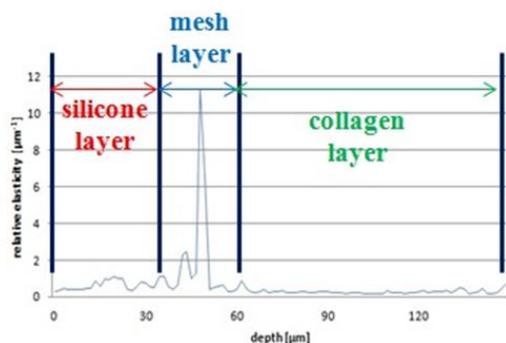


図 9 (a) 推定相対弾性率

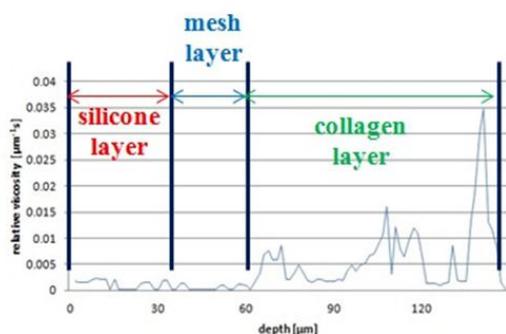


図 9 (b) 推定相対粘性率

(8)総括

本研究では、音響放射圧照射により対象に変位を生じさせ、100 MHz の高周波数超音波を用いて計測し、計測変位及び Voigt モデルにより修正粘弾性推定を行った。この手法により人工皮膚の各層における粘弾性特性を評価することが可能であった。本研究成果は、本手法を用いて非侵襲的にヒト皮膚の粘弾性特性を評価することが出来、3 層構造を有するヒト皮膚の粘弾性特性評価が可能であると考えられた。

本手法は現在まで確立していなかった皮膚の層ごとの粘弾性特性定量的評価法として有用で、皮膚科学における皮膚物性の解明の一役を担うものになると考える。また、皮膚科領域にとどまらず美容業界および化粧品業界でのエイジング評価に貢献することが期待される。

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 13 件)

① Kumagai K, Koike H, Nagaoka R,

Sakai S, Kobayashi K, Saijo Y. High-resolution ultrasound imaging of human skin in vivo by using three-dimensional ultrasound microscopy. *Ultrasound Med Biol*. 査読あり, Vol. 38, No. 10, 1833-8, 2012. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.05.012

- ② Hagiwara Y, Ando A, Onoda Y, Takemura T, Minowa T, Hanagata N, Tsuchiya M, Watanabe T, Chimoto E, Suda H, Takahashi N, Sugaya H, Saijo Y, Itoi E. Coexistence of fibrotic and chondrogenic process in the capsule of idiopathic frozen shoulders. *Osteoarthritis Cartilage*. 査読あり, Vol. 20, No. 3, 241-9, 2012. doi: 10.1016/j.joca.2011.12.008
- ③ Hagiwara Y, Saijo Y, Ando A, Onoda Y, Suda H, Chimoto E, Hatori K, Itoi E. Comparison of articular cartilage images assessed by high-frequency ultrasound microscope and scanning acoustic microscope. *Int Orthop*. 査読あり, Vol. 6, No. 1, 185-90, 2012. doi: 10.1007/s00264-011-1263-1

[学会発表] (計 66 件)

- ① Saijo Y, Nagaoka R, Kubo K. Sebaceous gland size influences viscoelasticity of the skin - Comparison of 3D ultrasound microscope imaging and biomechanical measurements. *World Congress of the International Society for Biophysics and Imaging of the Skin (ISBS)*. November 28-30 2012, Copenhagen, Denmark.
- ② 長岡亮, 和泉拓哉, 小松洋介, 小林和人, 西條芳文. 音響放射圧による PVA の微小変位の計測 - レーザードップラー法と高周波数超音波法による比較. 第 33 回超音波エレクトロニクス基礎と応用に関するシンポジウム, 2012 年 11 月 13~15 日, 千葉.
- ③ Saijo Y. Application of acoustic microscopy for prostate biopsy tissues. *Key Note Lecture, 8th International Symposium on Ultrasonic Biomedical Microscanning*, St- Paulin, Quebec, Canada, September 24-27, 2012.
- ④ Saijo Y. Recent development on biomedical acoustic microscopy. *International Conference on Sensing, Imaging and Signal Processing*. July 18-20, 2012, Santa Barbara, CA, USA.
- ⑤ 長岡亮, 西條芳文, 和泉拓哉, 久保聖乃, 小島貴則, 工藤千奈, 小林和人. 高周波数超音波による人工皮膚の弾性計測. 日

本超音波医学会第 85 回学術集会、2012 年 5 月 25～27 日、東京。

- ⑥ Saijo Y. High resolution biomedical imaging - Multimodal ultrasound microscope and combination with optics. Invited Paper in The Acoustics 2012 Hong Kong conference consisting a joint meeting of the 163rd meeting of the Acoustical Society of America (ASA), the 8th meeting of the Acoustical Society of China (ASC), the 11th Western Pacific Acoustics Conference (WESPAC) and the Hong Kong Institute of Acoustics (HKIOA) organized by the Hong Kong Institute of Acoustics, May 13 - 18, 2012, Hong Kong, China.
- ⑦ Saijo Y. Evaluation of tissue components, biomechanics and blood flow by high frequency ultrasound. Invited Lecture in American Institute of Ultrasound in Medicine (AIUM) 2012 Annual Convention, March 29 - April 1, 2012, Phoenix, AZ, USA.

[図書] (計 3 件)

- ① Saijo Y., Koike H, Izumi T, Miida Y, Matsuura Y, Hozumi N. Color dependence of photoacoustic micro imaging. Andrzej Nowicki, Jerzy Litniewski, Tamara Kujawska eds. Acoustical Imaging Vol 31, Springer, 323-330, 2012.
- ② Saijo Y. Clinical applications of ultrasonic nondestructive evaluation. Tribikram Kundu ed. Ultrasonic and Electromagnetic NDE for Structure and Material Characterization: Engineering and Biomedical Applications CRC Press, 740-770, 2012.
- ③ Saijo Y. Biomedical application of multimodal ultrasound microscope. Jinlong Wu ed. Technological Advancements in Biomedicine for Healthcare Applications, IGI Global, 27-35, 2012.

[その他]

西條研究室

<http://www.ecei.tohoku.ac.jp/imaging/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

西條 芳文 (SAIJO YOSHIFUMI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号：00292277

(2)研究分担者

金井 浩 (KANAI HIROSHI)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：10185895

穂積 直裕 (HOZUMI NAOHIRO)

豊橋技術科学大学・工学教育国際協力研究センター・教授

研究者番号：30314090