

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18785

研究課題名（和文）中赤外光を用いた光超音波ハイパースペクトラルイメージング

研究課題名（英文）Photoacoustic hyperspectral imaging using mid-infrared light detecting ultrasound

研究代表者

松浦 祐司（Matsuura, Yuji）

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：10241530

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：パルス変調した中赤外光を生体組織に照射した際に、組織内部で発生する超音波を検出することにより、生体分子の成分イメージングを行うことを目的とした。まず牛肉片を試料とし、筋肉と脂肪成分に応じた画像の取得に成功した。次に脳腫瘍などのマーカーとされる2HGに着目し、2HGを添加したブタ脳のイメージングを行ったが、現状では判別可能な濃度は5%程度と通常の脳内濃度の10倍以上の値となっており、今後はさらなる感度向上が必要とされる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近赤外レーザーを用いて行われている光音響イメージングを中赤外レーザーを用いて行うには高価かつ大型のレーザーを必要とするが、本研究の手法ではQCLを用いることにより小型かつ安価なシステムを構成でき、非接触での腫瘍イメージングなどへの応用が期待できる。また中赤外レーザーパルス光照射により生成される超音波発生メカニズム自体が未解明な点が多いうえ、それを生体組織分光に応用しようとする報告はこれまでなく、学術的な意義も高い。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to perform imaging of biomolecular components by detecting ultrasonic waves generated inside biological tissues when pulse-modulated mid-infrared light is irradiated to the tissues. First, using a piece of beef as a sample, we succeeded in acquiring images according to the muscle and fat components. Next, we focused on 2HG, which is considered to be a marker of brain tumors, and performed imaging of porcine brain with 2HG added.

研究分野：医用光工学

キーワード：光音響分光法 中赤外光 スペクトラルイメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍のイメージングには、詳細な成分分析が可能な赤外分光イメージングが有効であるが、従来のフーリエ変換赤外分光器 (FTIR) を用いた減衰全反射 (ATR) イメージングはプリズムを試料に接触させる必要があるために広範囲のイメージングは難しかった。また ATR 法における中赤外光の生体への光の侵入長は数 $\mu\text{m}$  以下であり、角質で覆われた皮膚下の分析は困難である。一方、従来の ATR 顕微鏡は大型かつ高価であったため、臨床応用への普及は難しかった。一方、近赤外レーザを用いて行われている光音響イメージングを中赤外レーザを用いて行うには高価かつ大型のレーザを必要としていた。このような背景のもと、i) 非接触での中赤外分光イメージング、ii) 皮下組織のイメージング、iii) 小型かつ安価なイメージングシステム、が必要とされていた。

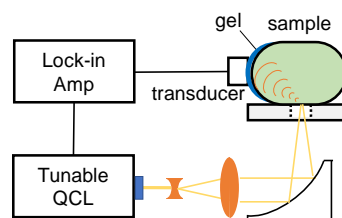
### 2. 研究の目的

本研究はパルス変調した中赤外光を生体組織に照射した際に、組織内部で発生する超音波を検出することにより、生体分子のスペクトル情報と、ビームスキャンによる面内構造情報の両方を含むハイパースペクトル画像を得る手法のフィジビリティスタディーを行うことを目的とした。開発対象となるシステムでは、生体組織の指紋領域である波長 8–10  $\mu\text{m}$  の量子カスケードレーザ (QCL) を光源とし、これをパルス変調した光をサンプルに照射する。光が生体組織で吸収される際の熱弾性変形によって超音波が発生し、それを光照射位置から離れた位置に設置した超音波プローブで検出する。ひとつの照射点で波長掃引を行うことによりスペクトル情報を得たのちに、照射点を移動させ面内スキャンを行い、ハイパースペクトル画像を取得する。

従来の FTIR を用いた ATR 法とは異なり、非接触で光を照射することができるため、生体試料の前処理を必要とせず、インビボでの画像取得も可能である。また超音波は光と比較して生体内部での散乱が 2~3 桁小さく、測定可能な深さは光の侵入長にのみ依存し、中赤外光では数十  $\mu\text{m}$  と ATR 法の 10 倍程度となり、角質下の組織の成分分析が可能となる。そして超音波は組織内部をわずかな減衰で伝搬するため、光の照射位置から離れた位置に超音波プローブを接触させた状態で、照射光のみを走査して画像が取得でき、走査部の接触によるサンプルへの影響を避けることが可能である。さらに提案するシステムは手掌サイズのレーザ光源を用いているため、小型かつ安価なシステムの構築が期待できる。そのため、本システムは将来的には皮膚がんなどの腫瘍の非侵襲診断や、手術中の対象部位のその場診断などへの応用が期待される。

### 3. 研究の方法

右図に構成を示す装置を用いて、生体組織のスペクトル取得を行う。光源としては波長 8–10  $\mu\text{m}$  で発振する波長可変 QCL を使用し、試料内部で発生した超音波は、サンプル表面に押し付けた圧電セラミクス (PZT) トランスデューサで検出し、ロックインアンプで光源の変調信号に同期させて増幅する。得られた分光スペクトルについて、ATR 法や音波検出型の光音響分光 (PAS) 法によって得られたスペクトルと比較し、超音波発生メカニズムを解明するとともに、スペクトルと光学吸収特性との関連付けを行った。

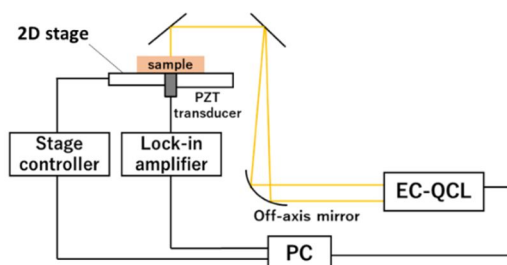


次に励起用の中赤外レーザ光を 2 次元的に走査するシステムを構築し、生体組織のハイパースペクトル画像の取得を試みる。まずは牛肉片を試料とし、あらかじめ測定した筋肉と脂肪の標準試料のスペクトルを用い、試料の測定点ごとの成分を判別分析することにより、成分に応じた画像の取得を試みた。その後、脳腫瘍などのイソクエン酸脱水素酵素 (IDH) に変異を有するがん細胞で特異的に産生される 2 ヒドロキシグルタル酸 (2HG) のイメージングについて検討する。まず 2HG 水溶液の光音響スペクトルを計測し、それをもとに部分的に 2HG を添加したブタ脳のイメージングを試みた。

### 4. 研究成果

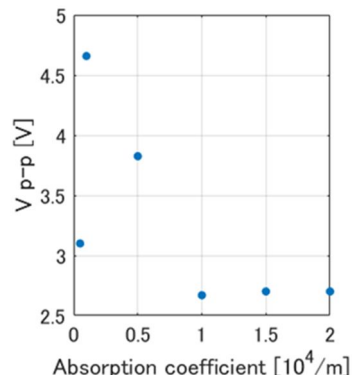
#### 測定系およびシミュレーション結果

構築した測定系の概略を右図に示す。光源には、波長 8.3–10.8  $\mu\text{m}$  の範囲で波長可変な QCL を用い、試料中で発生した超音波を、試料背面に配置した圧電トランスデューサにより検出した。パルス幅は 200 ns、最大平均パワーは 15 mW 程度である。QCL を使用することによって従来の中赤外光音響イメージングの光源として用いられる光源より約 10 分の 1 程度の小型化、5 分の 1 程度の低コスト化を行っている。



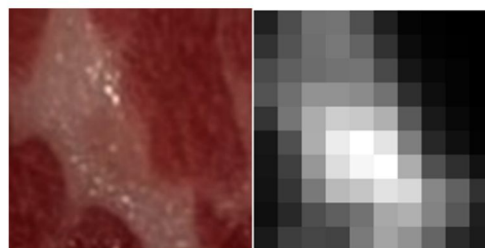
なお、本手法においては得られるスペクトルの形状が吸収スペクトルに対しておおそ反転

したものとなる傾向がある．そこで，本研究では COMSOL Multiphysics を用いたシミュレーションも行った．シミュレーションでは 1 mm の厚みを持った高分子試料に 500 kHz のレーザ光を照射すると設定した．右図にシミュレーションの結果を示すとおり，信号強度は，吸光度の上昇に対して負の関係性を持ち，ごく大きい範囲では飽和することがわかった．吸光度が極めて大きい試料に対しては，試料のごく表面でのみ光が吸収される．このような場合，温度上昇も表面で発生し，応力の発生源から検出器までの物理的な距離が増加し，試料内で応力の減衰が起こる．このため吸光度に対する信号の反転が見られると推測される．



### 牛肉試料の測定

生体試料におけるイメージングの可能性を調べるために，牛肉片内における筋肉部位と脂肪部位を判別することを試みた．機械学習の一種であるサポートベクターマシーン(SVM)を用いて学習と分類判別を行い，最も判別率の高い 2 波長である  $1040\text{ cm}^{-1}$  と  $1090\text{ cm}^{-1}$  を用いてイメージングを行なった結果を右図に示す．測定範囲は 5 mm 角であり，1 ステップ  $500\text{ }\mu\text{m}$  として走査した．この結果から脂質と筋肉が複雑に混合した試料においても判別が可能であることがわかった．

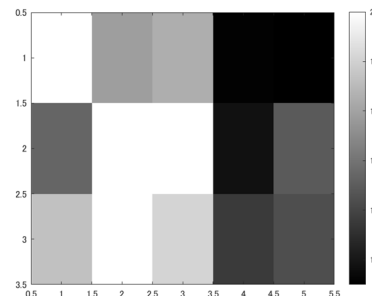


一 牛肉片の可視像(左)とイメージング結果(右)

### 脳腫瘍バイオマーカーの測定

脳腫瘍バイオマーカーとして 2-HydroxyGlutarate (2HG) を用いた測定を行なった．2HG は悪性腫瘍特性が極めて高く，中赤外領域に複数のピークを持つ．実際にヒトの脳腫瘍片を FTIR-ATR 法によって測定した際に 2HG のピークが複数確認された報告もあり，2HG を基準とした悪性腫瘍判別が期待できる．まず本手法を用いて 2HG 水溶液の測定を行なうと， $1100\text{ cm}^{-1}$  周辺に大きなピークを持つことがわかった．さらに，HG を混合させたブタの脳試料を模擬脳腫瘍試料として測定を行ない，生体試料内での 2HG 検出が可能であることがわかった．一方で，ブタの脳は生体組織の複雑さや本手法における吸収係数との非線形性から安定したスペクトルを取得することが難しい．このため，イメージングを行なうには測定条件の検討が必要であった．そこで，これまで測定に用いてきた繰り返し周波数 500 kHz から周波数を変化させることで安定な測定を試みた結果，適切な測定周波数として 700 kHz を採用した．

イメージングは，測定したスペクトル領域のうち，2HG の吸収帯域に相当する  $1080\text{--}1110\text{ cm}^{-1}$  におけるピーク面積値をベースライン処理を行ったうえで計算し，それによって評価した．2HG が 5% 含まれたブタ試料を左側に配置した試料内の  $5\text{ mm} \times 3\text{ mm}$  の領域を 1 ステップあたり 1 mm で測定した結果を右図に示す．試料左側が明るく反応していることがわかり，2HG の生体内イメージングの可能性が示された．



以上のように本研究では，簡易な測定系でリアルタイムかつその場計測が可能な超音波検出型光音響法による生体イメージングについて検討した．中赤外光を試料に照射した際に試料中に発生する超音波を圧電トランスデューサで直接検出することで，生体模擬試料や生体試料の分光分析を試みた．牛肉片のイメージングを行ない，本手法のイメージングデバイスとしての有用性を示した．また，脳腫瘍のバイオマーカーとして 2HG に着目し，脳腫瘍における悪性腫瘍検出への有用性が示唆された．

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5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 4件）

1. 著者名 木野彩子, 松浦祐司	4. 巻 48
2. 論文標題 赤外分光法による無侵襲血中脂質分析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 52-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Matsuura	4. 巻 202203
2. 論文標題 Healthcare-monitoring systems using mid-infrared light	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Photonics Review	6. 最初と最後の頁 202203-1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11470/photo.220203	査読の有無 無
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 Maeno Masanobu, Kino Saiko, Matsuura Yuji	4. 巻 62
2. 論文標題 Mid-infrared photoacoustic spectroscopy using a quantum cascade laser for non-invasive blood component analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 072001 ~ 072001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1347-4065/ace0a8	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 Sasaki Ryota, Kino Saiko, Matsuura Yuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Mid-infrared photoacoustic spectroscopy based on ultrasound detection for blood component analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedical Optics Express	6. 最初と最後の頁 3841 ~ 3841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/BOE.494615	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 Kino Saiko, Kanamori Masayuki, Shimoda Yoshiteru, Niizuma Kuniyasu, Endo Hidenori, Matsuura Yuji	4. 巻 24
2. 論文標題 Distinguishing IDH mutation status in gliomas using FTIR-ATR spectra of peripheral blood plasma indicating clear traces of protein amyloid aggregation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-024-11970-y	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14件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 R. Sasaki, S. Kino, Y. Matsuura
2. 発表標題 Biological Tissue Analysis by Mid-infrared Photoacoustic Spectroscopy Using Piezoelectric Transducer
3. 学会等名 CLEO/Pacific Rim '22 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 R. Sasaki, S. Kino, Y. Matsuura
2. 発表標題 Mid-infrared photoacoustic spectroscopy using piezoelectric transducer
3. 学会等名 SPIE Photonics West 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木亮太, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 中赤外光超音波 分光法による生体分析における感度向上の検討
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中望実, 松浦祐司
2. 発表標題 超音波トランスデューサを用いた光音響分光法による生体成分イメージングの試み
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中望実, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 超音波検出に基づく中赤外光音響分光法を用いたハイパースペクトルイメージングの試み
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第43回年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木亮太, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 中赤外光超音波分光法によるヒト生体試料の測定の試み
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第43回年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 N.Tanaka, R.Sasaki, S.Kino, Y. Matsuura
2. 発表標題 Mid-infrared photoacoustic spectral imaging based on ultrasound detection
3. 学会等名 ical Imaging and Optical Sensing Conference (BISC) 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 H. Ito, S. Kino, Y. Matsuura
2. 発表標題 Mid-infrared Photothermal Deflection Spectroscopy System for Non-Invasive Blood Component Analysis
3. 学会等名 Biomedical Imaging and Optical Sensing Conference (BISC) 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Y. Matsuura
2. 発表標題 Healthcare monitoring systems using mid-infrared and deep ultraviolet spectroscopy
3. 学会等名 SPIE Photonics West 2024 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 田中望実, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 中赤外光音響分光法によるスペクトルイメージング-脳腫瘍バイオマーカー検出の試み
3. 学会等名 2023年第84回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中望実, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 量子カスケードレーザーを用いた中赤外領域における生体光音響イメージング
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第44回年次大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 保坂春樹, 木野彩子, 金森政之, 松浦祐司
2. 発表標題 血漿ATRスペクトルの部分最小二乗判別分析による脳腫瘍判別の試み
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第44回年次大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 相場希衣子, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 超音波検出型中赤外光音響分光法による血中成分分析
3. 学会等名 第71回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 田中望実, 木野彩子, 松浦祐司
2. 発表標題 中赤外光音響分光法による脳腫瘍バイオマーカーイメージングの試み
3. 学会等名 第71回応用物理学会春季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔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	木野 彩子  (Saiko Kino)  (30536082)	東北大学・医工学研究科・学術研究員   (11301)	

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
---------	---------