

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500525

研究課題名(和文) 深部小血管評価のための回折制御光音響イメージング

研究課題名(英文) Diffraction-free photoacoustic imaging to visualize small vessels in deep tissues

研究代表者

山岡 禎久 (Yamaoka, Yoshihisa)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80405274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：近年、深部血管走行評価のための手法として、光音響イメージングに注目が集まっている。本研究の目的は、光励起手法を改良することにより、光音響イメージングの高度化(高コントラスト、高空間分解能、高深達距離)を行うことである。今回得られた知見(1光子光音響波はパルス幅が変化してもその信号強度は一定であるが、2光子光音響波はパルス幅が狭くなると信号が増強する)から、我々はパルス幅の異なる2つの超短光パルスを用いた光音響画像差分法を提案し、断面方向に空間分解能、コントラストの高い光音響像の取得が可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：Recently, photoacoustic imaging has attracted attention to visualize small vessels in deep tissues. The objective of this study is to improve the spatial resolution, penetration depth, and image contrast in photoacoustic imaging with improved light illumination. Based on our observations in this study (the one-photon photoacoustic signal was constant in spite of the pulse duration, though the two-photon photoacoustic signal was increased with decrease in pulse duration), we proposed a subtraction method employing two images obtained by ultrashort pulses with two different pulse durations to extract the two-photon photoacoustic signals. The subtraction method enables us to visualize cross-sectional images with high spatial resolution and high contrast.

研究分野：人間医工学

科研費の分科・細目：生体医工学・生体材料学

キーワード：光音響イメージング 生体深部イメージング 血管イメージング

1. 研究開始当初の背景

MRI、CT、超音波エコーはヒトの組織や臓器のような生体深部を生きたまま見る方法として、医療の現場で頻りに使われ威力を発揮しているが、それらの方法の空間分解能は低く、ミリメートルオーダーである。一方、光を使った生体計測が近年注目されており、光コヒーレンス断層映像法(OCT)に代表される医療への応用が発展してきている。光を使うと非常に高い空間分解能、高コントラストで測定が可能であるが、光は生体により散乱、吸収されやすいという性質を持ち、生体深部の観察が難しいという欠点がある。このため、OCTの応用は血管内膜のように厚さが薄いもの、あるいは眼など比較的透明なものに限られる。つまり、末梢血管のような10から100マイクロメートルの大きさのものに関して、生体深部で捉える方法がないのが現状である。

この問題を解決するため我々は、光音響イメージングに注目し、その生体イメージングへの応用について研究してきた(図1)。なかでも分解能を上げるため、光音響イメージングと多光子励起を組み合わせた全く新しいイメージング技術を開発した[1-5]。その際、周波数フィルタリングを融合させ、より高コントラストのイメージングを測定することに成功している(図2)。

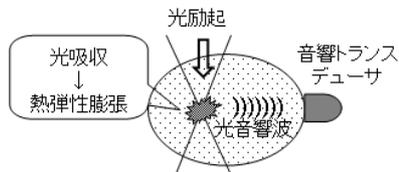


図1 光音響イメージングの原理

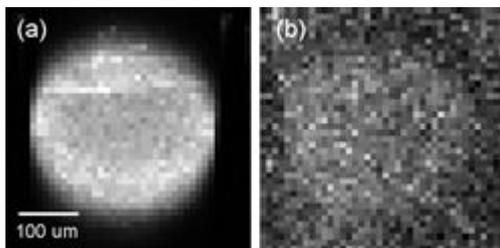


図2 ローダミンB溶液で満たされたシリコンチューブ断面の多光子励起光音響イメージング

(a) 周波数フィルタリングあり (b) 周波数フィルタリングなし

[1] Yamaoka Y et al, Proc. SPIE 7564, 756420 (2010). [2] 特願 2009 - 196237. [3] Yamaoka Y et al, Proc. SPIE 7177, 71772A (2009). [4] 特願 2007 - 556801. [5] Yamaoka Y et al, Proc. SPIE 6631, 663102 (2007).

2. 研究の目的

再生医療における血管新生評価のためには、10 から 100 マイクロメートル、深さ数ミリメートルの小血管構造を捉えることが不可欠である。しかしながら、現在の医療現場には、そのような生体深部を高空間分解能で観察する方法は存在しない。本研究の目的は、そのような小血管構造評価ために、光音響イメージング技術に注目し、光励起手法、光音響波検出手法の改良によって光音響像のコントラスト、光音響波の検出感度、空間分解能、深達距離などの性能を向上させることである。光励起手法として、回折制御ビーム(例えば、ベッセルビーム)の利用による深達距離向上や、様々な特性を有する光パルスから発生する光音響波を比較することにより、光音響波発生最適化を目指す。光音響波検出に関しては、光音響波の周波数フィルタリングの利用を提案する。光音響波の周波数は、光の吸収量や対象の構造によって変化するので、周波数解析によって血管構造や機能を選択的に検出できるのではないかと考えた。

3. 研究の方法

光励起手法の改良のために、フェムト秒、ピコ秒領域におけるパルス幅可変のパルスレーザー (IFRIT、CyberLasers、パルス幅 200fs ~ 7ps、波長 800nm) 及びサブナノ秒マイクロチップパルスレーザー (SNP-13E、Teem Photonics、パルス幅 600ps、波長 1064nm)、フラッシュランプ励起ナノ秒パルスレーザー (Minilite、Continuum、パルス幅 3-5ns、波長 1064nm) を用い、励起光源のパルス幅がどのように光音響信号や得られるイメージに影響するのかを調べた。また、光音響波検出手法の改良のために、発生する光音響波の周波数特性を生体ファントム及び実際の生体に対して調べ、構造選択的な光音響波の検出が可能かどうかを調べた。

4. 研究成果

本研究における主要な研究成果について説明する。光励起手法の最適化のために、1光子励起と2光子励起による光音響波のパルス幅依存性(フェムト秒からナノ秒まで)を調べた結果、200fsから5psの範囲において、1光子光音響波はパルス幅に対して変化しないが、2光子光音響波はパルス幅が狭くなると光音響波が大きくなること分かった(図3)。その知見から、パルス幅の違う2つの超短光パルスを利用した画像差分法を提案し、断面方向のイメージコントラストの向上を示した[6]。また、光音響波の周波数フィルタリングの方法を実際の生体に適用し、その有効性を示した。具体的には、ラット精巣内血管に対して1064 nmの励起、周波数フィルタリングの効果を用いた光音響イメージングを行った。図は精巣動脈、静脈を結紮し精

巢を取り出した後、精巣内に存在する血管をイメージしたものである。左図は低周波成分（1~3 MHz）を用いて画像化したもの、右図は高周波成分（3~11 MHz）を用いて画像化したものである。上図はx-y平面像、下図は断面像を表している。これらから、深さ分解能が高周波成分を用いることによって向上しているのがわかる。これは、高周波成分によって2光子励起の光音響波を効率よく検出しているためであると考えた。

アキシコンを利用した回折制御ビームによる光励起手法の改良に関しては、まだ十分な結果が得られていないため、今後も継続して研究を行っていく予定である。

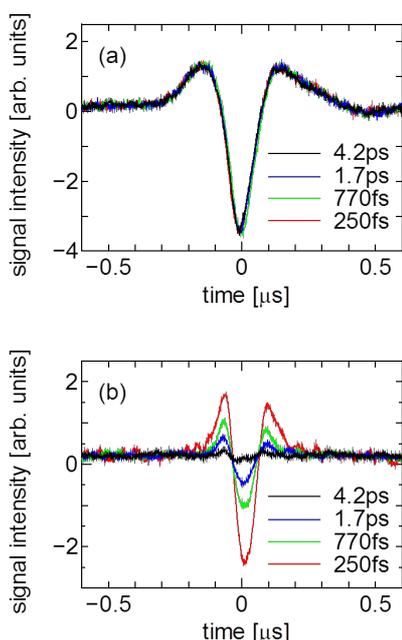


図3 (a) 1光子光音響波の励起パルス幅依存性。(b) 2光子光音響波の励起パルス幅依存性。

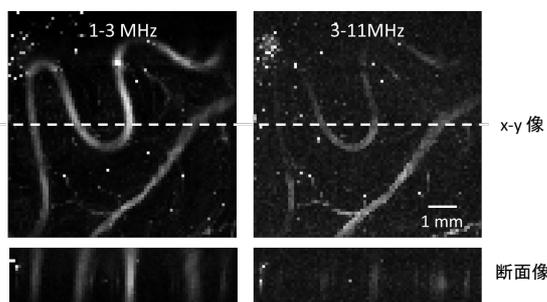


図4 ラット精巣血管の光音響イメージング。周波数フィルタリング依存性[7]。

[6] Yamaoka Y, et al, Opt Express, in press.
 [7] 山岡, 高松, 日本レーザー医学会誌 34, 386-391, 2013.

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8件)

Yamaoka Y, Harada Y, Sakakura M, Minamikawa T, Nishino S, Maehara S, Hamano S, Tanaka H, Takamatsu T, Photoacoustic microscopy using ultrashort pulses with two different pulse durations, Opt Express, in press. 査読あり.

Yamaoka Y, Harada Y, Nishino S, Maehara S, Hamano S, Takamatsu T, Improvement of signal detection selectivity and efficiency in two-photon absorption-induced photoacoustic microscopy, Proc SPIE 8943, 89433C, 2014. 査読あり. DOI:10.1117/12.2039323.

山岡禎久, 高松哲郎, 2光子励起を組み合わせた光音響顕微鏡の高空間分解能化, バイオインダストリー2014年7月号, 2014. 査読なし.

Nakano K, Harada Y, Yamaoka Y, Miyawaki K, Imaizumi K, Takaoka H, Nakaoka M, Wakabayashi N, Yoshikawa T, Takamatsu T, Precise analysis of the autofluorescence characteristics of rat colon under UVA and violet light, Curr Pharm Biotechnol 14, 172-179, 2013. 査読あり. DOI: 10.2174/10172.

山岡禎久, 高松哲郎, 非線形光学現象を利用した光音響顕微鏡の開発, 日本レーザー医学会誌 34, 386-391, 2013. 査読あり.

山岡禎久, 高松哲郎, 医療応用へ向けた光音響イメージングの開発, 京都府立医科大学雑誌 122, 219-229, 2013. 査読なし.

Yamaoka Y, Nambu M, Takamatsu T, Fine depth resolution of two-photon absorption-induced photoacoustic microscopy using low-frequency bandpass filtering, Opt Express 19, 13365-13377, 2011. 査読あり. DOI: 10.1364/OE.19.013365.

山岡禎久, 高松哲郎, 生体深部観察へ向けた2光子励起光音響顕微鏡の開発, オプトロニクス 30, 121-125, 2011. 査読なし.

〔学会発表〕(計22件)

山岡禎久, 原田義規, 坂倉政明, 南川丈夫, 西埜繁, 前原正司, 浜野修次郎, 高松哲郎, パルス幅可変超短パルスレーザーを用いた光音響イメージングの信号発生高効率化の検討, 第53回生体医工学会大会, 2014年6月24日~2014年6月26日, 仙台.

山岡禎久, 原田義規, 西埜繁, 前原正司, 浜野修次郎, 高松哲郎, 生体深部可視化へ向けた2光子励起光音響顕微鏡

の高感度化, 日本超音波医学会第 87 回
学術集会, 2014 年 5 月 9 日 ~ 2014 年 5
月 11 日, 横浜.

山岡禎久, 原田義規, 西埜繁, 前原正
司, 浜野修次郎, 高松哲郎, 単一フェ
ムト秒光パルスによる光音響波を用い
た 2 光子励起光音響顕微鏡, 第 61 回応
用物理学学会春季学術講演会, 2014 年 3
月 17 日 ~ 2014 年 3 月 20 日, 東京.

Yamaoka Y, Harada Y, Nishino S,
Maehara S, Hamano S, Takamatsu T,
Improvement of signal detection
selectivity and efficiency in
two-photon absorption-induced
photoacoustic microscopy, Photonics
West 2014, 2014 年 2 月 1 日 ~ 2014 年 2
月 6 日, サンフランシスコ.

山岡禎久, 原田義規, 西埜繁, 前原正
司, 浜野修次郎, 高松哲郎, フェムト
秒光パルスを用いた 2 光子励起光音響顕
微鏡, 第 3 回光超音波画像研究会, 2013
年 12 月 6 日, 京都.

山岡禎久, 高松哲郎, 光音響効果と非
線形光学を利用した 3 次元イメージング,
Optics and Photonics Japan 2013 (招
待講演), 2013 年 11 月 12 日 ~ 2013 年
11 月 14 日, 奈良.

Yamaoka Y, Takamatsu T,
High-resolution photoacoustic
imaging for visualizing deep tissues
and its application to medicine,
Optics and Photonics Japan 2013 (招
待講演), 2013 年 11 月 12 日 ~ 2013 年
11 月 14 日, 奈良.

山岡禎久, 原田義規, 高松哲郎, がん
の無侵襲深達度評価を目指した光音響
顕微鏡, 第 54 回日本組織細胞化学会総
会・学術集会, 2013 年 9 月 27 日 ~ 2013
年 9 月 28 日, 東京.

山岡禎久, 超短パルスレーザーのバイ
オイメージングへの応用, 京都光技術
研究会 第 6 回光モノづくりセミナー
(招待講演), 2013 年 9 月 25 日, 京都.

山岡禎久, 光と超音波を融合させた光
音響イメージング ~ 組織深部診断を
目指して ~, レーザーバイオ医療技術
専門委員会 (招待講演), 2013 年 8 月
30 日, 仙台.

山岡禎久, 光と超音波を融合したベッ
ドサイド組織診断装置の開発, 第 1 回次
世代医療システム産業化フォーラム
2013 (招待講演), 2013 年 5 月 24 日, 大
阪.

山岡禎久, 羽室淳爾, 優れた空間分解
能を有するポータブル光音響診断装置,
JST 推薦シーズ新技術説明会, 2013 年 2
月 25 日, 東京.

山岡禎久, 高松哲郎, 2 光子励起による
光音響顕微鏡高空間分解能化, 光超音
波 (光音響) 画像研究会 第 1 回集会,

2012 年 11 月 26 日, 京都.

山岡禎久, 高松哲郎, 生体深部観察を
目指した 2 光子励起光音響イメージング,
京都産学公連携フォーラム 2012, 2012
年 11 月 15 日, 京都.

Yamaoka Y, Harada Y, Takamatsu T,
Photoacoustic microscopy with
two-photon absorption by femtosecond,
sub-nanosecond, and nanosecond pulse
lasers, JSAP-OSA Joint Symposia (The
73rd Japan Society of Applied Physics
Autumn Meeting), 2012 年 9 月 11 日 ~
2012 年 9 月 14 日, 松山.

Yamaoka Y, Harada Y, Takamatsu T,
Two-photon absorption-induced
photoacoustic microscopy (TP-PAM)
using infrared pulse laser to
investigate small vascular structures
in living tissues, 14th International
Congress of Histochemistry and
Cytochemistry, 2012 年 8 月 26 日 ~ 2012
年 8 月 29 日, 京都.

山岡禎久, 高松哲郎, 小血管構造評価
を目指した 2 光子励起光音響イメージ
ング, 第 48 回日本小児循環器学会総会 (招
待講演), 2012 年 7 月 5 日 ~ 2012 年 7
月 7 日, 京都.

山岡禎久, 原田義規, 高松哲郎, 近赤
外フェムト秒パルスレーザーによる 2 光
子励起光音響イメージングの検討, 第
51 回日本生体医工学会, 2012 年 5 月 10
日 ~ 2012 年 5 月 12 日, 福岡.

Yamaoka Y, Harada Y, Takamatsu T,
Improvement of depth resolution in
photoacoustic microscopy using
two-photon excitation and acoustic
frequency filtering, Focus on
Microscopy 2012, 2012 年 4 月 1 日 ~ 2012
年 4 月 4 日, シンガポール.

山岡禎久, 高松哲郎, 生体深部観察の
ための光音響イメージング空間分解能
向上, 第 123 回微小光学研究会「超精密
微小光学」, 2012 年 3 月 1 日, 東京.

②1 山岡禎久, 高松哲郎, 変調フェムト秒
光パルス列を用いた光音響イメージ
ング, 第 72 回秋季応用物理学学会学術講演
会, 2011 年 9 月 2 日, 山形.

②2 山岡禎久, 南部美佳, 高松哲郎, 光学
分解能を持つ低周波光音響波を用いた
多光子励起光音響イメージング, 第 50
回日本生体医工学会大会, 2011 年 5 月 1
日, 東京.

〔図書〕(計 1 件)

山岡禎久, 高松哲郎 (分担執筆), ライ
フサイエンス顕微鏡学ハンドブック (山
科正平、高田邦明編), 朝倉書店, 2013,
総ページ数 5 ページ.

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：光音響画像撮影装置及び光音響画像撮影方法

発明者：山岡禎久、高松哲郎、浜野修次郎、前原正司、西埜繁

権利者：京都府公立大学法人、寺崎電気産業株式会社

種類：特願

番号：2014 - 084847

出願年月日：2014 年 4 月 16 日

国内外の別： 国内

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山岡 禎久 (YAMAOKA, Yoshihisa)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：80405274