

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 30 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26820155

研究課題名(和文)多波長ホログラフィック高精細生体断層撮像装置の開発

研究課題名(英文)Development of high definition multi-wavelength holographic tomography for biological measurement

研究代表者

崔 森悦 (Samuel, Choi)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：60568418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体内のナノ精度の高精度断層撮像を目指し、医工連携によって多波長ホログラフィック高精細OCTの基板技術の開発を行った。多波長ホログラフィック干渉の原理を発展させた「en-face多波長走査型コヒーレンストモグラフィ装置」を開発し、分解能2.5 $\mu\text{m}$ で生体試料の3次元断層計測を可能にした。また、顕微画像の視野範囲内の振動を一括に計測できる技術として「広視野ヘテロダイン振動計測法」を開発した。これら二つの基盤技術によって生体断層計測と同時に1kHzの生体組織内部の微小振動を十数nm精度で計測することができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, aiming for a high-precision tomographic imaging with nm precision in biological tissues, multi-wavelength holographic high-definition optical coherence tomography technique was developed through medical-engineering cooperation. The "en-face multi-frequency swept OCT" was produced as a practical method of evolutionary principle of multi-wavelength holographic interferometry, which allowed three-dimensional tomographic measurement of biological samples with a resolution of 2.5 micrometer. In addition, we have developed the "wide-field heterodyne interference vibrometry" as a technology that can obtain spatial vibrational distributions within the field of view of the microscope image. The combination of these two basic technologies were able to measure tomographic images and minute vibrations of interior surfaces in a thick bio-tissue at 10 kHz with nm accuracy.

研究分野：光エレクトロニクス

キーワード：光コヒーレンストモグラフィ 光生体計測 光エレクトロニクス

1. 研究開始当初の背景

近年、3Dプリンターや3Dディスプレイなどバーチャルリアリティー産業を支える3次元技術が注目されている。医学・バイオ分野においても例外ではなく、生命現象の解明には、生体組織内を3次元で捉える必要性が高まっている。これまで、体内3次元断層計測技術として光コヒーレンストモグラフィ(Optical Coherence Tomography: OCT)が実用化されているが、生体内散乱光の影響によりナノレベルの生理機能を直接可視化するには至っていない。本研究は医学系内耳聴覚研究グループとの連携により、散乱光を最小化する多波長ホログラフィーを用いた高精細(High Definition:HD)OCTを開発し、未到のナノレベル生体振動の三次元的な可視化を可能にし、医工学領域への飛躍的展開に寄与することを目指した。

2. 研究の目的

本研究は、生体組織(特に、内耳蝸牛内の基底板)の内部構造のOCT計測と振動計測が同時に可能な装置のプロトタイプを開発をもって技術移転の可能性が見出されたとする。具体的には、数nm精度のフルフィールド計測が可能なOCT及び広視野でkHz級の微小振動計測が可能な光計測イメージング装置の開発を行う。これら「多波長走査型OCT技術」及び「正弦波位相変調ヘテロダイン技術」の特許申請を計画し、知的財産権として確保する。

3. 研究の方法

本研究では、図1に示す光コム(多波長広帯域光源)を用いた多波長光ホログラフィック・トモグラフィ装置を構築する。

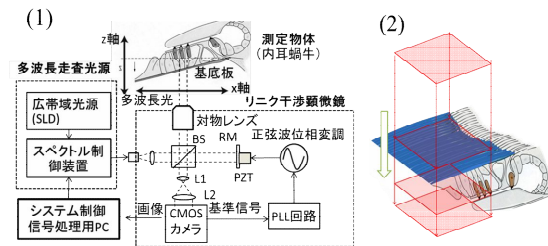


図1 本研究で開発する装置概要、(1)多波長ホログラフィック・トモグラフィ装置、(2)フルフィールド計測の様子

先行研究において既に研究代表者は Super luminescent diode (SLD)を光源とする実験室レベルでの基礎的な研究成果は達成した。先行研究で開発した装置の性能は、測定分解能 10 $\mu$ m、測定精度 10nm、検出可能振動は 1kHz (@ 100 nm 振幅)であった。

性能目標の達成のために、より広帯域な SLD またはスーパーコンティニウム(SC)光源及び高性能の干渉計測顕微鏡を導入する。より実践的な装置を開発するため、当初提案した多波長ホログラフィック干渉の原

理を発展させた「en-face 多波長走査型コヒーレンストモグラフィ装置」を開発し、分解能数 $\mu$ mで生体試料の3次元断層計測を可能にする。本研究は医学系研究者との共同研究で行い、光学顕微鏡への実装と生体試料の計測実験を共同で開始する。

4. 研究成果

(1)装置開発

プロトタイプ装置として、生体組織の内部構造のOCT計測と振動計測が同時に可能な多波長走査型 en-face OCT(MS-OCT)と広視野ヘテロダイン検出(Wide-field heterodyne interferometric vibrometry; WHIV)法を組み合わせた装置を製作した。製作した装置の概要を図2に示す。

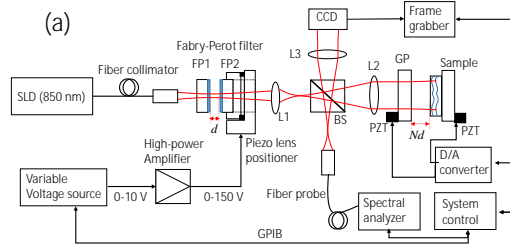


図2 多波長走査型 en-face OCT システム

多波長走査型 en-face OCT 技術は、光コム干渉法を適用し、測定物体の任意の深さにある関心領域に合わせた内部平面の2次元の同時計測を可能にした。光コムを生成するために、ファブリペロー共振器と超広帯域 SLD を用いて広い帯域の多波長光(低コヒーレンス・コム)を作り出した。ファブリペロー共振器の共振器長を可変にすることで深さ方向のスキャン(OCTのa-scanに相当する)を実現した。また、WHIV法では、従来の100フレームレート未満のCCDやCMOSカメラを用いての2次元面の広視野高解像度の高速振動が計測できるようになった。

(2)OCT計測実験

OCT計測実験では、パラフィンで固定されたマウスの肝臓細胞組織の3次元OCT計測及び、WHIV法を用いて生体内部の各層における振動パラメータ(2次元の振動周波数、位相、及び振幅分布)の計測を行い、提案手法の有用性を確認した。光源は、中心波長840nm、帯域幅160nmの超広帯域SLD(Superlum T850-HP-I)を用いた。ピエゾアクチュエータによってファブリペロー共振器の共振器長を操作した。また、スペクトルをスペクトルアナライザーによって随時観測し、スキャンした距離を周波数間隔の変化から見積もった。Full-field計測にはCCDカメラを使用した。CCDのフレームレートは27.2Hzであった。図3に厚さ100 $\mu$ mのガラス基板の計測をその結果を示す。測定分解能は約2.5 $\mu$ mであった。またガラス板がなめらかであるという仮定の基に算出した表面反射位置の測定

精度は標準偏差値で約 14 nm であった。

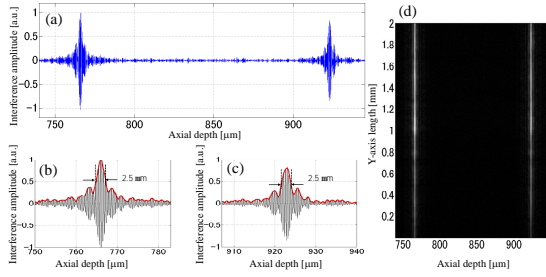


図3 ガラス板の計測結果

次に、散乱体である生体試料における有用性を示すために、パラフィンで固定されたマウス腎臓細胞組織を測定試料として3次元OCT計測を行った。図4にその3次元ボリュームレンダリング結果を示す。

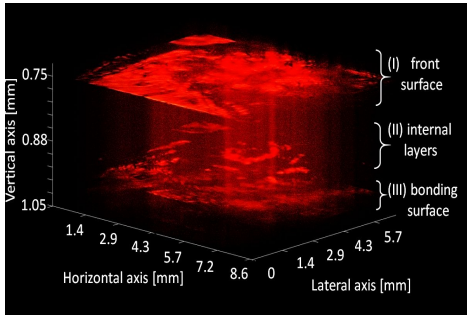


図4 三次元 OCT イメージング (マウス肝臓)

### (3) 生体試料の full-field 振動計測

WHIV 法の有用性確認のために、OCT 計測に用いたマウス肝臓細胞 (図4) の I (深さ 761 μm 付近) 及び I I (深さ 926 μm 付近) の領域で振動計測を行った。実験では、測定試料の振動を再現するためプレパラートにピエゾ素子を取り付け振動させた。試料側の振動周波数を 1.000kHz に設定し、干渉板にもピエゾ素子を取り付け 1.0034kHz で振動を加えた。ピエゾ素子にはそれぞれ振幅 3V の正弦波状の電圧信号を印加した。CCD カメラによって 512 枚の干渉画像を取得しフーリエ解析を行った。図5及び6に領域 I 及び I I の空間的な周波数、位相、振幅分布及び平面形状を表す干渉位相分布を示す。

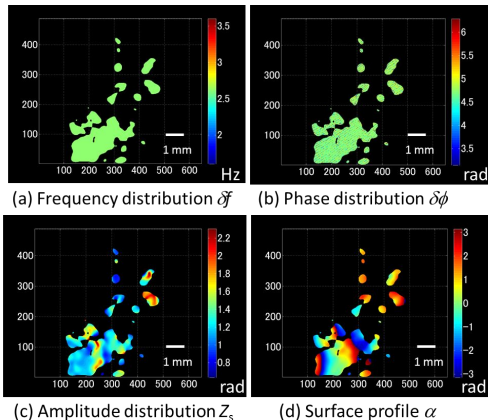


図5 領域 I の振動分布 (1kHz 振動)

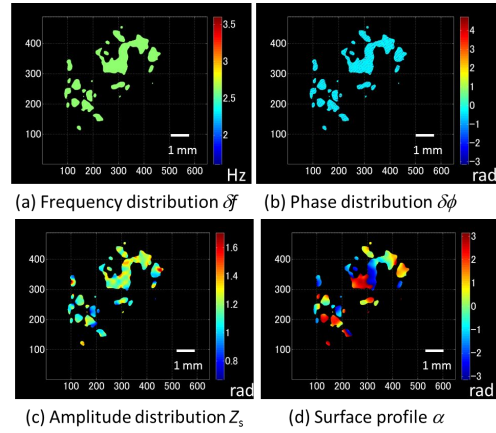


図6 領域 II の振動分布 (1kHz 振動)

測定試料の領域 I、II の平均振動振幅はそれぞれ約  $224 \pm 1.2$  及び  $234 \pm 1.3$  nm (平均 ± 標準偏差) であった。振動振幅は、干渉成分のフーリエ解析と画像処理に基づいているため、設計した周波数フィルタの特性に大きく影響される。従って、試料がパラフィンで固定されたことを考慮すれば、振動振幅の標準偏差はこの画像処理における計算誤差に起因すると考えられる。振幅推定値の精度を向上させるためには、今後、より高度な画像処理技術が必要とされる。

### (4) 性能目標の達成度と実用化の見通し

本研究では、厚い散乱性の生体標本における内部表面の微小振動の可視化に向けた WHIV 技術を組み合わせた新しい en-face MS-OCT システムを開発した。このシステムは、広帯域な多波長走査により、高い軸方向分解能と共通経路の full-field 計測を実現した。さらに、従来の SD-OCT 及びドップラーヘテロダイン法では困難な kHz オーダの周波数で振動する内面の全視野の検出に成功した。OCT スキャンモードでは、ガラス板及び腎組織の 3 次元計測を行い、軸方向分解能 2.5 μm を得た。振動測定モードでは、WFHD 技術を採用することで、kHz 帯の周波数で振動する平面振動を再構築することができた。



図7 新たに構築した MS-OCT 振動計測装置

上記のように概ね目標を達成したが、振動計測感度、測定速度及び深さ分解能の更なる向上が必要となる。現在これらの性能を向上し実用的な計測を可能にするために、図7に示すような干涉顕微鏡及び高感度 CMOS カメラを用いたシステムを構築しており、測定性能の向上及び生きた内耳蝸牛組織の計測を目指している。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

[1] S. Choi, T. Watanabe, T. Suzuki, F. Nin, H. Hibino and O. Sasaki, "Multifrequency swept common-path en-face OCT for wide-field measurement of interior surface vibrations in thick biological tissues," Opt. Exp., Vol. 23, No. 16, pp. 21078-21089 (2015), 査読有.

[2] S. Choi, Y. Maruyama, T. Suzuki, F. Nin, H. Hibino, and O. Sasaki, "Wide-field heterodyne interferometric vibrometry for two-dimensional surface vibration measurement," Opt. Commun., Vol. 356, pp. 343-349 (2015), 査読有.

[3] O. Sasaki, J. Xin, S. Choi, T. Suzuki, "Profile Measurement of Thin Films by Backpropagation of Multiple-Wavelength Optical Fields with Two Sinusoidal Phase-Modulating Interferometers," Opt. Commun., Vol. 356, pp. 578-581, (2015), 査読有.

[4] T. Serizawa, T. Suzuki, and S. Choi, "Phase-shifting interferometer with pulse modulation based on a down sampling technique," Opt. Eng., Vol 54, No. 8, pp. 085107 (2015), 査読有.

[5] S. Choi, S. Takahashi, T. Suzuki, and O. Sasaki, "Three-dimensional step height measurement using sinusoidal wavelength scanning interferometer with four-step phase-shift method," Opt. Eng., Vol. 53, No. 8, pp. 084110 (2014), 査読有.

[6] S. Choi, R. Sato, H. Kato, O. Sasaki, T. Suzuki, "Multi-frequency scanning interferometry using variable spatial spectral filter," Opt. Commun., Vol. 316, 1, pp. 168-173 (2014), 査読有.

〔学会発表〕(計 8 件)

[1] S. Choi, F. Nin, H. Hibino, and T. Suzuki, "Optical multi-frequency swept sensing for wide-field vibration measurement of interior surfaces in biological tissue," SPIE/OSJ Biophotonics Japan 2015, 2015 年 10 月 28 日.

[2] S. Choi, F. Nin, T. Suzuki, and H. Hibino, "Wide-field heterodyne en-face OCT system for vibration measurement of internal surfaces," CLEO-PR 2015, 27F1-2, 2015 年 8 月 27 日

[3] S. Choi, O. Sasaki and T. Suzuki, "Full-field step profile measurement with sinusoidal wavelength scanning interferometer", Proc. SPIE 9110, Dimensional Optical Metrology and Inspection for Practical Applications III, 91100F,

2014 年 5 月 28 日.

[4] T. Suzuki, Y. Ueno, S. Choi and O. Sasaki, "Low-coherence interferometer using a pulsation laser diode", Proc. SPIE 9110, Dimensional Optical Metrology and Inspection for Practical Applications III, 911009, 2014 年 5 月 28 日.

[5] 崔森悦、佐藤敬太、任書晁、日比野浩、多波長走査型干涉顕微鏡による生体内部の en-face 断層振動計測【注目講演】、第 63 回応用物理学会春季学術講演会、2016 年 3 月 21 日、東京都目黒区東京工業大学岡山キャンパス。

[6] 羽田圭志、崔森悦、任書晁、日比野浩、黒川隆志、生体断層計測用 GHz 帯 Er 添加高調波能動モード同期ファイバーレーザの製作、第 63 回応用物理学会春季学術講演会、2016 年 3 月 20 日、東京都目黒区東京工業大学岡山キャンパス。

[7] 崔森悦、丸山悠太、鈴木孝昌、小浦方格、広視野ヘテロダイン干涉振動計測法による一括平面振動計測、第 63 回応用物理学会春季学術講演会、2016 年 3 月 21 日、東京都目黒区東京工業大学岡山キャンパス。

[8] 安部和樹、武隈雄也、崔森悦、佐々木修己、新田勇、小浦方格、SC 光源と多波長逆伝搬法を用いた高分解能断層形状計測、第 63 回応用物理学会春季学術講演会、2016 年 3 月 21 日、東京都目黒区東京工業大学岡山キャンパス。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：平面振動計測装置及び平面振動計測方法

発明者：崔森悦

権利者：新潟大学

種類：特許

番号：特願 2015-116904

出願年月日：2015 年 6 月 15 日

国内外の別：国内

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://optlab.eng.niigata-u.ac.jp/>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

崔 森悦 (CHOI, Samuel)

新潟大学自然科学系・助教  
研究者番号：60568418

(2)研究分担者  
( )  
研究者番号：

(3)連携研究者  
日比野 浩 (HIBINO, Hiroshi)  
新潟大学医歯学系・教授  
研究者番号：70314317

任 書晃 (NIN, Fumiaki)  
新潟大学医歯学系・准教授  
研究者番号：80644905