

光音響イメージングにおける高分子圧電センサを用いた信号検出法及び背景信号抑制法に関する検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-07-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平沢, 壮 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10291/20262

明治大学大学院理工学研究科

2018年度

博士学位請求論文

光音響イメージングにおける
高分子圧電センサを用いた信号検出法
及び背景信号抑制法に関する検討

Signal Detection Method using Polymer
Piezoelectric Sensor and Background Signal
Suppression Method in Photoacoustic Imaging

学位請求者

平沢 壮

目次

第1章	概要	1
第2章	背景及び目的.....	10
2.1	まえがき	10
2.2	光イメージング法.....	11
2.3	超音波イメージング法.....	13
2.4	光音響イメージング法.....	15
2.4.1	光音響信号の発生原理.....	15
2.4.2	光音響イメージングの原理.....	21
2.4.3	研究動向.....	23
2.4.3.1	生体由来の光吸収体を対象としたイメージング.....	23
2.4.3.2	造影剤を対象としたイメージング.....	26
2.4.4	光音響イメージングの要素技術.....	27
2.4.4.1	光技術.....	27
2.4.4.2	超音波技術.....	28
2.4.4.3	背景信号の抑制.....	29
2.5	本研究の目的.....	32
2.6	まとめ.....	33
第3章	方法.....	34
3.1	まえがき	34
3.2	超音波の検出周波数に関する検討.....	35
3.2.1	シミュレーション法の確立.....	35
3.2.1.1	シミュレーション方法.....	35
3.2.1.2	シミュレーションと実験の対比（シミュレーション）	36

3.2.1.3	シミュレーションと実験の対比（実験）	39
3.2.2	微小腫瘍が発生する超音響信号の周波数の分析.....	41
3.2.2.1	シミュレーション	41
3.2.2.2	実験.....	44
3.2.3	高分子圧電超音波センサの評価.....	46
3.3	スペクトル微分を用いた背景信号抑制.....	49
3.3.1	スペクトル微分による背景信号抑制原理.....	49
3.3.2	スペクトル微分フィルタの係数設定方法.....	50
3.4	生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験.....	52
3.5	マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験...	57
第4章	結果.....	59
4.1	まえがき	59
4.2	超音波の検出周波数に関する検討.....	60
4.2.1	シミュレーション法の確立.....	60
4.2.1.1	シミュレーションと実験の対比（シミュレーション）	60
4.2.1.2	シミュレーションと実験の対比（実験）	66
4.2.2	微小腫瘍が発生する超音響信号の周波数の分析.....	67
4.2.2.1	シミュレーション	67
4.2.2.2	実験.....	72
4.2.3	高分子圧電超音波センサの評価.....	74
4.3	スペクトル微分を用いた背景信号抑制.....	77
4.4	生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験.....	78
4.4.1	超音波の検出周波数に関する検討.....	78
4.4.2	スペクトル微分を用いた背景信号抑制.....	80

4.4.3	スペクトル微分法における計測波長数の削減.....	86
4.5	マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験...	90
4.6	まとめ.....	93
第5章	考察.....	95
5.1	まえがき.....	95
5.2	分子標的造影剤に対する感度の検討.....	95
5.3	分子標的造影剤に対する選択性の検討.....	100
5.4	がんの術中診断への適用に関する検討.....	102
5.5	まとめ.....	105
第6章	結論.....	106
6.1	総括.....	106
6.2	今後の課題.....	107
6.2.1	撮像速度.....	107
6.2.2	がん病変広がり診断への適用可能性の検討.....	108
6.2.3	臨床応用へ向けた研究の推進.....	109
	専門用語リスト.....	110
	光学特性に関する用語リスト.....	111
	参考文献.....	113
	関連研究業績.....	120
	謝辞.....	130

略語・記号一覧

A	:	吸光度
μ_a	:	光吸収係数
ε	:	モル吸光係数
μ_s	:	光散乱係数
g	;	非等方散乱パラメータ
μ_s'	:	等価散乱係数
μ_{eff}	:	等価減衰係数
δ	:	光侵達長
F	:	フルエンス
τ_{th}	:	熱緩和時間
τ_{str}	:	応力緩和時間
CT	:	Computed Tomography
MRI	:	Magnetic Resonance Imaging
CWT	:	連続ウェーブレット変換, Continuous Wavelet Transform
SNR	:	信号対雑音比, Signal to Noise Ratio
ROI	:	関心領域, Region of Interest
DPSS	:	ダイオード励起固体, Diode Pump Solid State
OPO	:	光パラメトリック発振器, Optical Parametric Oscillator
PVDF	:	ポリフッ化ビニリデン
P(VDF-TrFE)	:	ポリフッ化ビニリデンと三フッ化エチレンの共重合体
PZT	:	チタン酸ジルコン酸鉛

- Q 値 : 品質係数, Quality Factor
- YAG : イットリウム・アルミニウム・ガーネット,
- Yttrium Aluminum GarnetSG : Savitzky-Golay
- FWHM : 半値全幅, full width at half maximum
- SDM : スペクトル微分法, Spectral Differential Method
- SFM : スペクトルフィッティング法, Spectral Fitting Method
- ITC : 遊離腫瘍細胞, Isolated Tumor Cells
- QOL : Quality of Life

第1章 概要

光や超音波を用いたイメージング技術は、非侵襲的に生体を計測可能であり、装置を可搬にできる特徴を有する。医療の現場においては、手術室や処置室においてリアルタイムに病変をイメージングする手法に対するニーズがある。例として、がんの外科手術では、手術後の再発を防止するために病変を残さず切除することと、手術後の回復を早期化するために切除範囲を最小限とすることが要求されており、これらの要求を満たすためには病変の位置や広がりや手術中に正確に把握する必要がある[1]。このようなニーズに対して、光や超音波を利用したイメージング技術は装置を可搬にできる点で優位であり、MRI (Magnetic Resonance Imaging)やX線CT (Computed Tomography)などの据付型の全身用イメージング技術とは、用途に応じて使い分けがされる。

光イメージング技術は、光と生体との多様な相互作用（吸収、散乱、非線形光学現象など）に関する情報を画像化する。特に蛍光イメージングは、光を吸収すると蛍光を発生する化合物を選択的に撮像する。蛍光を発生する化合物を造影剤として血管内に投与し、造影剤が発生する蛍光を観測して血管を撮像する血管造影イメージングが既に臨床応用されている。また、腫瘍等の病態に直接関連する分子に結合する抗体等での修飾により、病変部位に特異的に集積する分子標的造影剤が研究されており、目視では観測できない微小腫瘍を検出できることが動物実験において実証されている[2]。一方で、生体による光散乱の影響により撮像可能深度に制約がある。

超音波イメージング技術は、観測対象に超音波を入射し、観測対象内部で反射された超音波を観測し、観測対象内部の形態的な情報を画像化する。超音波は光と比較して生体内での散乱度合が2 - 3桁小さいため、光イメージング技術

よりも深部の撮像が可能である。この利点より、既にかんの外科手術において手術中に腫瘍を描出する目的で使用されているが、腫瘍辺縁の描出や微小腫瘍の検出に制約がある[3-5]。

光音響イメージングは、光音響現象により発生する超音波（光音響信号）を観測するイメージング技術であり、光と比較して生体組織内での散乱度合が小さい超音波を観測する原理により、生体内部を撮像可能である[6]。光音響現象は、観測対象にパルス光を励起光として照射すると、観測対象内の光吸収体（吸光度が高い物質）が光を吸収し、熱弾性過程を経て光音響信号を発生する現象である(図 1-1)。光音響信号の強度は、観測対象に照射する励起光のエネルギー密度（フルエンス）と、光吸収体の吸光度の積に比例する。このため、血液内のヘモグロビンが吸収する波長の励起光を用いると、造影剤なしで血液分布を描出できる。さらに、血液内の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンとで吸光度の波長依存性（光吸収スペクトル）が異なるため、複数の波長の励起光を用いることで両者を弁別可能であり、血液酸素飽和度（総ヘモグロビン量に対する酸素化ヘモグロビン量の割合）に関する情報を得られる。光音響イメージングで取得できる血液分布及び血液酸素飽和度と、腫瘍性病変や炎症性病変における血液分布及び血液酸素飽和度の異常（正常部位との違い）とを関連付けることで、病態の診断への適用が可能となる。この目的で複数の機関において、それぞれ装置開発及び臨床研究が実施されており、先行する機関は既に欧州での医療機器としての認証(CE マーク)を取得している [7]。一方で、血液分布及び血液酸素飽和度は、病態以外の要因にも由来して変化するため、病態診断に適用するためには、多数のデータを蓄積して病態特異的な変化を見出す必要があることが指摘されている。

そこで、血液分布よりも直接的に病態に関連する情報を得ることにより微小

な病変を特異的に検出するために、分子標的造影剤が研究されている[8]。現段階では細胞実験や動物実験により造影剤及びイメージング技術の評価が行われており、血管新生に関連する細胞接着因子[9]や、腫瘍における細胞増殖に関連する糖タンパク[10]などを標的とした分子標的造影剤を利用した腫瘍のイメージングが報告されている。

分子標的造影剤を利用した光音響イメージングにより生体深部の微小腫瘍の検出を可能とできれば、外科手術時のガイドをはじめとする幅広い医療ニーズに対応できる。しかし現状では光音響イメージングの分子標的造影剤に対する検出能力と、分子標的造影剤の腫瘍への集積効率などの問題により、検出可能な腫瘍のサイズや深度に制約がある。光音響イメージングの分子標的造影剤に対する検出能力を向上するためには、分子標的造影剤が発生する光音響信号を検出するための感度と、分子標的造影剤が発生する光音響信号のみを抽出するための選択性の両方が必要となる。

本研究では、超音波イメージングや触診による検知に制約がある径 1 - 3 mm の微小腫瘍を検出可能とすることを目的とした。光音響イメージングでは、光で励起して発生した超音波を検出するため、光を用いた励起方法、超音波の検出方法、及び受信信号の処理方法について撮像対象に応じて設定可能である(図 1-2)。本研究では、(1) 径 1 - 3 mm の微小な腫瘍に集積した分子標的造影剤に対する感度を改善するための超音波の検出方法について検討し、(2) 分子標的造影剤が発生する光音響信号のみを抽出するための光を用いた励起方法及び信号処理の方法について検討した。

(1) 分子標的造影剤の検出感度改善のための超音波検出周波数の検討

超音波センサの周波数－感度特性は、検出方式や検出素子の材質により決定

される。光音響イメージングの先行研究においては、超音波診断装置で広く使用されている圧電セラミックを検出素子とする圧電型超音波センサが用いられている[11, 12]。圧電セラミックは機械的品質係数(Q 値)が高いため、素子の材質と厚みとで決まる中心周波数において強い共振を有し、中心周波数で強いピークを示す周波数-感度特性を有する。超音波は周波数が高くなると、収束性が高くなる一方で、生体内での減衰率が大きくなる。このため、先行研究においては、超音波イメージング装置と同様に、撮像深度と空間分解能のトレードオフを考慮して中心周波数を設定している。超音波イメージング装置では装置側で発生した超音波を観測するため、検出する超音波の周波数を装置側で決定できる。これに対し、光音響イメージングでは観測対象が発生する光音響信号を観測するため、検出する超音波の周波数は観測対象に依存する。本研究では、径 1 - 3 mm の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号の周波数について分析し、超音波センサの周波数-感度特性を検討することで感度の改善を試みた。

初めに、本研究での観測対象とする径 1 - 3 mm の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号の周波数を、シミュレーションおよび実験により分析した。この結果、血管を標的とした光音響イメージングの先行研究で使用される超音波センサでは検出困難な 2.5 MHz 以下の周波数に高強度の信号成分が含まれることを見出した。そこで本研究では、血管に由来する光音響信号に加え、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する 2.5 MHz 以下の光音響信号を検出するために、機械的共振の Q 値が小さく、広い周波数帯の信号を検出可能な高分子圧電フィルム[13]を検出素子とする高分子圧電センサを作成した。高分子圧電センサの周波数-感度特性を評価した結果、0.5 - 27 MHz の幅広い周波数の超音波を受信可能であり、先行研究において血管分布を描出するた

めに観測されている 2.5 MHz 以上と、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する 2.5 MHz 以下の両方の周波数帯の光音響信号を検出可能であった。この高分子圧電センサを備える光音響イメージング装置により、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤を経皮的に撮像することを想定した生体模擬ファントムを撮像し、造影剤に由来する光音響信号の強度を評価した。この結果、2.5 MHz 以下の周波数成分を検出することで、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤に対する感度を 2 倍以上に改善できることを実証した。

(2) 分子標的造影剤に対する選択性を改善するための背景信号抑制法

光音響イメージングでは、分子標的造影剤のみでなく、ヘモグロビンなどの生体由来の光吸収体も光音響信号を発生する。このため、分子標的造影剤を選択的に検出するためには、分子標的造影剤が発生する光音響信号（目的信号）と、生体由来の光吸収体が発生する光音響信号（背景信号）とを弁別し、分子標的造影剤が発生する光音響信号のみを抽出する必要がある。

ヘモグロビンなどの生体由来の光吸収体と分子標的造影剤とで、吸光度の波長依存性（光吸収スペクトル）に重複はあるものの、光吸収スペクトルの形状がそれぞれ異なることを利用し、分光的に分離する手法が検討されている。この手法では、観測対象に照射する励起光の波長を変化させて、光音響信号の励起光波長に対する依存性（光音響スペクトル）を計測する。この光音響スペクトルと、生体由来の光吸収体及び分子標的造影剤の光吸収スペクトルとを比較し、分子標的造影剤が発生する目的信号と生体由来の光吸収体が発生する背景信号とを弁別する。これまでに、光音響スペクトルを、生体由来の光吸収体及び分子標的造影剤の光吸収スペクトルを用いて重回帰分析するスペクトルフィッティング法が適用されている[14, 15]が、目的信号と背景信号との弁別比に課題がある。本研究では、分子標的造影剤の材料となる色素や金ナノ粒子などの

光吸収体は、特定の波長において吸光度が極大となる吸収ピークを示すことに着目し、光音響スペクトルに対してスペクトル微分を適用して吸収ピークを抽出するスペクトル微分法を適用した。

スペクトル微分法とスペクトルフィッティング法とでの背景信号抑制効果を比較するために、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤を経皮的に撮像することを想定した生体模擬ファントムを撮像し、両手法の適用前後での目的信号に対する背景信号の強度を評価した。この結果、スペクトル微分法はスペクトルフィッティング法よりも高い弁別比で背景信号を抑制できることを実証した。さらに、マウス皮下腫瘍モデルの腫瘍内に投与した造影剤を撮像し、スペクトル微分法により、生体組織に由来する背景信号を低減できることを実証した。

以上より、分子標的造影剤に対する感度及び選択性を改善し、1 - 3 mm の微小腫瘍のイメージングを可能とした。

以下に、本論文の構成を述べる。

第2章では、本研究の背景及び目的について述べる。光音響イメージングの原理、現状の課題、及び本研究の目的について述べる。

第3章では、本研究の方法について述べる。第一に、超音波の検出周波数に関する検討の方法について述べる。第二に、スペクトル微分を用いた背景信号抑制方法について述べる。第三に、生体模擬ファントムを用いたイメージング実験の方法について述べる。第四に、マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験の方法について述べる。

第4章では、第一に、超音波の検出周波数に関する検討として、光音響信号を計算するシミュレーション方法の妥当性を検証し、微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号の周波数成分を分析し、分析結果に基づいて

試作した高分子圧電センサを評価した結果について述べる。第二に、スペクトル微分を用いた背景信号抑制法において用いるスペクトル微分フィルタを最適化した結果について述べる。第四に、生体模擬ファントムを対象とした光音響イメージング実験により、超音波の検出周波数の検討による感度改善効果と、スペクトル微分法による背景信号抑制効果を評価した結果について述べる。第五に、マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験の結果について述べる。

第5章では、第4章で得られた結果を基に、本研究による分子標的造影剤に対する検出感度及び選択性の改善について考察し、医療応用への適用可能性について述べる。

第6章では、本研究により得られた成果を総括し、今後の課題について述べる。

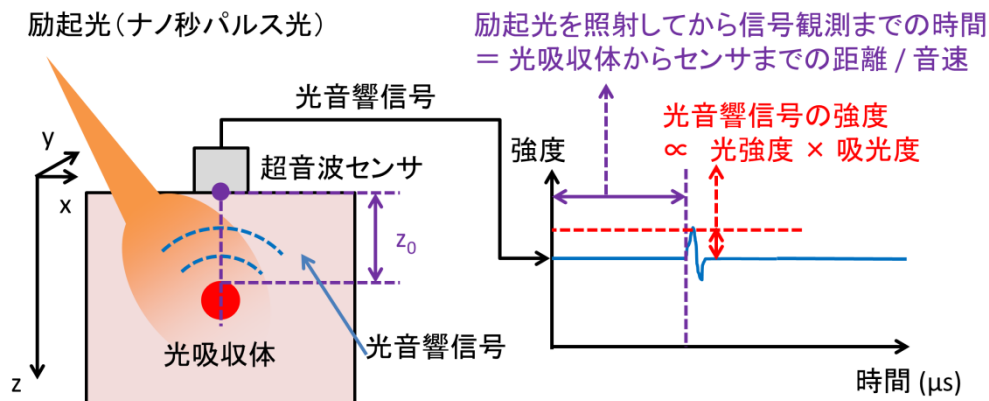


図 1-1 光音響イメージングの原理

観測対象に励起光（ナノ秒パルス光）を照射すると，励起光を吸収した光吸収体が熱弾性過程を経て超音波（光音響信号）を発生する。

光音響イメージングでは，励起光の照射ごとに発生する光音響信号を超音波センサで観測する。励起光照射から光音響信号検出までの時間差は，光吸収体から超音波センサまでの間を光音響信号が伝播する時間に相当するため，光吸収体から超音波センサまでの距離の情報が得られる。光音響信号の強度は，光吸収体が吸収した光エネルギー量に比例するため，光強度（フルエンス）と吸光度との積に相当する。

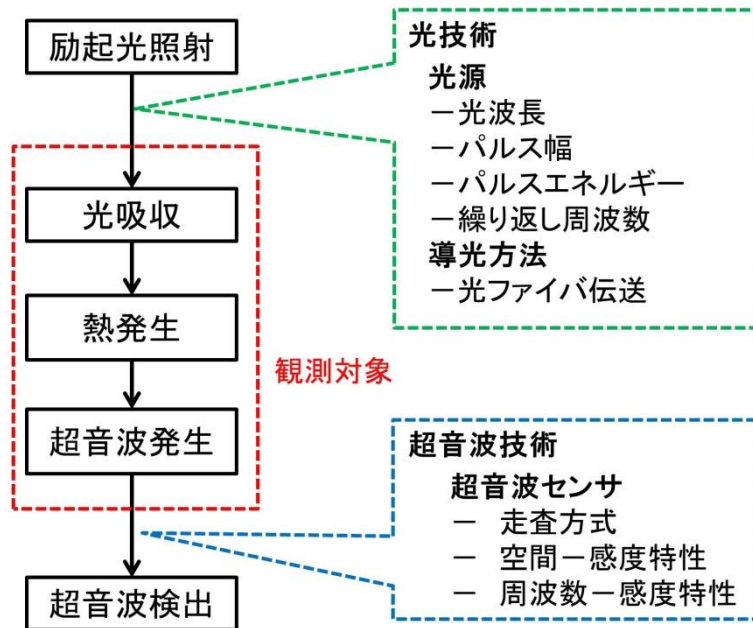


図 1-2 光音響イメージングの要素技術

光で励起した超音波を検出する原理であるため、光技術と超音波技術の要素技術により構成される。光技術に関しては、観測対象とする光吸収体の光吸収スペクトルに応じた光波長、観測対象とする光吸収体に高強度の光を伝送するための光源及び導光方法の検討がそれぞれ必要である。超音波技術に関しては、超音波の発生源である光吸収体の位置を特定するための走査方式及び空間-感度特性、広帯域な周波数成分を有する光音響信号から目的に応じて必要な情報を得るための周波数-感度特性の検討がそれぞれ必要である。

第2章 背景及び目的

2.1 まえがき

ここでは、本論文の背景及び目的について述べる。

2.2 では、既存の光イメージング技術の特徴について述べる。

2.3 では、既存の超音波イメージング技術の特徴について述べる。

2.4 では、光音響イメージング技術の原理及び装置構成について述べた後に、非造影での生体イメージング及び分子標的造影剤のイメージングの研究動向について述べる。その後、分子標的造影剤のイメージングにおける課題について述べる。

2.5 では、本研究の目的について述べる。

2.6 では、本章についてまとめる。

2.2 光イメージング法

光イメージング技術は、光学技術を駆使して光と生体との相互作用に基づく情報を取得し、目視では観察困難な対象を非侵襲的に観測する技術である。生体から採取した組織や培養細胞などを観察する顕微鏡技術 [16]や、生体の開口部に挿入して挿入部の表面を観察する内視鏡技術 [17]は、すでに広く普及し臨床医学及び基礎医学研究において重要な役割を果たしている。

光と生体との相互作用の発生度合は、光の波長や組織の種類により異なるため、光の波長や組織ごとにこれらの相互作用の度合を示す光学特性が定義されている。特に光吸収や光散乱の度合は、光子が光吸収や光散乱を起こさずに生体内を伝播可能な平均距離の逆数である光吸収係数 μ_a 及び光散乱係数 μ_s として定義される[18]。また、光吸収の度合は、光強度が光吸収により 1/10 に減衰する距離の逆数として吸光度 A とも定義される。吸光度は関係式 $\mu_a = A \cdot \log_e 10$ により光吸収係数に換算できる。光イメージング技術は、光吸収に関する情報を取得する技術、光散乱に関する情報を取得する技術、及び非線形作用に関する情報を取得する技術などに分類されるが、ここでは特に光吸収に関する情報を取得する技術について述べる。

光吸収に関する情報を取得する光イメージング技術では、観測対象内部の吸光度が高い物体（光吸収体）に関する情報を得る。光源から観測対象に光を照射し、観測対象内を伝播した後の透過光や後方散乱光を光検出器により観測すると、照射光と観測光とでの強度比より、観測対象内の光吸収体の吸光度に関連する情報が得られる。光吸収体の吸光度は物質ごとにそれぞれ異なる波長依存性（光吸収スペクトル）を有するため、複数の波長における吸光度を観測し、光吸収スペクトルと対比する分光的な分析を施すことで、観測対象内の光吸収

体を特定できる。可視から近赤外の波長域においてはヘモグロビンが生体内の主要な光吸収体であるため、この波長域での光吸収の情報を観測して分光的に分析することで、ヘモグロビンが多く含まれる血液を高感度に検知できる。さらに、可視から近赤外の波長域では、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンとで光吸収スペクトルが異なるため、両者を弁別して計測することで、血液酸素飽和度に関連する情報を取得できる。腫瘍などの病変部位では、血液分布や血液酸素飽和度が正常部位と異なる場合があるため、これらの情報を病変診断に利用することが検討されている[19]。

また、光を吸収して励起状態となった光吸収体が化学反応を伴わずに基底状態に緩和する物理過程は、光を放出して基底状態に戻る輻射過程と放出しない無輻射過程に大別される。このうちの輻射過程における、同じスピン多重度の状態遷移による発光が蛍光である[20]。輻射過程と無輻射過程の割合は光吸収体ごとに異なるため、光吸収体において吸収される光子数と、蛍光として放出される光子数との比率（蛍光量子収率）は光吸収体ごとに異なる。蛍光計測においては、蛍光を発生させるために観測対象に励起光を照射し、観測対象内の蛍光量子収率が大きい光吸収体が発生する蛍光を観測する。蛍光は、励起光よりも波長が長いため、適切な光学フィルタにより蛍光と励起光とを区別でき、蛍光のみを選択的に観測できる。蛍光量子収率が高い光吸収体を造影剤として血管内に投与し、造影剤が発生する蛍光を観察することで血管分布を高感度にイメージングする血管造影が、既に臨床現場で使用されている[21]。さらに、微小な病変を高感度に検出するために、病態に直接関連する分子に対して特異的に造影効果を発揮する分子標的造影剤の研究が行われている。小動物を対象にした基礎研究において、分子標的造影剤を用いた蛍光イメージングにより、目視では観察困難な微小腫瘍を画像化できることが報告されている[2]。

一方で、光イメージングには、生体組織の光散乱により撮像可能深度が制約される問題がある。例えば、観測対象表面での蛍光分布を観測する蛍光イメージングでは、観測対象内部の光吸収体が発生した蛍光は観測対象表面まで伝播する過程で散乱されるため、観測対象表面に到達する蛍光分布は光吸収体分布よりも広がることから、観測対象内部の光吸収体を高空間分解能に撮像できない。空間分解能を低下させずに観測可能な深度は、観察に使用する光の波長や観察対象により異なるが、0.1 mm 程度である[22]。空間分解能低下の原因となる散乱光を除去することで、観測対象内部を高い空間分解能で観察する共焦点レーザー顕微鏡が開発されているが、撮像可能深度はおおよそ 0.5 - 1.0 mm にとどまる[22]。

以上より、光吸収に関する情報を取得する光イメージング技術では、分光分析や蛍光の利用により病態に関連する多様な情報を取得可能であり、分子標的造影剤の使用により微小な病変を検出可能であるが、生体組織による光散乱により撮像可能深度が強く制限されている。

2.3 超音波イメージング法

超音波イメージング技術は、超音波を送受信するためのトランスデューサを観測対象表面に接触させて観測対象内に超音波を照射し、観測対象内の構造物に反射された超音波を観測することで、観測対象内の構造を反映する断層画像を取得するイメージング技術である。超音波は光と比較して生体内部での散乱が2-3桁小さい[6]ため、超音波イメージング技術は光イメージング技術よりも深部を観察可能である。

トランスデューサは多数の圧電素子が配列された構造である。超音波を観測

対象に照射し、観測対象内の構造物に反射された超音波（エコー）を観測すると、超音波を照射してからエコーを観測するまでの時間差は、トランスデューサと構造物との間を超音波が往復する時間に相当する。多くの超音波イメージング装置では生体軟組織における音速を $1,540 \text{ m/s}$ として、トランスデューサから超音波を反射する構造物までの距離を算出する[23]。1回の超音波の送受信により、超音波の送信方向に対する構造物の深さ分布情報が得られ、さらに超音波を送受信する素子を切り替えて超音波を送受信することで、断面画像を取得する。

超音波イメージングの空間分解能及び撮像可能深度は、送受信する超音波の周波数に強く依存する。生体組織での超音波の減衰率は、周波数にほぼ比例するため、低周波数の超音波においては減衰率が低い[24]。このため、低周波数の超音波は、長距離を伝播しても強度が維持されるため、観測対象深部の観察に適する。一方で、低周波数の超音波は波長が長く収束性が低いため、高周波数の超音波を使用する場合と比較して得られる画像の空間分解能が低い。このため、超音波イメージングにおいて送受信する超音波の周波数は、観察対象の深さと空間分解能とのトレードオフにより決定される[25]。

構造物による超音波の反射率は、密度と音速の積で定義される音響インピーダンスに依存し、入射側と出射側との音響インピーダンスの差が大きいと超音波の反射率が高い。臓器の境界など、音響インピーダンスが異なる界面の形態を描出できる。

超音波イメージングで得られる情報は形態的な情報が中心で光イメージングほど多様ではないが、腫瘍辺縁境界の明瞭さや、腫瘍辺縁の形状などを基に、腫瘍性病変の悪性度の診断などに適用されている[26]。さらに、装置が可搬な特徴を生かし、様々な臨床科において外科手術時の術中イメージングへの適用が

進められている。特に、乳がんの外科手術に適用した臨床研究においては、従来の視触診と比較して病変の残存率を低減できることが報告されている[27]。一方で、腫瘍辺縁の描出に優れないため病変の大きさを過小評価することが指摘されている。これは、腫瘍中心の高密度な部位のみを描出しているためと考えられている[3]。また、多発乳癌において微小な腫瘍を見逃す点が問題とされており[4]、特に平均 6.5 mm の径の腫瘍に対して感度が 52.9 %との報告がある[5]。

以上より、超音波イメージング技術では、光イメージング技術よりも深部のイメージングが可能であり、腫瘍などの病変検出にも適用されているが、微小病変の検出感度には制約がある。

2.4 光音響イメージング法

ここでは、病態に関連する多様な情報を取得可能な光イメージング技術における撮像可能深度の制約を、超音波を組み合わせることにより克服する光音響イメージング法について記載する。

2.4.1 光音響信号の発生原理

光音響現象は、光を吸収した物質内で熱が発生し、それにより体積変化が生じ、体積変化に由来する応力により音波が発生する現象である。1880 年に Bell らが、光による音響転送(photophone)の研究において、光による音響発生 の原理を提唱した[28]。これは試料に断続光を照射すると、周囲の気体に断続光と同じ周波数の音を発生する現象である。本現象が、1970 年代に光音響分光法として再注目され、主にガス分析や固体表面の分光計測の分野において研究が進められている。これらの研究では、光源として周期変調光を使用し、それにより発生する周期音を観測する[28]。1980 年代後半より、パルスレーザー技術の発達に

より、光吸収により発生する熱及び応力の緩和よりも短い時間スケールでの光エネルギーの供給が可能となり、それにより発生するパルス状の光音響信号を時分解で計測するパルス光音響計測技術が検討されるようになった [28]。本論文では、このパルス光音響計測技術に基づく光音響イメージング法を取り扱うため、ここでは、パルス光音響計測の原理について記述する。

光音響信号を高効率に発生するためには、光吸収により発生する熱及び応力の緩和よりも短い時間スケールで光エネルギーを供給する必要がある。これらの条件を満たすためには、次式で表される熱緩和時間 τ_{th} と、応力緩和時間 τ_s の両方と比較して、十分に短い時間幅の光パルスを用いる必要がある [6]。

$$\tau_{th} = \frac{L_p^2}{4 \cdot D_T} \quad (2-3)$$

$$\tau_s = \frac{L_p}{c} \quad (2-4)$$

ここで、 L_p は計測法の空間分解能 [29]であり、既存の超音波診断装置では、体表近傍を観察する場合には sub-mm の空間分解能での観察が可能であるため、ここでは 0.1 mm を想定する。 D_T は熱拡散率であり生体軟組織における典型的な値は $1.4 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$ である [6]。 c は音速であり生体軟組織においてはおよそ 1,540 m/s である。これらの値を代入すると、 τ_{th} は 18 ms、 τ_s は 65 ns となる。このため、Q スイッチパルスレーザーをはじめとするナノ秒パルス光源が主に使用される。

上記の条件を満たす場合、光吸収体が発生する光音響信号の音圧 $p(\mathbf{r}, t)$ は次式の波動方程式で表される [6]。

$$c^2 \nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{\partial^2 p(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = \frac{\beta c^2}{C_p} \frac{\partial E(\mathbf{r}, t)}{\partial t} \quad (2-5)$$

ここで、 c は音速、 β は熱膨張係数、 C_p は等圧比熱である。 $\Gamma = \frac{\beta c^2}{C_p}$ は Gruneisen 係数と呼ばれ、光吸収により発生する熱エネルギーから光音響信号への変換効率に相当する。 $E(\mathbf{r}, t)$ は光吸収体が光を吸収することにより発生する熱エネルギーである。この式を解くと、観測点 \mathbf{r}' で観測できる音圧の時間変化、すなわち光音響信号 $p(\mathbf{r}', t)$ は次式となる[6]。

$$p(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{d^3 \mathbf{r}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \frac{\partial}{\partial t'} E(\mathbf{r}, t') \Big|_{t' = t - |\mathbf{r} - \mathbf{r}'|/c} \quad (2-6)$$

ここで、熱緩和時間 τ_{th} よりも十分に短いパルス幅の励起パルス光で加温するため、加温中の熱拡散を無視できることから、熱エネルギー $E(\mathbf{r}, t)$ は、光吸収量の空間分布（光吸収分布） $H(\mathbf{r})$ と、照射する励起パルス光の時間波形 $\eta(t)$ との積で表すことができる[6, 30, 31]。

$$p(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{d^3 \mathbf{r}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \frac{\partial}{\partial t'} H(\mathbf{r}) \eta(t') \Big|_{t' = t - |\mathbf{r} - \mathbf{r}'|/c} \quad (2-7)$$

ここで、単純化のために観測点 \mathbf{r}' を原点とし、 $|\mathbf{r}| = r$ 、 $\eta'(t) = d\eta(t)/dt$ とそれぞれ表記すると、次式が得られる。

$$p(t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{d^3 \mathbf{r}}{r} H(\mathbf{r}) \eta' \left(t - \frac{r}{c} \right) \quad (2-8)$$

ここで、球座標系に展開すると次式が得られる。

$$p(t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \int \left(\frac{1}{r} \iint H(r, \theta, \phi) r^2 \sin \theta d\theta d\phi \right) \eta' \left(t - \frac{r}{c} \right) dr \quad (2-9)$$

ここで、 $t' = r/c$ とおくと、次式が得られる。

$$p(t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \int \left(\frac{1}{t'} \iint H(r, \theta, \phi) (ct')^2 \sin \theta d\theta d\phi \right) \cdot \eta'(t-t') dt' \quad (2-10)$$

式 2-10 は、 t' についての畳み込み演算であるため、光音響信号 $p(t)$ は、観測点からの距離が等距離となる球殻上の光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ の積分への、励起パルス光の時間波形の時間微分の畳み込みとして次式で表される[30]。

$$p(t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \left(\frac{1}{t} \iint_{|\mathbf{r}|=ct} H(\mathbf{r}) dS \right) * \eta'(t) \quad (2-11)$$

さらに、座標系を平行移動することにより任意の観測点 \mathbf{r}' で観測した光音響信号 $p(\mathbf{r}', t)$ を計算可能であり、次式が得られる。

$$p(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \left(\frac{1}{t} \iint_{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|=ct} H(\mathbf{r}-\mathbf{r}') dS \right) * \eta'(t) \quad (2-12)$$

ここで、応力緩和時間 τ_s よりも十分に短いパルス幅の励起パルス光を用いる場合には励起パルスの時間波形 $\eta(t)$ はデルタ関数に近似できる。図 2-1 に光吸収分布と光音響信号波形との関係を示す。光音響信号の発生源は光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ に対応しており、光音響信号は発生位置 \mathbf{r} から球面状に伝播し、観測点 \mathbf{r}' と発生位置 \mathbf{r} との間を光音響信号が伝播する時間遅れで到達する。光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ が空間的な広がりを持つ場合、光音響信号は発生位置ごとにそれぞれ異なる時間遅れで観測点に到達するため、それらの合波である光音響信号の時間幅が広がる。よって、光音響信号の波形は光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ に依存する。ここで、光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ は、観測対象内の吸光度分布 $A(\mathbf{r})$ と光エネルギー密度 (フルエンス)

分布 $F(\mathbf{r})$ との積である。フルエンス分布 $F(\mathbf{r})$ は、観測対象内の表面に照射された光が、観測対象内で散乱・吸収された後の分布である。このため、光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ は、光音響信号を発生する光吸収体だけでなく、その周囲の媒質の光学特性にも影響される。

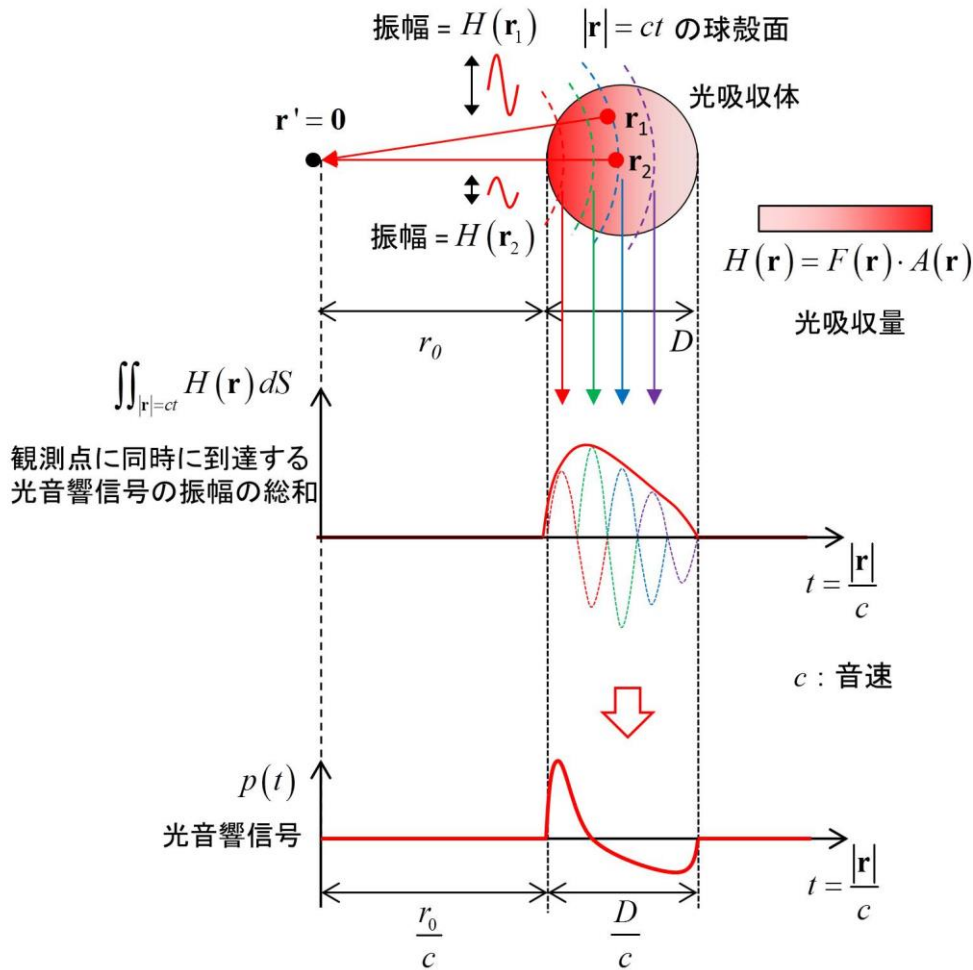


図 2-1 観測点 \mathbf{r}' から距離 r_0 にある直径 D の光吸収体が発生する光音響信号
 光吸収体に光を照射すると、光吸収体内の各座標点 \mathbf{r} にある光吸収分子が光を吸収し、光吸収量 $H(\mathbf{r})$ に比例する強度の光音響信号を発生する。
 このとき、光吸収体の表面から内部にかけて光強度 $F(\mathbf{r})$ が減衰するため、光吸収量 $H(\mathbf{r})$ は光吸収体の表面から内部にかけて低下する。
 各座標点 \mathbf{r} で発生した光音響信号は、音速 c で生体内を伝播して観測点に到達するため、観測点から等距離の球殻上で発生した光音響信号は、それぞれ同時に観測点に到達する。このため、観測点に同時に到達する光音響信号の振幅の総和は、球殻積分で求められる。観測点への到達時間毎に光吸収量の球殻積分を行い、その振幅を持つ光音響信号を足し合わせた信号が観測点 \mathbf{r}' に到達する光音響信号である。光を照射してから信号が観測されるまでの時間は距離 r_0 に相当し、信号の時間幅は直径 D に相当する。
 図を単純化するために、観測点 \mathbf{r}' を原点とした。

2.4.2 光音響イメージングの原理

光音響イメージングでは、光音響信号 $p(\mathbf{r}', t)$ を観測し、光吸収の空間分布 $H(\mathbf{r})$ に関する情報を得る。

検出軸上で発生した光音響信号のみを検出する超音波センサを用いて、検出軸を z 軸に設定し、 x 軸上で走査すると、各走査点で観測できる光音響信号 $s(x, t)$ は次式で表せる[32]。

$$s(x, t) = \frac{\Gamma}{2} H\left(x, \frac{z}{c}\right) \quad (2-13)$$

ここで、 c は音速であり、 Γ は光吸収により発生する熱エネルギーから光音響信号への変換効率を表す Grüneisen 係数である。式 2-13 より、各走査点で観測した光音響信号の時間軸を音速でスケールリングすることにより、光吸収分布の x - z 断面情報 $H(x, z)$ が得られる。

検出軸上で発生した光音響信号のみを検出する手法として、凹面状の単素子センサを用いる手法と、多数の検出素子を配列したアレイ型超音波センサを用いる手法とがある。

前者では、超音波センサの検出面を凹面状とすることで、凹面の曲率中心に相当する焦点距離に焦点を形成する。超音波センサの凹面から焦点までの距離は一定であるため、超音波センサの焦点で発生した光音響信号は同位相で超音波センサの凹面全体に到達するため、高感度に光音響信号を検出できる。光吸収体と超音波センサとの距離と焦点距離との差が大きくなると、検出軸上で発生した光音響信号の位相がそろわなくなるため、計測可能な深度範囲に制約がある。一方で、素子あたりの検出面積を大きくできるため、高感度に光音響信

号を検出できる利点を有する。

後者では、アレイ型超音波センサの検出素子を x 軸に沿って配列し、各検出素子で光音響信号を観測する。超音波センサの検出軸を $x = x_0$ として z 軸に平行に設定し、焦点距離 z_0 に焦点を形成することを想定すると、各検出素子から焦点までの距離がそれぞれ異なるため、焦点で発生した光音響信号が各検出素子に到達する時間が異なる。そこで、式 2-14、式 2-15 を用いて、焦点が発生した光音響信号が検出素子に到達する時間差を補正し、各検出素子で計測した光音響信号の総和をとる **Delay and sum** 処理を施すことで、焦点で発生した光音響信号を高感度に検出する。検出素子の数を N 、各検出素子の観測点を $(x_i, 0)$ 、各検出素子で検出した光音響信号を $s_i(x_i, t)$ とすると、**Delay and sum** 処理の結果得られる光音響信号 $s(x, t)$ は次式で得られる。

$$s(x, t) = \sum_{i=1}^N s_i(x_i, t - \tau_i) \quad (2-14)$$

$$\tau_i = \frac{1}{c} \left\{ \sqrt{z_0^2 + (x_0 - x_i)^2} - z_0 \right\} \quad (2-15)$$

ここで、 c は音速である。焦点位置 (x_0, z_0) を変えて式 2-14 及び式 2-15 を計算することにより任意の点に焦点位置を形成できるため、すべての検出素子で同時に光音響信号を検出すれば、1 回の光照射で 1 枚の画像を取得可能となる。高速に断面画像を取得できる特長より、臨床研究をはじめとした応用研究において広く使用されている。

2.4.3 研究動向

2.4.3.1 生体由来の光吸収体を対象としたイメージング

光音響イメージングでは、光吸収体の光吸収スペクトルに応じて励起波長を選択することにより、観測する光吸収体を選択できる。光音響イメージングにおいて広く用いられる可視から近赤外の波長域の光に対する生体由来の光吸収体の光吸収スペクトルを図 2-2 に示す。特にヘモグロビン及びメラノソームが広い波長域において高い吸光度を有する。

これらの生体由来の光吸収体の分布を光音響イメージングにより観測し、その分布と病変とを関連付けることにより、病変を診断することを目的とした臨床研究がいくつかのグループにより実施されている(表 2-1)[33]。

表 2-1 の通り、血液内のヘモグロビンを標的として励起波長を設定し、血管分布をイメージングする研究が主流である。これらの研究では、光音響イメージングにより正常部位と異なる血管分布を有する領域を探索し、腫瘍性病変や炎症性病変に由来する血管分布の変化と関連付けることにより、病変を診断することを試みている。励起光の波長は 700 nm よりも長い波長に設定されている。この波長域は生体組織による光減衰が小さく、生体内部に光が侵達しやすい生体の分光学的窓として知られる[20]。この波長域においては、ヘモグロビンの吸光度は $1 - 10 \text{ cm}^{-1}$ と、500 - 600 nm の波長域と比較して 1 桁低いものの、ヘモグロビンを含む血液が発生する光音響信号を観測可能である。

また、血液内の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンとで光吸収スペクトルが異なるため、複数の波長で励起して取得した光音響画像を分析すると、血液酸素飽和度に関連する情報が得られる。腫瘍性病変と正常部位とでの酸素飽和度の違いを基に腫瘍性病変を検出することが試みられている。

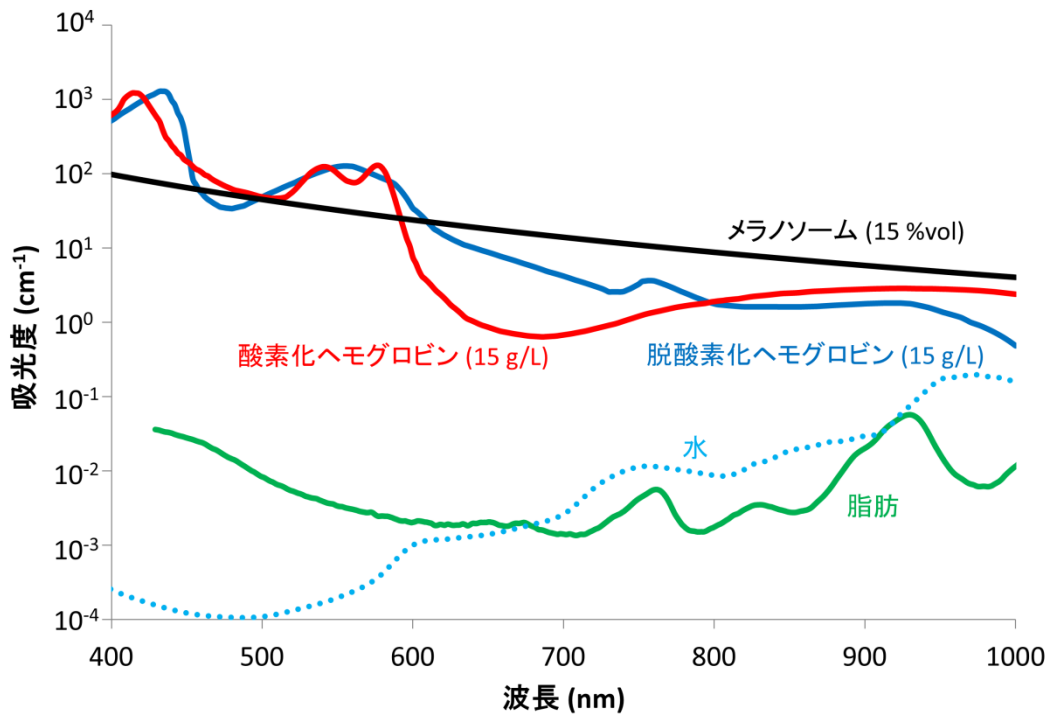


図 2-2 生体由来の光吸収体の光吸収スペクトル

Oregon Medical Laser Center が公表しているデータ[34]を用いて作成した。酸素化ヘモグロビン，脱酸素化ヘモグロビン，及びメラノソームが高い吸光度を有する。

表 2-1 生体由来の光吸収体を対象とした光音響イメージングによる臨床研究

f_C は超音波センサの中心周波数, f_L は低域カットオフ周波数, f_H は高域カットオフ周波数である。

応用	観測対象	励起波長 (nm)	超音波センサ形状	f_C (MHz)	f_L (MHz)	f_H (MHz)	文献
乳癌	血管分布 血液酸素飽和度	757, 1064	リニアアレイ型		4	16	[35]
甲状腺癌	血管分布 血液酸素飽和度 脂質	760, 850 930, 950	リニアアレイ型	8.5	3	12	[36]
前立腺癌	血管分布	750	経直腸用 コンベックスアレイ型	6.5			[7]
末梢血管	血管分布	750	リニアアレイ型	9			[12]
炎症性関節炎 (指)	血管分布 血液酸素飽和度	576, 584	リニアアレイ型	11.25			[37]
関節リウマチ (指)	血管分布	808	リニアアレイ型	7.5	2.5	10	[38]
悪性黒色腫 (皮膚癌)	メラニン	680	リニアアレイ型	21			[39]

2.4.3.2 造影剤を対象としたイメージング

生体由来の光吸収体を対象とした光音響イメージングは、ヘモグロビンを多く含む血液などを特に高感度に検出可能である。さらに、有機小分子や金ナノ粒子などの光吸収体を造影剤として使用すると、造影剤なしでは感度が不足する場合の信号増強や、吸光度が高い光吸収体を含まない組織のイメージングが可能となる。例としてリンパ管を介した癌の転移を評価する目的で、リンパ系をイメージングするために、造影剤を使用する研究が報告されている[40]。

さらに、病変を特異的に検出するために、病変そのものと直接関連する分子や代謝状態に反応して特異的に造影効果を発揮する分子標的造影剤が研究されている。標的とする分子に特異的に結合する物質で造影剤を修飾した分子標的造影剤が研究されており、細胞の分化や増殖に関連するタンパク[10, 41]、血管新生に関連する細胞接着因子[9]、及びがんの浸潤に関連するプロテアーゼ[42]を標的とした分子標的造影剤などが報告されている。この他に、分子標的造影剤と標的分子とが化学的に反応することにより、標的分子の存在下のみで造影効果を発揮する *activatable* 分子標的造影剤も報告されている[43]。

分子標的造影剤により、病態に直接関連する情報を取得可能となり、微小腫瘍の検出が可能となると考えられる。超音波イメージング装置は、既に腫瘍のイメージングに適用されているが、多発乳癌において平均 6.5 mm の径の腫瘍に対して検出感度が 52.9 %と報告されており、微小腫瘍のイメージングに制約がある[5]。本技術により微小腫瘍のイメージングを可能とできれば、がんの早期診断や、手術中のガイドの高精度化につながる。

現段階で、光音響イメージング用の分子標的造影剤は、臨床応用されていない。また、光音響イメージングよりも以前より研究が進められている蛍光イメージングにおいても分子標的造影剤は臨床応用されていない。臨床応用を可能

とするためには、安全性を確保したうえで有効性を示す必要があり、分子標的造影剤の安全な投与量を規定し、その投与量において標的部位に集積した分子標的造影剤を光音響イメージングにより検出可能とする必要がある。

2.4.4 光音響イメージングの要素技術

光音響イメージング装置は、観測対象に光を照射する光技術、観測対象が発生する超音波（光音響信号）を検出する超音波技術、及び検出した光音響信号から必要な情報を抽出するための信号処理技術とで構成される。ここでは、光技術、超音波技術、及び信号処理技術に分けて、光音響イメージング装置の要素技術について記載する。

2.4.4.1 光技術

2.4.1 で述べたとおり、光音響信号を効率よく発生するためには、数 10 ns 以下のパルス幅を有するナノ秒パルス光を観測対象に照射する必要がある。パルス光源として、Q スイッチ励起の固体レーザー、DPSS (Diode pumped solid state) レーザーなどが主に使用される。さらに、色素レーザー、Ti:Sapphire レーザー、及び Optical parametric oscillator (OPO) などの波長可変光源を用いると、観測対象に照射する励起光の波長を調整できる。観測対象に高エネルギーの励起光を照射すると高強度の光音響信号を発生させられるが、生体安全性の観点より観測対象表面での光のエネルギー密度(フルエンス)に上限値が JIS C 6802 で規定されている。700 nm 以下の可視光においては 20 mJ/cm² と規定されており、この上限値を超えない範囲で高エネルギーのパルス光源が主に使用される。

光源により発生したパルス光を観測対象まで伝送する方法は、ミラー等を用いて空間を伝送する方式と、光ファイバを用いて伝送する方式とに大別される。光ファイバは自由に取り回すことが可能であるため、光ファイバの位置を手動

で走査する場合などに有効である。空間を伝送する方式は、光ファイバを介することによる光エネルギーの損失が少ないため、大エネルギーを観測対象に照射できる利点があり、据付型の装置などにおいて使用される。

2.4.4.2 超音波技術

光音響信号の検出に用いる超音波センサとして、光の干渉計を利用した光学的検出[44, 45]や、容量検出方式[46]が一部で検討されているが、圧電素子を用いた圧電方式のセンサが広く用いられている [47]。圧電方式は主に、チタン酸ジルコン酸鉛(PZT)に代表される圧電セラミックと、ポリフッ化ビニリデン(PVDF)や、フッ化ビニリデン(VDF)と三フッ化エチレン(TrFE)との共重合体であるP(VDF-TrFE)に代表される高分子圧電フィルムに大別される。

圧電セラミックを用いた圧電方式の超音波センサは、超音波の送信効率に関連する圧電歪定数 d_{33} と、超音波の検出感度に関連する圧電電圧定数 g_{33} の両方が大きい。この特徴より、超音波を送受信する超音波イメージングに適しており、超音波トランスデューサ材料として広く普及している。また、機械的品質係数 Q が高いため、材質固有の周波数定数と素子の厚みとで決まる共振周波数を中心に、帯域幅の狭い感度ピークを有し、この帯域内の超音波を高効率に送受信できる。このため、共振周波数の設定が重要であり、2.4.3 で述べた超音波イメージングと同様に、撮像深度と空間分解能とのトレードオフにより設定されている。

高分子圧電フィルムを用いた圧電方式の超音波センサは、超音波の検出感度に関連する圧電電圧定数 g_{33} が圧電セラミックよりも大きい。機械的品質係数 Q が低いため PZT と比較して共振が弱いため、幅広い周波数帯の超音波を観測できる。また、音響インピーダンスが生体や水に近いと、生体や水に検出面を

接触させた場合に接触面での超音波反射率が比較的小さいため、接触面での反射損失が小さい。このように検出器として優れた特徴を有する一方で、超音波の送信効率に関連する圧電歪定数 d_{33} の値が小さいため、超音波の送受信を行う超音波イメージングへの適用には制約がある。

表 2-1 圧電材料の物性の比較 (圧電セラミックの物性[48], P(VDF-TrFE)の物性[13], P(VDF-TrFE)の機械的品質係数[49])

パラメータ	記号	単位	圧電セラミック PZT (C-213)	圧電フィルム P(VDF-TrFE)
音響インピーダンス	Z	Pa s m^{-3}	37	4.2
圧電電圧定数	g_{33}	$10^{-3} \text{ V m N}^{-1}$	23	-2.5×10^2
圧電歪定数	d_{33}	$10^{-12} \text{ m V}^{-1}$	3.1×10^2	-21
電気機械結合係数	k_t	無次元	0.70	0.32
機械的品質係数	Q_m	無次元	2.5×10^3	80

2.4.4.3 背景信号の抑制

光音響イメージングにより分子標的造影剤を検出するためには、分子標的造影剤の吸光度が極大となる吸収ピーク波長を励起波長に設定して光音響画像を取得する。このとき、可視から近赤外の波長域において広い波長範囲の光を吸収するヘモグロビンなどの生体由来の光吸収体も光音響信号を発生し、分子標的造影剤の描出を妨げる背景信号となる。よって、分子標的造影剤を光音響イメージングにより描出するためには、分子標的造影剤が発生する光音響信号と、生体内のヘモグロビンなどの光吸収体が発生する光音響信号とを弁別し、分子標的造影剤が発生する光音響信号のみを抽出する必要がある。

このための手法として、生体由来の光吸収体と分子標的造影剤とで、吸光度の波長依存性（光吸収スペクトル）がそれぞれ異なることを利用して、分光的に分離する手法が検討されている。この手法では、光音響イメージングにおいて観測対象に照射する励起光の波長を走査し、光音響信号強度の励起光波長に対する依存性（光音響スペクトル）を計測する。光音響スペクトルと、生体由来の光吸収体及び分子標的造影剤の光吸収スペクトルとを比較して、光音響信号の中から目的信号と背景信号とを弁別する。ここでは、弁別法として広く使用されているスペクトルフィッティング法[14, 15]について述べる。

式 2-13 に示す通り、波長 λ の励起光を用いた場合に、ある光吸収体が発生する光音響信号の強度 $s(\mathbf{r}, \lambda)$ は、光吸収量 $H(\mathbf{r}, \lambda)$ に比例する。光吸収量 $H(\mathbf{r}, \lambda)$ は、光吸収体の位置における励起光のエネルギー密度 $F(\mathbf{r}, \lambda)$ と、光吸収体の吸光度 $A(\mathbf{r}, \lambda)$ との積となる。ここで、式 2-13 における定数項を C にまとめると次式が得られる。

$$s(\mathbf{r}, \lambda) = C \cdot H(\mathbf{r}, \lambda) = C \cdot F(\mathbf{r}, \lambda) \cdot A(\mathbf{r}, \lambda) \quad (2-16)$$

励起光のエネルギー密度 $F(\mathbf{r}, \lambda)$ で光音響信号 $s(\mathbf{r}, \lambda)$ を規格化すると次式となり、光吸収スペクトルに対応する光音響スペクトルが得られる。

$$\frac{s(\mathbf{r}, \lambda)}{F(\mathbf{r}, \lambda)} = C \cdot A(\mathbf{r}, \lambda) \quad (2-17)$$

観測対象内に、目的信号の信号源である分子標的造影剤と、背景信号の信号源である生体由来の光吸収体を合わせて N 種類の光吸収体が含まれていると仮定すると、光吸収スペクトル $A(\mathbf{r}, \lambda)$ は各光吸収体の濃度 $c_i(\mathbf{r})$ と単位濃度あたりの光吸収スペクトル $\varepsilon_i(\lambda)$ の積の総和として表せる。

$$\frac{s(\mathbf{r}, \lambda)}{F(\mathbf{r}, \lambda)} = C \cdot \sum_{i=1}^N c_i(\mathbf{r}) \cdot \varepsilon_i(\lambda) \quad (2-18)$$

ここで、式 2-18 の右辺の $\varepsilon_i(\lambda)$ は、分光光度計による実測や、文献値から得られる既知情報であるため、未知数は各光吸収体の濃度 $c_i(\mathbf{r})$ と係数 C のみとなる。複数の励起波長での光音響信号を観測すると式 2-18 を複数個得られるため、各座標点 \mathbf{r} における連立方程式の解として、各光吸収体の濃度 $c_i(\mathbf{r})$ に係数 C を乗じた光吸収体濃度の相対値が得られる。

スペクトルフィッティング法では、式 2-18 の右辺と左辺とを一致させるため、光音響スペクトルに寄与する光音響信号を発生するすべての光吸収体の光吸収スペクトルを既知情報として与える必要がある。光吸収スペクトルに不足がある場合や、光音響スペクトルと一致しない場合には、計算誤差が生じることが確認されている[50]。

2.5 本研究の目的

本研究では、光音響イメージングにより生体深部の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤を検知可能とすることを目的とする。超音波イメージング装置や触診による検知に制約がある1-3 mmの大きさの微小腫瘍を対象として検討する。このためには、(1) 超音波の検出周波数と、(2)光波長を利用した背景信号抑制方法の両方を検討する必要がある。

(1) 超音波の検出周波数に関する検討

2.4.4.2 で述べたとおり、光音響イメージングの先行研究においては機械的品質係数が高い圧電セラミック製の超音波センサが広く使用されている。超音波センサの共振周波数は、超音波イメージング装置と同様に、観測対象の深度と所望の空間分解能を基に決定されている。本研究では、光音響信号の信号周波数は観測対象の大きさ及び吸光度に依存することに着目し、観測対象とする1-3 mmの大きさの微小腫瘍が発生する光音響信号の周波数に応じて超音波の検出周波数を設定することで感度を改善する。

(2) 光波長を利用した背景信号抑制方法

2.4.4.3 で述べたスペクトルフィッティング法が従来使用されている。この方法では、光吸収スペクトルと光音響スペクトルとが一致する仮定の下で、生体由来の光吸収体が発生する背景信号と、分子標的造影剤が発生する目的信号とを弁別している。このため、既知情報として与える光吸収スペクトルに不足がある場合や、光音響スペクトルと光吸収スペクトルとが一致しない場合に、計算誤差が生じる問題がある。これらの誤差要因の影響を受けにくい背景信号抑制方法を検討することにより、背景信号を抑制して、分子標的造影剤の選択的な検出を可能とする。

2.6 まとめ

本章の内容を下記にまとめる。

2.2 では、光イメージング技術について概説した。光吸収に関する情報を取得する光イメージング技術は、血管内のヘモグロビンをはじめとする光吸収体を検知できる。加えて、蛍光イメージングにおいては分子標的造影剤を用いた微小腫瘍のイメージングが報告されている。その一方で、観測対象内部の観測には生体の光散乱に由来する制約があることを記載した。

2.3 では、超音波イメージング技術について概説した。超音波イメージング技術は、光イメージングよりも深部の撮像が可能であるが、得られる情報は超音波を反射する物体の分布に関する情報であり、光イメージングとは異なる。腫瘍の検出に適用されているが、微小腫瘍に対する感度に制約があることを記載した。

2.4 では、光音響イメージングの原理及び研究動向について記載した。光音響イメージングは超音波を検出する原理より、生体内部の光吸収体を超音波の空間分解能で観測可能な技術であり、従来は主に血液などの生体由来の光吸収体を標的とした応用が検討されてきた。さらに、病変をより特異的に検出するための分子標的造影剤を用いた光音響イメージングに関する研究が行われていることを記載した。

2.5 では、本研究の目的について記載した。生体深部の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤を検知可能とするために、分子標的造影剤に対する感度及び選択性を高める必要があることを記載した。

次章では、分子標的造影剤に対する感度及び選択性を高めるために実施した研究の方法について記載する。

第3章 方法

3.1 まえがき

本章では、本研究の方法について記載する。

3.2 では、超音波の検出周波数について検討した方法を記述する。3.2.1 では、光音響信号の理論式に基づいて様々な光吸収体が発生する光音響信号を計算するために作成したシミュレータについて記述し、シミュレーション結果と実験結果とを比較してシミュレータの妥当性を検証した方法を記述する。3.2.2 では、本研究において標的とする、径 1 - 3 mm の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号をシミュレーションし、実験結果と比較した方法について記述する。3.2.3 では、径 1 - 3 mm の腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号を高感度に検知するための高分子圧電フィルム製の超音波センサを評価した方法について記述する。

3.3 では、光波長を利用した背景信号抑制方法について記述する。3.3.1 ではスペクトル微分に基づく背景信号抑制方法について記述する、3.3.2 ではスペクトル微分に使用する微分フィルタの係数最適化方法について記述する。

3.4 では、生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験の方法について記述する。

3.5 では、マウスの皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験の方法について記述する。

3.2 超音波の検出周波数に関する検討

3.2.1 シミュレーション法の確立

3.2.1.1 シミュレーション方法

2.4.1 に示した通り，熱緩和時間よりも十分に短いパルス幅の励起光を光吸収体に照射すると，観測点 \mathbf{r}' において観測できる光音響信号 $p(\mathbf{r}', t)$ は次式で表される。

$$p(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \left(\frac{1}{t} \iint_{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|=ct} H(\mathbf{r}-\mathbf{r}') dS \right) * \eta'(t) \quad (3-1)$$

ここで， c は音速， β は熱膨張係数， C_p は等圧比熱， $H(\mathbf{r})$ は光吸収分布， $\eta(t)$ は照射する励起パルス光の時間波形である。この光音響信号を十分に小さい観測面を有する超音波センサで観測した場合の受信信号 $s(\mathbf{r}', t)$ は次式となる。

$$s(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \left(\frac{1}{t} \iint_{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|=ct} H(\mathbf{r}-\mathbf{r}') dS \right) * \eta'(t) * m(t) \quad (3-2)$$

ここで， $m(t)$ は超音波センサのインパルス応答である。式 3-2 において，等圧比熱 C_p 及び熱膨張係数 β は振幅のみに寄与する。音速 c は水中における一般的な値として 1,500 m/s とした。以上より，光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ と，励起パルス光の時間波形 $\eta(t)$ を与えると観測点 \mathbf{r}' で観測した光音響信号 $s(\mathbf{r}', t)$ を算出できる。さらに，超音波センサの検出面の形状を計算に入れるために，超音波センサの検出面を離散化し，各微小面積素における光音響信号を計算し，それらを面積分した。

3.2.1.2 シミュレーションと実験との対比 (シミュレーション)

シミュレーション結果と実験結果とを比較するために、水中に平面状の光吸収体を配置した単純な条件において発生する光音響信号を超音波センサで検出するシミュレーションを実施した。

シミュレーションモデルを図 3-1 に示す。水中に 0.434 cm^{-1} から 17.4 cm^{-1} の範囲の吸光度を有する平面状の光吸収体を設置した。この吸光度は、光音響イメージングで一般的に計測対象とされる血液の吸光度を基に設定した。超音波センサは、3.3.1 に記載する実験で使用する超音波センサと同等の、外径 3.0 mm、内径 1.4 mm のリング状の検出面を有するものとした。近距離音場では超音波センサの感度が、音響検出軸に沿って増減を繰り返して安定しない。このため、センサと光吸収体との間の距離は、近距離音場限界距離よりも長い 45 mm とした。ここで、近距離音場限界距離は $N = D^2 / (4\lambda)$ で表され[51]、 D は センサの外径 3.0 mm、 λ は超音波の波長で 20 MHz の超音波が水中を音速 1,500 m/s で伝播することを想定すると 75 μm であるため、 $N=40 \text{ mm}$ と計算できる。

実際の実験では、光源から出射された励起光をコア径 400 μm の光ファイバに導入し、光ファイバの出射端を超音波センサの検出面の中央の開口部に固定する。

純水の光散乱係数は、光波長が長くなると減少する特性を有し、450 nm で $3 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ 、630 nm より長波長では $1 \times 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$ 以下である[52]。光子が散乱されずに伝播できる平均的な距離は光散乱係数の逆数であり、純水においては光ファイバ出射端から光吸収体までの距離である 45 mm と比較して十分に長いため、本実験においては光散乱の影響を無視できる。よって、本シミュレーションモ

デルでは、光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ は観測点 \mathbf{r}' を原点とした球座標系において、次式により幾何光学的に算出できる。

$$H(r, \theta, \phi) = F(r, \theta, \phi) \cdot \mu_a(r, \theta, \phi) \cdot \exp\left(-\int_0^r \mu_a(r', \theta, \phi) dr'\right) \quad (3-3)$$

$$\mu_a(r, \theta, \phi) = \mu_a \quad \text{where } r \cos \theta < z_0$$

ここで、 $F(r, \theta, \phi)$ は励起光の強度分布であり、実験に用いた光ファイバから出力される励起光の強度分布を光ファイバの出射端から 17.5 mm 離して配置したビームプロファイラ (SP620, Ophir, Israel) により計測し、光ファイバ出射端からの距離に応じて拡大した強度分布とした。 $\mu_a(r, \theta, \phi)$ は観測対象における光吸収係数分布である。平面状の光吸収体の深度において、吸光度に $\log_e 10$ を乗じて算出した光吸収係数 μ_a を与えた。 z_0 は光ファイバの出射端から光吸収体までの距離である。

超音波センサのインパルス応答 $m(t)$ は、3.3.1 に記載する実験で使用した超音波センサにより点音源が発生する光音響信号を観測した実測値とした。ビーム径 4.0 mm、波長 720 nm のレーザー光を、焦点距離 200 mm の平凸レンズを用いて集光し、光吸収係数が $2,000 \text{ cm}^{-1}$ のカーボン分散液に照射した。カーボン分散液表面でのビーム径は 44 μm と計算でき、カーボン分散液内での光侵達長は 5 μm である。これらの値は音速 1,500 m/s の水中を伝播する周波数 20 MHz の超音波の波長 75 μm よりも小さいため、周波数 20 MHz 以下の超音波について分析する場合には、式 3-3 の熱エネルギーの空間分布をデルタ関数に近似できる。この近似を導入すると式 3-2 は次式で表現される。

$$s_s(\mathbf{r}', t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \eta' \left(t - \frac{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}{c} \right) * m(t) \quad (3-4)$$

式 3-4 より，点音源を対象に計測した光音響信号は，超音波センサのインパルス応答とレーザーのパルス波形の微分との畳み込みを定数倍したものとなる [53]。よって，光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ に関して式 3-2 における積分項までを計算し，焦点に設置した点音源が発生する光音響信号を畳み込むことで，超音波センサで受信した光音響信号をシミュレーションした。

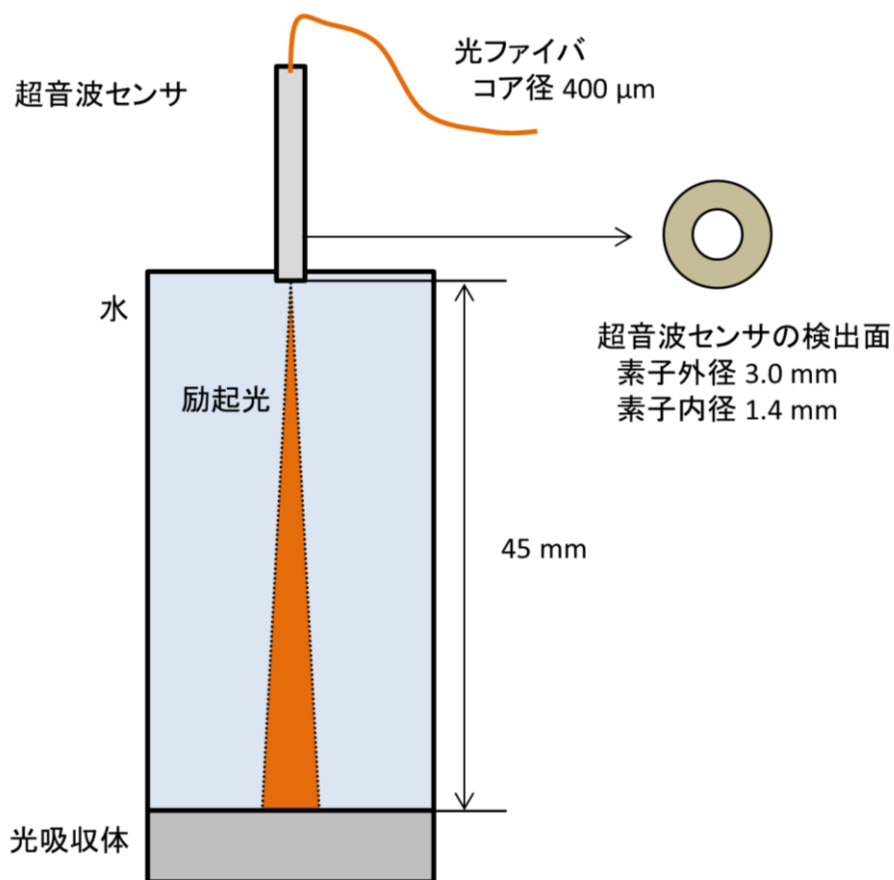


図 3-1 平面型光吸収体を対象とした光音響計測のシミュレーションモデル
光吸収体にコア径 400 μm の光ファイバから光を照射し，光吸収体が発生する光音響信号を超音波センサで検出して得られる信号波形から算出した。

3.2.1.3 シミュレーションと実験との対比（実験）

実験系を図 3-2 に示す。励起光源として Q スイッチ駆動の Nd:YAG レーザーの第 2 高調波(LS-2134, Lotis, Minsk, Belarus)で励起した波長可変 Ti:Sapphire レーザー(LT-2211, Lotis, Minsk, Belarus)を用いた。励起光のパルス幅は 20 ns, 波長は 720 nm, 繰り返し周波数は 15 Hz である。励起光はコア径 0.4 mm のマルチモード光ファイバ(M40L02, Thorlabs, Newton, NJ)に導入した。光ファイバの出力端をリング状の検出面を有する超音波センサに通すことで, 超音波センサの検出軸と同軸で励起光を照射可能とした。超音波センサは, 検出面の外径 3.0 mm, 内径 1.4 mm であり, 厚さ 50 μm の P(VDF-TrFE)を検出素子して用いた圧電型である。超音波センサの周波数特性は, 校正済みの hidroホン(HPM05/3, Precision acoustics, Dochester, UK)との比較校正により, 1~20 MHz の範囲で計測され, 感度が最大となる周波数は 1.7 MHz であり, 6 dB 帯域幅は 1.2-14.4 MHz であった。超音波センサで検出された光音響信号は, 低ノイズ FET アンプ(SA-220F5, NF 回路設計ブロック, 神奈川)により増幅したのちに, 2 GSa/s のサンプリングレートで動作するデジタルオシロスコープ(DSO8104A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA)で記録した。

観測対象は, 直径 35 mm, 厚さ 9 mm のポリスチレン製ディッシュを蒸留水で希釈した黒インク(Black Ink, Pilot, Tokyo, Japan)で満たし, 厚さ 11 μm のポリ塩化ビニリデン製のフィルムで蓋をして作成した。黒インクの希釈液の体積濃度は 6.0 % から 16.0 % まで 2.0 % の刻みで 6 つの濃度に調整した。励起波長である 720 nm における黒インク希釈液の吸光度は 4.3 cm^{-1} から 17.4 cm^{-1} の範囲であり, 計測波長において生体内の血液と同等の光侵達長を有する。観測対象を水浸し, 観測対象の表面から 45 mm 離して超音波センサを配置し, 超音波センサと同軸に配置した光ファイバから励起光を照射し, 光音響信号を観測した。

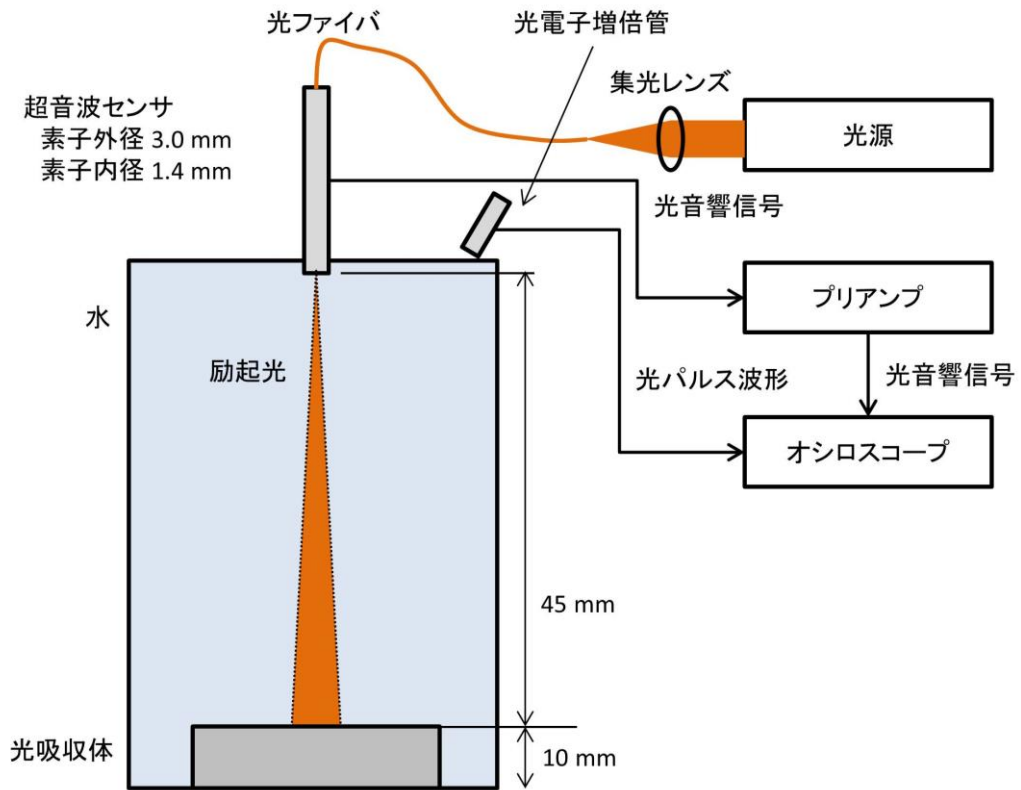


図 3-2 平面型光吸収体を対象とした光音響計測の実験系

光吸収体にコア径 $400 \mu\text{m}$ の光ファイバから光を照射し、光吸収体が発生する光音響信号を超音波センサで検出した。

3.2.2 微小腫瘍が発生する光音響信号の周波数の分析

3.2.2.1 シミュレーション

生体内部にある 1 - 3 mm の大きさの腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号について分析した。シミュレーションモデルを図 3-3 に示す。生体軟組織の表面から 5.0 mm の深さに、径 0.5 - 3.0 mm の模擬腫瘍を配置した。模擬腫瘍が発生する光音響信号を検出する超音波センサは、外径 12 mm、曲率 25 mm の凹面状の形状とした。この超音波センサは、曲率に相当する深度において感度焦点を形成するため、超音波センサから模擬腫瘍までの距離が曲率と一致するように、超音波センサと生体軟組織との間に厚さ 20 mm の水を介在させた。励起光は超音波センサと同軸に照射するものとし、励起光の生体軟組織表面における強度分布は、径 6.0 mm のガウス型とした。

模擬腫瘍及び生体軟組織の等価散乱係数 μ_s' は、生体組織による光散乱を Rayleigh 散乱と Mie 散乱の両方の寄与があるものとして、500 nm における等価散乱係数を基準にして近似的に計算する次式を用いて設定した [54]。

$$\mu_s'(\lambda) = a' \left\{ f_{Ray} \left(\frac{\lambda}{500} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left(\frac{\lambda}{500} \right)^{-b_{Mie}} \right\} \quad (3-5)$$

ここで、 λ は光の波長 (nm)、 a' は 500 nm における等価散乱係数 (cm^{-1})、 f_{Ray} は光散乱全体における Rayleigh 散乱の寄与割合、 b_{Mie} は Mie 散乱における散乱指数である。生体組織における平均的な値を表 3-1 に示す。

励起波長である 620 nm における乳房、線維組織の平均的な等価散乱係数は、式 3-6 により 13.0 cm^{-1} 、 17.6 cm^{-1} とそれぞれ計算できる。よって、生体軟組織と模擬腫瘍の等価散乱係数を、それぞれ 13.0 cm^{-1} 、 17.6 cm^{-1} に設定した。模擬腫瘍

の吸光度は、分子標的造影剤の集積度や投与量の違いを考慮し、 0.1 cm^{-1} 、 1.0 cm^{-1} 、 10 cm^{-1} の3段階で変化させた。

表 3-1 等価散乱係数に関連するパラメータ ([54]を基に作成)

組織の種類	a' (cm^{-1})	f_{Ray}	b_{Mie}
皮膚	48.0 ± 10.6	0.409 ± 0.178	0.702 ± 0.351
脳	27.4 ± 10.5	0.315 ± 0.368	1.087 ± 1.386
乳房	18.7 ± 7.0	0.288 ± 0.273	0.685 ± 0.984
骨	15.3 ± 7.9	0.022 ± 0.032	0.326 ± 0.298
軟組織	19.1 ± 11.3	0.153 ± 0.216	1.091 ± 0.483
線維組織	29.2 ± 5.4	0.489 ± 0.274	0.644 ± 0.572
脂肪組織	19.3 ± 9.1	0.174 ± 0.111	0.447 ± 0.263

光吸収体及びその周囲媒体における光散乱を考慮する必要があるため、3.1.1で実施するシミュレーションと異なり幾何光学的に光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ を導出できない。生体内における光伝播は輻射輸送方程式により表現できることが知られており、その近似解を求める方法としてモンテカルロ法が広く使用されている [55]。そこで、モンテカルロ法を用いて、分子標的造影剤が集積した腫瘍を模擬した光吸収体における光吸収の空間分布を算出した。モンテカルロ法による演算には `gpu3d` を用いた [56]。

光吸収分布 $H(\mathbf{r})$ に関して式 3-2 における積分項までを計算し、焦点に設置した点音源が発生する光音響信号を計測した結果を畳み込んで光音響信号波形を得た。

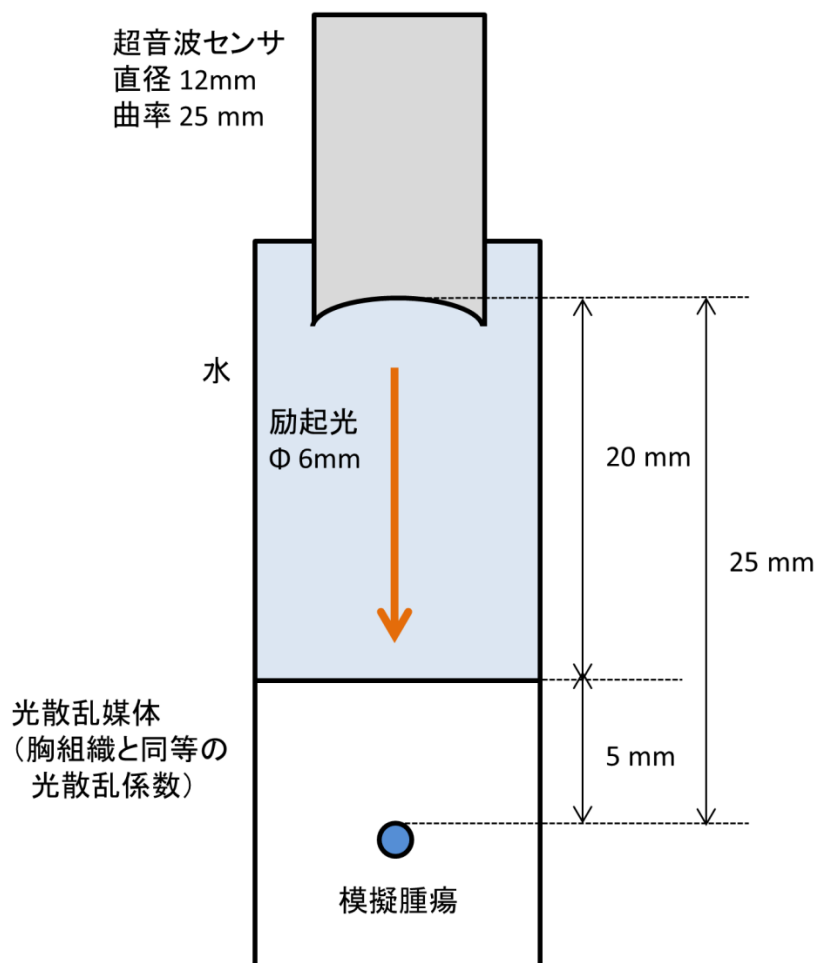


図 3-3 模擬腫瘍を対象とした光音響計測のシミュレーションモデル
励起光としてビーム径 6 mm のコリメート光を光散乱媒体表面に対して垂直に入射した条件で、光散乱媒体中に配置した模擬腫瘍が発生する光音響信号を算出した。

3.2.2.2 実験

実験系を図 3-4 に示す。励起光源として、Q スイッチ駆動の Nd:YAG レーザー (Quanta-Ray Pro-190-THDA-FE, Spectra-Physics, Santa Clara, CA) の第 3 高調波で励起した光パラメトリック発振器 (Versascan MBI-FE, Spectra-Physics, Santa Clara, CA) を用いた。励起光のパルス幅は 6 - 8 ns で繰り返し周波数は 10 Hz であり、光の波長は 620 nm に設定した。励起光をビームサンプラ (BSF-A, Thorlabs, Newton, NJ) により分岐し、分岐側をエネルギーメータ (PE10-C, Ophir, Jerusalem, Israel) により計測し、透過側をコア径 0.4 mm のマルチモード光ファイバを 19 本束ねた光ファイババンドル (FBF-19-220-400-SUS02-3-SUS0, フォトニックサイエンステクノロジー株式会社, 北海道) に導入した。19 本のマルチモード光ファイバの出射端は、超音波センサを中心とした直径 23 mm の円周上に 25° の角度をつけて配列した。このとき、光ファイバからの出射光の光軸は、光ファイバの出射端から 24.3 mm の距離で交差する。超音波センサは、外径 12 mm で曲率 25 mm の凹面状の検出面を有する厚さ 50 μm の P(VDF-TrFE) を検出素子とする圧電型である。超音波センサで検出された光音響信号は、低ノイズ FET アンプ (SA-220F5, NF 回路設計ブロック, 神奈川) により増幅したのちに、100 MSa/s のサンプリングレートで動作するデジタルオシロスコープ (M9210A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) で記録した。

観測対象は、径 0.3~4.0 mm の範囲内の大きさの模擬腫瘍とした。模擬腫瘍は、重量濃度 5.0 % のアガロース (5510UB, Life Technologies, Gaithersburg, MD) を蒸留水に溶かし、体積濃度 6.7 % のイントラリピッド (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany) を光散乱体として、東京大学 大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 医用生体工学講座 生体情報学分野 (浦野研究室) において合成された 620 nm に吸収ピークを有するシリコンローダミンを光吸収体としてそれぞれ加えた溶

液を、マグネティックスターラーで攪拌したミネラルオイル内に滴下することにより、球形に固めて作成した。ここで、光散乱体として用いるイントラリピッドの濃度は3.2.2.1のシミュレーションにおける等価散乱係数の設定値と同等になるように、イントラリピッド溶液の散乱係数の文献値[57]を基に算出した。

模擬腫瘍の大きさを精密に制御して作成することが困難であるため、作成した模擬腫瘍をデジタル実体顕微鏡(MJ-ICT16, 佐藤商事, 神奈川)で撮影し、画像分析ソフトウェア **Image J** を用いて大きさを計測した。模擬腫瘍を体積濃度 5.0 % のイントラリピッド溶液内の表面から 5 mm の深さに固定した。このイントラリピッド溶液に底面が接するように、底面を 11 μm のポリ塩化ビニリデン製のフィルムで貼り替えた水槽を固定し、この水槽内に光ファイバを周囲に配置した超音波センサを固定した。模擬腫瘍の位置が超音波センサの感度焦点に一致するように、マイクロメータを用いて超音波センサの位置を調整した。

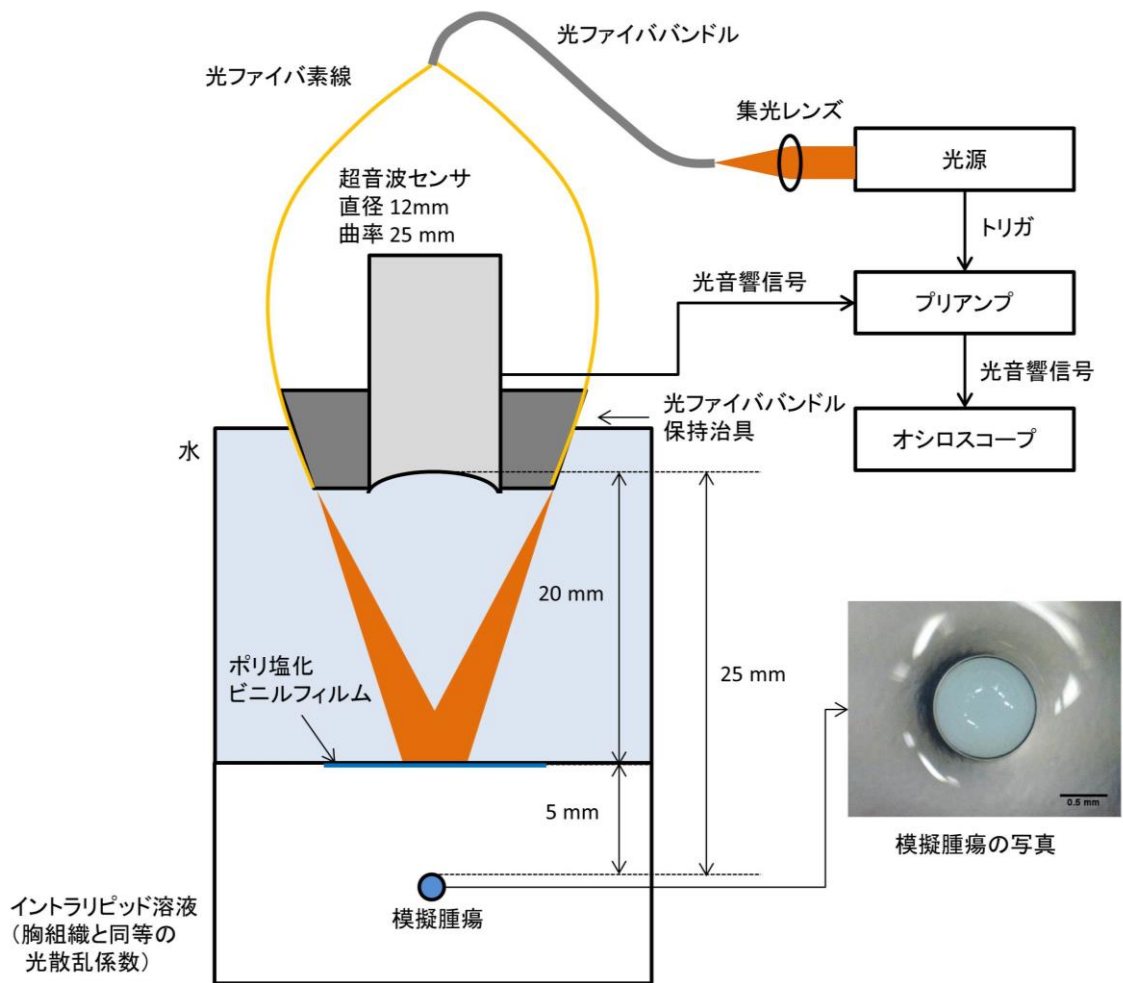


図 3-4 模擬腫瘍を対象とした光音響計測の実験系

超音波センサの周囲に配置した光ファイバから光を照射し、イントラリピッド溶液内に配置した模擬腫瘍が発生する光音響信号を計測した。

図中の写真のスケールバーは 0.5 mm である。

3.2.3 高分子圧電超音波センサの評価

3.2.2の結果を承けて、微小腫瘍が発生する光音響信号を高感度に検知するために、光音響イメージング用の超音波センサとして、外径 6.0 mm、内径 2.3 mm で、曲率 12.0 mm の検出面を有する厚さ 20 μm の P(VDF-TrFE)フィルムを用いた圧電方式の超音波センサを作成した。P(VDF-TrFE)フィルムを用いた圧電方式の超音波センサは幅広い周波数帯の信号を受信可能な特徴を有し、光音響イメージングの先行研究で観測されている微細な血管の検出に適した周波数の信号と、3.2.2.で検討した腫瘍に集積した造影剤の検出に適した周波数の信号の両方を検出可能と考えられる。図 3-5 の実験系を用いて点音源から発生した光音響信号を計測することにより、超音波センサの周波数 - 感度特性および空間 - 感度特性を評価した。

光吸収体は、532 nm において 1560 cm^{-1} の吸光度を有する黒インク(Black Ink, Pilot, Tokyo, Japan)とし、径 35 mm のポリスチレン製ディッシュに満たし、ディッシュの上面をポリ塩化ビニリデン製の厚さ 11 μm の透明フィルムで蓋をして、水槽内に水浸した。光源として、Q-switched Nd:YAG レーザー(Minilite II, Continuum, San Jose, CA)の第 2 高調波を用いた。光源から出力される径 4 mm の光をミラーにより空間伝送し、焦点距離 50 mm のレンズで集光し、水槽のガラス製の底面を介してディッシュ内の黒インクの底面に照射した。この時のスポット径は 8.11 μm 、光侵達長は 6.41 μm とそれぞれ計算できる。この条件において発生する光音響信号を、超音波センサにより観測した。このとき、超音波センサの位置をマイクロメータにより微調整し、信号強度が最大となる点を見つけることで、超音波センサの焦点と光の焦点の位置を一致させた。同配置において、光音響信号を校正済みのハイドロホン(HPM05/3, Precision acoustics,

Dochester, UK)でも計測し，比較校正により，超音波センサの周波数 - 感度特性を求めた。

超音波センサを3軸の自動ステージに固定して， x 方向及び y 方向に0.25 mm刻みで各11点， z 方向に1.00 mm刻みに11点の3次元走査を行い，各検出位置における信号の最大値を記録することにより，空間 - 感度分布を計測した。加えて，焦点近傍を高空間分解能に計測するために， x 方向及び y 方向に0.10 mm刻みで各11点， z 方向に0.50 mm刻みに7点の3次元走査も実施した。

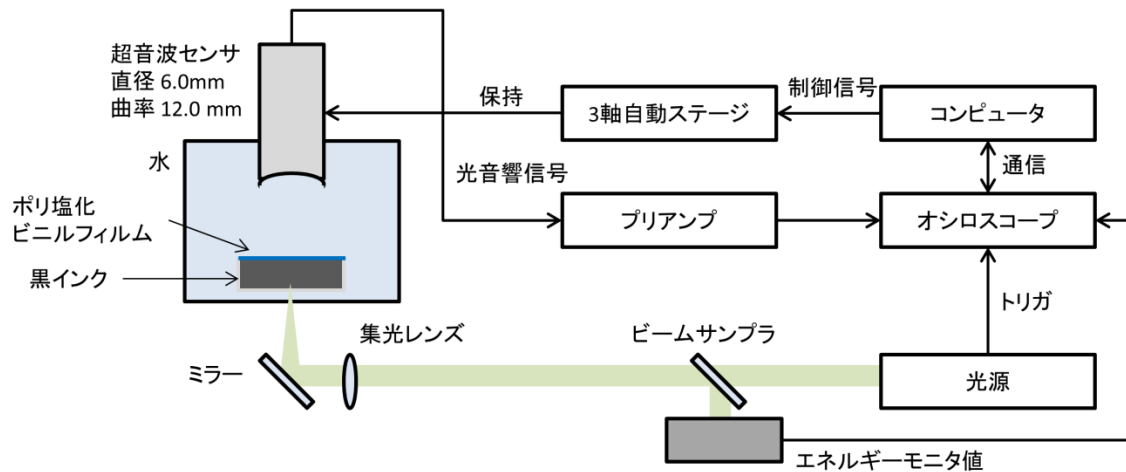


図 3-5 超音波センサを評価するための実験系

ミラーで集光した励起光の焦点で発生する光音響信号を超音波センサ及び校正済みのマイクロホンで観測して周波数 - 感度特性を評価した。

3軸の自動ステージで超音波センサを走査して光音響信号を観測し，空間 - 感度特性を評価した。

3.3 スペクトル微分を用いた背景信号抑制

3.3.1 スペクトル微分による背景信号抑制原理

スペクトル微分は、スペクトルデータからピークを抽出する目的で広く用いられている。光音響イメージングに使用する分子標的造影剤として有機小分子や金ナノロッドなどが想定され、それらの多くは特定の波長に吸光度が極大となる吸収ピークを有する。このため、光音響スペクトルから、分子標的造影剤の吸収ピーク波長におけるスペクトルピーク成分を検出することで、分子標的造影剤を弁別できる。

スペクトル微分法では、高感度にスペクトルピークを検出するために、2次微分スペクトルを計算する。図 3-6(a)は、650 nm に吸収ピークを有するシリコンローダミン (SiRho 650)の光吸収スペクトルと、脱酸素化ヘモグロビンの光吸収スペクトルとを重ね合わせたスペクトルである。図 3-6 (a)のスペクトルに対して、2次微分処理を施したスペクトルを図 3-6(b)に示す。SiRho 650 の吸収ピークである 650 nm において負のピークが観測されている。このため、SiRho 650 の吸収ピークにおける 2次微分値を正負反転した値を用いることで、検出したい造影剤の吸収ピーク波長にピークを有する信号成分のみを抽出できる。

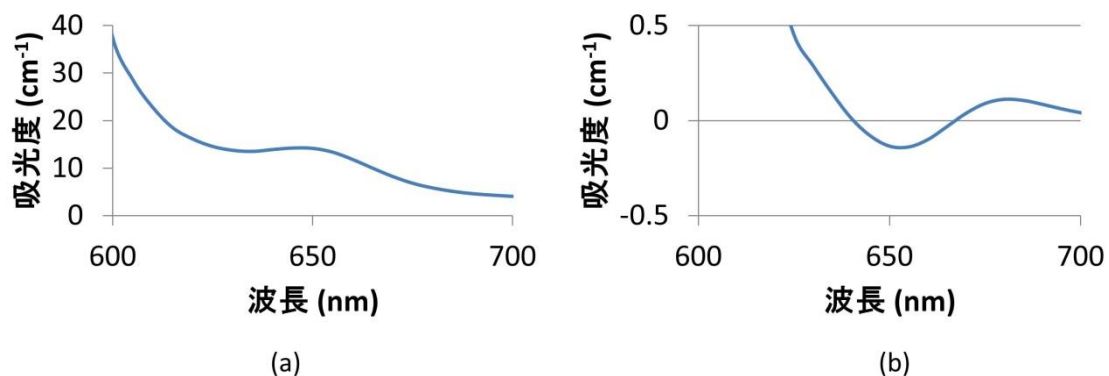


図 3-6 2 次微分による波長ピーク抽出の原理図。

- (a) ヘモグロビンと SiRho 650 の吸収スペクトルを混合したスペクトル。
 (b) (a) のスペクトルに対して 2 次微分処理を施したスペクトル。SiRho 650 の吸収ピークである 650 nm 近傍のみにおいて負の値をとる。

3.3.2 スペクトル微分フィルタの係数設定方法

Savitzky-Golay (SG) フィルタは、スペクトル微分処理において問題となるノイズ成分の増幅効果を抑制しながら、スペクトルの 2 次微分を算出するフィルタである。SG フィルタは光音響スペクトルからオフセット成分や線形成分を抑制しながらスペクトルピークを強調するため、背景信号に由来するピークを持たない信号成分を効率的に抑制できる。

SG フィルタは、光音響スペクトルを低次の多項式で近似してその 2 次の係数を計算するフィルタであり、次式で表される行列 A の 3 列目としてそのフィルタ係数が得られる。

$$A = (X^T X)^{-1} X^T \quad (3-6)$$

ここで X は $W \times N$ 列の行列であり、その行列の要素は $x_{ij} = i^{j-1}$ ($i = 1, 2, \dots, W$, $j = 1, 2, \dots, N$) である。このフィルタの背景信号抑制効果は、多項式近似の次数 N と、スペクトル窓の幅 W に依存する。多項式近似の次数 N は、多項式近似の次

数を小さくすることでスペクトル微分特有のノイズ増強効果を抑制できることから、2次とした。等間隔の波長刻み $d\lambda$ で計測したスペクトルデータから、スペクトル窓の幅 W に相当する点数のデータを抽出する場合、スペクトル窓内に含まれる波長幅は $(W-1) \cdot d\lambda$ となる。SG フィルタはスペクトル帯域通過フィルタとして作用し、その透過帯域幅は波長幅に依存する。透過帯域幅を広げると、フィルタ処理後の目的信号の強度は増加するものの、背景信号も増加する。そこで本研究では、目的信号に対する感度及び選択性を高めるために、波長刻み $d\lambda$ を 5 とした条件で、スペクトル窓の幅 W の最適化を図った。

SG フィルタによる抽出対象は、分子標的造影剤の光吸収スペクトルの2次微分であるため、SG フィルタの伝達関数が分子標的造影剤の光吸収スペクトルの2次微分に近づくようにフィルタを設計した。ここで、SG フィルタの伝達関数 $T_w(k)$ は、式 3-6 により得られるフィルタ係数をフーリエ変換することにより算出し、分子標的造影剤の光吸収スペクトルの2次微分 $M(k)$ は、分子標的造影剤の光吸収スペクトルのフーリエ変換に波数の2乗を乗じて算出した。SG フィルタの伝達関数 $T_w(k)$ と分子標的造影剤の光吸収スペクトルの2次微分 $M(k)$ との相関を指標とすることで最適なフィルタを設計でき、今回は次式で得られる決定係数 R^2 を基に評価した。

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^W \{T_w(k_i) - \bar{T}_w\} \{M(k_i) - \bar{M}\}}{\sum_{i=1}^W \{T_w(k_i) - \bar{T}_w\}^2 + \sum_{i=1}^W \{M(k_i) - \bar{M}\}^2} \quad (3-7)$$

3.4 生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験

標的部位に集積した分子標的造影剤の経皮的イメージングを想定し、生体模擬ファントムを、皮膚層、軟組織層、観測対象層の3層で構成した。皮膚層と軟組織層は、トリス緩衝生理食塩水に重量濃度 20 %のゼラチン (G2500, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO)を加えて作成した。皮膚層には、光吸収体として黒インク(S0216630; Rotring, Hamburg, Germany)及びヘモグロビンを、光散乱体としてイントラリピッドをそれぞれ加えた。軟組織層には、光吸収体としてヘモグロビンを、光散乱体としてイントラリピッド(Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany)をそれぞれ加えた。光吸収体と光散乱体の濃度を表 3-2 に示す。光散乱体として用いるイントラリピッドの濃度は、皮膚及び生体軟組織の光散乱係数の文献値[54]と、イントラリピッドの光散乱係数の文献値 [57]を用いて算出した。イントラリピッドの光散乱係数はゼラチン濃度を増加すると低下する[58]ため、ファントム内のイントラリピッド濃度は、ゼラチンを添加しないイントラリピッド溶液と同等の光透過率になるように調整した。生体模擬ファントムの光学特性を図 3-7 に示す。

観測対象層は、1 mm の厚さの高透明シリコンシート(SKSC-6000-01, SK Co.,Ltd, Tokyo, Japan)で作成した。シリコンシートに径 3 mm の穴を開け、観測対象の光吸収体を重量比 10 %のゼラチン溶液で希釈し、ゼラチン溶液を穴に流し込んでゲル化させた。観測対象の光吸収体として、東京大学 大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 医用生体工学講座 生体情報学分野（浦野研究室）において合成された、500 nm に吸収ピークを有するローダミン(Rho 500)と、650 nm に吸収ピークを有するシリコンローダミン(SiRho 650)を、100 μ M に希釈して使用した。生体組織に由来する背景信号として、ヘマトクリット 10 %相当の濃度のヘモグロビンも観測対象とした。ヘモグロビンは、ウサギの全血を遠心分離

して赤血球成分を抽出[59]し、蒸留水を加えて赤血球を溶血させ、遠心分離により残存した赤血球の膜成分を除去することで得た。なお、ウサギからの採血は、防衛医科大学校実験動物倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 16013）。観測対象層に配置する光吸収体の光吸収スペクトルを図 3-8 に示す。

実験系を図 3-9 に示す。3.2.2.2 と同様の励起光源及び励起光の導光方法を用いた。19 本の光ファイバからの出力光軸の交点と超音波センサとの焦点とが一致するように、超音波センサの検出面を光ファイバの端面より 12.0 mm 前面に固定した。光ファイバと一体化した超音波センサを、厚さ 11 μm のポリ塩化ビニルフィルム製の底面を有する水槽内に水浸した。ファントムを水槽の下に設置して水槽底面のフィルムに接触させた。ゼラチン製のファントムが溶けることを防ぐために、水温は 15°C に保温した。超音波センサで観測した信号の増幅方法及び記録方法は、3.2.2.2 と同様とした。光ファイバと超音波センサとで構成される検出部をステッピングモーターステージ(SGSP20-200, SIGMAKOKI, Tokyo, Japan)を用いて x 方向に走査した。走査点ごとに観測した光音響信号に対してウェーブレットフィルタを施して白色雑音を除去し、100 次のゼロ位相帯域通過フィルタ(通過帯域 0.5 – 20 MHz)を施して帯域外の雑音を除去し、ヒルベルト変換を用いて包絡線を算出した。この包絡線信号は z 方向断面の情報を有するため、各走査点で得られる包絡線信号を並べることにより光音響断層画像を取得した。ここで、信号の取得、ステージによる走査、励起光波長の設定は、LabVIEW を用いて自作したプログラムにより制御した。

背景信号を抑制するために、観測対象について励起光波長を変化させて光音響画像を取得した。Rho 500 と SiRho 650 について、それぞれ 450 - 550 nm と 600 - 700 nm の波長範囲で 5 nm 刻みに励起波長を走査した。ヘモグロビンサンプルは、Rho 500 及び SiRho 650 の両方と比較するために、450 - 550 nm 及び 600 - 700

nm の波長範囲で 5 nm 刻みに励起波長を走査した。励起パルス光のエネルギーは、0.5 -1.5 mJ の範囲内とした。光音響断層画像を得るために、超音波センサを幅 20 mm の範囲で 0.4 mm 刻みで走査して信号を取得した。

表 3-2 生体模擬ファントムの組成

組織	インク (%)	ヘモグロビン溶液 (μM)	イントラリピッド (%)
皮膚	0.0023	1.35	28.1
軟組織	0	15.0	6.37

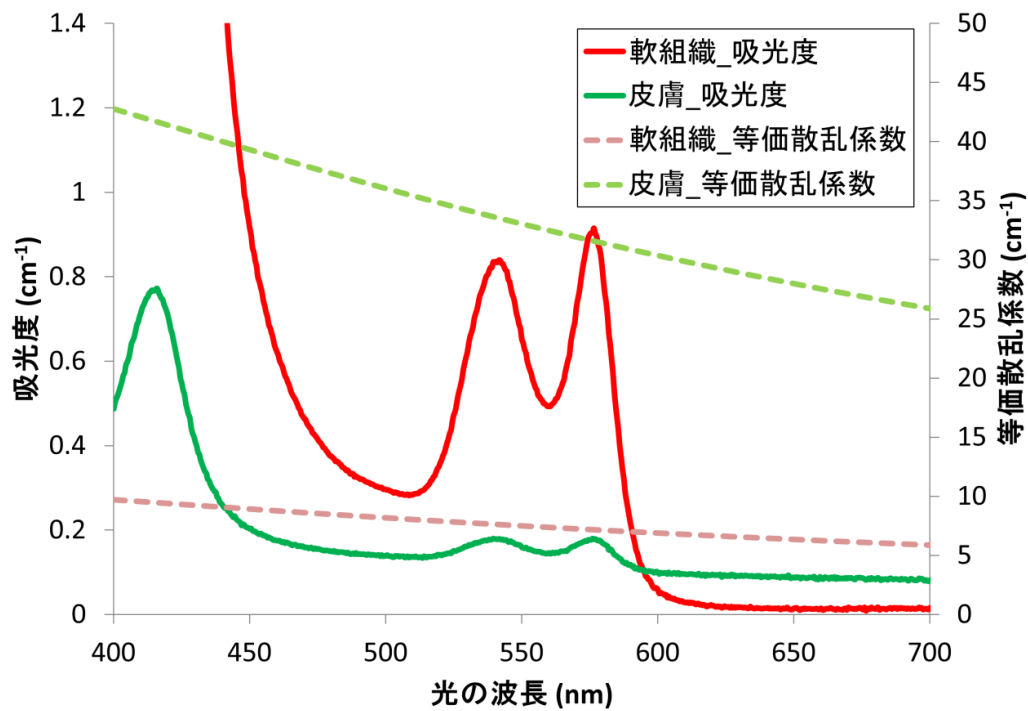


図 3-7 軟組織ファントム及び皮膚ファントムの光学特性
吸光度及び等価散乱係数をそれぞれ示す。

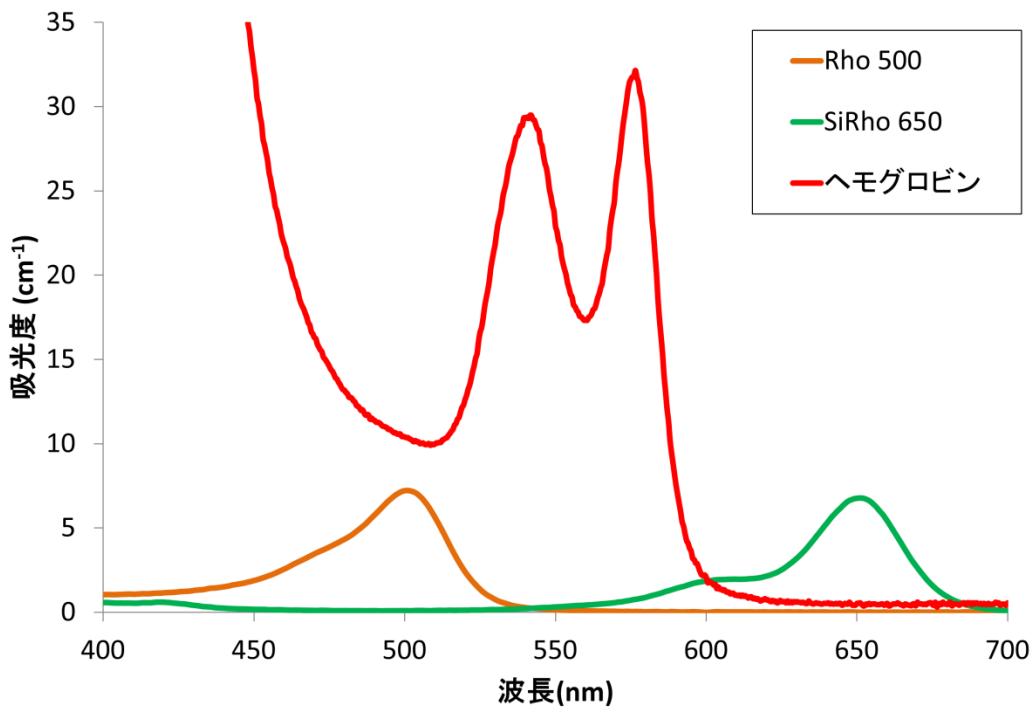


図 3-8 観測対象層に配置する光吸収体の光吸収スペクトル

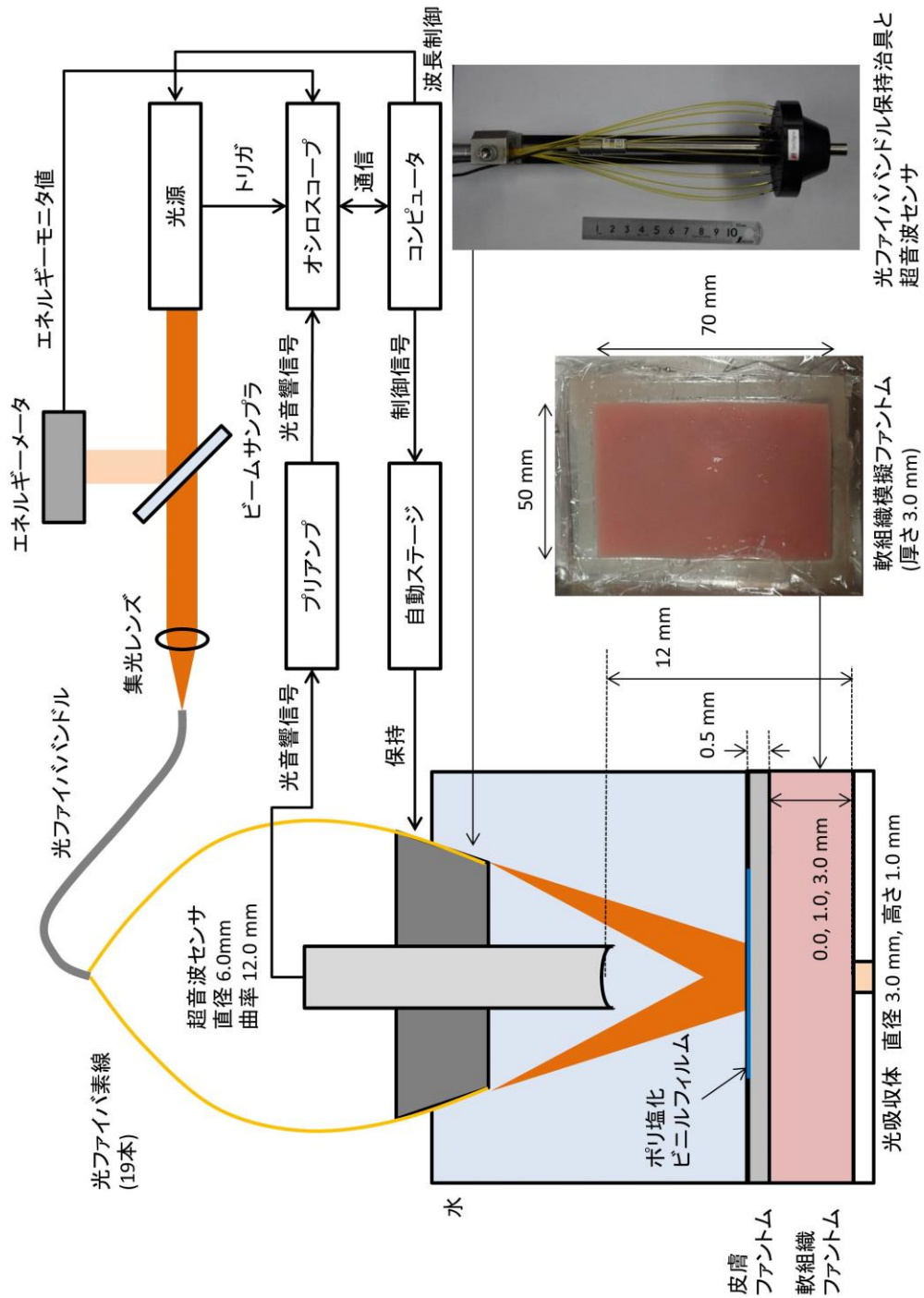


図 3-9 生体模擬ファントムを対象とした光音響イメージング用の実験系
 超音波センサの周囲に配列した光ファイバから生体模擬ファントムに光を照射し、観測対象層に配置した光吸収体が発生する光音響信号を観測した。自動ステージを用いて超音波センサを走査して断面画像を取得した。

3.5 マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験

本動物実験は防衛医科大学校実験動物倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 14014）。雌性のヌードマウス (Balb/c slc-nu/nu, 日本エスエルシー, 静岡) の側腹部皮下に 5×10^6 個のヒト肺胞基底上皮腺癌細胞(A549 細胞)を 100 μL の培地(Dulbecco's modified Eagle's medium, 富士フイルム和光純薬, 埼玉)に希釈して投与して皮下腫瘍を作成し, 腫瘍径が約 3 - 6 mm になった後に光音響イメージング実験を実施した。

実験系を図 3-10 に示す。マウスは麻酔器(SN-487, シナノ製作所, 東京)により気化した濃度 4%のイソフルランで麻酔導入し, 濃度 1.5 %のイソフルランで麻酔状態を維持した。マウスの鼻先が入るように麻酔マスクを固定し, 実験中にマウスの呼吸状態が維持されるように努めた。光ファイバと一体化した超音波センサを, 厚さ 11 μm のポリ塩化ビニルフィルム製の底面を有する水槽内に水浸した。マウスに低粘度でかつ透明な超音波ゲル (Towa gel, Towa tech., 東京) を塗布して水槽の底面を接触させた。マウスの周囲に超音波計測に影響しない素材のゲル(ソナゲル, タキロン, 大阪)で壁を作り, 超音波ゲルの流動を抑制した。マウスの体温低下を避けるために, 水槽内の水温を 36 - 38°Cの範囲内に制御し, マウスを表面温度 38°Cのプレート型ヒーター(MATS-55AXK-DG-AN, 東海ヒット, 静岡)の上に配置した。マウスの皮下腫瘍に, 濃度 100 μM の Rho500 或いは SiRho650 を 40 μL 投与する前後に光音響画像を取得した。光波長及びセンサの走査条件設定は, 3.4 の実験で示した内容と同様とした。マウスの呼吸性体動に由来する位置ずれを補正するために, 同部位を異なる波長で観測した光音響信号間での相互相関が最大になるように, 光音響信号を時間シフトした。観測対象の形態的情報を得るために, 超音波センサにパルサーレーザー (PR8200, Olympus, 東京)を接続し, 超音波エコー画像を併せて取得した。

第4章 結果

4.1 まえがき

本章では、本研究で実施した実験及びシミュレーションの結果について記載する。

4.2 では、超音波の検出周波数について検討した結果を記述する。4.2.1 では、光音響信号の理論式に基づいて様々な光吸収体が発生する光音響信号を計算するために作成したシミュレータについて、シミュレーション結果を実験結果と対比して妥当性を評価した結果を記述する。4.2.2 では、本研究において標的とする径 1 - 3 mm の腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号の周波数についてシミュレーション及び実験により分析した結果について記述する。

4.2.3 では、径 1 - 3 mm の腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号を高感度に検知するための高分子圧電フィルム製の超音波センサを評価した結果について記述する。

4.3 では、スペクトル微分に基づく背景信号抑制方法において使用する Savitzky-Golay フィルタの係数の最適化結果について記述する。

4.4 では、生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験の結果について記述する。4.4.1 では、4.2 における超音波の検出周波数の検討による感度の改善について評価した結果を記述する。4.4.2 では、4.3 における背景信号抑制方法の適用による、分子標的造影剤が発生する目的信号に対する選択性の改善について評価した結果を記述する。4.4.3 では、励起波長数を削減した場合の背景信号抑制効果の変化について評価した結果を記述する。

4.5 では、マウスの皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験の結果について記述する。

4.2 超音波の検出周波数に関する検討

4.2.1 シミュレーション法の確立

4.2.1.1 シミュレーションと実験の対比（シミュレーション）

図 4-1 に吸光度が 7.4 cm^{-1} , 13 cm^{-1} の平面型光吸収体が発生する信号の時間波形を示す。観測対象に光を照射すると光音響信号が発生し、観測対象から超音波センサまで光音響信号が伝播する時間分の遅延を経て超音波センサにより検出される。ここでは音速を $1,500 \text{ m/s}$ と設定したため、 45 mm の距離を光音響信号が伝播する時間である $30 \mu\text{s}$ の遅延を経て光音響信号が観測された。信号の立ち上がりは 2 条件でほぼ同じであるのに対して信号の立下りは異なり、平面型光吸収体の吸光度が大きいほど急峻となった。図 4-2 に示す通り、平面型光吸収体と水との境界が明確であるため、超音波センサ側から見た光吸収領域の深さ分布は、平面型光吸収体とその周囲の水との間で急峻に立ち上がり、平面型光吸収体の内部においては光減衰を反映した深さ分布を持つ。本実験で用いた平面型光吸収体は光を散乱しないため、励起光は平面型光吸収体の表面から内部にかけて Lambert-Beer の法則に従い、指数関数的に減衰する。光吸収体の吸光度はこの時の減衰率に相当し、吸光度が低い条件では表面から内部にかけての光吸収の深さ分布が比較的平坦となる。光吸収体内部で発生する光音響信号は、光吸収体表面で発生する光音響信号よりも、超音波センサに到達するまでの伝播距離が長いため、超音波センサに到達するまでの時間に遅延が生じる。このため、光吸収体内部で光音響信号が発生すると、光音響信号の時間幅が延長する。この結果、吸光度が低い条件では、光吸収体内部で発生する光音響信号に関して信号の立下りが比較的平坦となったと考えられる。

図 4-1 に示す通り、光音響信号はパルス波形で、信号に含まれる周波数成分は

継時的に変化することから、時間分解能を有する周波数分析法である連続ウェーブレット変換(Continuous Wavelet Transform, CWT)により光音響信号を分析した。

信号 $s(t)$ の連続ウェーブレット変換 $T(a,b)$ は次式で表される。

$$T(a,b) = a^{-\frac{1}{2}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \Psi^* \left(\frac{t-b}{a} \right) dt \quad (4-1)$$

ここで、 $\Psi^*(t)$ は CWT の基底関数となるマザーウェーブレット関数 $\Psi(t)$ の複素共役、 a は伸張パラメータ、 b は位置パラメータである。本研究ではマザーウェーブレット関数として、次式で表される複素モルレーウェーブレットを用いた。

$$\Psi(t) = \pi^{-\frac{1}{4}} \left(e^{-i\omega_0 t} - e^{-\omega_0^2 t} \right) e^{-\frac{t^2}{2}} \quad (4-2)$$

複素モルレーウェーブレットはガウス関数型の包絡線を有する複素正弦関数であり、ウェーブレットの中心周波数 ω_0 は、包絡線内に含まれる正弦波の数を決定する。伸張パラメータ a は $f = \omega_0 / a$ で周波数に換算でき、位置パラメータ b はそのまま時間に相当する。このため、信号 $s(t)$ の CWT である $T(a,b)$ より、時分解周波数スペクトルは $T(f,t) = T(\omega_0 / a, b)$ により算出でき、その振幅成分を $|T(f,t)| = \left(\text{Re}[T(f,t)]^2 + \text{Im}[T(f,t)]^2 \right)^{\frac{1}{2}}$ として算出した。

図 4-1 に示す光音響信号に対して CWT を適用して得た時分解周波数スペクトルを図 4-3 に示す。信号ピーク時間を基準にして周波数成分の変動を分析するために、図 4-3 の横軸は、光音響信号の信号ピークが $t = 0$ となるようにシフトした。信号ピークである $t = 0$ 近傍で信号波形の急峻な立ち上がりを反映する広帯

域な信号が観測された後に、信号波形の立下りを反映する低周波数の信号が観測された。また、図 4-3(a)と比較して図 4-3(b)の方が、高周波数にシフトしているため、周波数特性が吸光度の違いを反映すると考え、周波数と吸光度との関係に着目して分析した。図 4-4 は、図 4-3(a)に示す時分解周波数スペクトルの t_1 及び t_2 における断面であり、各時間における周波数スペクトルに相当する。図 4-4 の周波数スペクトルより、振幅が最大となるピーク周波数を時間ごとに算出できる。図 4-5 は、ピーク周波数の継時的な変化を示したグラフである。図 4-5 より、吸光度の高い光吸収体が発生する光音響信号のピーク周波数は、特に $t=0$ 近傍において高値となった。様々な吸光度の光吸収体が発生する光音響信号をシミュレーションし、継時的に変化するピーク周波数の最大値として得られる最大周波数について評価した結果を図 4-6 に示す。図 4-6 より、最大周波数は、吸光度の増加に対して単調に増加することを確認した。

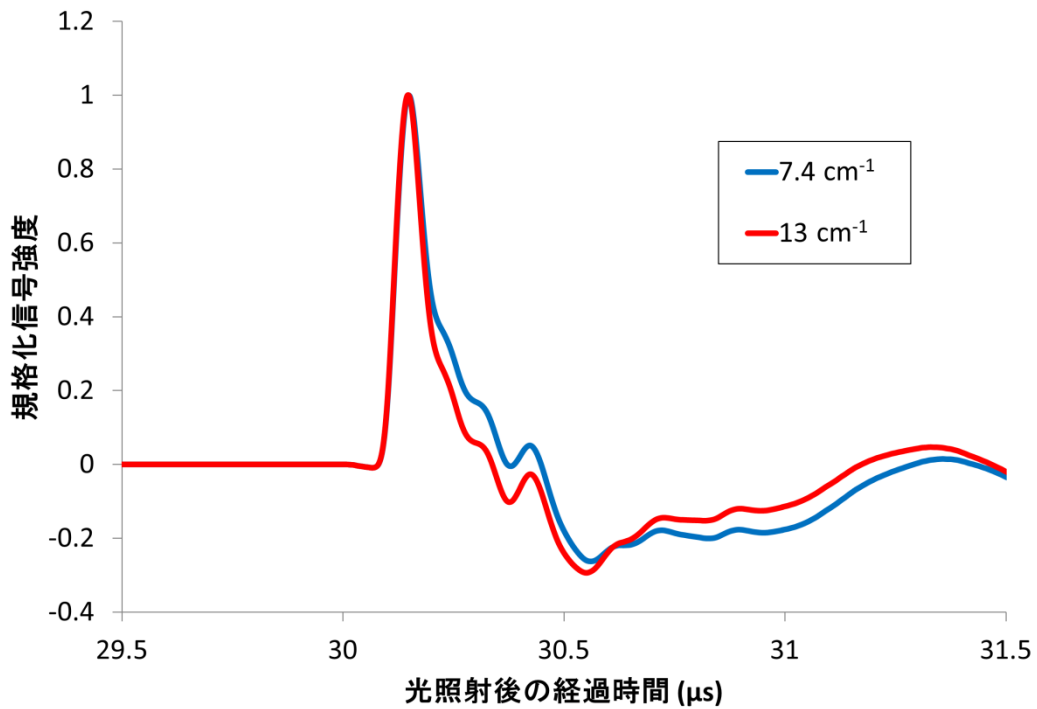


図 4-1 平面型光吸収体が発生する光音響信号のシミュレーション結果。
光吸収体の吸光度は 7.4 cm^{-1} と 13 cm^{-1} であり, 信号の最大値が 1 になるように規格化した。

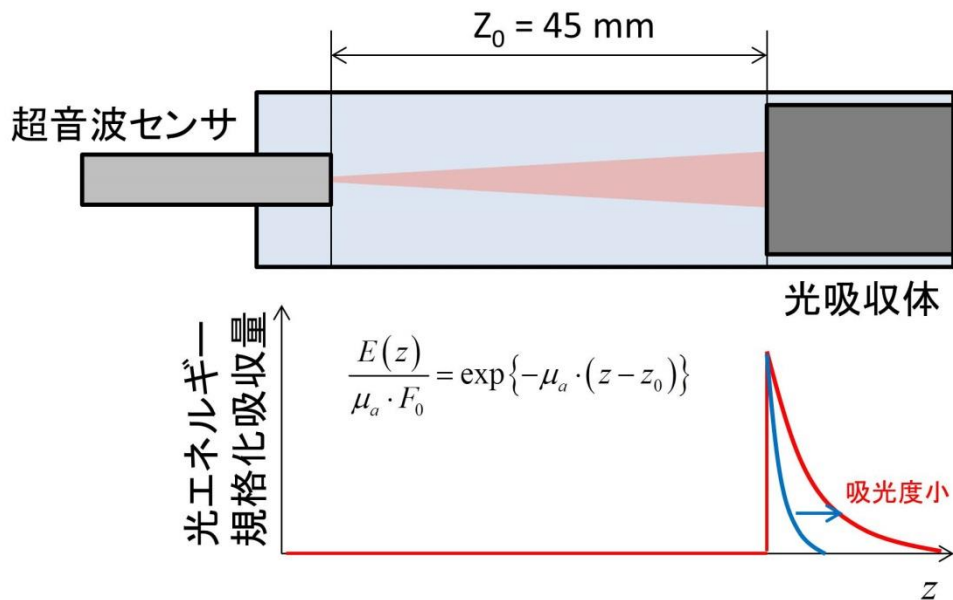


図 4-2 光吸収体の吸光度変化による光吸収体内での光吸収分布の変化
吸光度が低い条件では光吸収体内部まで光が侵達するため光吸収体内部でも光音響信号が発生する。

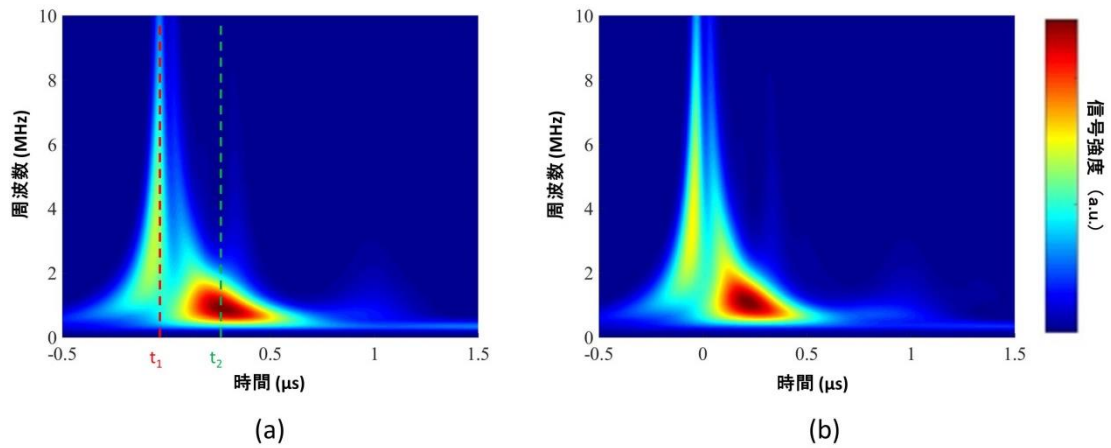


図 4-3 平面型光吸収体が発生する光音響信号の時分解周波数スペクトル
 平面型光吸収体の吸光度は、(a)7.4 cm⁻¹ と (b)13 cm⁻¹ である。
 信号のピークが t = 0 になるように時間軸をシフトした。

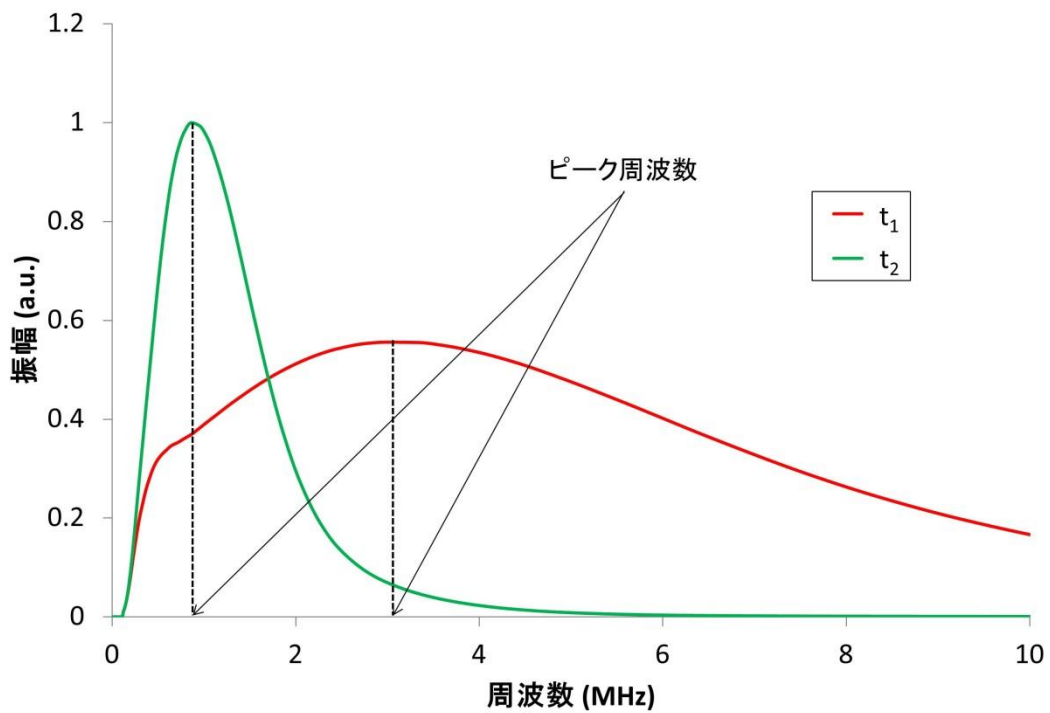


図 4-4 時分解周波数スペクトルの断面として得られる周波数スペクトル
 図 4-3(a)の t₁ 及び t₂ における断面をそれぞれ示した。断面において信号強度が最大となる周波数をピーク周波数と定義した。

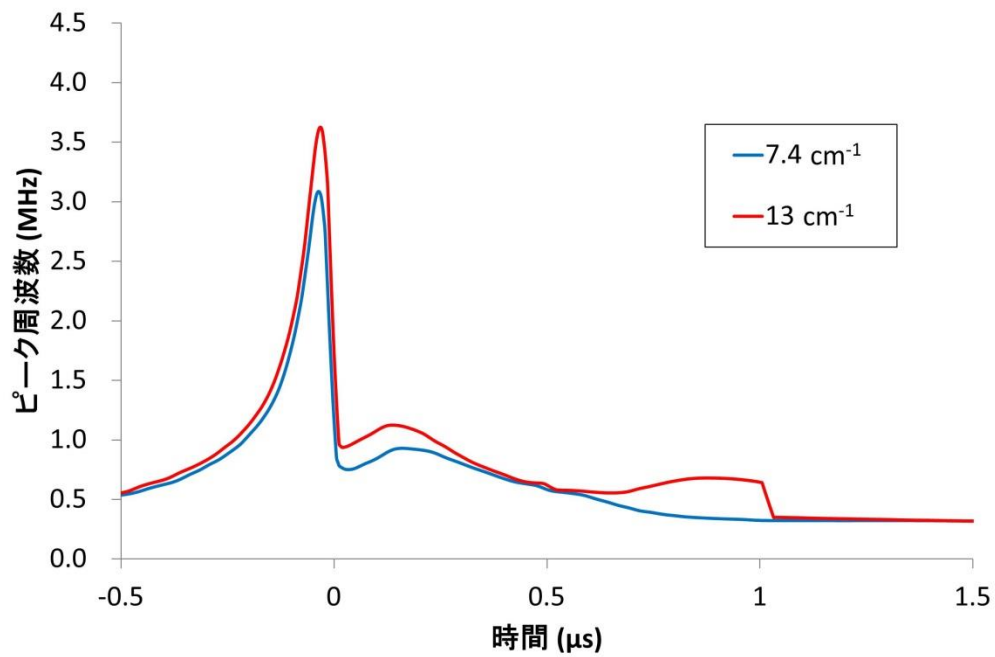


図 4-5 ピーク周波数の継時的変化

吸光度が 7.4 cm^{-1} と 13 cm^{-1} の平面型光吸収体が発生する光音響信号の時分解周波数スペクトルからそれぞれ算出した。

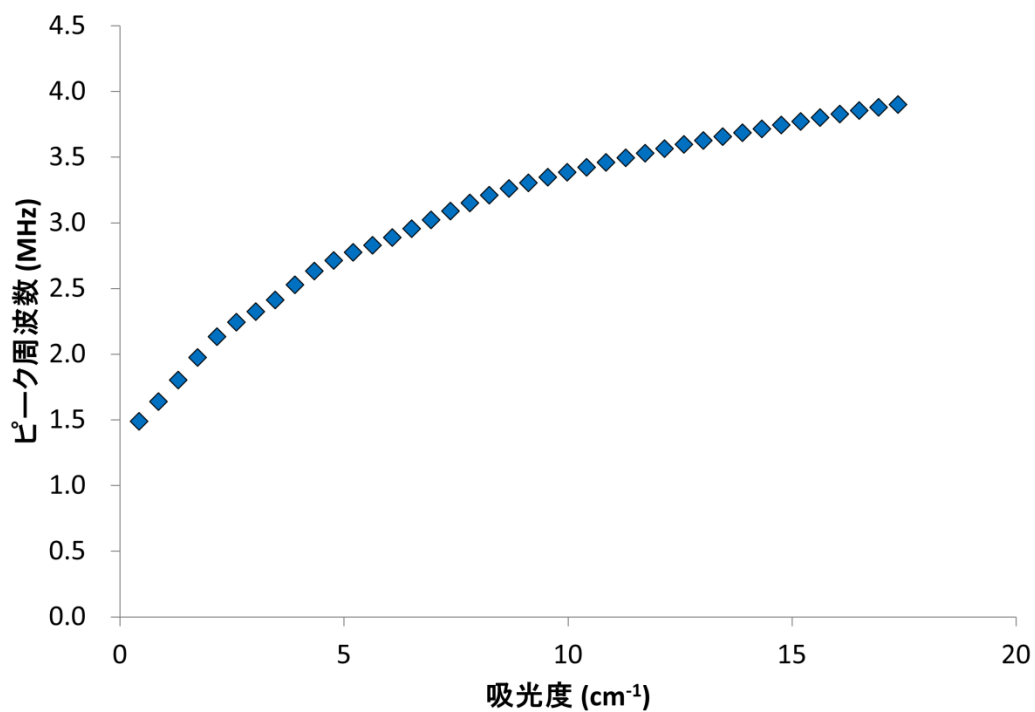


図 4-6 最大周波数と吸光度との関係

最大周波数はピーク周波数の最大値として定義した。

4.2.1.2 シミュレーションと実験の対比（実験）

図 4-7 は、6 つの吸光度の平面型光吸収体を対象に光音響信号を計測し、計測した光音響信号の時分解周波数スペクトルを算出し、そのピーク周波数の最大値として得られる最大周波数を算出したものである。図 4-6 に示した同条件でのシミュレーション結果と重ねて表示する。

シミュレーション結果と実験結果とがよく一致することが確認でき、両者間の決定係数について算出した結果、0.97 であった。

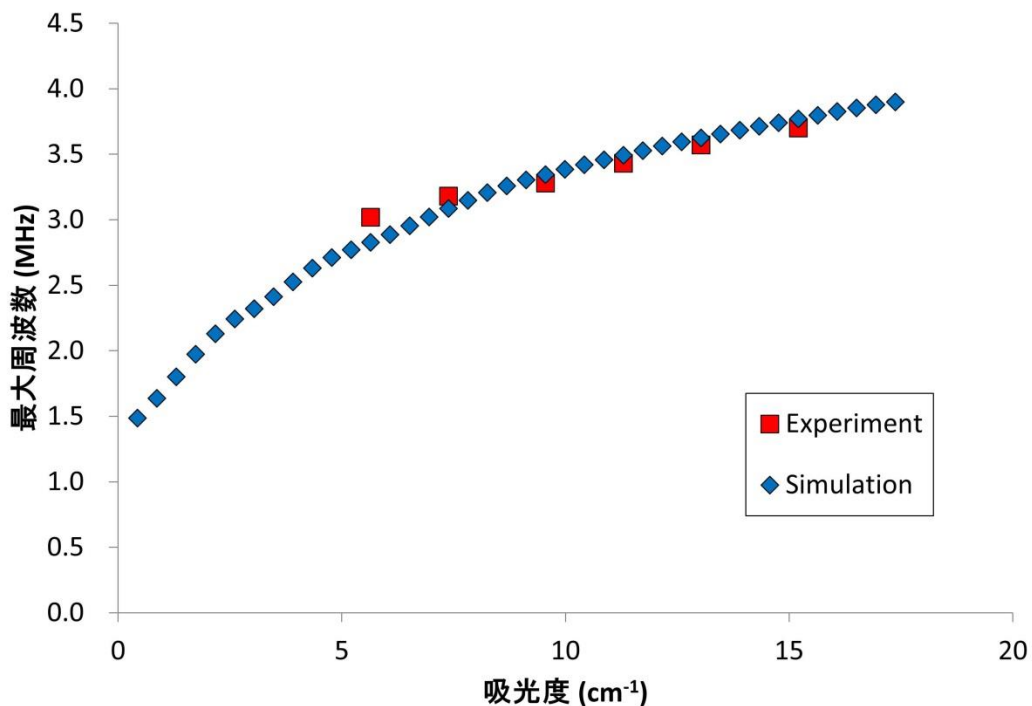


図 4-7 最大周波数と吸光度との関係

シミュレーション結果と実験結果とを比較した。両者間の決定係数は 0.97 であった。

4.2.2 微小腫瘍が発生する光音響信号の周波数の分析

4.2.2.1 シミュレーション

模擬腫瘍のサイズと光音響信号の周波数成分との関係进行分析するために、直径が 1.0 mm, 2.0 mm, 3.0 mm で、吸光度が 1.0 cm^{-1} の球状の模擬腫瘍が発生する光音響信号をシミュレーションした結果を図 4-8 に示す。光吸収体の直径が変化すると、信号波形の立ち上がりと立下りとの間の時間差が変化する。立ち上がりと立下りとの間の時間差に音速を掛けると、光吸収体の直径に近似した値となる。

腫瘍に集積する分子標的造影剤の濃度による周波数成分の変化を評価するために、図 4-9 に、直径が 2.0 mm で、吸光度が 0.1 cm^{-1} , 1.0 cm^{-1} , 10 cm^{-1} の 3 通りの球状の模擬腫瘍が発生する光音響信号をシミュレーションした結果を示す。 0.1 cm^{-1} と 1.0 cm^{-1} とでは信号波形に顕著な変化がなく、 10 cm^{-1} とすると、立ち上がり時のピークが細くなり、立下りのピーク強度が小さくなった。光吸収体内部に光が侵達する距離は、光侵達長で定義され、次式で計算できる[18]。

$$\delta = \frac{1}{\mu_{eff}} = \frac{1}{\{3 \cdot \mu_a \cdot (\mu_a + \mu_s')\}^{\frac{1}{2}}} \quad (4-3)$$

ここで、 μ_a は光吸収係数、 μ_s' は等価散乱係数、 μ_{eff} は等価減衰係数である。式 4-3 を用いて各条件における光侵達長を計算した結果を表 4-1 に示す。吸光度が 10 cm^{-1} の条件においては光侵達長が模擬腫瘍の径の 1/2 より小さく、模擬腫瘍の表面と裏面の両方から光が入射するとしても、模擬腫瘍の内部まで光が侵達しない。よって、図 4-6 における信号波形の違いは、 0.1 cm^{-1} と 1.0 cm^{-1} の条件では模擬腫瘍全体で光が吸収されるのに対し、 10 cm^{-1} の条件では模擬腫瘍の表面近傍で光が吸収されるため、光吸収領域の分布が異なることに由来すると考えられる。

励起波長における吸光度が 1.0 cm^{-1} で、直径が 2.0 mm の模擬腫瘍が発生する光音響信号波形に CWT を施して得た時分解周波数スペクトルを図 4-10 に示す。図 4-9 の信号波形の立ち上がりと立下りに相当する時間において広帯域な信号が観測された。さらに、これらの信号の間において、低周波数に局在する高強度の信号を観測した。

図 4-10 の $t = 0.3 \text{ }\mu\text{s}$ に観察される低周波数に局在する信号は、時間的にも周波数的にも局在して高強度であるため、適切な検出周波数を設定することにより、高感度に模擬腫瘍を検出できる可能性があるため、この信号成分に着目した。吸光度 1.0 cm^{-1} 、直径 2.0 mm 以外の模擬腫瘍が発生する光音響信号に対しても同様に時分解周波数スペクトルを算出した。この結果、低周波数に局在する信号は他の条件にも共通して現れたが、条件により周波数が異なった。そこで、模擬腫瘍の直径と吸光度とを変化させた条件で、低周波数に局在する信号のピーク周波数を評価した結果を図 4-11 に示す。次式により計算した模擬腫瘍の直径 D と超音波の波長とが一致する周波数 f_{dia} についても併せて示す。

$$f_{dia} = \frac{c}{D} \quad (4-4)$$

ここで c は音速であり、 $1,500 \text{ m/s}$ として計算した。特に吸光度が低い条件において、シミュレーションで得られる信号周波数と、 f_{dia} とがよく一致する。

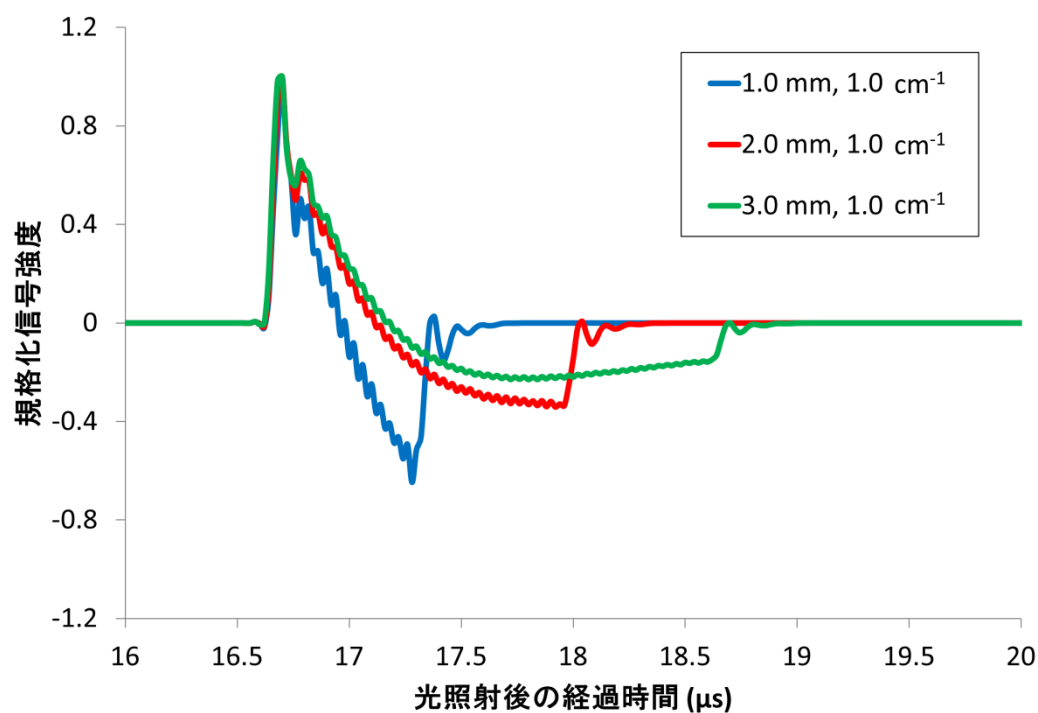


図 4-8 模擬腫瘍が発生する光音響信号波形のシミュレーション結果
吸光度を 1.0 cm⁻¹, 直径を 1.0, 2.0, 3.0 mm とした。

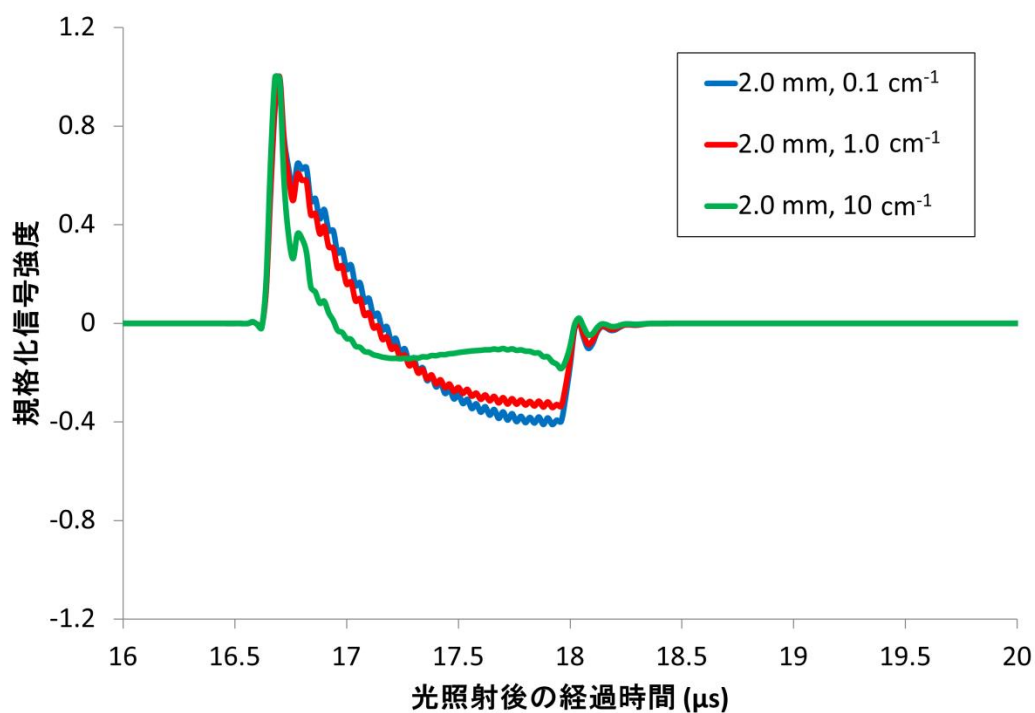


図 4-9 模擬腫瘍が発生する光音響信号波形のシミュレーション結果
直径を 2.0 mm, 吸光度を 0.1, 1.0, 10 cm⁻¹ とした。

表 4-1 模擬腫瘍の吸光度と光侵達長

吸光度 (cm^{-1})	等価散乱係数 (cm^{-1})	等価減衰係数 (cm^{-1})	光侵達長 (cm)
0.1	17.6	2.3	0.43
1.0	17.6	7.5	0.13
10	17.6	29	0.035

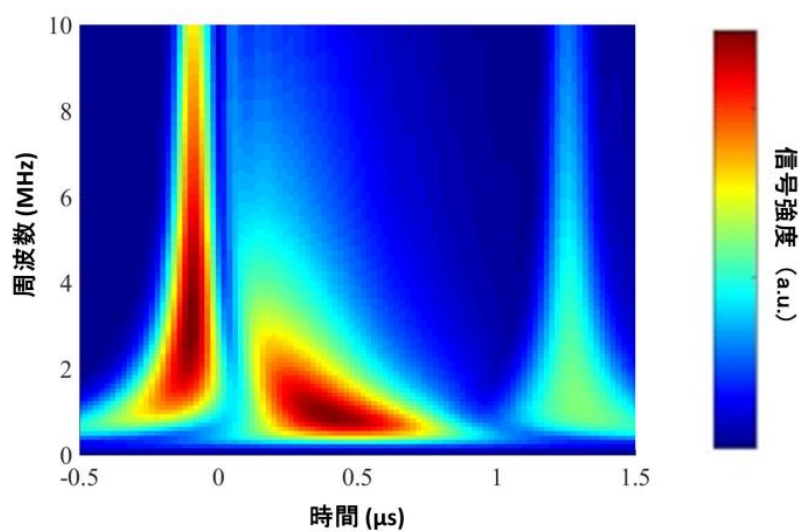


図 4-10 模擬腫瘍が発生する光音響信号の時分解周波数スペクトル
 模擬腫瘍の径は 2.0 mm, 吸光度は 1.0 cm^{-1} とした。
 信号のピークが $t = 0$ になるように時間軸をシフトした。

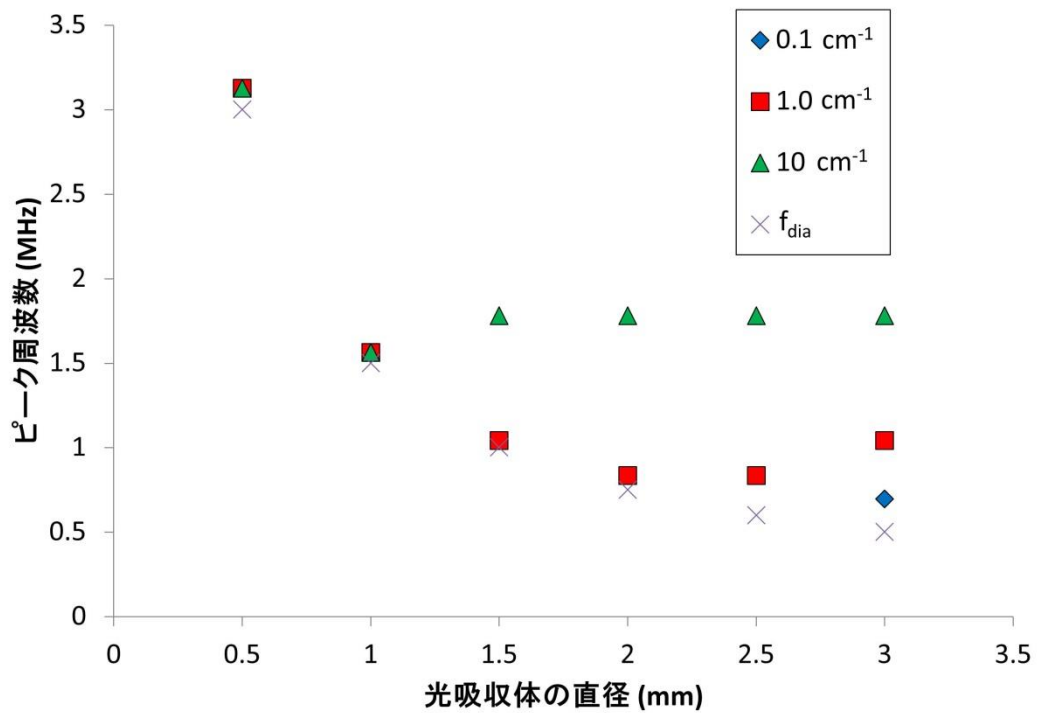


図 4-11 模擬腫瘍が発生する光音響信号の低周波数成分のピーク周波数
 様々な吸光度及び径の模擬腫瘍が発生する光音響信号をシミュレーションし、
 その時分解周波数スペクトルから算出した。模擬腫瘍の直径と超音波の波長が
 一致する周波数 f_{dia} の計算結果を併せて示す。

4.2.2.2 実験

図 4-12 は、実測した光音響信号を対象に 4.2.2.1 でシミュレーション結果に実施した解析を行い、図 4-10 において確認された低周波数に局在する信号成分のピーク周波数を算出し、図 4-11 のシミュレーション結果と比較した結果である。図 4-12 の横軸に示す模擬腫瘍の大きさは、作成時に精密に制御することが困難であるため、光音響信号計測後に模擬腫瘍を実体顕微鏡で撮影して計測した値である。シミュレーションと同様に、模擬腫瘍の直径が大きくなると信号の周波数が低下し、模擬腫瘍の直径と波長が一致する超音波の周波数 f_{dia} とよく一致した。この結果よりシミュレーションと実験とで共通して観測された低周波数に局在した信号は、模擬腫瘍全体で光が吸収されて発生する超音波を 1 つの波として観測しているものであると考えられる。

実験とシミュレーションの両方において、吸光度が高く、模擬腫瘍の直径が大きい条件においては、この傾向から外れる。これは、表 4-1 に示すように吸光度が高い条件では光侵達長が短くなり、光吸収体の直径が大きい条件では光吸収体の内部まで光が到達しないことに由来する。この時、実験結果よりもシミュレーションの方が高周波数となった。これは、信号強度の周波数に対する勾配が小さく、実験においてはノイズ等の要因によりピーク周波数が変動しやすいことに由来すると考えられる。

以上の結果より、直径 1 - 3 mm の微小腫瘍に集積した分子標的造影剤が発生する光音響信号は、2.5 MHz 以下の周波数に局在する低周波数の信号成分を含むことが明らかとなった。表 2-1 より、先行研究においては 2.5 MHz 以下の周波数の超音波を高感度に検出できるセンサが使用されていない。2.5 MHz 以下の周波数の超音波に感度を有するセンサを用いて、低周波数の信号成分を観測することで、微小腫瘍に対する感度を改善できると考えられる。

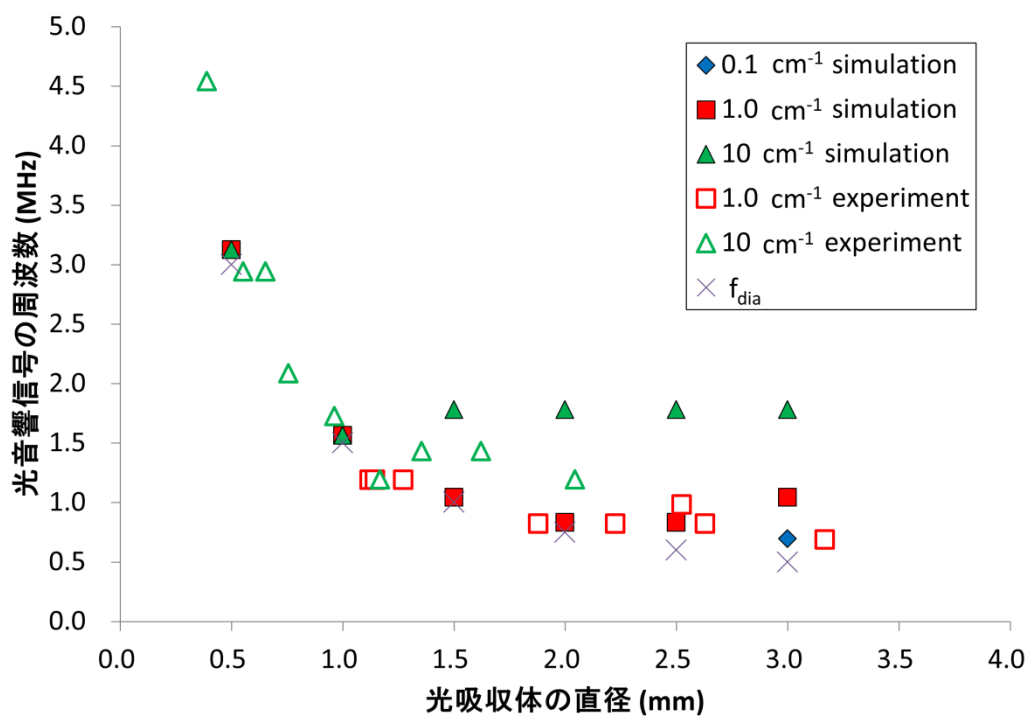


図 4-12 模擬腫瘍が発生する光音響信号の低周波数成分のピーク周波数
 様々な吸光度及び径の模擬腫瘍が発生する光音響信号を計測し，その時分解周
 波数スペクトルから算出した。シミュレーション結果と実験結果とを比較した。

4.2.3 高分子圧電超音波センサの評価

図 4-13 に、超音波センサの周波数－感度特性を示す。感度ピーク周波数は 13.7 MHz で、12 dB 帯域幅は 0.49 - 27.1 MHz であり、幅広い周波数の信号を観測可能なことが明らかとなった。このセンサを用いることで、血管イメージングを指向した先行研究で計測している 2.5 MHz 以上の周波数の光音響信号と、微小腫瘍が発生する 2.5 MHz 以下の周波数の光音響信号の両方を計測可能である。

図 4-14 に、超音波センサの空間－感度特性を示す。図 4-14(a)に示す広範囲に観察した x - z 感度分布より、超音波センサの曲率に相当する 12 mm 程度の深度において高感度になるように、感度分布が焦点化されていることを確認できる。また、図 4-14(b)に示す高空間分解能に観察した x - z 感度分布と、図 4-14(c)に示す x - y 感度分布より、焦点近傍において点状の焦点を形成していることが確認できる。焦点のスポット径を算出するために、図 4-14(c)の $y = 0$ mm における x 方向断面を図 4-15(a)に示す。このプロファイルより、焦点面における感度分布の半値全幅(full width at half maximum, FWHM)は 0.28 mm と算出できた。

球面型の超音波センサの焦点面における感度分布は次式で得られる。

$$I(x) = \frac{2J_1\left(\frac{2\pi f D}{c} \frac{D}{2} \sin\left(\tan^{-1} \frac{x}{SR}\right)\right)}{\frac{2\pi f D}{c} \frac{D}{2} \sin\left(\tan^{-1} \frac{x}{SR}\right)} \quad (4-5)$$

ここで、 f は超音波の周波数、 c は超音波の音速、 D は超音波センサの直径、 SR は球面型の検出面の曲率、 $J_1(x)$ は第一種ベッセル関数である。この関数に基づいて、焦点面における感度分布を算出し、半値幅と周波数との関係を求め、本研究で用いる超音波センサにおける理論値と比較した。この結果、図 4-15 (b) に示す通り、理論値と実測値とでよい一致が得られた。

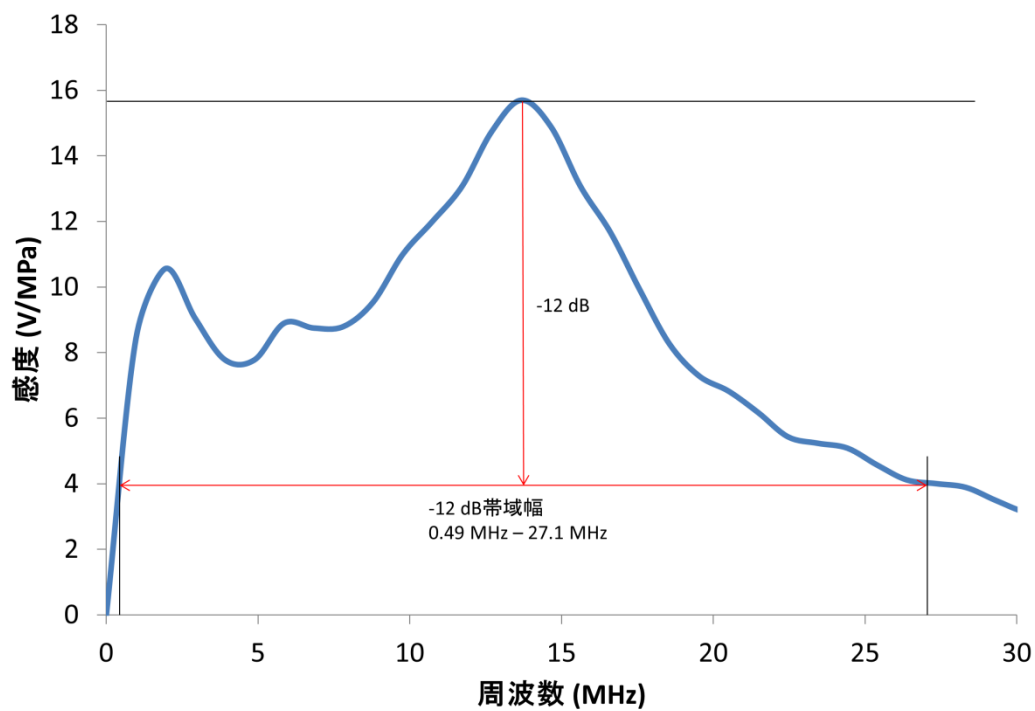


図 4-13 超音波センサの周波数－感度特性の評価結果

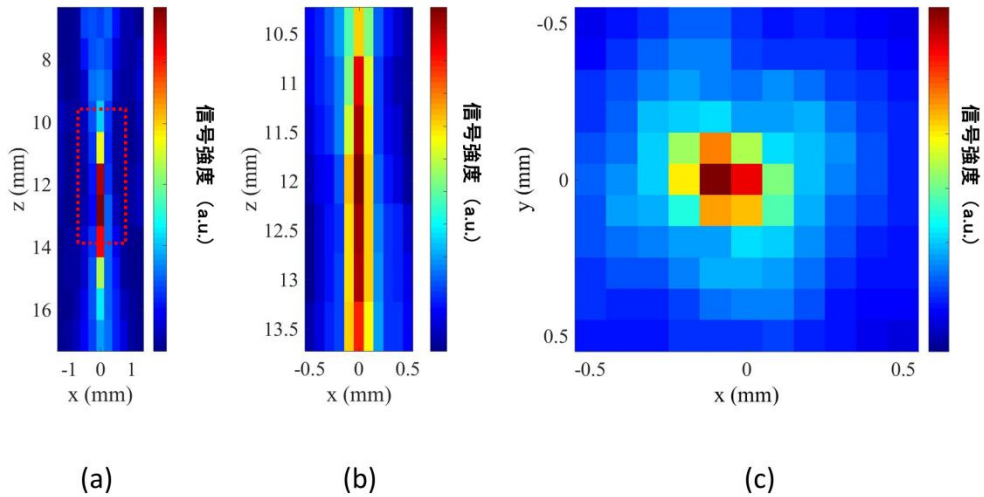
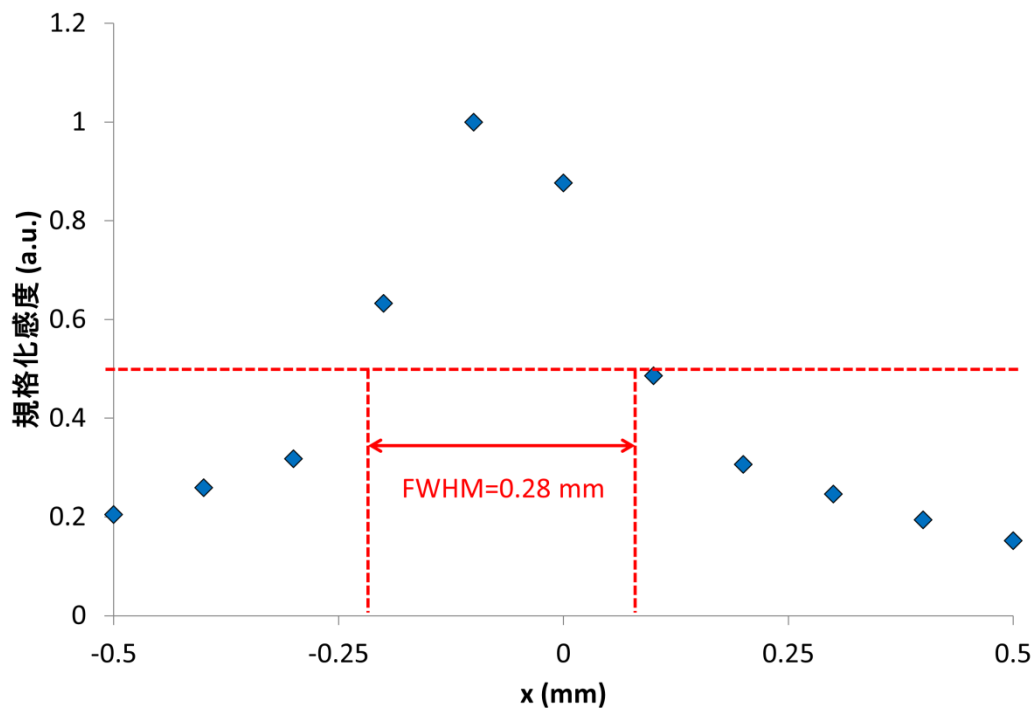
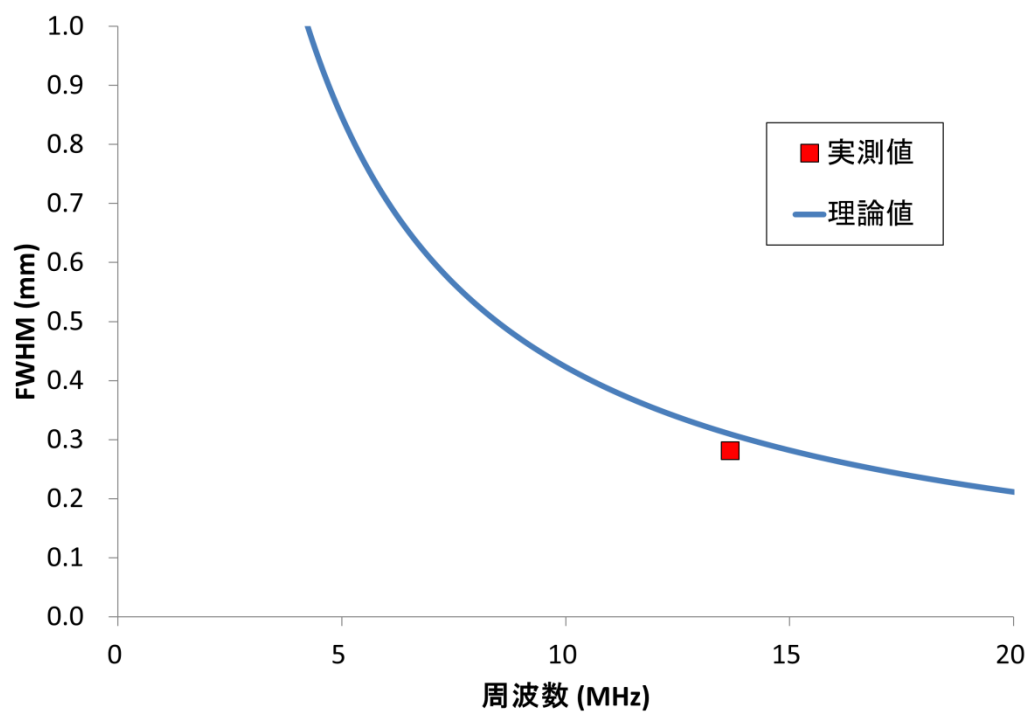


図 4-14 超音波センサの空間－感度特性の評価結果

(a) x - z 感度分布を広範囲に計測した結果。(b) x - z 感度分布を高空間分解能に計測した結果。(c) 焦点面($z=12.0$ mm)における x - y 感度分布。



(a)



(b)

図 4-15 超音波センサの焦点面における感度分布の半値全幅 (FWHM)
 (a) 焦点面における感度分布評価 (b)理論値と実測値との比較

4.3 スペクトル微分を用いた背景信号抑制

背景信号抑制のためのスペクトル微分法において、ノイズ増幅を抑制しながら2次微分スペクトルを算出する Savitzky-Golay フィルタのフィルタ係数を最適化した。

図 4-16 は、スペクトル窓の幅 W に関して、Savitzky-Golay 2 次微分フィルタの伝達関数と検出対象となる Rho 500 及び SiRho 650 の2種類の造影剤の光吸収スペクトルの2次微分との決定係数を示したものである。2種類の分子標的造影剤に対して $W=11$ の条件で決定係数が最大となった。決定係数が高いフィルタを選択することで、造影剤と同等のスペクトル幅を有するピークを高効率に抽出可能であるため、スペクトル窓の幅 $W=11$ の SG フィルタを用いることとした。

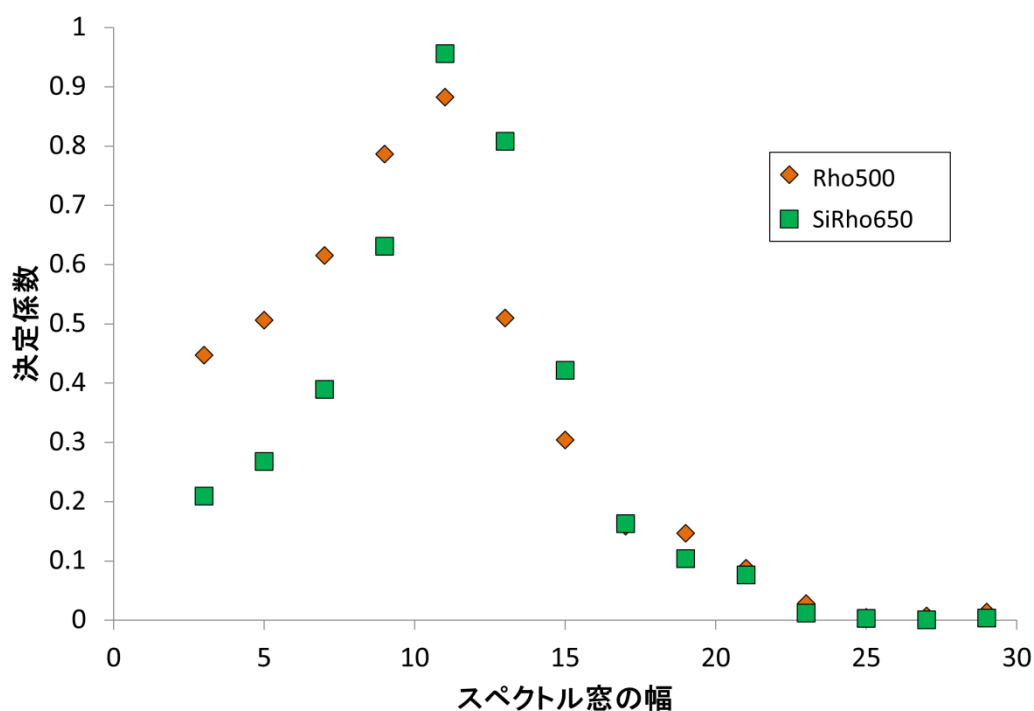


図 4-16 Savitzky-Golay 2 次微分フィルタの伝達関数と、観測対象サンプルの光吸収スペクトルとの間の決定係数
スペクトル窓の幅により 2 次微分フィルタの伝達関数が増加するため、最も決定係数が高くなるスペクトル窓の幅を選択した。

4.4. 生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験

4.4.1 超音波の検出周波数に関する検討

図 4-17 に、厚さ 0.5 mm の皮膚ファントムと厚さ 1.0 mm の軟組織ファントムとを介して、Rho 500 を対象に光音響画像を撮像した結果を示す。図 4-17 (a)は、断面画像に表示した範囲のイメージ図である。図 4-17(b)と図 4-17 (c)はそれぞれ、100 次のゼロ位相帯域通過フィルタの通過帯域を 0.5 – 20 MHz と 2.5 – 20 MHz に設定して算出した光音響画像である。図 4-17(b)では図 4-17(c)と比較して信号強度が増加しており、2.5 MHz 以下の周波数帯の信号を検出することにより、光音響信号の強度が増加することが確認できる。図 4-18 に、Rho 500 と SiRho 650 とをそれぞれ対象として観測した光音響画像について、2.5 MHz 以下の周波数成分を含む場合と含まない場合とで、それぞれ信号発生領域に関心領域(region of interest, ROI)を設定し、ROI 内の光音響信号強度を比較した結果を示す。この結果、2.5 MHz 以下の周波数成分を検出することで、光音響信号の強度が 2 倍以上に増加することを確認した。

以上より、低周波数の超音波に感度を有するセンサを使用することで、Rho 500 及び SiRho 650 が発生する光音響信号を高効率に検出可能となり、本研究においては検出感度が 2 倍以上に改善された。本研究では、2.5 MHz 以下の周波数帯の信号を観測可能な広帯域超音波センサを使用した。検出すべき腫瘍のサイズを予測可能な場合には、当該周波数帯域に特異的に高い感度を有する超音波センサを用いることでさらに高感度化が可能と考えられる。

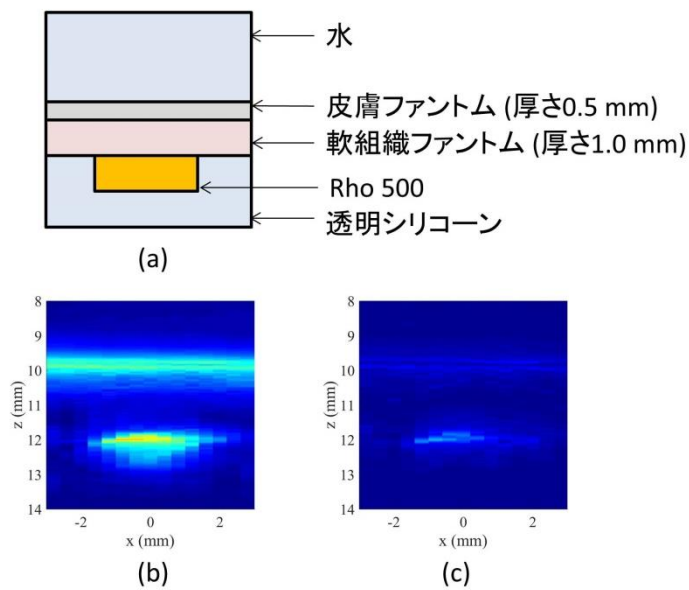


図 4-17 Rho500 を対象とした光音響イメージング結果

皮膚ファントム及び厚さ 1 mm の軟組織ファントムを介して撮像した。

励起波長は Rho 500 の吸収ピークである 500 nm とした。

(a) 光音響画像の断面イメージ図。

(b) カットオフ周波数 0.5-20 MHz の帯域通過フィルタを適用して計算した画像。

(c) カットオフ周波数 2.5-20 MHz の帯域通過フィルタを適用して計算した画像。

(b)と(c)は同じカラースケールで表示した。

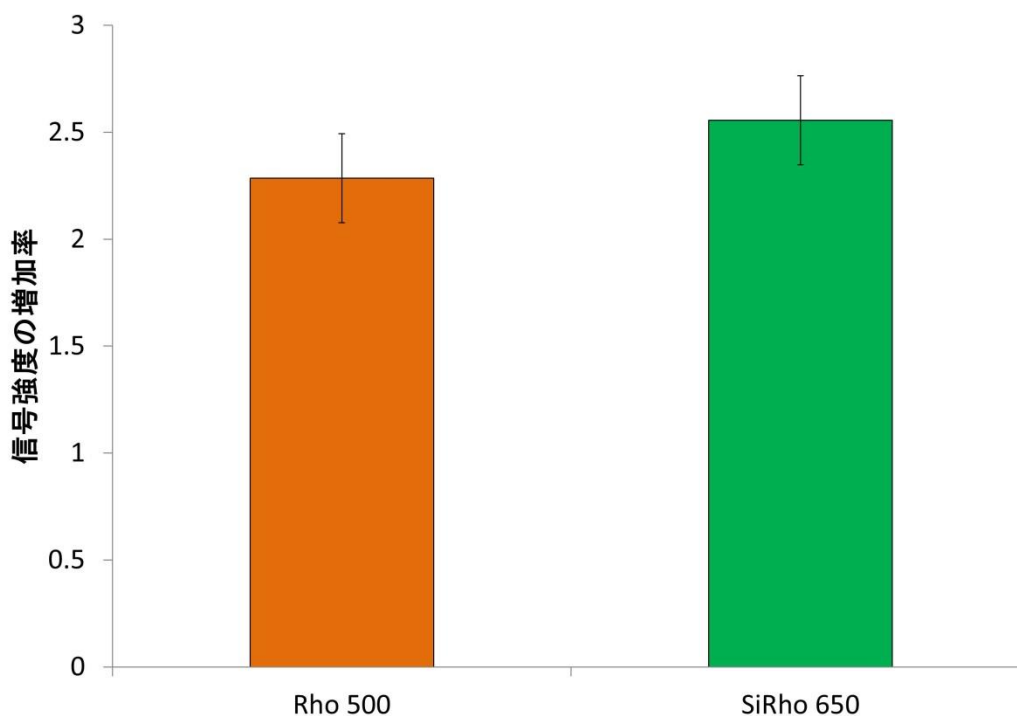


図 4-18 2.5 MHz 以下の周波数成分の検出による感度増加率

4.4.2 スペクトル微分を用いた背景信号抑制

生体組織に含まれる光吸収体に由来する背景信号と、Rho 500 及び SiRho 650 が発生する目的信号とが混在する中から、目的信号のみを抽出する手法について、スペクトルフィッティング法(SFM)とスペクトル微分法(SDM)を比較した。皮膚ファントムと軟組織ファントムの下に配置した Rho 500 とヘモグロビンを、Rho 500 の吸収ピーク波長(500 nm)で撮像した光音響画像を図 4-19(a)と図 4-19(d) にそれぞれ示す。皮膚ファントム及びヘモグロビンに由来する背景信号と、Rho 500 に由来する目的信号がそれぞれ明瞭に描出されている。図 4-19 (b)と図 4-19(e)に、スペクトルフィッティング法を用いて目的信号を抽出した結果を示す。図 4-19(e)において、ヘモグロビンが発生する背景信号は抑制されるものの、皮膚ファントムが発生する背景信号が残存した。図 4-19(c)と図 4-19(f)にスペクトル微分法を用いて背景信号を抑制した結果を示す。スペクトルフィッティン

グ法とは異なり、皮膚ファントム及びヘモグロビンの両方に由来する背景信号が抑制された。

図 4-20 に、Rho 500 に由来する目的信号の強度で規格化した背景信号の強度を示す。Rho 500 の吸収ピーク波長である 500 nm で励起して取得した光音響画像においては、すべての条件において、皮膚ファントム及びヘモグロビンの両方が Rho 500 と同等の強度の信号を発生した。ヘモグロビン及び Rho 500 に由来する信号は、軟組織ファントムの厚みを増加すると光減衰により強度が低下するのに対し、皮膚ファントム表面で発生する信号は光減衰の影響を受けない。このため、軟組織ファントムの厚みを増加すると皮膚ファントム表面において発生する信号強度が相対的に増加した。スペクトルフィッティング法により背景信号を抑制した結果、ヘモグロビンに由来する背景信号は抑制されたが、皮膚ファントムに由来する背景信号は抑制されなかった。これは、背景信号の参照スペクトルとして与えたヘモグロビンの吸収スペクトルと、皮膚ファントムが発生する光音響信号のスペクトルが異なることに由来する。その結果、最小二乗法の演算過程で、皮膚ファントムが発生する光音響スペクトルを、ヘモグロビンの吸収スペクトルと Rho 500 の吸収スペクトルとの重み付き和で表現して偏差を最小としようとするため、Rho 500 が存在しないのにもかかわらず、存在するものとして誤計算されたと考えられる。

これに対し、スペクトル微分法を用いた結果、皮膚ファントムとヘモグロビンがそれぞれ発生する背景信号が、すべての条件において抑制された。スペクトル微分法は、目的とする光吸収体の吸収スペクトルのピーク波長のみを既知情報として使用し、光音響スペクトルから当該ピーク波長にピークを有する成分を抽出する原理であり、皮膚ファントムもヘモグロビンも、Rho 500 の吸収ピーク波長近傍において明確な吸収ピークを持たないため、両者に由来する背景

信号を効率的に抑制できた。ヘモグロビンに由来する背景信号は、スペクトルフィッティング法でも抑制可能であるが、スペクトル微分法によりさらに高い弁別比で抑制可能であった。スペクトルフィッティング法においては、血液が発生する光音響信号の光音響スペクトルとヘモグロビンの光吸収スペクトルとが完全に一致しない場合、前述したように最小二乗法の演算過程でその残差分を補償するために Rho 500 が誤検出される。実際に、ヘモグロビンが発生する光音響信号の光音響スペクトルは、生体模擬ファントムでの光散乱によって実質光路長が延長するため、ヘモグロビンの吸収スペクトルと厳密には一致しない [60]。この誤差分の影響により、スペクトルフィッティング法ではヘモグロビンに由来する背景信号が残存した。

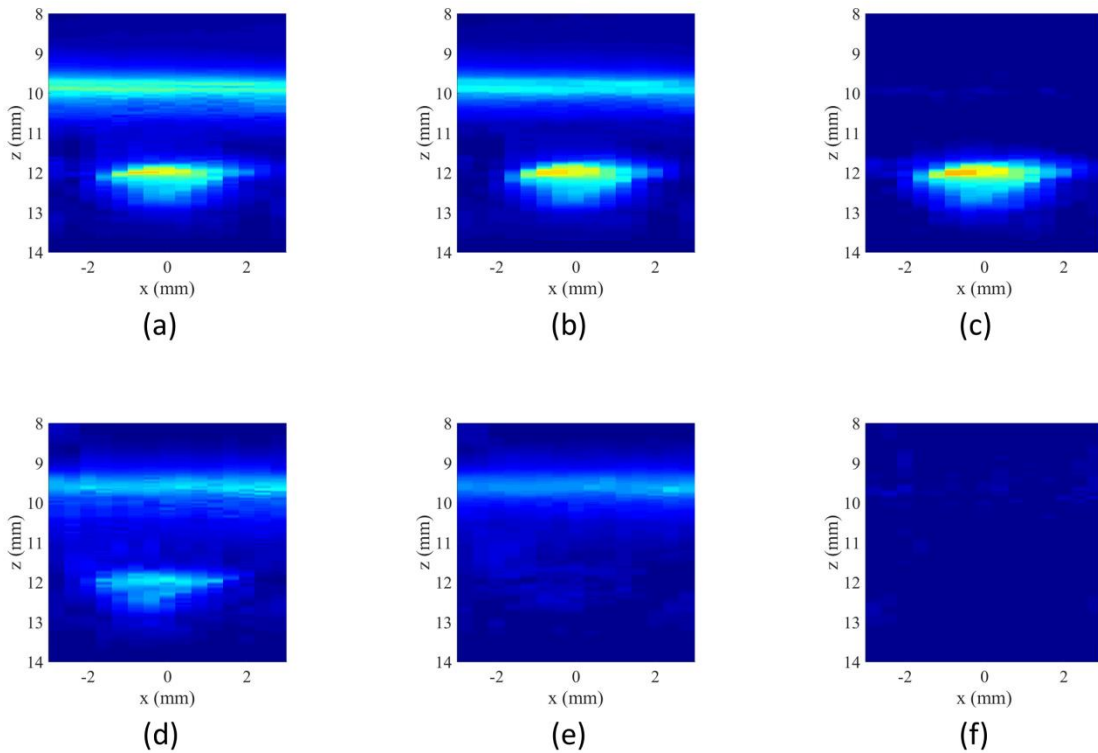


図 4-19 複数波長で取得した光音響画像に対して、造影剤のみを抽出する信号処理を施した結果

(a)-(c) 皮膚ファントム及び軟組織ファントムの下に Rho 500 を配置して撮像した光音響画像。(a)は Rho 500 の吸収ピークである 500 nm の単波長。(b)はスペクトルフィッティング法により Rho 500 信号を抽出した画像。(c)はスペクトル微分法により Rho 500 信号を抽出した画像。

(d)-(f) 皮膚ファントム及び軟組織ファントムの下にヘモグロビンを配置して撮像した光音響画像。(d)は Rho 500 の吸収ピークである 500 nm の単波長。(e)はスペクトルフィッティング法により Rho 500 信号を抽出した画像。(f)はスペクトル微分法により Rho 500 信号を抽出した画像。

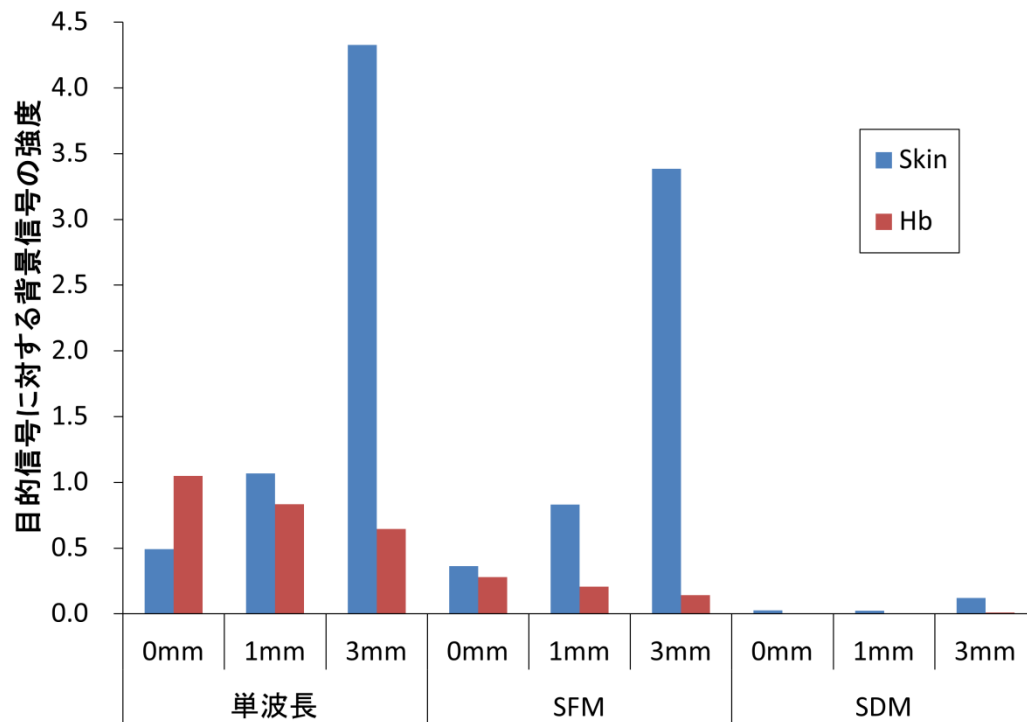


図 4-20 背景信号強度の目的信号強度に対する比率 (Rho 500)
 皮膚ファントム及び軟組織ファントムを介して Rho500 を撮像した。
 単波長：Rho500 の吸収ピーク波長(500 nm)で取得した光音響画像
 SFM：スペクトルフィッティング法(SFM)により目的信号を抽出した画像
 SDM：スペクトル微分法(SDM)により目的信号を抽出した画像

図 4-21 に、SiRho650 に由来する目的信号の強度で規格化した背景信号の強度を示す。SiRho650 の吸収ピーク波長である 650 nm で励起して取得した光音響画像においては、すべての条件において、皮膚ファントム及びヘモグロビンの両方に由来する背景信号が観測された。皮膚ファントムもヘモグロビンも、500 nm と比して 650 nm において吸光度が低くなることから、背景信号の強度は 500 nm で励起した場合に比べて小さい。スペクトルフィッティング法では、皮膚ファントム由来の背景信号は抑制できないが、スペクトル微分法では皮膚ファントムとヘモグロビンの両要因に由来する背景信号を抑制可能であり、650 nm の波長域においてもスペクトル微分法が有効であることを確認した。

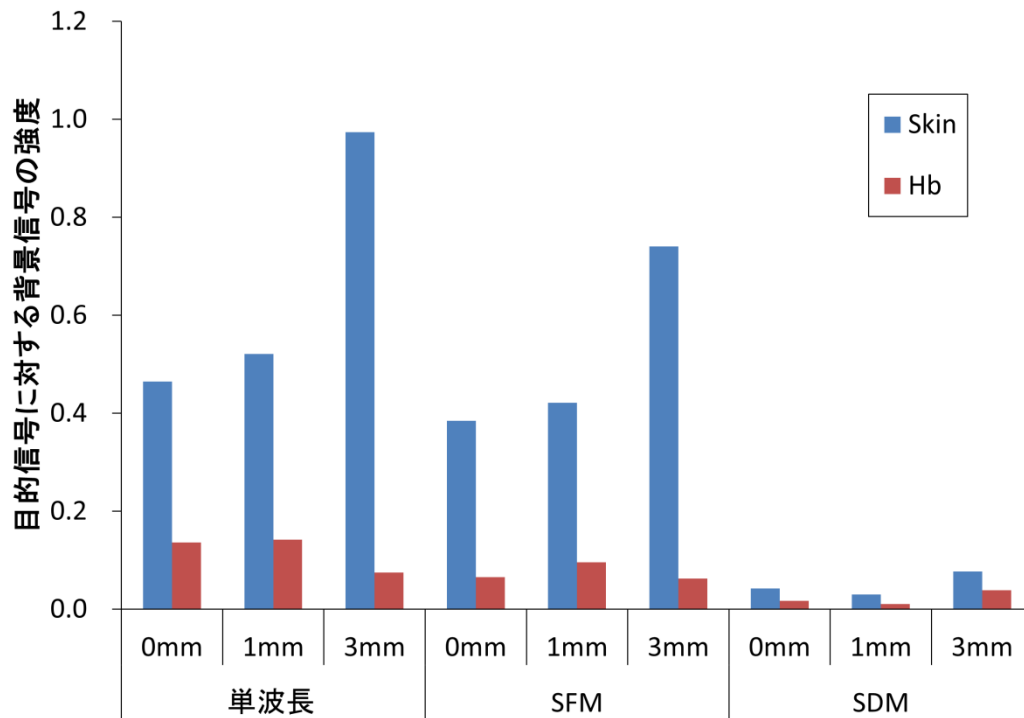


図 4-21 背景信号強度の目的信号強度に対する比率 (SiRho650)
 皮膚ファントム及び軟組織ファントムを介して SiRho650 を撮像した。
 単波長: SiRho650 の吸収ピーク波長(650 nm)で取得した光音響画像
 SFM: スペクトルフィッティング法(SFM)により目的信号を抽出した画像
 SDM: スペクトル微分法(SDM)により目的信号を抽出した画像

4.4.3 スペクトル微分法における計測波長数の削減

スペクトル微分法において、光音響信号を計測する波長刻みを粗くした場合の背景信号抑制効果について検討した。波長刻みを粗くすることにより、信号取得に要する時間を削減できるため、生体を対象とする場合には観測対象の体動や生理状態の変化の影響を抑制できるメリットがある。

図 4-22 に、スペクトル微分法を用いた背景信号抑制に用いるスペクトルデータの波長刻みを 5 nm から 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm に粗くした場合に、Rho 500 が発生する目的信号に対する背景信号の強度を示す。スペクトル微分に用いる Savitzky-Golay 2 次微分フィルタの背景信号の抑制性能は波長刻み $d\lambda$ とスペクトル窓幅 W を用いて、 $(W-1)d\lambda$ として計算できる波長幅に強く依存する。3.2.2 に示す手法により各条件に対して決定し、スペクトル窓幅、波長幅、フィルタの伝達関数と光吸収スペクトルとの間の決定係数を表 4-1 に示す。比較のために、5 nm 刻みで取得したデータにスペクトルフィッティングを施して得たデータも併せて示す。

この結果より、波長刻みが粗い条件で背景信号が増加することが確認されたが、すべての条件において背景信号の強度はスペクトルフィッティングにより得られる値を下回った。波長刻みを 5 nm から 10 nm, 15 nm とすると背景信号の目的信号に対する比率が増加するのに対し、15 nm から 20 nm, 25 nm とすると背景信号の目的信号に対する比率が低下した。15 nm, 20 nm, 25 nm の条件においては、すべての条件でスペクトル窓幅が 3 であったが、波長刻み $d\lambda$ とスペクトル窓幅 W を用いて、 $(W-1)d\lambda$ として計算できる波長幅はそれぞれ異なる。フィルタの伝達関数は波長幅に依存し、今回の条件では波長刻み $d\lambda$ が 5 の条件が最も自由度が高いため、この時の波長幅 50 nm が最適値に近くなると考えられる。波長刻みが 15 nm, 20 nm, 25 nm と増加すると、スペクトル窓幅が 3 の条件の波

長幅は 50 nm に近づくことから、フィルタ伝達関数と Rho500 の吸収スペクトルとの間の決定係数が増加した。この結果、スペクトル微分処理により Rho500 に由来する目的信号のみを選択的に抽出可能となり、背景信号の目的信号に対する比率が低下したと考えられる。

図 4-23 に、スペクトル微分法による背景信号抑制に用いるスペクトルデータの波長刻みを、5 nm から 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm に粗くした場合に、SiRho 650 が発生する目的信号に対する背景信号の強度を示す。スペクトル窓幅、波長幅、フィルタの伝達関数と光吸収スペクトルとの間の決定係数を表 4-2 に示す。比較のために、5 nm 刻みで取得したデータにスペクトルフィッティングを施して得たデータも併せて示す。図 4.20 に示した Rho500 を対象とした結果と同様に、波長刻みが粗くなると背景信号が増加することが確認されたが、すべての条件において背景信号の強度はスペクトルフィッティングにより得られる値を下回った。波長刻みを 5 nm から 10 nm, 15 nm とすると背景信号の目的信号に対する比率が増加するのに対し、15 nm から 20 nm, 25 nm とすると背景信号の目的信号に対する比率が低減した。

以上の結果より、スペクトル微分法は Rho500 と SiRho650 の両方を対象としたイメージングにおいて、背景信号を抑制する効果がスペクトルフィッティング法よりも高いことが確認された。また、波長数を削減する場合には、最適な波長幅を保つように波長刻みを設定する必要性が示唆された。一方で、波長刻みが粗い条件では、Savitzky-Golay 2 次微分フィルタを用いた平滑化微分における平滑化の効果が低減されるため、突発ノイズなどに由来するアーティファクトに対して敏感になると考えられる。

表 4-1 スペクトル微分法により、背景信号を抑制して Rho 500 を抽出するために用いた Savitzky-Golay 2 次微分フィルタのスペクトル窓幅の最適化結果

波長刻み (nm)	5	10	15	20	25
スペクトル窓幅	11	5	3	3	3
波長幅 (nm)	50	40	30	40	50
決定係数	0.882	0.820	0.595	0.852	0.852

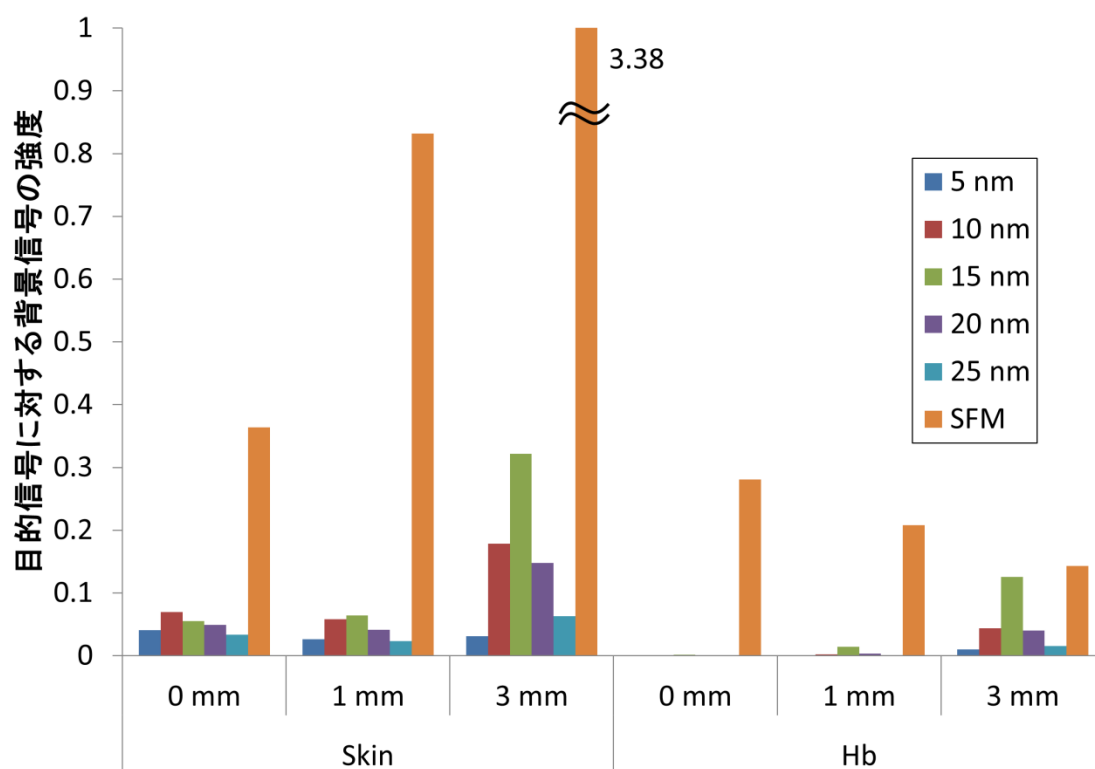


図 4-22 背景信号強度の目的信号強度に対する比率の波長刻みによる変化 (Rho 500)

皮膚ファントム及び軟組織ファントムを介して Rho500 を撮像した。光音響画像の波長刻みを変えてスペクトル微分法を適用した結果を示す。対比のために 5 nm 刻みで取得した光音響画像に対してスペクトルフィッティング法を施した結果(SFM)を併せて示す。

表 4-2 スペクトル微分法により, 背景信号を抑制して SiRho 650 を抽出するために用いた Savitzky-Golay 2 次微分フィルタのスペクトル窓幅の最適化結果

波長刻み (nm)	5	10	15	20	25
スペクトル窓幅	11	7	3	3	3
波長幅 (nm)	50	60	30	40	50
決定係数	0.955	0.709	0.642	0.829	0.986

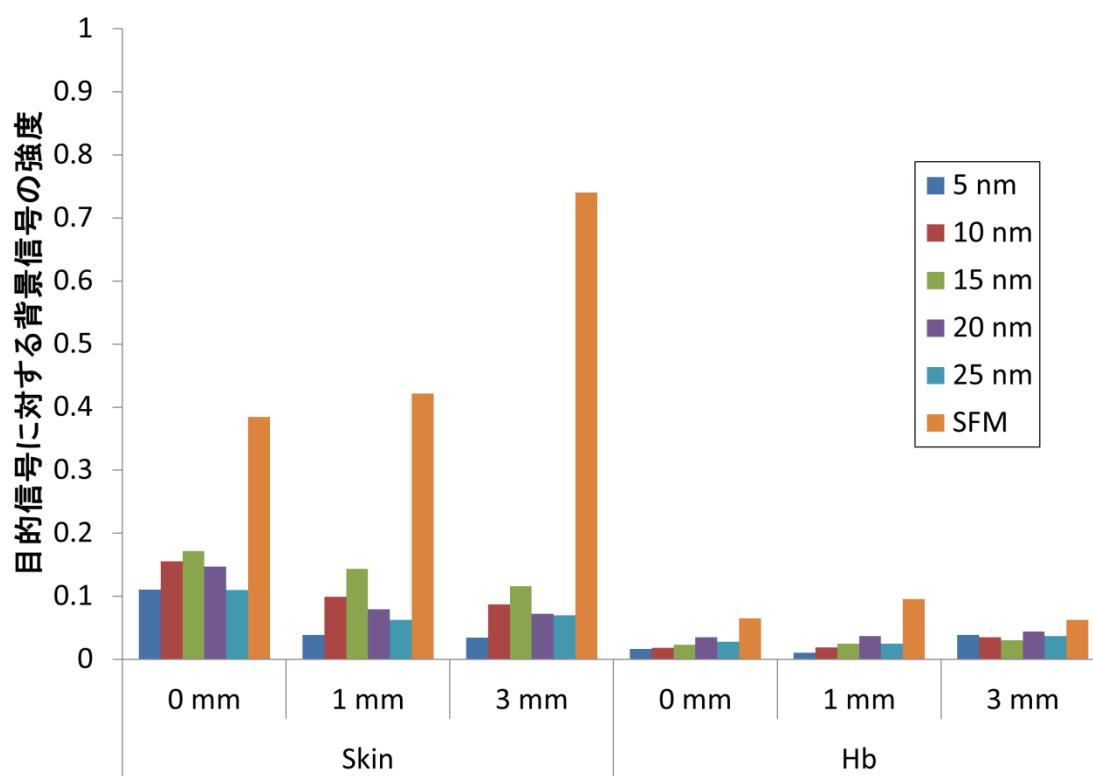


図 4-23 背景信号強度の目的信号強度に対する比率の波長刻みによる変化 (SiRho 650)

皮膚ファントム及び軟組織ファントムを介して SiRho650 を撮像した。光音響画像の波長刻みを変えてスペクトル微分法を適用した結果を示す。対比のために 5 nm 刻みで取得した光音響画像に対してスペクトルフィッティング法を施した結果(SFM)を併せて示す。

4.5. マウス皮下腫瘍モデルを対象としたイメージング実験

図 4-24 に、マウスの皮下腫瘍に投与した Rho500 をイメージングした結果を示す。図 4-24(a)は観察部位の写真であり、写真中の点線に相当する部分の断面を撮像した。腫瘍は $-2.0 > x > 1.0$ mm の範囲に相当する。図 4-24(b)の Rho500 の吸収ピークである 500 nm の励起波長で取得した光音響画像中には、背景信号に由来し、腫瘍以外の部分からも高信号が観測されていることを確認できる。この画像から Rho500 に由来する目的信号のみを抽出するために、スペクトルフィッティング法を適用した結果が図 4-24(c)であるが、図 4-24(b)で観測された背景信号をほとんど抑制されていない。これに対し、スペクトル微分法を適用した図 4-24(d)においては、背景信号を抑制でき、腫瘍に相当する部分からのみ信号が検出された。

図 4-25 に、マウスの皮下腫瘍に投与した SiRho650 をイメージングした結果を示す。図 4-25(a)は観察部位の写真であり、写真中の点線に相当する部分の断面を撮像した。腫瘍は $-5.0 > x > -2.0$ mm の範囲に相当する。図 4-25(b)の SiRho650 の吸収ピークである 650 nm の励起波長で取得した光音響画像中には、Rho500 の例と同様に、背景信号に由来し、腫瘍以外の部分からも高信号が観測されていることを確認できる。この画像から SiRho650 に由来する目的信号のみを抽出するために、スペクトルフィッティング法及びスペクトル微分法を適用した結果が図 4-25(c)及び図 4-25(d)であり、スペクトル微分法を適用することにより、腫瘍に相当する部分からのみ信号を検出することが可能であった。

Rho500 と SiRho650 とでそれぞれ 3 例ずつの実験を実施し、造影剤投与前に誤検出される造影剤信号を背景信号とし、造影剤投与後に検出される造影剤信号を目的信号とし、両者の比率を計算した結果が図 4-25 である。この結果より、スペクトル微分法を使用することにより、スペクトルフィッティング法よりも

高い弁別比で目的信号のみを抽出できることが動物実験においても確認された。スチューデントの T 検定により，スペクトルフィッティング法とスペクトル微分法とでの背景信号の強度に優位差があるかを評価した結果，Rho 500 においては $p < 0.05$ ，SiRho650 においては $p < 0.02$ でそれぞれ有意差があることが確認された。

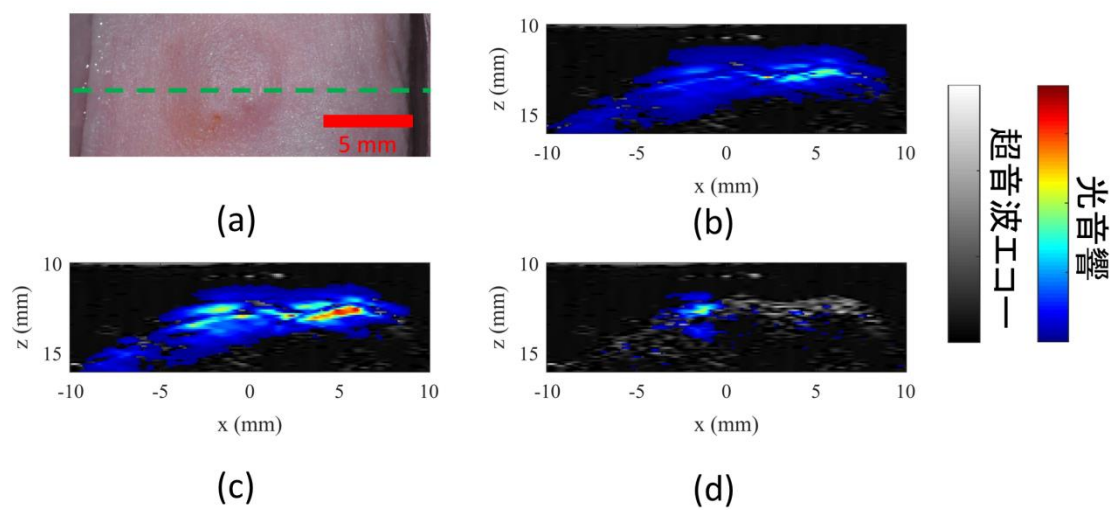


図 4-24 マウスの皮下腫瘍に Rho 500 を投与して撮像した光音響画像

- (a) 観察部位の写真
- (b) Rho 500 の吸収ピークである 500 nm での単波長光音響画像
- (c) スペクトルフィッティング法により抽出した Rho 500 分布画像
- (d) スペクトル微分法により抽出した Rho 500 分布画像。

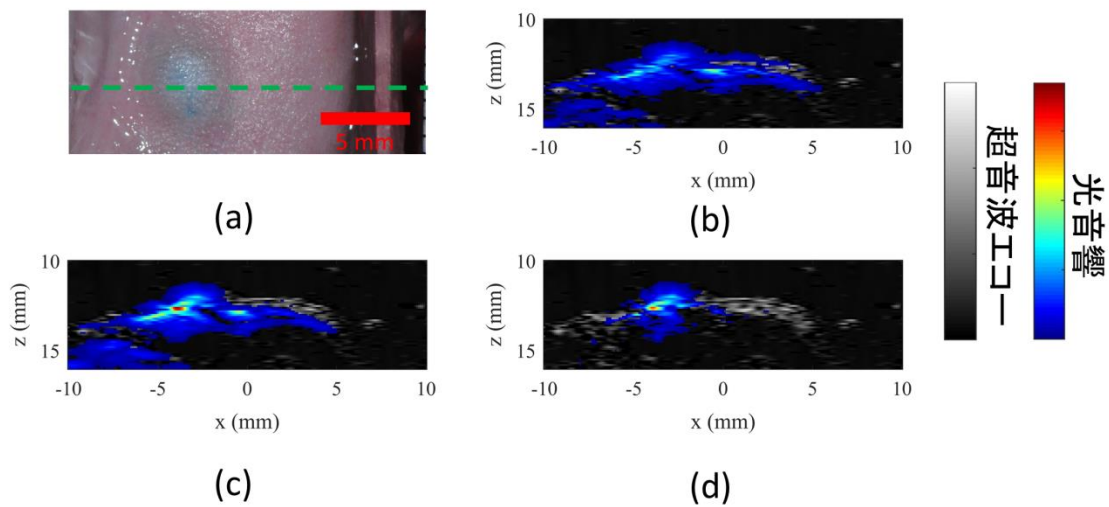


図 4-25 マウスの皮下腫瘍に SiRho 650 を投与して撮像した光音響画像

- (a) 観察部位の写真
- (b) SiRho 650 の吸収ピークである 650 nm での単波長光音響画像
- (c) スペクトルフィッティング法により抽出した SiRho 650 分布画像
- (d) スペクトル微分法により抽出した SiRho 650 分布画像。

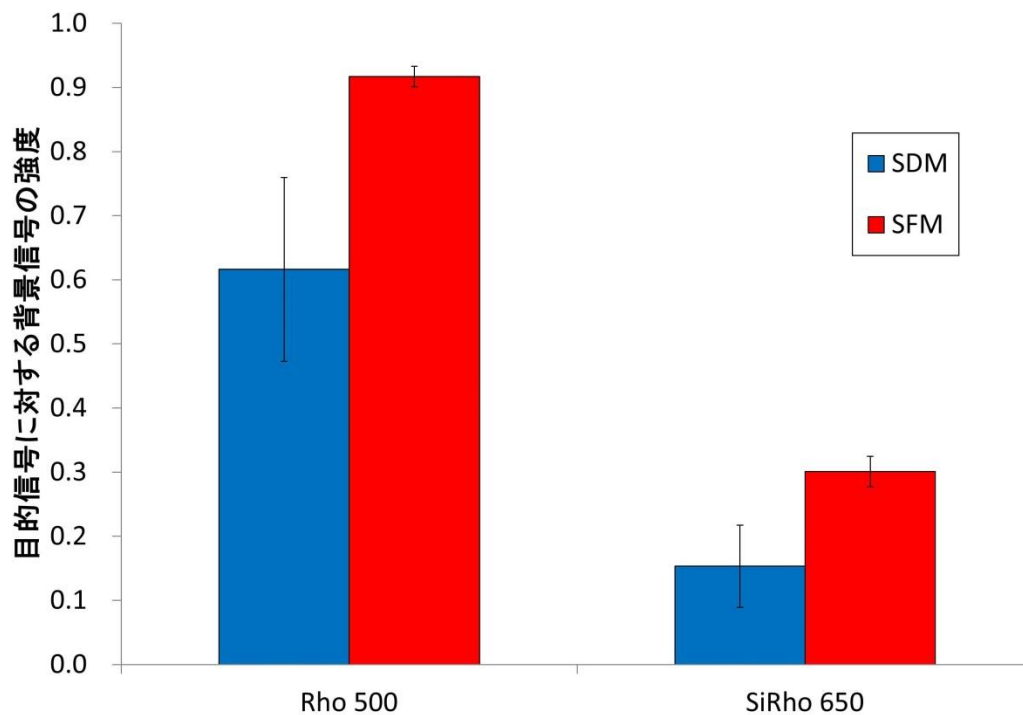


図 4-26 背景信号強度の目的信号強度に対する比率

マウスの皮下腫瘍内に投与した Rho500 及び SiRho650 を撮像した画像において、SDM と SFM の背景信号抑制効果を比較した。

4.6 まとめ

4.2 では、超音波の検出周波数について検討した。4.2.1 では、本研究で構築したシミュレーションツールの妥当性を、実験とシミュレーションの対比により検証した。4.2.2 では、分子標的造影剤が集積した微小腫瘍が発生する光音響信号の周波数について分析し、2.5 MHz 以下の周波数に高強度の信号成分が含まれることを見出した。4.2.3 では、2.5 MHz 以下の周波数の光音響信号を観測可能な、高分子圧電センサを構築し、その周波数—感度特性及び空間—感度特性について評価した。

4.3 では、生体由来の光吸収体が発生する背景信号を抑制するために用いるスペクトル微分フィルタの係数の最適化を図った。

4.4 では、生体模擬ファントムを対象としたイメージング実験の結果を記述した。4.4.1 では、超音波の検出周波数の検討による感度改善効果を検証した。2.5 MHz の信号を検出した場合と、フィルタ処理により擬似的に 2.5 MHz 以下の信号成分を除去した場合とで信号対雑音比を比較した結果、2.5 MHz の信号を検出することで信号対雑音比がおおよそ 2 倍に増加することを示した。4.4.2 では、スペクトル微分法による背景信号抑制効果を検証した。生体模擬ファントム内において造影剤が発生する目的信号以外の、ヘモグロビンと皮膚ファントムに由来する背景信号を抑制するために、スペクトルフィッティング法とスペクトル微分法をそれぞれ適用した。この結果、スペクトル微分法により、ヘモグロビン及び皮膚ファントムが発生する背景信号を効率的に抑制できることを確認した。4.4.3 においては、スペクトル微分法における計測波長数の削減について検討し、計測波長数を減らした場合にも、スペクトルフィッティング法よりも高い信号選択性が維持されることを実証した。

4.5 では、マウス皮下腫瘍モデルに投与した造影剤をイメージングする実験を

実施し、生体を対象とした場合にもスペクトル微分法を適用することで造影剤信号を選択的に抽出できることを実証した。

次章では、本章で得られた結果を基に、本法による撮像可能深度及び造影剤選択性について考察する。

第5章 考察

5.1 まえがき

本章では、本研究で実施した実験及びシミュレーションの結果について考察した。また、本技術の臨床応用のために必要となる性能について検討し、その達成度について考察した内容を述べる。

5.2 では、分子標的造影剤に対する感度について考察する。

5.3 では、分子標的造影剤に対する選択性について考察する。

5.4 では、本技術の臨床応用のために必要となる性能を検討し、その達成度について考察する。

5.5 は、本章のまとめである。

5.2 分子標的造影剤に対する感度の検討

図 5-1 に、軟組織ファントムの厚さと、Rho 500 及び SiRho 650 がそれぞれ発生する目的信号強度との関係を示す。体表面から照射された光及び光吸収体が発生する光音響信号は、生体内部を伝播する過程でそれぞれ指数関数的に減衰する。よって、軟組織ファントムと目的信号強度との関係について指数関数近似すると、それぞれ次式が得られる。

$$s_{500}(z) = 317.95 \cdot \exp(-0.824z) \quad (5-1)$$

$$s_{650}(z) = 160.88 \cdot \exp(-0.433z) \quad (5-2)$$

図 3-8 に示す光吸収スペクトルより、Rho 500 は 500 nm において 7.22 cm^{-1} の吸光度を有し、SiRho 650 は 650 nm において 6.77 cm^{-1} の吸光度を有する。両者の吸光度比は 1.07 倍であるのに対し、上記の指数関数近似の係数項の比は 1.97

倍であり大きく異なる。これは、Rho 500 と SiRho 650 とで、吸収した光エネルギーが光音響信号に変換される効率が異なるためである。光吸収体が光を吸収して励起状態となると、輻射遷移及び無輻射遷移による緩和を経て基底状態となる。ここで、輻射遷移による緩和は蛍光の発生等に寄与し、無輻射遷移による緩和は熱の発生等に寄与する。光音響信号は、無輻射遷移により発生する熱に由来して発生するため、輻射遷移による緩和分は光音響信号発生に寄与しない。このため、輻射遷移による緩和の割合が大きい化合物においては、吸収した光エネルギーに対する光音響信号強度が小さくなる。本実験で使用した造影剤においては、輻射遷移による緩和の主要因は蛍光発生であり、輻射遷移による緩和の割合は蛍光量子収率と同等と考えられる。図 5-2 は、Rho 500 及び SiRho 650 を含む様々な造影剤の水溶液について、吸光度あたりの光音響信号発生量（光音響信号発生効率）を評価した結果である[61]。蛍光量子収率が低いと、光音響信号発生効率が高いことが確認できる。Rho 500 は SiRho650 と比較して蛍光量子収率が小さく、光音響信号発生効率は SiRho650 の 1.80 倍であった。光音響信号発生効率の違いと、吸光度の違いとを用いて、同濃度の両サンプルが発生する光音響信号の強度比を算出すると 1.93 倍となり、指数関数近似の係数項の比である 1.97 倍とほぼ一致する。

近似式の指数項は、軟組織ファントム内部での光及び超音波の減衰を反映している。ここで、超音波の減衰は Rho 500 と SiRho 650 とで同等に生じるため、両者の指数項の違いは光の減衰の違いを反映している。図 2-2 より、600 nm より波長が長くなるとヘモグロビンの吸光度が極端に低下する。また式 3-5 より、光の波長が長くなると、光散乱係数も低下する。よって、500 nm と比して 650 nm では光が減衰しにくいため、指数項の係数が小さくなったと考えられる。

式 5-1 及び式 5-2 を用いて、Rho 500 及び SiRho 650 の撮像可能深度を検討し

た。撮像の可否は、信号対雑音比で 2 以上を基準とした。ノイズは、光を照射しない状態で観測されるシステム雑音信号とし、1.5 μs の時間幅でシステム雑音を計測し、その電圧の標準偏差を、システム雑音電圧とした。50 回の計測を行い、その平均値と標準偏差を求めたところ $2.25 \pm 0.21 \text{ mV}$ であったため、ワーストケースとしてノイズ振幅を 2.46 mV と定めた。励起光のパルスエネルギーを 3.2.3.2 に示す実験条件より 1.5 mJ とすると、パルスエネルギーあたりのノイズ振幅は 1.64 V/J となる。よって、信号対雑音比を 2 以上とするには、3.28 V/J 以上の信号強度が必要である。図 5-3 に、造影剤の吸光度と撮像可能深度との関係を示す。本実験に使用した造影剤が発生する光音響信号の強度が吸光度に対して線形に変化することは、造影剤の水溶液を対象に光音響信号を計測して確認しているため[62]、光音響信号の強度は吸光度に比例すると仮定して計算した。その結果、吸光度が 2.2 cm^{-1} の条件において、撮像可能深度は Rho500 において 4.1 mm、SiRho650 において 6.4 mm であることが示された。

本研究では、皮膚ファントム及び軟組織ファントムの光学特性は、ラットの皮膚の光学特性[63]と腹筋の光学特性[64]の文献値を基に設定した。実際の生体組織の光学特性は組織の種類、個体差、生理状態により異なるため、観察対象によって撮像可能深度は変化する。例えば乳房には脂質が多く含まれており、脂質は 500 nm よりも短い波長域において高い吸光度を有する[34]ため、Rho 500 においては 4.1 mm よりも撮像可能深度が減少することが想定される。

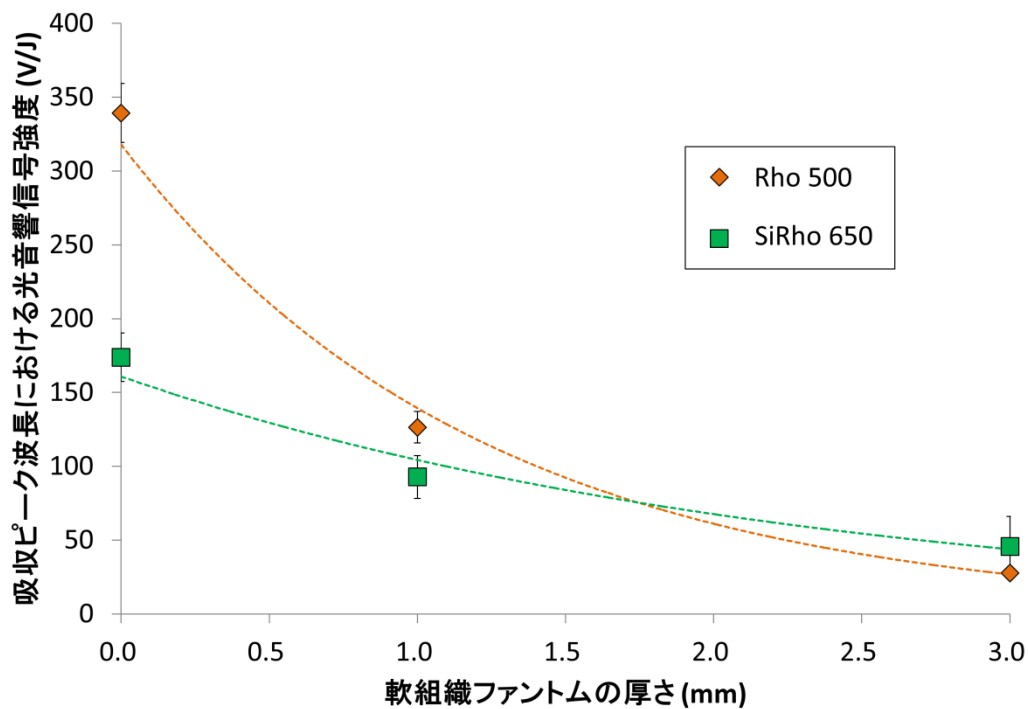


図 5-1 光音響信号の強度の軟組織ファントムの厚さによる変化
 Rho500 及び SiRho 650 について、それぞれの吸収ピーク波長で計測した。
 点線は指数近似曲線である。

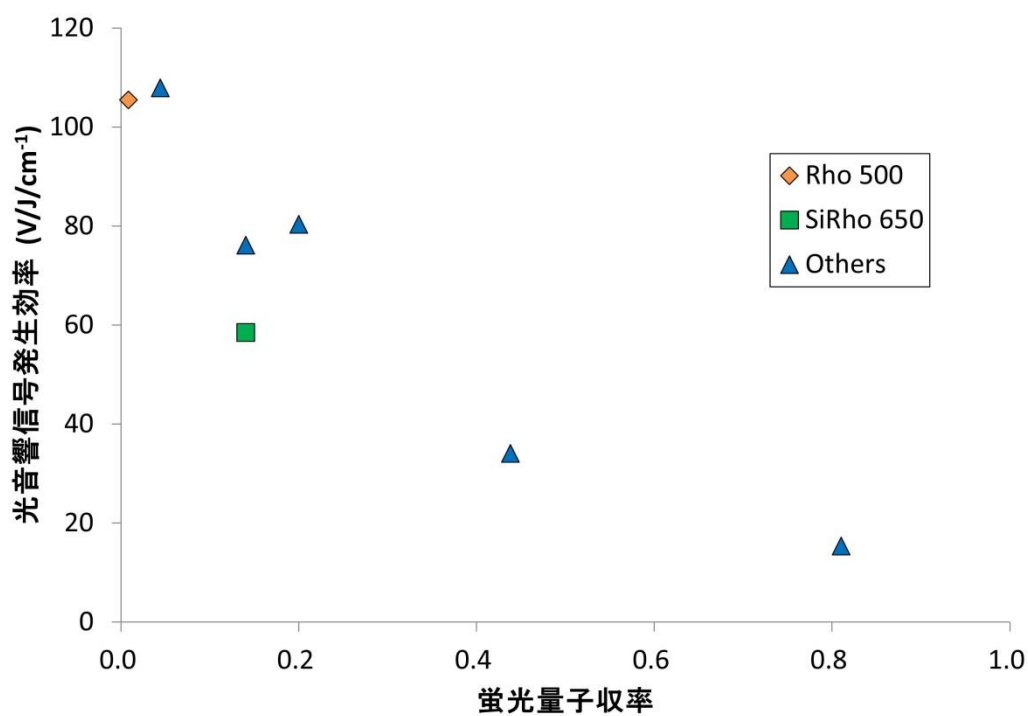


図 5-2 様々な蛍光量子収率を有する造影剤の光音響信号発生効率

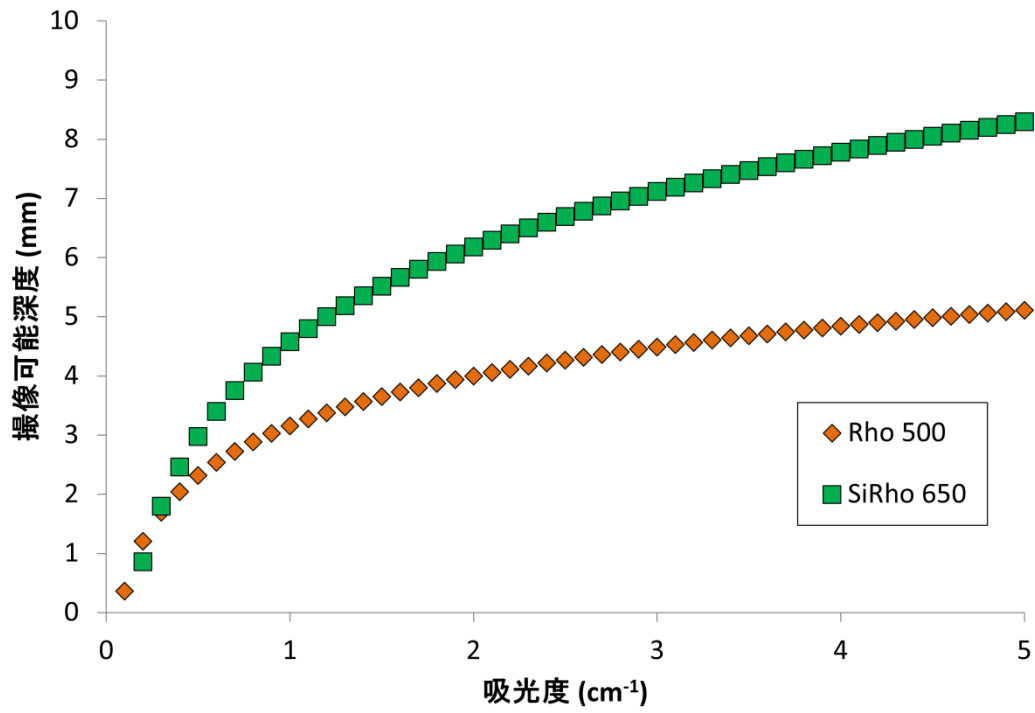


図 5-3 造影剤の吸光度と撮像可能深度との関係

5.3 分子標的造影剤に対する選択性の検討

4.4.2 において、Rho500 及び SiRho650 を、皮膚ファントム及び軟組織ファントムを介して撮像するファントム実験を実施し、皮膚ファントム及びヘモグロビンが発生する背景信号をスペクトル微分法により抑制可能なことを実証した。ここでは、腫瘍イメージングにおいて腫瘍に蓄積すると想定される濃度の分子標的造影剤を検出できるか検討した。

4.4.2 で使用したヘモグロビンは、ヘマトクリット値で 10 %の血液に相当する濃度であるが、血液のヘマトクリット値は 40 %程度であるため、ヘモグロビンが発生する背景信号の強度は 4 倍になると考えられる。この条件下で、造影剤に由来する目的信号を、ヘモグロビン及び皮膚ファントムが発生する背景信号のいずれか強い方と比較して、2 倍以上の強度で表示するために必要な造影剤の吸光度を計算した結果を表 5-1 に示す。

表 5-1 厚さ 1 mm の軟組織模擬ファントムを介した条件における、造影剤の描出限界となる吸光度

手法	Rho500 の吸光度 (cm^{-1})	SiRho650 の吸光度 (cm^{-1})
SFM	12.0	5.70
SDM	0.350	0.579

生体のさらに深部を観測する場合、生体内の光減衰率の波長依存性に由来し、体表から照射した光が生体深部の標的組織に到達する割合に波長依存性が生じ、光音響スペクトルと光吸収体の吸収スペクトルとの間に乖離が生じる問題がある。特に、光音響スペクトルと光吸収スペクトルとが厳密に一致するようにフィッティング処理を行うスペクトルフィッティング法においては、この問題の

影響を直接的に受けて目的信号の誤検出が発生する。一方、スペクトル微分法ではスペクトルフィッティング法と比較して影響を受けにくいものの、光音響スペクトルに新しいピークが現れる場合に誤検出が、光音響スペクトルのピーク波長がシフトする場合に検出漏れが、それぞれ発生する可能性がある。4.4 及び 4.5 の実験結果においてはこれらの問題は確認されなかったが、光減衰率の波長依存性が大きい組織や生体深部を観測する場合に問題となる可能性がある。この問題への対策として、光減衰の影響を補償する信号処理が考えられる。これまでに、モンテカルロ法を用いた光伝播解析により体表面からの距離と光減衰量との関係を求め、超音波イメージングにより体表面から観測位置までの距離を計測することで、任意の観測位置における光減衰量を求める手法を開発し、生体模擬ファントムを用いて有効性を評価した後に、動物実験に適用した[65]。この手法により、光減衰に由来する問題を低減できる可能性がある。この手法では、観測対象における光減衰率に関連するパラメータを既知情報として与えるため、観測対象の不均一性や個体差などには対応できない。その場合には、拡散光トモグラフィの要領で同時に計測した光減衰率を用いて補正する手法[66]や、生体内の光伝播解析を画像再構成に組み込み再帰的に光減衰の影響を補正する手法[67, 68]を検討する必要がある。

4.5 に結果を示した動物実験においては、特に **Rho500** において強い背景信号が残存した。これは、ファントム実験で背景信号の発生源として考慮していたヘモグロビンと皮膚に含まれるメラニンを模擬した黒インクに加え、**Rho500** の励起波長域においては脂質や黄色色素（カロテン、ビリルビン）なども背景信号を発生したことに由来すると考えられる[54]。一方で、**SiRho650** の撮像に使用した光の波長域においては、多くの組織においてヘモグロビン及びメラニンが背景信号の発生源として支配的であるため、ファントム実験と動物実験との間

での顕著な乖離は認められなかった。

5.4 がんの術中診断への適用に関する検討

光音響イメージングは、光イメージング及び超音波イメージングと同様に可搬で繰り返しの計測が可能であり、血液を対象としたイメージングにおいては、すでに術中モニタリングや生検ガイドなどへの応用が検討されている[7, 69]。ここでは、分子標的造影剤を用いた光音響イメージングのアプリケーションとして想定される、がんの術中診断における臨床的なニーズについて検討した。

がんの外科手術においては、病巣の見落としは局所再発の原因となるため病巣の完全摘除が求められる一方で、病巣以外に必要以上の臓器・組織を切除することは、機能性や整容性を損ね、術後の QOL (quality of life) を低下させる。このため、がんの外科手術においては、切除部位について慎重な検討が必要である。MRI 等を用いた術前診断で病変部位を把握可能であるが、切開による変形等により術野との対応がつかなくなる点や、微小な病巣の確定診断には診断能力が不足する点により、術中診断が求められている[1]。一例として、乳がんの外科手術においては、病変そのものの広がり进行评估する目的と、リンパ節転移の有無进行评估する目的のニーズがある。ここでは、リンパ節転移の有無の評価について検討した。

リンパ節転移の有無进行评估する目的で、原発巣から最も近いリンパ節（センチネルリンパ節）の生検、及びその病理評価が行われている。センチネルリンパ節に転移がなければ、下流のリンパ節にも転移がないといえることが統計的に確認されている[70]。このため、センチネルリンパ節における転移の有無により、腋下リンパ節を廓清するか否かが検討される。センチネルリンパ節生検を原発巣の手術と併せて実施する場合、摘出したセンチネルリンパ節を凍結切片

にして病理学的に診断を行い、その結果を手術にフィードバックする。転移がある場合、転移巣のサイズに応じて ITC (Isolated tumor cells) (0.2 mm 以下), Micro metastasis (0.2 - 2.0 mm), Macro metastasis (2.0 mm 以上)に分類される。この中で、Macro metastasis がある場合については、術後再発率が高くなるため腋下リンパ節廓清の必要がある。一方で、Micro metastasis 以下の場合には、術後化学療法により再発を抑制できることから、腋化リンパ節廓清を行わない[70]。従来法では、病理医による診断が必要であるのに加え、この診断を待って手術を進めるため手術時間の延長が問題である。また、122 例中 33 例において転移の見逃しが発生し、そのうちの 4 例は転移巣のサイズが 2.0 mm 以上であったとの報告もあり、見逃しの危険性も無視できない[71]。腫瘍に特異性のある分子標的造影剤によりリンパ節内の転移巣を標識し、分子標的造影剤をイメージングできれば、迅速病理診断を待たずに手術の方針を決定できる点と、リンパ節の不要な摘出を避けることができるメリットがあり、手術時間の短縮や、術後合併症の低減につながる。このためには、おおよそ 10 mm 程度の大きさのセンチネルリンパ節内の、径 2.0 mm の転移巣を検出する必要がある。

血管造影等の目的で既に臨床で使用されている蛍光造影剤インドシアニンググリーンの投与量は、体重 1 kg あたり 0.04 - 0.3 mg と規定されている[72]。また、生体に投与された分子標的造影剤が、固形腫瘍に集積する平均的な量は、投与量の 0.7 % であることが報告されている[73]。また、乳がんリンパ節転移に関する臨床研究の論文における、非浸潤癌を除いた腫瘍径の中央値は 20 mm である[74]。これらを基に、腫瘍に集積する分子標的造影剤の濃度を推計した。体重 1 kg あたり 0.15 mg とすると、体重 50 kg の患者を対象とした場合の蛍光造影剤インドシアニンググリーンの総投与量は 75 mg であり、このうちの 0.7 % が固形腫瘍に集積すると仮定すると、腫瘍に集積する分子標的造影剤の量は 0.053 mg となる。

径 2.0 mm の転移巣の体積は 4.2 mL であり、腫瘍内での分子標的造影剤濃度 1.3 mg/L が得られる。投与する分子標的造影剤の分子量を 400 g/mol, モル吸光係数を $70,000 \text{ cm}^{-1}/\text{M}$ とすると吸光度は 2.2 cm^{-1} となる。

図 5-3 より、吸光度 2.2 cm^{-1} で腫瘍に集積した SiRho 650 は、体表から 6.4 mm 程度の深度の観察が可能である。センチネルリンパ節への転移の有無を体表から正確に診断できれば、切開の必要がなくなり患者への負担を軽減できるが、センチネルリンパ節の体表からの深度には個人差があるものの、体表から 10 mm 以上の深度に局在する例が多いため、本用途への適用のためには、撮像可能深度のさらなる改善が必要である。

一方で、リンパ節を露出した条件であれば、リンパ節の径が 10 mm 程度であり、その中にある 2 mm の転移巣を検出するためには、表面から 4 mm の深度までを観測できればよいため、本法を適用可能と考えられる。本法により、迅速病理診断と同等の精度が得られることが確認されれば、迅速病理診断にかかる時間とマンパワーを削減できる点により、臨床上有用であると考えられる。

5.5 まとめ

本章では、本研究で実施した実験及びシミュレーションの結果について考察した。また、本技術の臨床応用のために必要となる性能について検討し、その達成度について考察した内容を述べた。

5.2 では、分子標的造影剤に対する感度について考察した。4.3 で取得した軟組織ファントムの厚みを変えた条件で取得した画像より、光音響信号強度の軟組織ファントムの厚みに対する依存性を評価し、その指数関数近似曲線を算出した。光音響計測におけるノイズ信号レベルより信号対雑音比が 2 となる信号値を算出し、指数関数曲線との交点を求めることで撮像可能深度を求めた。この結果、吸光度 2.2 cm^{-1} で造影剤が腫瘍に集積した場合の撮像可能深度は、Rho500 に対しては 4.1 mm, SiRho650 に対しては 6.4 mm となった。

5.3 では、分子標的造影剤に対する選択性について考察した。ヘモグロビンの濃度を血液と同等の濃度に換算した条件において、背景信号の 2 倍以上の強度の目的信号を発生するために必要な造影剤の濃度について検討した。この結果、スペクトル微分法の適用により、 2.2 cm^{-1} 以下の吸光度の Rho 500 及び SiRho 650 を選択的に検出可能なことが明らかとなった。

5.4 では、本技術のアプリケーションとしてがんのセンチネルリンパ節転移の検出に必要となる性能について検討した。体表面からのリンパ節転移を検出するためには撮像可能深度の改善が必要であるが、切開して露出したリンパ節内の転移巣の検出は可能と考えられる。本法により、迅速病理診断と同等の精度が得られることが確認されれば、迅速病理診断にかかる時間とマンパワーを削減できる点により、臨床上有用であると考えられる。

第6章 結論

本章では、本論文で明らかにした内容を総括し、課題について述べる。

6.1 総括

本研究では、光音響イメージングによる分子標的造影剤のイメージングにおける課題である分子標的造影剤に対する検出感度と、分子標的造影剤に対する選択性を改善する手法について検討した。

分子標的造影剤に対する検出感度を改善するために、超音波センサの周波数-感度特性について検討した。様々な直径及び吸光度の模擬腫瘍が発生する光音響信号の周波数について、シミュレーション及び実験により分析した結果、径1 - 3 mmの模擬腫瘍が発生する信号には、2.5 MHz以下の低周波数に高強度の信号成分が含まれており、この信号を受信することにより高感度化できると考えた。そこで、2.5 MHz以下の周波数を含む広い周波数帯の超音波を検出可能な超音波センサを作成した。この超音波センサを備える光音響イメージング装置により生体模擬ファントムをイメージングし、低周波数の信号成分の有無での信号対雑音比を比較した結果、当該周波数帯の信号を検出することにより、信号対雑音比を約2倍改善できることを実証した。

分子標的造影剤に対する選択性を改善するために、複数の励起波長で光音響画像を取得して得られるスペクトル情報を利用して背景信号を抑制する手法について検討した。本研究では、スペクトル微分処理により分子標的造影剤に由来する波長ピーク成分を選択的に抽出し、背景信号を抑制するスペクトル微分法を適用した。生体模擬ファントムを対象とした評価実験の結果、従来法であるスペクトルフィッティング法と比較して高い背景信号抑制効果が得られることが確認された。さらに計測波長数の刻みを粗くした条件においてもスペクト

ルフィッティング法よりも高い背景信号抑制効果が得られた。また、マウス皮下腫瘍モデルを対象とした動物実験により、実際の生体組織に由来する背景信号から造影剤信号を選択的に抽出可能なことを明らかとした。

以上の結果より、感度及び選択性の改善が確認されたため、検出感度及び選択性についてそれぞれ考察したうえで、臨床応用について検討した。

6.2 今後の課題

本研究の結果を実用的にするうえで残された課題は以下の通りである。

6.2.1 撮像速度

本研究では、単素子の超音波センサを走査することにより断面画像を取得している。3.5 に示すイメージング実験の条件においては、20 mm 幅の断面を 0.4 mm 刻みで走査するために 51 回の信号取得を要し、信号の取得に要する時間はパルスレーザーの繰り返し周波数が 10 Hz であるため 0.1 秒を要する。このため、1 断面を 1 波長で観測するのに 5 秒近くの時間を要する。さらに、目的信号と背景信号とを弁別するために 21 波長で撮像したため、光源の波長切り替えに要する時間 2 秒を加味すると、約 150 秒の撮像時間を要する。径 10 mm のリンパ節内に存在する、径 2 mm の転移巣を検出するためには、最低でも 5 断面を表面と裏面から観察する必要がある、合計で 1,500 秒の時間を要する。この計測を手術中に実施することは困難であることから、計測の高速化が必要である。

高速化の手段として、断面画像の取得レートの改善、計測波長数の削減、片側計測の実現の 3 点が考えられる。

断面画像の取得レートは、断面画像の取得にセンサの走査を要しないアレイ型の検出器を導入することにより改善できる。超音波センサの走査をせずに断面画像を取得できるため、パルスレーザーの繰り返し周波数と同等のレートで

断面画像を取得できる。すでに、本研究で使用した低周波数信号を検出可能なP(VDF-TrFE)フィルム製のアレイ型超音波センサを備えるリアルタイムに断面画像を表示可能なイメージング装置を試作している[75]。アレイ型の超音波センサにより本実験と同等の感度が得られるようになれば、断面画像の取得レートを大幅に改善できる。

計測波長数は、図 4-22 及び図 4-23 に示す通り、スペクトル微分法においては波長数を削減可能なことを明らかにした。一方で、波長数を削減すると、スペクトル微分法で適用する平滑化微分の平滑化効果が低減することから、突発ノイズ等に由来するアーティファクトを抑制する方策の検討が必要である。

病巣に対する片側計測を実現するためには、直径 10 mm のリンパ節内に径 2 mm の転移巣があることを想定すると、8 mm の撮像深度が必要となる。現状では、SiRho 650 においては片側計測に必要な 8.0 mm に近い 6.4 mm の深度まで観察可能と示唆されている。Rho 500 との撮像可能深度の違いは、生体組織による光減衰率の違いに由来しており、ヘモグロビンによる光減衰が急激に小さくなる 600 nm 以上の波長に吸収ピークを有する分子標的造影剤を用いる必要がある。また、光源、光照射方法、超音波検出方法など、多くの計測パラメータが撮像可能深度に影響を及ぼすため、これらのパラメータの最適化による撮像可能深度の改善が必要である。

6.2.2 がん病変広がり診断への適用可能性の検討

5.4 において、がんの外科手術中に手術方針を決定するうえで重要な、センチネルリンパ節転移の有無の評価への適用可否について論じた。本用途での応用を実現できれば、術中に正確かつ高速に腋窩リンパ節廓清を実施するか否かを判断可能となり非常に有用である。

本技術をさらに、がん病変の広がり診断の用途に適用できれば、外科手術時

の切除範囲を最小限に抑えながら、病変見落としによる術後再発のリスクを低減できる可能性がある。現段階のガイドラインでは、術後のがん細胞の残遺の存在が疑われる場合には、再手術による外科的切除が勧められている[70]。現状は、再手術を避けるために病変よりも広範囲を切除している。切除した断端を病理学的に評価して、がん細胞が検出された場合に病変の取り逃しがあると判断される。この手術方式を置き換えるためには、理想的には細胞単位でがん細胞を検出可能な感度を有するイメージング技術が必要であるため、より小さながんを検出可能できるような手法を検討する必要がある。

6.2.3 臨床応用に向けた研究の推進

共同研究先である東京大学浦野研究室においては、Rho 500 と同等の波長に吸収ピークを有するがん特異的分子標的造影剤がすでに開発されており[76]、近年、SiRho 650 と同等の波長に吸収ピークを有するがん特異的分子標的造影剤が開発された[77]。

これらの分子標的造影剤の光音響イメージングにおける性能評価をしたうえで、がん病態モデル動物を対象とした動物実験に適用し、本技術をがんの *in vivo* イメージングに適用可能なことを実証する必要がある。さらに、臨床講座との共同研究プロセスを進めることで、本研究で開発したイメージング技術を臨床応用に近づけていく必要がある。

専門用語リスト

用語	説明
光吸収体	光を吸収する物質
励起光	光を用いた計測技術において、観測信号を発生させるために観測対象に照射する光。
蛍光	光を吸収して励起状態となった分子が輻射過程により緩和する際に発生する光。励起光よりも波長が長い特徴がある。
モル濃度	単位体積の溶液中の溶質の物質質量。単位は mol/L 或いは M。
造影剤	医用イメージング技術において、通常は周囲組織と明確なコントラストがつかない対象を描出するために投与する、コントラスト増強剤。
分子標的造影剤	造影剤を特定の分子に特異性を有する物質で修飾することで、特定の分子を特異的に描出可能とした造影剤、修飾の方法として、特定の分子に選択的に結合する抗体を使用する方法などがある。
圧電セラミック	圧力を電圧に変換する圧電性を有するセラミックス剤。超音波診断装置においては超音波を送受信するプローブに使用される。特に、チタン酸ジルコン酸鉛 (PZT) 及びその混合物は古くから本用途に使用されている。
圧電高分子	圧電性を有する高分子材料。圧電セラミックと比較して機械的共振が小さいため、広帯域の超音波を送受信可能な特徴を有する。ポリフッ化ビニリデン(PVDF)が代表的である。

光学特性に関する用語リスト

用語	記号	定義
吸光度	A	物質が光を吸収する度合を示す物理量。単位は cm^{-1} であり, 1 cm の厚みの物質を透過した後の光の透過率を, 10 を底とする指数関数で表した時の指数。
光吸収係数	μ_a	媒体内を伝播する光子が吸収されることなく移動できる平均の距離の逆数。吸光度と同義であるが, e を底とする指数関数で表す点が異なる。底の変換公式により $\mu_a = \ln 10 \cdot A$ で換算できる。
モル吸光係数	ε	分子 1 mol/L あたりの吸光度。
光散乱係数	μ_s	媒体内を伝播する光子が散乱されることなく移動できる平均の距離の逆数。
非等方散乱 パラメータ	g	光が散乱される前のベクトルと, 散乱された後のベクトルとがなす散乱角 θ の確率密度関数である位相関数 $p(\theta)$ の余弦平均 [78]。生体組織等の高散乱媒体では, 位相関数の文献値として非等方散乱パラメータのみが示されることが多い[79]。
等価散乱係数	μ_s'	光子が生体内で複数回散乱されることで進行方向がランダム化され, 光の進行方向が入射時の進行方向と無関係となる平均的な距離 (輸送平均自由行程) の逆数 [22]。 $\mu_s' = (1-g)\mu_s$ で定義される。
等価減衰係数	μ_{eff}	光源から十分に離れた領域における, フルエンスの指

		数減衰の割合。 $\mu_{eff} = \{3 \cdot \mu_a \cdot (\mu_a + \mu_s')\}^{\frac{1}{2}}$ で定義される。
光侵達長	δ	等価減衰係数の逆数。フルエンスが $1/e$ に減衰する距離。
フルエンス	F	単位面積当たりの光エネルギー。

参考文献

1. T. Nagaya, Y. A. Nakamura, P. L. Choyke, and H. Kobayashi, "Fluorescence-guided surgery," *Frontiers in oncology* **7**, 314 (2017).
2. Y. Urano, M. Sakabe, N. Kosaka, M. Ogawa, M. Mitsunaga, D. Asanuma, M. Kamiya, M. R. Young, T. Nagano, and P. L. Choyke, "Rapid cancer detection by topically spraying a γ -glutamyltranspeptidase-activated fluorescent probe," *Science translational medicine* **3**, 110ra119-110ra119 (2011).
3. C. Ngô, A. G. Pollet, J. Laperrelle, G. Ackerman, S. Gomme, F. Thibault, V. Fourchette, and R. J. Salmon, "Intraoperative ultrasound localization of nonpalpable breast cancers," *Annals of surgical oncology* **14**, 2485 (2007).
4. O. Olsha, D. Shemesh, M. Carmon, O. Sibirsky, R. A. Dalo, L. Rivkin, and I. Ashkenazi, "Resection margins in ultrasound-guided breast-conserving surgery," *Annals of surgical oncology* **18**, 447-452 (2011).
5. A. Bozzini, G. Renne, L. Meneghetti, G. Bandi, G. Santos, A. R. Vento, S. Menna, S. Andrighetto, G. Viale, and E. Cassano, "Sensitivity of imaging for multifocal-multicentric breast carcinoma," *BMC cancer* **8**, 275 (2008).
6. M. Xu and L. V. Wang, "Photoacoustic imaging in biomedicine," *Review of Scientific Instruments* **77**, 041101 (2006).
7. A. Horiguchi, M. Shinchu, A. Nakamura, T. Wada, K. Ito, T. Asano, H. Shinmoto, H. Tsuda, and M. Ishihara, "Pilot Study of Prostate Cancer Angiogenesis Imaging Using a Photoacoustic Imaging System," *Urology* **108**, 212-219 (2017).
8. J. Weber, P. C. Beard, and S. E. Bohndiek, "Contrast agents for molecular photoacoustic imaging," *Nature methods* **13**, 639-650 (2016).
9. A. d. l. Zerda, Z. Liu, S. Bodapati, R. Teed, S. Vaithilingam, B. T. Khuri-Yakub, X. Chen, H. Dai, and S. S. Gambhir, "Ultrahigh sensitivity carbon nanotube agents for photoacoustic molecular imaging in living mice," *Nano letters* **10**, 2168-2172 (2010).
10. A. Maeda, J. Bu, J. Chen, G. Zheng, and R. S. DaCosta, "Dual in vivo photoacoustic and fluorescence imaging of HER2 expression in breast tumors for diagnosis, margin assessment, and surgical guidance," *Molecular imaging* **14**, 7290.2014. 00043 (2015).
11. C. Kim, T. N. Erpelding, L. Jankovic, M. D. Pashley, and L. V. Wang, "Deeply penetrating in vivo photoacoustic imaging using a clinical ultrasound array system," *Biomedical optics express* **1**, 278-284 (2010).
12. K. Irisawa, K. Hirota, A. Hashimoto, D. Murakoshi, H. Ishii, T. Tada, T. Wada, T. Hayakawa, R. Azuma, and N. Otani, "Photoacoustic imaging system for peripheral small-vessel imaging based on clinical ultrasound technology," *Proceedings of SPIE*

- 9708, 970807 (2016).
13. S. Or, H. Chan, and C. Choy, "P (VDF-TrFE) copolymer acoustic emission sensors," *Sensors and Actuators A: Physical* **80**, 237-241 (2000).
 14. S. Kim, Y.-S. Chen, G. P. Luke, and S. Y. Emelianov, "In vivo three-dimensional spectroscopic photoacoustic imaging for monitoring nanoparticle delivery," *Biomedical optics express* **2**, 2540-2550 (2011).
 15. J. Glatz, N. C. Deliolanis, A. Buehler, D. Razansky, and V. Ntziachristos, "Blind source unmixing in multi-spectral optoacoustic tomography," *Optics express* **19**, 3175-3184 (2011).
 16. 佐甲靖志, "光学顕微鏡技術の過去・現在・未来," *生物物理* **55**, 317-321 (2015).
 17. 鷺塚信彦, "内視鏡の歴史と内視鏡技術の進化," *繊維学会誌* **64**, P_258-P_261 (2008).
 18. L. V. Wang and H.-i. Wu, *Biomedical optics: principles and imaging* (John Wiley & Sons, 2007), p. 376.
 19. T. Saito and H. Yamaguchi, "Optical imaging of hemoglobin oxygen saturation using a small number of spectral images for endoscopic application," *Journal of Biomedical Optics* **20**, 126011 (2015).
 20. 佐藤学, "生体の光物性," in *バイオメディカルフォトニクス -生体医用工学の基礎と応用-*, 電. 次世代バイオメディカル・レーザー応用技術調査専門委員会, ed. (電気学会, 2009), pp. 12-22.
 21. D. A. Hardesty, H. Thind, J. M. Zabramski, R. F. Spetzler, and P. Nakaji, "Safety, efficacy, and cost of intraoperative indocyanine green angiography compared to intraoperative catheter angiography in cerebral aneurysm surgery," *Journal of Clinical Neuroscience* **21**, 1377-1382 (2014).
 22. V. Ntziachristos, "Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology," *Nature methods* **7**, 603-614 (2010).
 23. M. Cho, L. Kang, J. Kim, and S. Lee, "An efficient sound speed estimation method to enhance image resolution in ultrasound imaging," *Ultrasonics* **49**, 774-778 (2009).
 24. 炭. 親良, "超音波音場," in *新超音波医学 第1巻 医用超音波の基礎* 日本超音波医学会, ed. (医学書院, 2000), pp. 8-12.
 25. 山. 克之, "分解能," in *新超音波医学 第1巻 医用超音波の基礎* 日本超音波医学会, ed. (医学書院, 2000), pp. 65-68.
 26. 渡辺隆紀, "乳房超音波診断ガイドライン," *超音波医学* **41**, 659-664 (2014).
 27. R. G. Pleijhuis, M. Graafland, J. de Vries, J. Bart, J. S. de Jong, and G. M. van Dam, "Obtaining adequate surgical margins in breast-conserving therapy for patients with early-stage breast cancer: current modalities and future directions," *Annals of surgical oncology* **16**, 2717-2730 (2009).

28. S. Manohar and D. Razansky, "Photoacoustics: a historical review," *Advances in optics and photonics* **8**, 586-617 (2016).
29. 辻田和宏, "光音響イメージングの医療応用に向けて- 光音響画像と超音波画像の融合-", *日本レーザー医学会誌* **33**, 380-385 (2013).
30. Y. Wang, D. Xing, Y. Zeng, and Q. Chen, "Photoacoustic imaging with deconvolution algorithm," *Physics in Medicine & Biology* **49**, 3117 (2004).
31. Y. Wang and R. Wang, "Photoacoustic recovery of an absolute optical absorption coefficient with an exact solution of a wave equation," *Physics in medicine and biology* **53**, 6167 (2008).
32. B. Cox, J. G. Laufer, S. R. Arridge, and P. C. Beard, "Quantitative spectroscopic photoacoustic imaging: a review," *Journal of biomedical optics* **17**, 0612021-0612022 (2012).
33. W. Choi, E.-Y. Park, S. Jeon, and C. Kim, "Clinical photoacoustic imaging platforms," *Biomedical Engineering Letters*, 1-17 (2018).
34. S. Prahl, "Optical Spectra" (2017), retrieved July 31, 2017, <http://omlc.org/spectra/index.html>.
35. E. I. Neuschler, R. Butler, C. A. Young, L. D. Barke, M. L. Bertrand, M. Böhm-Vélez, S. Destounis, P. Donlan, S. R. Grobmyer, and J. Katzen, "A pivotal study of optoacoustic imaging to diagnose benign and malignant breast masses: a new evaluation tool for radiologists," *Radiology* **287**, 398-412 (2017).
36. J. Kim, M.-H. Kim, K. Jo, J. Ha, Y. Kim, D.-J. Lim, and C. Kim, "Photoacoustic analysis of thyroid cancer in vivo: a pilot study," *Proceedings of SPIE* **10064**, 1006408 (2017).
37. J. Jo, G. Xu, A. Marquardt, G. Girish, and X. Wang, "Photoacoustic evaluation of human inflammatory arthritis in human joints," in *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2017*, (International Society for Optics and Photonics, 2017), 1006409.
38. P. J. van den Berg, K. Daoudi, H. J. B. Moens, and W. Steenbergen, "Feasibility of photoacoustic/ultrasound imaging of synovitis in finger joints using a point-of-care system," *Photoacoustics* **8**, 8-14 (2017).
39. Y. Zhou, G. Li, L. Zhu, C. Li, L. A. Cornelius, and L. V. Wang, "Handheld photoacoustic probe to detect both melanoma depth and volume at high speed in vivo," *Journal of biophotonics* **8**, 961-967 (2015).
40. A. Garcia-Urbe, T. N. Erpelding, A. Krumholz, H. Ke, K. Maslov, C. Appleton, J. A. Margenthaler, and L. V. Wang, "Dual-modality photoacoustic and ultrasound imaging system for noninvasive sentinel lymph node detection in patients with

- breast cancer," *Scientific reports* **5**(2015).
41. M. Eghtedari, A. V. Liopo, J. A. Copland, A. A. Oraevsky, and M. Motamedi, "Engineering of hetero-functional gold nanorods for the in vivo molecular targeting of breast cancer cells," *Nano letters* **9**, 287-291 (2008).
 42. J. Levi, S.-R. Kothapalli, S. Bohndiek, J.-K. Yoon, A. Dragulescu-Andrasi, C. Nielsen, A. Tisma, S. Bodapati, G. Gowrishankar, and X. Yan, "Molecular photoacoustic imaging of follicular thyroid carcinoma," *Clinical Cancer Research* **19**, 1494-1502 (2013).
 43. R. Iwatate, M. Kamiya, and Y. Urano, "Asymmetric Rhodamine-Based Fluorescent Probe for Multicolour In Vivo Imaging," *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **22**, 1696-1703 (2016).
 44. E. Zhang, J. Laufer, and P. Beard, "Backward-mode multiwavelength photoacoustic scanner using a planar Fabry-Perot polymer film ultrasound sensor for high-resolution three-dimensional imaging of biological tissues," *Applied optics* **47**, 561-577 (2008).
 45. S.-L. Chen, S.-W. Huang, T. Ling, S. Ashkenazi, and L. J. Guo, "Polymer microring resonators for high-sensitivity and wideband photoacoustic imaging," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* **56**, 2482-2491 (2009).
 46. M. Vallet, F. Varray, J. Boutet, J.-M. Dinten, G. Caliano, A. S. Savoia, and D. Vray, "Quantitative comparison of PZT and CMUT probes for photoacoustic imaging: Experimental validation," *Photoacoustics* **8**, 48-58 (2017).
 47. C. Lutzweiler and D. Razansky, "Optoacoustic imaging and tomography: reconstruction approaches and outstanding challenges in image performance and quantification," *Sensors* **13**, 7345-7384 (2013).
 48. 高橋弘文, "はじめての圧電素子の選び方," *日本音響学会誌* **72**, 244-249 (2016).
 49. K. W. Kwok, H. L. W. Chan, and C. L. Choy, "Evaluation of the material parameters of piezoelectric materials by various methods," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* (1997).
 50. T. Hirasawa, S. Okawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, Y. Urano, and M. Ishihara, "Effect of reference spectra in spectral fitting to discriminate enzyme-activatable photoacoustic probe from intrinsic optical absorbers," *Proceedings of SPIE* **9708**, 970834 (2016).
 51. OLYMPUS, "超音波フェーズドアレイ チュートリアル - 目次 従来型超音波探触子のビーム特性", retrieved 11/2, 2018, <https://www.olympus-ims.com/ja/ndt-tutorials/transducers/characteristics/>.

52. H. Buiteveld, J. Hakvoort, and M. Donze, "Optical properties of pure water," in *Ocean Optics XII*, (International Society for Optics and Photonics, 1994), 174-184.
53. A. Rosenthal, V. Ntziachristos, and D. Razansky, "Optoacoustic methods for frequency calibration of ultrasonic sensors," *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* **58**, 316-326 (2011).
54. S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review," *Physics in medicine and biology* **58**, R37 (2013).
55. L. Wang, S. L. Jacques, and L. Zheng, "MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues," *Computer methods and programs in biomedicine* **47**, 131-146 (1995).
56. W. C. Y. Lo and L. Lilge, "Accelerated 3D Monte Carlo light dosimetry using a graphics processing unit (GPU) cluster," in *Laser Applications in Life Sciences 2010*, (International Society for Optics and Photonics, 2010), 737609-737609-737610.
57. H. J. Van Staveren, C. J. Moes, J. van Marie, S. A. Prahl, and M. J. Van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm," *Applied Optics* **30**, 4507-4514 (1991).
58. J. R. Cook, R. R. Bouchard, and S. Y. Emelianov, "Tissue-mimicking phantoms for photoacoustic and ultrasonic imaging," *Biomedical optics express* **2**, 3193-3206 (2011).
59. J. Laufer, C. Elwell, D. Delpy, and P. Beard, "In vitro measurements of absolute blood oxygen saturation using pulsed near-infrared photoacoustic spectroscopy: accuracy and resolution," *Physics in medicine and biology* **50**, 4409 (2005).
60. K. Sei, M. Fujita, T. Hirasawa, S. Okawa, T. Kushibiki, H. Sasa, K. Furuya, and M. Ishihara, "Measurement of blood-oxygen saturation using a photoacoustic technique in the rabbit hypoxemia model," *Journal of clinical monitoring and computing*, 1-11 (2018).
61. T. Hirasawa, R. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Dependence of photoacoustic signal generation characteristics on fluorescence quantum yields of small organic molecule based contrast agents," *Proceedings of SPIE* **10064**, 1006434 (2017).
62. T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, Y. Ikeda, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Comparison of photoacoustic signal generation characteristics of small organic molecules with various fluorescence quantum yields," *The papers of technical meeting on optical and quantum devices, IEE Japan*, 59-62 (2017).
63. W. Cheong, S. Prahl, and A. Welch, "A review of the optical properties of biological tissues," *IEEE J. Quantum Electronics* **26**, 2166-2185 (1990).

64. A. N. Bashkatov, E. A. Genina, and V. V. Tuchin, "Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review," *Journal of Innovative Optical Health Sciences* **4**, 9-38 (2011).
65. T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic imaging of tumours in mice injected with an enzyme-activatable photoacoustic probe," *Journal of Optics* **19**, 014002 (2017).
66. A. Q. Bauer, R. E. Nothdurft, T. N. Erpelding, L. V. Wang, and J. P. Culver, "Quantitative photoacoustic imaging: correcting for heterogeneous light fluence distributions using diffuse optical tomography," *Journal of Biomedical Optics* **16**, 096016-096016-096017 (2011).
67. J. Laufer, D. Delpy, C. Elwell, and P. Beard, "Quantitative spatially resolved measurement of tissue chromophore concentrations using photoacoustic spectroscopy: application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration," *Physics in medicine and biology* **52**, 141 (2007).
68. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Image reconstruction of the absorption coefficients with l1-norm minimization from photoacoustic measurements," *Quantitative imaging in medicine and surgery* **5**, 78-85 (2015).
69. A. Horiguchi, K. Tsujita, K. Irisawa, T. Kasamatsu, K. Hirota, M. Kawaguchi, M. Shinchi, K. Ito, T. Asano, H. Shinmoto, T. Hitoshi, and I. Miya, "A pilot study of photoacoustic imaging system for improved real - time visualization of neurovascular bundle during radical prostatectomy," *The Prostate* **76**, 307-315 (2016).
70. 日本乳癌学会, *科学的根拠に基づく 乳がん診療ガイドライン 1 治療編 2015 年度版* (金原出版, 2015).
71. P. J. Tanis, R. P. Boom, H. S. Koops, I. F. Faneyte, J. L. Peterse, O. E. Nieweg, E. J. Rutgers, A. T. Tiebosch, and B. B. Kroon, "Frozen section investigation of the sentinel node in malignant melanoma and breast cancer," *Annals of surgical oncology* **8**, 222-226 (2001).
72. "ジアグノグリーン注射用 25mg 添付文書," 第一三共株式会社, ed. (2018).
73. S. Wilhelm, A. J. Tavares, Q. Dai, S. Ohta, J. Audet, H. F. Dvorak, and W. C. Chan, "Analysis of nanoparticle delivery to tumours," *Nature reviews materials* **1**, 16014 (2016).
74. T. Takeshita, H. Tsuda, T. Moriya, T. Yamasaki, H. Asakawa, S. Ueda, K. Sato, S. Aida, S. Tamai, and O. Matsubara, "Clinical implications of occult metastases and isolated tumor cells in sentinel and non-sentinel lymph nodes in early breast cancer patients: serial step section analysis with long-term follow-up," *Annals of surgical*

- oncology **19**, 1160-1166 (2012).
75. T. Hirasawa, S. Okawa, K. Tsujita, T. Kushibiki, M. Fujita, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic tomography for detection of small tumors inside biological tissues," *Proceedings of SPIE* **10494**, 104943M (2018).
 76. M. Sakabe, D. Asanuma, M. Kamiya, R. J. Iwatate, K. Hanaoka, T. Terai, T. Nagano, and Y. Urano, "Rational design of highly sensitive fluorescence probes for protease and glycosidase based on precisely controlled spirocyclization," *Journal of the American Chemical Society* **135**, 409-414 (2012).
 77. R. J. Iwatate, M. Kamiya, K. Umezawa, H. Kashima, M. Nakadate, R. Kojima, and Y. Urano, "Silicon Rhodamine-Based Near-Infrared Fluorescent Probe for γ -Glutamyltransferase," *Bioconjugate chemistry* **29**, 241-244 (2018).
 78. 山田幸生, 長谷川裕夫, and 高橋ゆかり, "時間外挿法光 CT," *BME* **8**, 14-20 (1994).
 79. 岡田英史, "高散乱媒質中の光伝播解析," *光学* **34**, 562-567 (2005).

関連研究業績

学位申請論文

1. T. Hirasawa, M. Fujita, S. Okawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Quantification of effective attenuation coefficients using continuous wavelet transform of photoacoustic signals," *Applied Optics* **52**, 8562-8571 (2013).
2. T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, M. Fujita, Y. Urano, and M. Ishihara, "Spectral-differential-based unmixing for multispectral photoacoustic imaging," *Applied optics* **57**, 2383-2393 (2018).

本研究に関連する学術論文（査読あり）

1. S. Okawa, T. Hirasawa, R. Sato, T. Kushibiki, M. Ishihara, and T. Teranishi, "Numerical and experimental investigations of dependence of photoacoustic signals from gold nanoparticles on the optical properties," *Optical Review* **25**, 365-374 (2018).
2. K. Sei, M. Fujita, T. Hirasawa, S. Okawa, T. Kushibiki, H. Sasa, K. Furuya, and M. Ishihara, "Measurement of blood-oxygen saturation using a photoacoustic technique in the rabbit hypoxemia model," *Journal of clinical monitoring and computing*, 1-11 (2018).
3. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Effects of the approximations of light propagation on quantitative photoacoustic tomography using two-dimensional photon diffusion equation and linearization," *Optical Review* **24**, 705-726 (2017).

4. T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic imaging of tumours in mice injected with an enzyme-activatable photoacoustic probe," *Journal of Optics* **19**, 014002 (2017).
5. K. Sei, M. Fujita, S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, H. Sasa, K. Furuya, and M. Ishihara, "Appropriate timing of blood sampling for blood gas analysis in the ventilated rabbit," *Journal of Surgical Research* **206**, 325-336 (2016).
6. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Image reconstruction of the absorption coefficients with l1-norm minimization from photoacoustic measurements," *Quantitative imaging in medicine and surgery* **5**, 78-85 (2015).
7. 大川晋平, 平沢壮, 櫛引俊宏, and 石原美弥, "光音響計測による生体内光学特性値分布の定量的イメージング," *日本レーザー医学会誌* **35**, 140-150 (2014).
8. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Numerical evaluation of linearized image reconstruction based on finite element method for biomedical photoacoustic imaging," *Optical Review* **20**, 442-451 (2013).

本研究に関連する学術論文（査読なし）

1. 平沢壮, 大川晋平, 櫛引俊宏, 石原美弥, 岩立竜, 神谷真子, 浦野泰照, "分子イメージングのためのマルチスペクトル光音響イメージング及びがんイメ

- ーシングへの応用 (特集 医学・生物応用の可能性を示す! 注目の光音響イメージング技術)," *Optronics: 光技術コーディネートジャーナル* **36**, 60-65 (2017).
2. 大川晋平, 平沢壮, 櫛引俊宏, 石原美弥, 佐藤良太, 寺西利治, "光音響シミュレーションと定量的トモグラフィー画像再構成: 光音響を用いたより高度な診断をめざして (特集 医学・生物応用の可能性を示す! 注目の光音響イメージング技術)," *Optronics: 光技術コーディネートジャーナル* **36**, 66-71 (2017).
 3. 藤田真敬, 平沢壮, and 石原美弥, "次世代の画像診断装置としての光音響画像化技術開発と医師の期待 (特集 医師からみた光医療最前線)," *O plus E: Optics · Electronics* **34**, 151-154 (2012).

本研究に関連する国際学会抄録

1. T. Hirasawa, S. Okawa, K. Tsujita, T. Kushibiki, M. Fujita, Y. Urano, and M. Ishihara, "Multispectral photoacoustic tomography for detection of small tumors inside biological tissues," *Proceedings of SPIE* **10494**, 104943M (2018).
2. S. Okawa, T. Hirasawa, K. Tsujita, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "3D quantitative photoacoustic image reconstruction using Monte Carlo method and linearization," *Proceedings of SPIE* **10494**, 104944Y (2018).
3. T. Hirasawa, R. Iwatate, M. Kamiya, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Dependence of photoacoustic signal generation characteristics on fluorescence quantum yields of small organic molecule based contrast

- agents," Proceedings of SPIE **10064**, 1006434 (2017).
4. S. Okawa, K. Sei, T. Hirasawa, K. Irisawa, K. Hirota, T. Wada, T. Kushibiki, K. Furuya, and M. Ishihara, "In vivo photoacoustic imaging of uterine cervical lesion and its image processing based on light propagation in biological medium," Proceedings of SPIE **10064**, 100642S (2017).
 5. T. Hirasawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, Y. Ikeda, S. Okawa, Y. Urano, and M. Ishihara, "Comparison of photoacoustic signal generation characteristics of small organic molecules with various fluorescence quantum yields," The papers of technical meeting on optical and quantum devices, **17**, 59-62, (2017).
 6. T. Hirasawa, S. Okawa, R. J. Iwatate, M. Kamiya, Y. Urano, and M. Ishihara, "Effect of reference spectra in spectral fitting to discriminate enzyme-activatable photoacoustic probe from intrinsic optical absorbers," Proceedings of SPIE **9708**, 970834 (2016).
 7. S. Okawa, T. Hirasawa, R. Sato, T. Kushibiki, M. Ishihara, and T. Teranishi, "Effects of the optical properties of gold nanoparticles on photoacoustic signals," Proceedings of SPIE **9708**, 970836 (2016).
 8. T. Hirasawa, S. Okawa, M. Kamiya, Y. Urano, and M. Ishihara, "Photoacoustic imaging of small organic molecule-based photoacoustic probe in subcutaneous tumor using P(VDF-TrFE) acoustic sensor " Proceedings of SPIE **9323**, 93233C (2015).
 9. M. Ishihara, K. Tsujita, A. Horiguchi, K. Irisawa, T. Komatsu, M. Ayaori, T. Hirasawa, T. Kasamatsu, K. Hirota, H. Tsuda, K. Ikewaki, and T.

- Asano, "Development of photoacoustic imaging technology overlaid on ultrasound imaging and its clinical application " Proceedings of SPIE **9323**, 93232K (2015).
10. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Influence of the light propagation models on a linearized photoacoustic image reconstruction of the light absorption coefficient," Proceedings of SPIE **9323**, 93231X (2015).
 11. T. Hirasawa, S. Okawa, M. Fujita, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Quantification of optical attenuation coefficient based on continuous wavelet transform of photoacoustic signals measured by a focused broadband acoustic sensor," Proceedings of SPIE **8943**, 89435Z (2014).
 12. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Reconstruction of the optical absorption coefficient from photoacoustic signals measured by scanning coaxial probe with regularization methods," Proceedings of SPIE **8943**, 89433W (2014).
 13. M. Ishihara, T. Hirasawa, S. Okawa, R. Sato, Y. Urano, and T. Teranishi, "The effect of surface charge of plasmonic gold nanoparticles on photoacoustic signal," Proceedings of SPIE **8943**, 89434D (2014).
 14. T. Hirasawa, M. Fujita, S. Okawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Improvement in quantifying optical absorption coefficients based on continuous wavelet-transform by correcting distortions in temporal photoacoustic waveforms," Proceedings of SPIE **8581**, 85814J (2013).
 15. S. Okawa, T. Hirasawa, T. Kushibiki, and M. Ishihara, "Reconstruction of the optical properties of inhomogeneous medium from photoacoustic

- signal with lp sparsity regularization," Proceedings of SPIE **8581**, 858135 (2013).
16. T. Hirasawa, M. Ishihara, K. Tsujita, K. Hirota, K. Irisawa, M. Kitagaki, M. Fujita, and M. Kikuchi, "Continuous wavelet-transform analysis of photoacoustic signal waveform to determine optical absorption coefficient," Proceedings of SPIE **8223**, 822333 (2012).
 17. K. Irisawa, T. Hirasawa, K. Hirota, K. Tsujita, and M. Ishihara, "Influence of laser pulse width to the photoacoustic temporal waveform and the image resolution with a solid state excitation laser," Proceedings of SPIE **8223**, 82232W (2012).
 18. T. Hirasawa, M. Ishihara, M. Kitagaki, I. Bansaku, M. Fujita, and M. Kikuchi, "Analysis and verification of dominant factor to obtain the high resolution photo-acoustic imaging," Proceedings of SPIE **7899**, 789932 (2011).
 19. M. Ishihara, T. Hirasawa, K. Tsujita, M. Kitagaki, I. Bansaku, M. Fujita, and M. Kikuchi, "Multifunctional photoacoustic signals detected by P (VDF/TrFE) film sensor with a wide range of frequency," Proceedings of SPIE **7899**, 78992Z (2011).
 20. K. Tsujita, M. Ishihara, T. Hirasawa, K. Irisawa, K. Hirota, Y. Satoh, and M. Kikuchi, "Effect of the illumination method on photo-acoustic image quality with array transducer based system," Proceedings of SPIE **7899**, 78992W (2011).

本研究に関連する国内学会発表

1. 「光音響トモグラフィーと定量的画像再構成」大川晋平, 平沢壮, 辻田和宏, 櫛引俊宏, 石原美弥 (発表代表者: 大川晋平) 第 37 回日本医用画像工学会大会 筑波大学 (筑波)
2. 「分子イメージングのための広帯域超音波センサを用いた光音響イメージングに関する検討」平沢壮, 大川晋平, 辻田和宏, 神谷真子, 浦野泰照, 石原美弥 (発表代表者: 平沢壮) 第 13 回日本分子イメージング学会学術集会 東京大学 (東京)
3. 「生体内分子濃度分布の定量的光音響トモグラフィー」大川晋平, 平沢壮, 辻田和宏, 櫛引俊宏, 齋藤大蔵, 浦野泰照, 石原美弥 (発表代表者: 平沢壮) 第 13 回日本分子イメージング学会学術集会 東京大学 (東京)
4. 「モンテカルロ法による光伝播計算を用いた定量的光音響画像再構成」大川晋平, 平沢壮, 辻田和宏, 櫛引俊宏, 石原美弥 (発表代表者: 大川晋平) 電気学会 光・量子デバイス研究会 北里大学 (神奈川)
5. 「光音響イメージングを用いた血管系腫瘍の観測」東隆一, 平沢壮, 長野寿人, 會沢哲士, 山城利文, 青木伸峰, 清沢智晴, 石原美弥 (発表代表者: 東隆一) 第 61 回日本形成外科学会総会・学術集会 ホテルニューオータニ博多・電気ビル (福岡)
6. 「光音響技術を用いた小動物イメージング法に関する検討」平沢壮, 大川晋平, 辻田和宏, 櫛引俊宏, 藤田真敬, 浦野泰照, 石原美弥 (発表代表者: 平沢壮) 第 38 回日本レーザー医学会総会 慶應義塾大学日吉キャンパス (神奈川)
7. 「生体内光伝播計算を用いた定量的 3 次元光音響トモグラフィー」大川晋平, 平沢壮, 辻田和宏, 櫛引俊宏, 石原美弥 (発表代表者: 櫛引俊宏) 第 38 回日

本レーザー医学会総会 慶應義塾大学日吉キャンパス (神奈川)

8. 「子宮頸部前癌病変における光音響技術の有用性の検討」精きぐな, 石原美弥, 平沢壮 他(9人中6人目)(発表代表者:精きぐな) 第89回日本超音波医学会 国立京都国際会館 (京都)
9. 「血液酸素飽和度の光音響測定精度管理のための実験モデル」精きぐな, 平沢壮, 藤田真敬, 古谷健一, 石原美弥 (発表代表者:石原美弥) 日本超音波医学会 平成27年度 第4回光超音波画像研究会 佐賀県立男女共同参画センター・佐賀県立生涯学習センター (佐賀)
10. 「光音響信号を用いた生体組織の光学特性値推定」立川誠四郎, 大川晋平, 精きぐな, 平沢壮, 櫛引俊宏, 藤田真敬, 石原美弥 (発表代表者:立川誠四郎) 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2015 筑波大学東京キャンパス (東京)
11. 「網羅的測定に基づく金ナノ粒子の光音響特性」石原美弥, 平沢壮, 佐藤良太, 大川晋平, 浦野泰照, 寺西利治 (発表代表者:石原美弥) 電気学会 光・量子デバイス研究会 東北大学東京分室 (東京)
12. 「金ナノ粒子を用いた光音響信号増強に関する基礎的検討」石原美弥, 平沢壮, 佐藤良太, 大川晋平, 寺西利治 (発表代表者:石原美弥) 平成26年度 第2回光超音波画像研究会 北海道大学 (北海道)
13. 「金ナノ粒子から生じる光音響の増強効果に関する研究」大川晋平, 平沢壮, 佐藤良太, 浦野泰照, 石原美弥, 寺西利治 (発表代表者:大川晋平) ナノ学会第12回大会 京都大学 (京都)
14. 「光音響技術による分子イメージングと光伝播を考慮した定量的画像再構成」大川晋平, 平沢壮, 櫛引俊宏, 石原美弥 (発表代表者:大川晋平) 第36回日本分子生物学会年会 神戸国際展示場 (兵庫)

15. 「光音響イメージング装置—光音響画像と超音波画像の融合—」辻田和宏, 入澤覚, 広田和弘, 平沢壮, 藤田真敬, 石原美弥 (発表代表者: 辻田和宏) 平成 25 年度第 1 回光超音波画像研究会 京都大学 (京都)
16. 「プラズモン金ナノ粒子を用いた光音響造影剤開発」石原美弥, 大川晋平, 佐藤良太, 平沢壮, 寺西利治 (発表代表者: 石原美弥) ナノ学会第 11 回大会 東京工業大学 (東京)
17. 「3 次元培養細胞観察のための光音響イメージング顕微鏡の創製」櫛引俊宏, 平沢壮, 大川晋平, 石原美弥 (発表代表者: 櫛引俊宏) 第 33 回日本レーザー医学会総会 大阪大学 (大阪)
18. 「光音響信号源分布画像化の逆問題解法によるアプローチ」大川晋平, 平沢壮, 櫛引俊宏, 石原美弥 (発表代表者: 大川晋平) 電気学会 光・量子デバイス研究会 東北大学東京分室 (東京)
19. 「連続ウェーブレット変換を用いた光音響信号解析による光吸収係数同定法の開発」平沢壮, 櫛引俊宏, 藤田真敬, 石原美弥 (発表代表者: 平沢壮) 第 51 回日本生体医工学会大会 福岡国際会議場 (福岡)
20. 「光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証」平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞 (発表代表者: 平沢壮) 第 32 回日本レーザー医学会総会 パシフィコ横浜 (神奈川)
21. 「光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証」平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞 (発表代表者: 石原美弥) 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2015 大阪大学 (大阪)
22. 「深部組織の高分解能画像化に向けた光音響画像診断法の開発と評価」平沢壮, 石原美弥, 辻田和宏, 入澤覚, 北垣学, 藤田真敬, 菊地眞 (発表代表者:

- 平沢壮) 第 50 回日本生体医工学会大会 東京電機大学 (東京)
23. 「光音響画像化技術の現状」石原美弥, 平沢壮, 菊地眞 (発表代表者: 石原美弥) 電気学会 光・量子デバイス研究会 大阪市立大学 (大阪)
24. 「光音響断層画像化技術による機能診断イメージングに関する研究」石原美弥, 平沢壮, 北垣学, 番作勲, 藤田真敬, 菊地眞 (発表代表者: 石原美弥) 第 31 回日本レーザー医学会総会 ウィンク愛知 (愛知)
25. 「光音響画像の高分解能化のための画像再構成手法の検証」平沢壮, 石原美弥, 北垣学, 藤田真敬, 菊地眞 (発表代表者: 平沢壮) 電気学会 光・量子デバイス研究会 東北大学東京分室 (東京)
26. 「Development of the photoacoustic imaging system toward functional deep tissue imaging」石原美弥, 辻田和宏, 平沢壮, 番作勲, 佐藤良彰, 北垣学, 藤田真敬, 菊地眞 (発表代表者: 石原美弥) 第 49 回日本生体医工学会大会 大阪国際交流センター (大阪)

受賞

1. 優秀発表賞, 日本分子イメージング学会 第 13 回 学会総会・学術集会, 2018 年 6 月
2. 平成 29 年 電子・情報・システム部門 技術委員会奨励賞, 電気学会, 2018 年 2 月
3. 電気系系長賞, 長岡技術科学大学, 2010 年 3 月
4. 優秀発表賞, 第 29 回日本生体医工学会甲信越支部大会, 2009 年 10 月

謝辞

本論文をまとめるに際し、主査として多大なご指導及びご助言を賜りました、明治大学大学院 理工学研究科 機械工学専攻 石原康利教授に心から感謝の意を表します。

御多用中のところ、本学位論文の副査として、大変有益なご指導・ご鞭撻をいただきました、明治大学大学院 理工学研究科 機械工学専攻 加藤和夫教授、明治大学大学院 理工学研究科 機械工学専攻 榊原潤教授に深く感謝の意を表します。

本研究の機会を与えていただくとともに、研究内容のみならず研究者としての姿勢など、大変ご丁寧なご指導を賜りました、防衛医科大学校 医用工学講座 石原美弥教授に厚くお礼申し上げます。

長年にわたる共同研究にご理解をいただき、本研究に使用した試薬をご提供いただきました、東京大学大学院 医学系研究科 浦野泰照教授、神谷真子講師、岩立竜博士（現 名古屋大学 医学部医学科）に心より感謝申し上げます。

本研究において実施した動物実験の手技について大変ご丁寧なご指導いただきました、防衛医科大学校防衛医学研究センター異常環境衛生研究部門 藤田真敬教授に深く感謝いたします。本研究に関連する共同研究にご協力をいただきました防衛医科大学校 外科学講座 乳腺外科部門 山崎民大 講師に深く感謝いたします。

日々の研究活動を実施するうえでの様々なご援助を賜りました防衛医科大学校医用工学講座の皆様にご心より感謝申し上げます。特に榊引俊宏 准教授には動物、細胞、及び試薬の取り扱い方法及びファントムの作成方法について貴重なご指導を賜りました。大川晋平 学内講師には光伝播解析について貴重なご指導を賜りました。辻田和宏氏には、本研究を遂行するに当たり大変重要なディス

カッションをさせていただきました。池田悠汰氏には、本研究を実施するための実験全般を補助していただきました。谷川待子氏には、皮下腫瘍モデルマウスを作成する上で必要となる細胞の培養を補助していただきました。南 聡史氏にはファントム作成を補助していただきました。

最後に、筆者が本研究に専念できるように、理解と協力をいただきました家族に心より感謝申し上げます。

平成 31 年 2 月

防衛医科大学校 医用工学講座

平沢 壮