

3. 光音響画像化法の要素技術

光音響断層画像化技術における主要な要素技術は、励起系、検出系、信号処理系である。励起系とは光音響波を発生するためのエネルギーを供給し、その波長で画像化対象を選択する役割を果たす。検出系とは光音響波を圧電素子などからなるセンサーで電気信号に変換し、信号処理系とは受信信号から光吸収分布を推定する画像再構成の役割を果たす。これらの組み合わせにより画像性能が決定するため、要素技術ごとに研究開発が行われている。

光音響信号は原理的に超音波信号と異なり、広い周波数帯域を持つ特徴があり、さらに、その周波数特性は超音波の発生源である光吸収体の物性を反映する。超音波画像装置や光音響画像装置で一般的に使用されている圧電素子のPZT素子を用いると、感度のある周波数帯域が狭いため光音響信号の全域を検出することが出来ない。我々はセンサー材料に他では使用していない周波数の感度帯域が広い圧電素子である薄膜フィルムのP(VDF-TrFE)素子を用いる事で広帯域センサーを実現している。これにより正確な光音響波の時間波形が測定出来るようになり、光吸収体の物性に関連する波形パラメータが得られる。波形パラメータか

ら得られるサンプル情報の実験例を以下に示す。血管を模擬したファントムをサンプルにして、波長可変のナノ秒パルスレーザー (Ti : Sapphire, 波長 : 700 nm ~ 800 nm, パルス幅 : 14 ns ~ 31 ns) を光ファイバー (コア径 : 600 μm , NA : 0.48) を用いて導光し、P(VDF-TrFE)素子 (膜厚 : 50 μm) によるセンサーで測定した信号を増幅率 46 [dB] のFETアンプで増幅してマルチチャンネルデジタルオシロスコープにて波形観察をした。

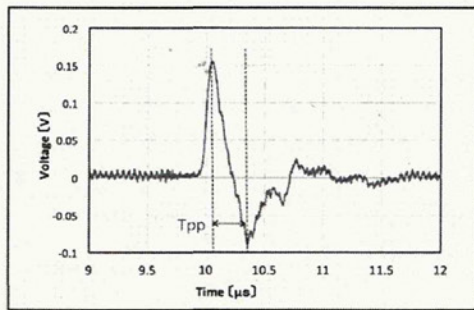
測定された光音響信号の時間波形 (Fig. 3(a)) は、血管ファントム内で発生した超音波がセンサーまで伝搬する様子を反映している。設定した条件では血管ファントムの上面と下面での界面反射が、波形の正圧のピークと負圧のピークに各々対応している。このピーク間の時間 (T_{pp}) がファントム径 (血管径に相当) を超音波が伝搬する時間に相当し、波形パラメータとなる。生体 (=水) の音速を v とし、血管ファントムの径を変化させた時の測定波形から得られた T_{pp} とファントム径には高い相関があることが実証できた (Fig. 3(b))。以上から、広帯域センサーにより光音響信号を検出すれば、一般的に画像化に使用している光音響波の伝搬時間と信号強度 (Fig. 1) だけではなく波形情報が得られるようになり、これにより、多角的な情報が入手できることを確認した。

4. 分子イメージング手法としての光音響画像

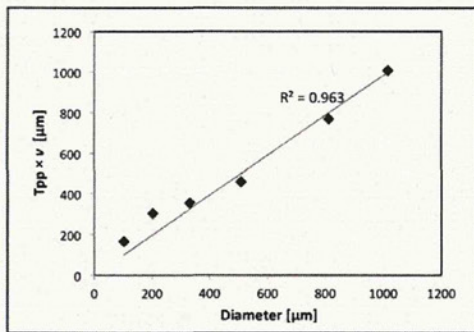
生体由来の光吸収体を撮像対象とするだけでなく、医療で使用可能となっている色素を対象とした光音響画像を利用する臨床研究が米国にて実施されている。また、分子生物学などの分野で研究開発されている、蛍光や発光を利用して特定の分子を標的する手法が光音響画像に活用され始めている。その1例として、遺伝子導入した細胞を可視化する手法として確立されている、X-Gal (発色基質) を用いて β -galactosidase 活性を画像化した報告がある⁽⁸⁾。さらに、吸収波長を近赤外に設定出来るなどの理由から金ナノロッドやカーボンナノチューブなどのナノ材料を導入した光音響画像による分子イメージングの研究が近年急激に盛んになっている⁽⁹⁾。

5. おわりに

光音響画像が真価を発揮するには、現在臨床研究が進められているヘモグロビンや医療で使用可能な色素を画像化対象の光の吸収体とする光音響画像だけでなく、今後は「4. 分子イメージング手法としての光音響画像」で一部紹介した標的薬剤を用いた光音響画像が必要と考える。すなわち、蛍光分子、発光分子、ナノ材料を利用した分子標的化造影剤を導入することで、疾患に特異的な光音響画像が得られるようになり、確定診断につながる。これを医療の現場で実際に使用するためには、新たな技術課題が生まれ、さらに薬事承認の問題などがあるが、国民により安全・安心な医療技術を提供できるよう光音響画像診断の早期実現に期待する。



(a) Typical photoacoustic waveform indicates the time of flight photoacoustic signal. T_{pp} is defined as the peak-to-peak time of the waveform.



(b) Relation between the T_{pp} and diameter of vessel phantom. The correlation coefficient is 0.96.

Fig. 3. Functional photoacoustic signal measured by wide-band sensor using P(VDF/TrFE) film.

謝 辞

本研究の一部は平成 23 年度厚生労働省研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業) (H23-医療機器-一般 005) の助成を受け実施された。

文 献

- (1) 久保田博南著: 医療機器-生い立ち・役目と働き・望まれる姿, 真興交易 (2010)
- (2) 電気学会次世代バイオメディカル・レーザ応用技術調査専門委員会編: バイオメディカルフォトニクス-生体医用光学の基礎と応用, 電気学会, オーム社 (2009)
- (3) 沢田嗣郎編: 光音響分光法とその応用-PAS, 日本分光学会 測定法シリーズ, 学会出版センター (1982 年初版 1993 年 3 刷)
- (4) 沢田嗣郎編: 光熱変換分光法とその応用, 日本分光学会 測定法シリーズ, 学会出版センター (1997)
- (5) M. Baker: "Whole-animal imaging: The whole picture", *Nature*, 463 (7283), pp.977-980 (2010)

- (6) X. Wang, Y. Pang, G. Ku, X. Xie, G. Stoica, and L. V. Wang: "Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain", *Nat. Biotechnol.*, Vol.21, No.7, pp.803-806 (2003)
- (7) Visual Sonics 社ホームページ, <http://www.visualsonics.com/>
- (8) L. Li, R. J. Zemp, G. Lungu, G. Stoica, and L. V. Wang: "Photoacoustic imaging of lac Z gene expression in vivo", *J. of Biomedical Optics*, Vol.12, No.2, pp.0200504-1-3 (2007)
- (9) *Contrast Media Mol. Imaging*, Vol.6 (2011)

石 原 美 弥

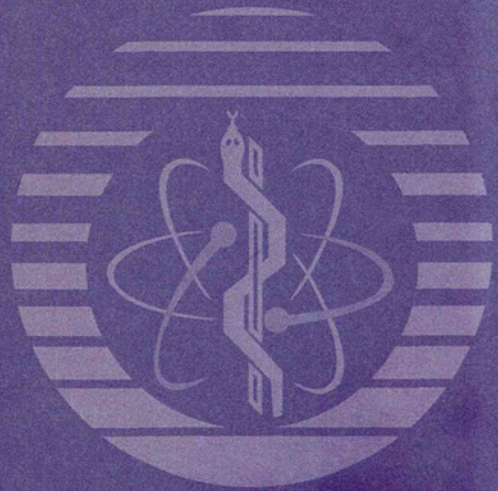


(正員) 1994 年慶応義塾大学大学院修了。現在、防衛医科大学校医用工学講座教授。専門は医用生体工学, バイオメディカルフォトニクス。真の医工連携の実現を目指している。

日本生体医工学会誌

生体医工学

Vol.50
Suppl.1
2012



Transactions of the Japanese Society for Medical and Biological Engineering

<http://www.jsmbe.or.jp/>

第50巻特別号

第51回日本生体医工学会大会
(旧日本エム・イー学会)

プログラム・抄録集

Fukuoka May 10-12, 2012

03-08-6 近赤外フェムト秒パルスレーザーによる2光子励起光音響イメージングの検討

○山岡 禎久、原田 義規、高松 哲郎

京都府立医科大学大学院 医学研究科 細胞分子機能病理

Two-photon excitation-induced photoacoustic microscopy (TP-PAM) with infrared femtosecond pulse laser

○YOSHIIHISA YAMAOKA, YOSHINORI HARADA, TETSURO TAKAMATSU

Department of Pathology and Cell Regulation, Kyoto Prefectural University of Medicine

We reported that two-photon excitation-induced photoacoustic microscopy (TP-PAM) using microchip sub-nanosecond pulse laser at 1064 nm showed optically-determined high spatial resolution in phantom experiments. However, in actual application for biological deep imaging, there are several problems to be solved: (a) water absorption at 1064 nm, (b) poor spatial mode of the excitation laser, (c) low efficiency of two-photon excitation and (d) target-dependent frequency filtering to extract TP-PAM signals. To overcome these problems, we propose the use of Ti:sapphire femtosecond pulse laser as the excitation light source for TP-PAM. The wavelength of the femtosecond pulse laser is variable in the optical window for biological tissues. The femtosecond pulse laser has better spatial mode and higher peak power than the sub-nanosecond pulse laser. These characteristics are expected to improve the spatial resolution and penetration depth of TP-PAM. TP-PAM using femtosecond pulse laser will provide new insights helpful in detailed investigation of deep tissues.

03-08-7 波長5.8 μm 帯ナノ秒パルスレーザーを用いた選択的な蝕切削のための最適照射条件の検討

○北 哲也¹、石井 克典¹、吉川 一志²、保尾 謙三²、山本 一世²、栗津 邦男^{1,3,4,5}

¹大阪大学 大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻、²大阪歯科大学 歯科保存学講座、

³大阪大学 大学院生命機能研究科、⁴大阪大学 臨床医工学融合研究教育センター、

⁵福井大学 附属国際原子力工学研究所

Optimal laser condition for selective caries removal using a nanosecond pulsed laser with 5.8 μm wavelength range

○TETSUYA KITA¹, KATSUNORI ISHII¹, KAZUSHI YOSHIKAWA², KENZO YASUO², KAZUYO YAMAMOTO², KUNIO AWAZU^{1,3,4,5}

¹Graduate School of Engineering, Osaka University, Osaka, Japan

²Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University, Osaka, Japan

³Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Osaka, Japan

⁴The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University, Osaka, Japan

⁵Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui, Fukui, Japan

Er: YAG laser used in dental clinic cannot selectively remove caries. The resin bond strength after irradiation is also low. The purpose of this study was to optimize the laser condition for selective removal of carious dentin with a nanosecond pulsed laser in the 6 μm wavelength range corresponding to the absorption peak of dentin. At the wavelengths of 5.75 and 5.80 μm and the average power densities of 30-40 W/cm², demineralized dentin was selectively removed without serious damages. Measuring resin bond strength, 5.80 μm wavelength at 30 W/cm² showed a significant difference in the results of Er:YAG laser. 5.8 μm wavelength range was found to be effective for less invasive caries removal.

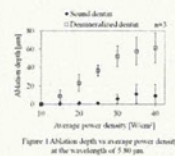


Figure 1 Ablation depth vs average power density at the wavelength of 5.80 μm.

03-08-8 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 社¹、櫛引 俊宏¹、藤田 真教²、石原 美弥¹

¹防衛医科大学校 医用工学講座、²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

Optical absorption coefficient determination from photo-acoustic waveform using continuous wavelet transform

○TAKESHI HIRASAWA¹, TOSHIHIRO KUSHIBIKI¹, MASANORI FUJITA², MIYA ISHIHARA¹

¹Department of Medical Engineering, National Defense Medical College, Saitama, Japan

²Division of Environmental Medicine, National Defense Medical College Research Institute

In photo-acoustic (PA) imaging, valuable medical applications based on optical absorption spectrum such as blood oxygenation imaging have been investigated. In order to improve accuracy in these applications, accurate optical absorption coefficient determination method has been required. Although PA signal intensity has been commonly used to determine optical absorption coefficients, optical decay in background tissue directly causes error. In this research, we propose a waveform based optical absorption coefficient determination method which is less affected by optical decay in background tissue. PA waveform corresponds to optical absorption distribution therefore it reflects optical decay in optical absorber. In order to detect optical absorption coefficient related PA waveform difference sensitively, we adopted continuous wavelet transform (CWT) which provides time resolved frequency spectrum. We measured PA waveform induced from phantom using P(VDF-TrFE) sensor with wide frequency band. As a result, correlation between peak frequency extracted using CWT and optical absorption coefficient was confirmed.

Optical absorption coefficient determination from photoacoustic waveform using continuous wavelet transform

Takeshi Hirasawa¹, Toshihiro Kushibiki¹, Masanori Fujita², Miya Ishihara¹

¹Department of Medical Engineering, National Defense Medical College

²Division of Environmental Medicine, National Defense Medical College Research Institute

Abstract: In photo-acoustic (PA) imaging, valuable medical applications based on the optical absorption spectrum such as blood oxygenation imaging have been investigated. Accurate determination of optical absorption coefficients is essential for these applications. Although amplitudes of PA signals have been commonly used to determine optical absorption coefficients of optical absorbers in biological tissues, amplitudes of PA signals are decreased by optical attenuation in surrounding tissues. We propose a method for determining optical absorption coefficients from temporal waveforms of PA signals using continuous wavelet transform (CWT). Temporal waveforms of PA signals are associated with spatial profiles rather than amplitudes of absorbed optical energies. Thus, this method not greatly affected by optical attenuation in surrounding tissue. Peak frequencies of the time resolved frequency spectra calculated by using CWT was used to determine optical absorption coefficients. As a result of experiment using phantoms, correlations of the peak frequencies of CWT with optical absorption coefficients of the phantoms were confirmed.

Keywords: optical property, oxygen saturation, molecular imaging, frequency spectrum, P(VDF-TrFE)

1. Introduction

Optical absorption coefficients of biological tissues are closely associated with physiological parameters such as concentrations and oxygenation of hemoglobin [1-4]. Several optical imaging techniques such as diffuse optical tomography have been developed to measure optical absorption coefficients. However, spatial resolutions of these techniques have been limited by strong optical scattering of biological tissues.

Photo-acoustic (PA) imaging (PAI) is an imaging technique combining ultrasound and optical imaging [1]. In this technique, optical absorbers in biological tissues such as hemoglobin are illuminated by a nanosecond pulse laser to produce broadband ultrasound (PA signal) then, PA signals are detected by ultrasound sensors. Since ultrasound scattering is much weaker than optical scattering in biological tissues, PAI is capable of high resolution imaging (~1mm) at depths beyond limitations of optical imaging techniques due to optical scattering. The amplitude of the PA signal is directly proportional to the absorbed optical energy which in turn is a function of optical absorption coefficients of biological tissues. By varying the wavelength of excitation pulses, spectroscopic information can be obtained. The multispectral PA imaging acquires the spatial distribution of optical absorption spectra to quantify concentrations of chromophore. By quantifying concentrations of oxy hemoglobin and deoxy hemoglobin, the oxygen saturation of hemoglobin can be calculated.

PA images are spatial mapping of the absorbed optical energy $E(\text{mJ cm}^{-3})$, which is the product of the optical absorption coefficient $\mu_a(\text{cm}^{-1})$ and the fluence $F(\text{mJ cm}^{-2})$ [2]. The fluence at a surface of the optical absorber in biological tissues is attenuated by surrounding tissues and varies with wavelength due to spectral dependence of optical properties of surrounding tissues [3]. Thus, in order to quantify the μ_a of the biological tissue, compensation of the fluence attenuation has been required. Currently, effects of the fluence attenuation have been compensated by solving the coupled radiation transfer equation and PA wave equation [4]. However, the calculation requires some assumptions to obtain a unique solution and it is time-consuming. These factors have limited the applicability of

this method.

We propose a method for determining the μ_a using a temporal waveform of the PA signal. This method is not greatly affected by optical attenuation in surrounding tissue, because the temporal waveform of the PA signal depends on the spatial profile of absorbed optical energy along the detection axis of the ultrasound sensor rather than the amplitude of absorbed optical energy. Thus, the μ_a can be determined without a compensation of the fluence attenuation. However, the temporal waveform of the PA signal is strongly affected by noise due to the low signal-to-noise ratio (SNR). We focused onto the frequency spectrum of PA signals to reduce effects of noise. Continuous wavelet transform (CWT) which is a time-resolved frequency spectrum analysis was used to obtain frequency spectrum maintaining the temporal resolution. We report the result of CWT for the PA signals from several phantoms with various μ_a .

2. Materials and methods

2-1. PA signal analysis using CWT

Continuous wavelet transform is a time resolved frequency spectrum analysis method. Since the PA signal is a pulse wave generated by irradiation of a laser pulse, sensitivity for temporal changes of the frequency spectrum was required for an analysis method. Thus we adopted CWT as the analysis method which has scalable temporal resolution and frequency resolution. The detailed description of CWT was shown in references [5, 6]. In this research, we chose the complex-morlet wavelet that is the product of a complex sinusoidal function and a Gaussian function as the mother wavelet of CWT. The CWT of the PA signal is the 2D matrix complex data with the vertical axis is associated with frequency and the horizontal axis is associated with time. In order to improve the temporal resolution of complex-morlet wavelet, the number of sinusoidal waves in a Gaussian function was decreased, and the appropriate offset was added to sinusoidal function [5].

The intensity of CWT is associated with the power spectrum of the PA signal. We extracted the parameter to determine the μ_a by comparing the μ_a and the absolute value of CWT.

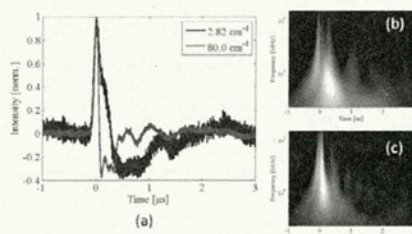


Fig. 1 (a) PA signals generated from phantoms with μ_a of 2.82cm^{-1} and 80.0cm^{-1} , (b, c) CWTs of PA signals generated from the phantom with μ_a of 2.82cm^{-1} (b) and 80.0cm^{-1} (c).

2.2. PA signal measurement using phantoms

We measured PA signals generated from phantoms. The phantoms consisted of two layers: the upper layer was a transparent layer, and the lower layer was an absorption layer that generated the PA signal. Each layer contained 1.5 wt% of agar and had a thickness of 9.5mm. The lower layers contained black ink as optical absorbers, and their μ_a were 2.82, 4.81, 10.5, 20.6, 41.3, or 80.0cm^{-1} .

A tunable Ti:sapphire laser (LT2242, Lotis:Ti) pumped by a second-harmonic generation of Nd:YAG laser (LT2211, Lotis:Ti), providing 15ns pulses at the repetition rate of 15Hz was used as the source of excitation pulses to generate the PA signal. The excitation pulse was irradiated to the phantom via an optical fiber with a core diameter of 0.4 mm, and a numerical aperture of 0.39. The wavelength of the excitation pulse was tuned to 720 nm. The wavelength was in a range of the optical window of biological tissue.

In order to analyze the frequency spectrum of the PA signal, an ultrasound sensor with a wide frequency band was required. We used an originally designed ultrasound sensor made of P(VDF-TrFE) to detect PA signal. The ring-shaped detection element of the sensor had an inner diameter of 0.6mm, and an outer diameter of 4.0mm. By passing the optical fiber through the hole of the ring-shaped element, the optical excitation axis and the ultrasound detection axis were aligned coaxially. The PA signal was measured by bringing the ultrasound sensor into contact with the upper layer of the phantom via optical transparent acoustic coupling gel (UF clear gel, FUKUDA Denshi). The detected PA signal was amplified by low noise FET amplifier (SA-220F5, NF Electronic Instruments) and then recorded by digital oscilloscope (DSO8104A, Agilent).

3. Results and discussions

Temporal waveforms of measured PA signals generated from the absorption layers with μ_a of 2.82cm^{-1} and 80.0cm^{-1} placed under the optical transparent layer with μ_a of 0cm^{-1} are shown in Fig. 1 (a). In order to compare the temporal waveform of the PA signal, the vertical axis of this figure was normalized. The CWTs of the PA signals were also shown in Fig. 1 (b) and Fig. 1 (c). The vertical axis of the CWT represents frequency of the PA signal. As shown in Fig. 1 (c), the PA signal generated from the frequency component. Thus, we used the peak frequency of the CWT as a parameter to determine the μ_a , which is the frequency

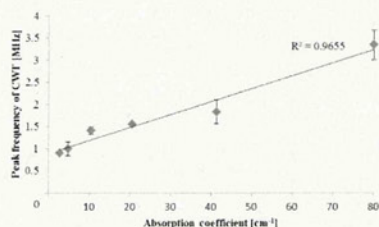


Fig. 2 Relationships of optical absorption coefficients with the peak frequencies of CWT. The error bar expresses standard deviation of measurements ($n=4$).

with the maximum CWT intensity. The peak frequency of CWT was increased from 0.96 MHz to 3.26 MHz by increasing the μ_a from 2.82cm^{-1} to 80.0cm^{-1} . By analyzing the PA signal generated from other phantoms, correlations of the peak frequency of the CWT with the μ_a with a correlation coefficient of 0.97 was confirmed. However, by focusing onto the μ_a range of $1\text{-}20\text{cm}^{-1}$, the correlation coefficient was decreased to 0.88. Thus, the accuracy especially at low μ_a should be further improved.

For the biomedical application, the effects of optical scattering should be discussed. The optical scattering in surrounding tissue causes not only optical attenuation but also the spatial expansion of the excitation pulse. The spatial expansion of the excitation pulse decreases the frequency of the PA signal. This effect could be prevented by using a focused ultrasound sensor.

4. Conclusions

We proposed a method to determine the μ_a from the temporal waveform of the PA signal. We used CWT to analyze the frequency spectrum of the PA signal maintaining temporal resolution. The parameters associate to power spectrum of the PA signal was obtained by using complex-morlet wavelet as a mother wavelet of CWT. By comparing the CWT and the μ_a of the phantom, correlation of peak frequency of the CWT with the μ_a was confirmed.

Acknowledgement

This research was partially supported by Health and Labour Science Research Grant for Research on Medical Device Development, and JST Collaborative Research Based on Industrial Demand (In vivo Molecular Imaging: Towards Biophotonics Innovations in Medicine).

Reference

- [1] C. Li, et al, *Phys. Med. Biol.*, 54, R59-R97 (2009)
- [2] Z. Guo, et al, *Opt. Lett.*, 35(12), 2067-2069 (2010)
- [3] M. Sivaramakrishnan, et al, *Phys. Med. Biol.*, 52, 1349-1361 (2007)
- [4] J. Laufer, et al, *Phys. Med. Biol.*, 52, 141-168 (2007)
- [5] P. S. Addison, [The illustrated wavelet transform handbook introductory theory and applications in science, engineering, medicine and finance], IOP Publishing, England (2002)
- [6] T. Hirasawa, et al, *Proc. Of SPIE*, 8223 (in print)



第35回 日本分子生物学会年会



～年会の新しいスタイルを摸索する～

PROGRAM

プログラム

[会期] 2012年12月11日(火)～14日(金)

[会場] 福岡国際会議場、マリンメッセ福岡

[年会長] 阿形清和(京都大学大学院理学研究科)

[組織委員] 巖佐庸(九州大学) 見学美根子(京都大学) 小安重夫(慶應義塾大学)

篠原彰(大阪大学) 諸橋憲一郎(九州大学)

<http://www2.convention.co.jp/mbsj2012/>

1W12I Room 12 (FICC 2F 204) / 第12会場 (福岡国際会議場 2F 多目的ホール204)

9:00-11:30 [E]

In vivo optical imaging by advanced light source**新規光源を駆使した生体光イメージング**Organizers: Takeshi Imamura (Ehime Univ. Grad. Sch. of Med, Mol. Med. for Pathogenesis),
Tomomi Nemoto (Res. Inst. for Elec.Sci. Hokkaido Univ.)

オーガナイザー: 今村 健志 (愛媛大・院医・分子病態), 根本 知己 (北海道大・電子科学研)

1W12I-1 Two-photon imaging of cellular dynamics during adaptive immune responses

9:00

Takaharu Okada (Unit for Immunodynamics, RIKEN RCAI)

岡田 峰陽 (理研・免疫細胞動態)

1W12I-2 Development of photoacoustic technique towards deeply penetrating in vivo imaging and its clinical application

9:30

Miya Ishihara (Dept. of Med. Eng, Natl. Def. Med. Coll.)

生体深部観察を目指した光音響技術開発と臨床応用

石原 美弥 (防衛医大 医用工学)

1W12I-3 Light-sheet microscopy for visualizing whole living organisms

10:00

Shigenori Nonaka (Natl. Inst. for Basic Biol.)

光シート顕微鏡を用いて生きた個体を見る

野中 茂紀 (基生研)

1W12I-4 In vivo Multi-photon Molecular Imaging Visualizes Inflammatory and Immune Cell Cross-talks in Adult Common Disease

(1P-0675)

10:30

Nishimura Satoshi (Div. of Cardiovasc. Med, and TSBMI, Univ. of Tokyo)

生体二光子イメージングでみる生活習慣病における免疫・炎症性細胞のクロストーク

西村 智 (東京大学・循環器内科、TSBMI)

1W12I-5 Recent Development and Problems of in vivo Two-photon Microscopy for Deep Imaging of Mouse Brain

(1P-0682)

11:00

Ryosuke Kawakami^{1,2}, Terumasa Hibi^{1,2}, Tomomi Nemoto^{1,2} (¹Res. Inst. for Elec.Sci. Hokkaido Univ., ²CREST-JST)

2光子励起顕微鏡を用いた生体脳深部観察の現状と問題点

川上 良介^{1,2}, 日比 輝正^{1,2}, 根本 知己^{1,2} (¹北海道大学・電子科学研究所, ²戦略的創造研究推進事業 チーム型研究-科学技術振興機構)

1W12II Room 12 (FICC 2F 204) / 第12会場 (福岡国際会議場 2F 多目的ホール204)

13:15-15:30 [J]

Bridging single molecule biology and biochemistry to understand operation principles of bio-nanosystems**1 分子生物学と生化学の狭間に潜むナノシステム動作力学の理解を目指して**Organizers: Takeharu Nagai (Dept. Biomol. Sci. Eng., Div. Biol. Mol. Sci., ISIR, Osaka Univ.),
Yoshie Harada (iCeMS, Kyoto Univ.)

オーガナイザー: 永井 健治 (阪大・産業科学研・生体分子機能科学), 原田 慶恵 (京大・iCeMS)

1W12II-1 Toward Modeling Gene Expression Complexity

13:15

Yuichi Taniguchi, Yutaka Ogawa, Masae Johmura, Kazuya Nishimura (QBic, RIKEN)

1細胞スケールでの遺伝子発現の複雑性を理解する

谷口 雄一, 小川 泰, 城村 雅恵, 西村 和哉 (理研・生命システム)

1W12II-2 Single-molecule Imaging Reveals CREB Transcription Factor Dynamics

(1P-0221)

13:40

Noriyuki Sugo¹, Masatoshi Morimatsu¹, Yoshiyuki Arai¹, Yoshinori Kousoku², Aya Ohkuni¹, Taishin Nomura², Toshio Yanagida¹, Nobuhiko Yamamoto¹ (¹Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ²Graduate School of Engineering Science, Osaka University)

1分子イメージングによる転写因子CREBの動態解析

菅生 紀之¹, 森松 賢順¹, 新井 由之¹, 香東 剛章², 大國 紋¹, 野村 泰伸², 柳田 敏雄¹, 山本 亘彦¹ (¹大阪大学・大学院生命機能研究科, ²大阪大学・大学院基礎工学研究科)

OQD-12-025~031

電気学会研究会資料

The Papers of Technical Meeting on
"Optical and Quantum Devices", IEE Japan

光・量子デバイス研究会

OQD-12-025~031

2012年9月24日

一般社団法人電気学会
The Institute of Electrical Engineers of Japan
東京都千代田区五番町6-2

電気学会研究会資料目次

光・量子デバイス研究会

テーマ「バイオメディカルフォトンクス応用」

- OQD-12-025 近赤外低反応レベルレーザー照射による腎炎抑制効果 1
大和正典, 金田 明, 木村 誠, 竹田昂司, 片岡洋祐(理化学研究所)
- OQD-12-026 波長5.8 μm 帯ナノ秒パルスレーザーを用いた低侵襲なう蝕治療技術の開発 5
北 哲也, 石井克典(大阪大学)
吉川一志, 保尾謙三, 山本一世(大阪歯科大学)
粟津邦男(大阪大学)
- OQD-12-027 薬剤のレーザーイオン化質量分析イメージングにおけるゼオライトのイオン化補助効果 11
守口直輝, 間 久直(大阪大学)
藤野竜也(首都大学東京)
粟津邦男(大阪大学)
- OQD-12-028 中空光ファイバマンプローブのSERS効果を用いた高感度化の検討 17
永岡正浩, 片桐崇史, 松浦祐司(東北大学)
- OQD-12-029 フェムト秒レーザー誘起衝撃力によるAFM探針のねじれ運動の解析 23
竹中将信, 飯野敬矩, 細川陽一郎(奈良先端科学技術大学院大学)
- OQD-12-030 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 27
大川晋平, 平沢 壮, 櫛引俊宏, 石原美弥(防衛医科大学校)
- OQD-12-031 全光学式光音響計測用光ファイバプローブ 33
三井田佑輔, 松浦祐司(東北大学)

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 (防衛医大)

Reconstruction of photoacoustic signal sources by solving inverse problem

Shinpei Okawa*, Takeshi Hirasawa,

Toshihiro Kushibiki, Miya Ishihara (National Defense Medical College)

A method to solve the inverse problem reconstructing the photoacoustic (PA) signal sources and their optical properties is discussed with some numerical studies. It is demonstrated that the inverse problem, which is formulated by the numerical simulation of light and PA wave propagations employing finite element method, is solved by using truncated singular value decomposition.

キーワード: 光音響トモグラフィ, 光拡散方程式, 波動方程式, 有限要素法, 打ち切り特異値分解, 逆問題 (photoacoustic tomography, photon diffusion equation, wave equation, finite element method, truncated singular value decomposition, inverse problem)

1. はじめに

生体組織が光を吸収すると, 光エネルギーの一部は熱に変換され, その熱によって組織が膨張することで生体内に応力波 (光音響波) が生じる. この光音響現象を利用した生体の光音響イメージングが盛んに研究されている^{(1),(2)}.

光を用いた生体イメージング技術は一般的に非侵襲的であり, 組織による光吸収の波長依存性から選択的なイメージングが可能であることなどの利点があるが, 画像化した対象以外の周辺組織 (バックグラウンド) による光の散乱と吸収の影響を強く受け, 光強度が大きく減衰するため, 生体深部の画像を高空間分解能で取得することが困難である.

一方, 光音響イメージングは光で励起された生体組織から生じた音響信号がバックグラウンドによる減衰を比較的受けにくいという特徴があり, 光だけを利用したイメージング技術にはない利点がある. 光音響イメージングでは原理的に数 mm~数 cm の深さまで計測が可能であり, 10 μm ~1 mm の空間分解能を得ることができるとされている. 光音響イメージングのための造影剤を用いることで, 光音響信号の発生効率を高めるための研究も行われている⁽³⁾.

光音響信号からの画像取得方法においては, 生体内の音響特性が一様であるとみなせる領域では生体内の音速と信号の到達時間から光で励起された画像化対象の位置と検出器との距離を計算することができるため, 画像化対象の光音響画像取得は比較的簡易なアルゴリズムで行うことが可能である. 超音波画像診断で用いられる Delay-and-Sum 法を用いることができる⁽⁴⁾. また, 波動方程式を用いた球面

Radon 変換を用いる方法も提案されている⁽⁵⁾.

光音響現象の物理的なモデルに基づいた画像再構成のプロセスを用いる光音響イメージングによってさらに定量的な画像化が行える⁽⁶⁾⁻⁽⁷⁾.

生体表面から照射した光はバックグラウンドによる散乱と吸収を受けて減衰しながら画像化対象に到達する. 光音響信号は画像化対象の吸収係数とそこに到達する光強度に同時に依存するため, バックグラウンドによる散乱と吸収を考慮することで光音響信号から画像化対象の吸収係数を計算することができる. 不均一な光学特性を持つ生体内の光伝搬モデルには, 光輸送方程式や光拡散方程式などが用いられている.

また, 生体内の音響特性により, 光音響信号が減衰する場合などについても, これを考慮した物理的なモデルを導入することによって画像化対象の画像再構成の解像度が向上することが報告されている⁽⁸⁾. 生体内の複雑な構造や光音響特性を画像化に利用するためには有限要素法などの数値計算法が有用である⁽⁹⁾⁻⁽¹¹⁾.

本研究では, 有限要素法を用いた生体内の光と光音響波の伝搬計算を用いた光音響画像再構成について議論する. 有限要素法を用いた光拡散方程式と波動方程式の計算によって, 生体内の光吸収係数分布と光音響信号の関係を定式化し, 測定された光音響信号から, 生体内の光吸収係数分布を求める逆問題を解くことによって画像再構成を行うことを目的とする.

生体内の光音響源の強度と光吸収係数の関係は生体内の光伝搬を考えると非線形の関係にあるが, 線形に近似することによって画像化に必要な計算量を低減することができる

る。この線形近似によって画像再構成アルゴリズムを効率化した際に得られる光音響画像の定量性やノイズの影響などについて、計算機シミュレーションを用いて検討する。

2. 画像再構成アルゴリズム

(2.1) 生体内光伝搬 光音響計測では生体組織に、光音響信号を効率的に発生するナノ秒パルスレーザーを照射することで光音響波を発生させる。光音響信号源の強度が生体組織中の光吸収体が吸収した光エネルギーに依存するため、光音響信号の計算には組織中の光伝搬の計算が必要である。

生体組織は光の強散乱体であり、組織中の伝播は強散乱体中のエネルギーの輸送現象となるため、光輸送方程式で厳密に記述されるが、光輸送方程式の近似である以下の光拡散方程式が計算の簡便性から一般的によく用いられる(12),(13)。

$$\{-\nabla \cdot D(\mathbf{r})\nabla + \mu_a(\mathbf{r})\}\Phi(\mathbf{r}) = q(\mathbf{r}), \quad (1)$$

ここで、 $D=1/(3\mu_s')$ は換算散乱係数 μ_s' に依存する拡散係数、 μ_a は吸収係数、 Φ は光の積分強度で、 q は光源である。いずれも位置 \mathbf{r} の関数である。

境界条件には、 $-n \cdot D\nabla\Phi = \Phi/(2A)$ を用いる。 n は境界における外向きの法線ベクトルであり、 A は媒体の屈折率に依存する定数である。本研究では有限要素法を用いて光拡散方程式を解く。

組織が光を吸収し、熱エネルギーに変換する過程は光音響波の伝播過程に比べて短時間で完了する。組織が吸収する光エネルギーの計算は時間依存性を無視して式(1)の定常光拡散方程式を用いて求める。

(2.2) 光音響波伝搬 組織が光を吸収するとそのエネルギーの一部は熱エネルギーに変換され、光音響波を生じる。発生した光音響波は生体内を伝播して超音波トランスデューサによって検出される。検出された光音響信号は画像再構成に用いられる。

光音響波の伝播は以下の波動方程式で記述される⁽²⁾。

$$\left\{-\nabla^2 + \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2}\right\} p(\mathbf{r}, t) = \frac{\beta}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} H(\mathbf{r}, t), \quad (2)$$

ここで、 t は時間、 v は生体内の音速、 p は音圧、 β は体積膨張率、 C_p は定圧比熱である。 $\beta/C_p (= \Gamma)$ は光から光音響波への変換効率を表す。式(2)では組織の密度や組織中の音速は一定であると仮定している。生体では v はおおよそ1500 m/sである。 H は組織がナノ秒パルスレーザー照射後の短い時間に吸収する光エネルギーであり、 $H = \mu_a \Phi \delta(t)$ で表されるものとする。

波動方程式には Poisson の解やグリーン関数も知られており、数値計算法にも様々な方法が提案されているが、本研究では音響特性の不均一性にも対応でき、一般的に良く

用いられている有限要素法を用いて式(2)を解く。

(2.3) 画像再構成問題の定式化 生体表面で測定された光音響波から生体中の吸収係数分布を画像として再構成する問題を考える。

媒体は生体組織で構成されており、生体表面で照射されたレーザー光はバックグラウンドによる散乱と吸収を受けて減衰しながら媒体中を拡散的に伝播する。レーザー光は、例えば、生体計測で良く用いられる近赤外領域の波長であるとする。

媒体中には周囲の組織と μ_a が異なる画像化したい画像化対象があるものとする。例えば、血管新生によって血液の濃度が高くなったり、造影剤が集積するなどして μ_a が大きくなったがん組織などである。バックグラウンドの正常組織では μ_a, μ_s' の変化は小さく、一様とみなせるものとする。

まず、媒体全体が正常組織と仮定し、 $\mu_a = \bar{\mu}_a$ で均一とすると、式(1)を解き、光強度分布 $\bar{\Phi} = \Phi(\bar{\mu}_a)$ を得る。この時の光音響源強度は $\bar{H} = \bar{\mu}_a \cdot \bar{\Phi}$ である。

次に、 μ_a が $\bar{\mu}_a$ から $\Delta\mu_a(\mathbf{r})$ だけ変化したとき、 H を線形に近似すると、

$$H(\mu_a) = \bar{H} + J\Delta\mu_a, \quad (3)$$

ここで、 J は H を μ_a で微分した微分係数である。

有限要素法を用いて、各節点位置に Φ, μ_a を定義した場合、 i 番目の位置の H の j 番目の μ_a での微分は、 $i=j$ のとき、 $J_{ij} = \Phi_i + \mu_{a,i} \partial\Phi_i / \partial\mu_{a,i}$ 、 $i \neq j$ のとき $J_{ij} = \mu_{a,i} \partial\Phi_i / \partial\mu_{a,j}$ のようになる。媒体を N 個の節点で離散化すると、 $\Phi, \Delta\mu_a, H \in \mathcal{R}^N$ 、 $J \in \mathcal{R}^{N \times N}$ である。式(1)をもとに有限要素法を用いた摂動計算によって $\partial\Phi_i / \partial\mu_{a,j}$ を計算することができる⁽⁶⁾。

一方で、式(2)より、 H と光音響測定データ m の関係は線形の式で書ける、

$$m = LH. \quad (4)$$

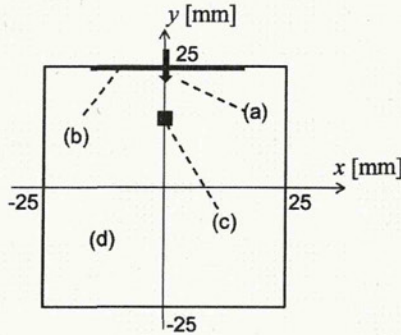
有限要素法で離散化した場合、 m, H はベクトル、 L は行列になる。 M 箇所の検出器で同時に時間的に T 個データを取得するとした場合、 $m \in \mathcal{R}^{M \times T}$ 、 $L \in \mathcal{R}^{M \times N}$ となる。 L は式(2)から有限要素法で計算され、 H の m への寄与の仕方を表す感度行列である。

式(4)に式(3)を代入して整理すると以下の式を得る、

$$\Delta m = LJ\Delta\mu_a, \quad (5)$$

ここで、 $\Delta m = m - L\bar{H}$ である。

式(5)を $\Delta\mu_a$ について解けば、各位置における吸収係数の変化量が求まり、吸収係数分布 $\mu_a = \bar{\mu}_a + \Delta\mu_a$ が画像として再構成できる。これによってがん組織などの画像化対象の位置や大きさ、 μ_a の値が推定できる。



- (a) Light source
(x, y) = (0, 25)
- (b) Detector array
16 detectors in x = -14 ~ 16 on y = 25
- (c) Target (Strongly absorbing region)
(x, y) = (0, 14),
 $\mu_a = 0.002, 0.005, 0.010$ or 0.020 mm^{-1} ,
and $\mu_s' = 1.0 \text{ mm}^{-1}$
- (d) Background
 $\mu_a = 0.001 \text{ mm}^{-1}$ and $\mu_s' = 1.0 \text{ mm}^{-1}$

図1 シミュレーションの設定

Fig. 1. Schema of the measured object in the numerical experiment.

〈2.4〉 画像再構成問題の解法 式(5)の右辺の LJ は正則な行列ではないが、一般逆行列を用いれば $\Delta\mu_c$ を計算することはできる。しかしながら、測定データにはノイズが含まれており、また、式(1)や(2)をもとに有限要素法によって定式化した式(5)自体が実際の測定系とは一致せず、誤差を含んでいることから、一般逆行列を用いるだけでは画像再構成は上手く行えない。

このような場合、逆問題一般に打ち切り特異値分解法⁽⁶⁾が用いられる。ノイズや誤差を増幅させる性質を持つ LJ の小さい特異値を0として打ち切ってしまう方法である。

$LJ=UDV^T$ のように特異値分解したとき、 U, V は正規直交行列であり、 D は特異値対角成分を持ち、それ以外は0である行列である。 D^{-1} に含まれる特異値の小さいものを0として、それ以外の特異値の逆数を取った行列 D^{-1} を用いて、 $(LJ)^{-1}=VD^{-1}U^T$ を求め、 $\Delta\mu_c$ を以下のように推定する、

$$\Delta\hat{\mu}_c = (LJ)^{-1} \Delta m. \quad (6)$$

打ち切り特異値の数は、Generalized Cross Validation (GCV) 法⁽¹⁴⁾を用いて決定する。GCV 法は以下の基準量を最小にする特異値の打ち切り数を最適であると判断する、

$$GCV(\alpha) = \frac{\|\Delta m - LJ\Delta\hat{\mu}_c\|^2 / (MT)}{[\text{trace}\{I - LJ(LJ)^{-1}\} / (MT)]^2}, \quad (7)$$

ここで α は打ち切った特異値の数であり I は単位行列である。式(7)右辺の分子の残差を出来るだけ小さくしながら、打ち切り数を増やして分母大きくする解が最適になる。

3. 数値シミュレーション

〈3.1〉 シミュレーションの条件 上述の画像再構成法を評価するために計算機シミュレーションを行った。

式(1)と式(2)を有限要素法で解いて、測定データをシミュレーションした。

図1にシミュレーションで用いた媒体、画像化対象、光照射位置、検出器位置の設定を示した。媒体は二次元で、一辺が50mmの正方形とした。正方形領域の中心を原点とし、 $(x, y) = (0 \text{ mm}, 25 \text{ mm})$ の位置に光源を配置した。光音響波の検出位置は $y = 25 \text{ mm}$ の線上の $x = -14$ から 16 mm までの範囲に2mm間隔で配置した16カ所とした。

近赤外領域の波長を想定して、バックグラウンドの光学特性値は $\mu_a = 1.0 \text{ mm}^{-1}$, $\mu_s = 0.001 \text{ mm}^{-1}$ で均一とし、画像化対象の領域を $(x, y) = (0, 14)$ を中心に一辺が2mmの正方形領域に設定した。画像化対象の μ_a は0.002, 0.005, 0.010, 0.020 mm^{-1} と変化させた。

$\Gamma = 1$, $\nu = 1500 \text{ m/s}$ として、0.1 μs 間隔で音響波の発生から50 μs の間の光音響波を計算した。測定データには測定データの最大値の0, 0.01, 0.1, 1.0%の標準偏差(=SD)を持つガウスノイズを付加した。

領域は0.5mm間隔で配置した10,201個の節点で構成される20,000個の三角形要素で離散化した。

画像再構成においては、一辺が2mmである正方形の小領域で領域全体を分割し、その小領域単位で $\Delta\mu_c$ を再構成した。このとき、行列 L は 8000×625 個の要素を持つ。小領域は節点25個分に相当しており、測定データのシミュレーションよりも粗い領域分割で再構成を行うことで実際の測定系と画像再構成モデルとの誤差の影響をある程度考慮できるようにする。

特異値の打ち切り数は0から、上限を600個として10個ごとにGCVの値を計算し、最適値を求めた。

〈3.2〉 結果と考察 測定データの最大値は、バックグラウンドの光の吸収によって照射面で生じた光音響信号データであり、ノイズの大きさは μ_a 変化領域からの光音響波にはよらなかった。 μ_a 変化領域内で $\mu_a = 0.010 \text{ mm}^{-1}$ のとき、光照射位置で生じた光音響波の振幅の最大値は μ_a 変化領域から到達した光音響波の最大値の38倍程度であった。

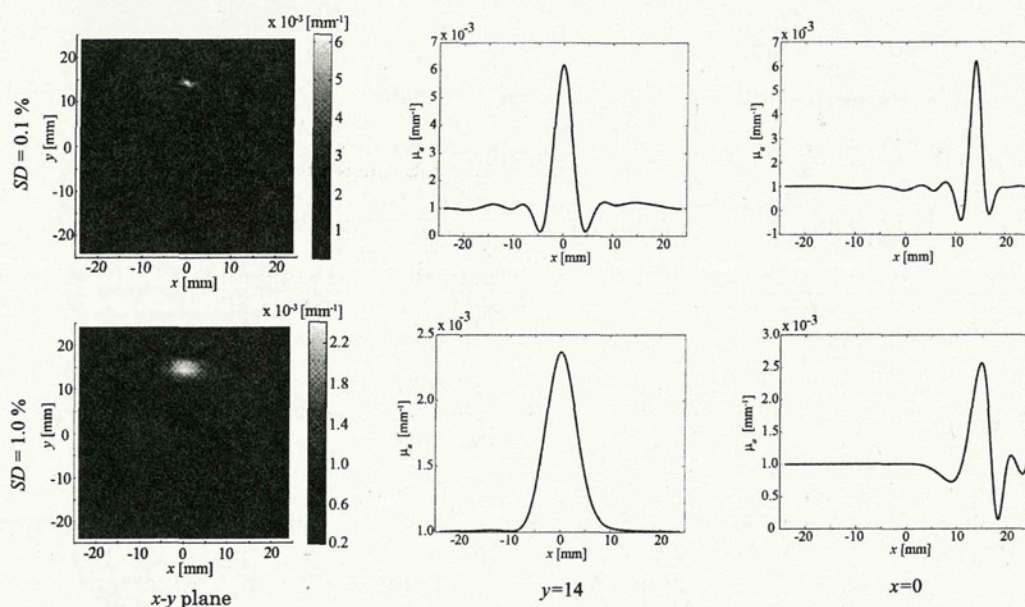


図2 再構成された吸収係数分布

Fig. 2. Reconstructed absorption coefficients: the distribution in x-y plane (left column), and the profiles on $y=14$ (center column) and $x=0$ (right column) when the standard deviations of noise were 0.1 % (upper row) and 1.0 % (lower row) of the maximum of the detected signals.

まず、 μ_a 変化領域内で $\mu_a=0.010 \text{ mm}^{-1}$ のときの画像再構成結果について述べる。図2に $SD=0.1$ および 1.0% のときの再構成画像と、 $y=14$ と $x=0$ の直線上での μ_a を示す。 μ_a 変化領域は正しい位置に再構成されたが、ノイズが大きいたときには x , y 軸方向ともに真の領域よりも大きく広がって再構成された。

これはノイズが大きい場合に打ち切り特異値分解法でノイズの影響を抑えるために特異値の打ち切り数が増加し、解を近似する精度が低下していることによると考えられる。ノイズが大きくなるにつれて、打ち切る特異値の数が増加することを確認している。

図3(a)と(b)にノイズの標準偏差が変化したときの再構成された画像化対象の、 $y=14$ と $x=0$ の直線上での半値幅を示した。 $SD=0.1$ までは半値幅の変化は緩やかであるが、 $SD=1.0$ になると急激に半値幅が大きくなるのが分かった。また、半値幅の広がりには x 軸方向 ($y=14$ の直線上) の方が顕著であった。

最後に、画像化対象の真の μ_a が変化した場合について述べる。信号雑音比が小さすぎたため、 $SD=1.0$ のときに、 $\mu_a=0.002 \text{ mm}^{-1}$ の画像化対象を安定して再構成することはできなかった。この時、媒体の表面付近に画像化対象が再構成されてしまう現象が見られた。これ以外の SD と μ_a の組み合わせでは画像再構成を安定して行うことができた。

SD が変化したときの真の $\Delta\mu_a$ と再構成された $\Delta\mu_a$ の最大値の関係を図3(c)に示す。ノイズが大きくなるにつれて、再構成される μ_a の最大値が小さくなるのがわかる。このことも打ち切られる特異値の数が増加することによる近似精度の低下が原因であると考えられる。

一方で、 SD が一定のときには真の $\Delta\mu_a$ と再構成された $\Delta\mu_a$ の最大値が直線的な関係にあることが図3(c)からわかる。このことから $\Delta\mu_a$ の相対的な大きさの比較は可能であると思われる。再構成された μ_a 変化領域の半値幅については、どの μ_a についても、 $\mu_a=0.010 \text{ mm}^{-1}$ のときと同様の傾向が見られた。

4. 結論

本研究では、超音波測定データから、生体内の光吸収係数が周囲と異なる領域の吸収係数を画像再構成するアルゴリズムについて検討した。

光拡散方程式を画像再構成に用いることによって画像化したい組織の周辺組織による光の散乱と吸収を考慮した画像化アルゴリズムを導出した。また、その際に超音波信号と光吸収係数の関係を線形に近似することによって、画像再構成アルゴリズムを構築した。

さらに、画像再構成のプロセスで打ち切り特異値分解法を導入した。このことで、ノイズの影響を低減し、画像化

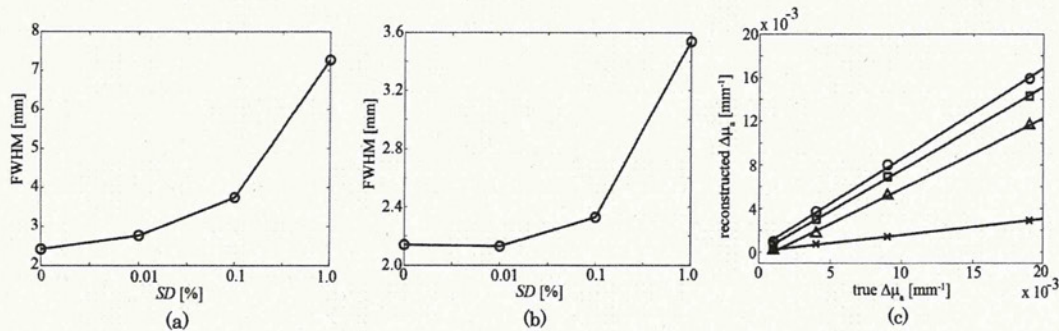


図3 再構成された吸収係数変化領域 ($\mu_a=1.0 \text{ mm}^{-1}$) の半値幅 (a) $y=14$ と (b) $x=0$ および (c) 真の $\Delta\mu_a$ 値と再構成値の最大値の関係。

Fig. 3. Full-width at half maximum (FWHM) of the reconstructed absorption coefficients in (a) $y=14$ and (b) $x=0$ in case of true $\mu_a=0.010 \text{ mm}^{-1}$, and (c) the maximum of the reconstructed $\Delta\mu_a$ as a function of true $\Delta\mu_a$ with various SD. SD=0 (circle), 0.01 (square), 0.1 (triangle) and 1.0 % (times symbol) in (c).

したい組織の位置や大きさ、吸収係数を推定することが可能であることを数値シミュレーションによって示した。

しかしながら、再構成された吸収係数は真の値よりも小さくなることが明らかになった。また、ノイズが大きくなるほど、打ち切り特異値分解法の効果によって、空間分解能が低下することが示された。

今後は、媒体自体の持つ吸収係数の推定や、その誤差の影響や、定量性の向上などについて検討を行う必要がある。

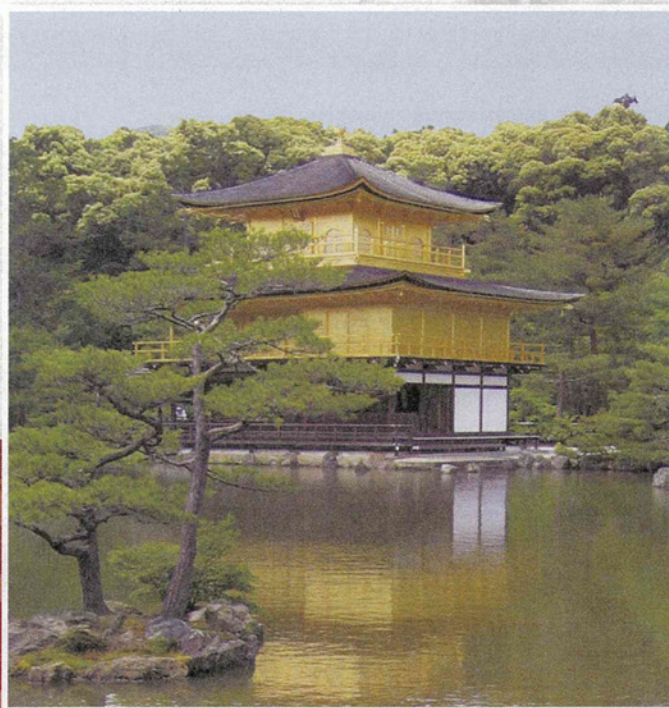
文 献

- (1) L. V. Wang and S. Hu: "Photoacoustic Tomography: In Vivo Imaging from Organelles to Organs," *Science*, Vol.335, p.1458-1462 (2012)
- (2) C. Li, and L. Wang: "Photoacoustic tomography and sensing biomedicine," *Phys. Med. Biol.*, Vol.54, p.R59-R97 (2009)
- (3) Y.-S. Chen, W. Frey, S. Kim, P. Kruizinga, K. Homan, and S. Emelianov: "Silica-Corted Gold Nanorods as Photoacoustic Signal Nonoamplifiers," *Nano Lett.*, Vol.11, pp.348-354 (2011)
- (4) J. I. Sperl, K. Zell, P. Menzenbach, C. Haisch, S. Ketzner, M. Marquart, H. Koenig, and M. W. Vogel: "Photoacoustic Image Reconstruction - A Quantitative Analysis," *Proc. of SPIE-OSA Biomedical Optics*, SPIE, Vol.6631, 663103 (2007)
- (5) J. Laufer, B. Cox, E. Zang, and L. Wang: "Quantitative determination of chromophore concentrations from 2D photoacoustic images using a nonlinear model-based inversion schema," *Appl. Opt.*, Vol.49, p.1219-1233 (2010)
- (6) B. T. Cox, S. R. Arridge, and P. C. Beard: "Estimating chromophore distributions from multiwavelength photoacoustic images," *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol.26, p.443-455 (2009)
- (7) J. Laufer, E. Zhang, and P. Beard: "Evaluation of Absorbing Chromophores Used in Tissue Phantoms for Quantitative Photoacoustic Spectroscopy and Imaging," *IEEE J. Sel. Top. Quant.*, Vol.16, p.600-607 (2010)
- (8) B. E. Treeby, E. Z. Zhang, and B. T. Cox: "Photoacoustic tomography in absorbing acoustic media using time reversal," *Inverse Probl.*, Vol.26, p.115003-115023 (2010)
- (9) H. Jiang, Z. Yuan and X. Gu: "Spatially varying optical and acoustic property reconstruction using finite-element based photoacoustic tomography," *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol.23, p.878-888 (2006)
- (10) Z. Yuan, Q. Wang, and H. Jiang: "Reconstruction of optical absorption coefficient map of heterogeneous media by photoacoustic tomography coupled with diffusion equation based regularized Newton method," *Opt. Express*, Vol.15, p.18076-18081 (2007)
- (11) B. T. Cox, S. Sara, S. R. Arridge, and P. C. Beard: "k-space propagation model for acoustically heterogeneous media: Application to biomedical photoacoustics," *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol.121, p.3453-3464 (2007)
- (12) B. Cox, J. G. Laufer, S. R. Arridge, and P. C. Beard: "Quantitative spectroscopic photoacoustic imaging: a review," *J. Biomed. Opt.*, Vol.17, No.6 pp.061202-1-22 (2012)
- (13) S. R. Arridge: "Optical tomography in medical imaging," *Inverse Probl.*, Vol.15, pp.R41-R93 (1999)
- (14) C. R. Vogel: *Computational Methods for Inverse Problems*, The Society of Industrial and Applied Mathematics (2002)



14th INTERNATIONAL CONGRESS OF HISTOCHEMISTRY AND CYTOCHEMISTRY

Beyond the Limit of Histochemistry

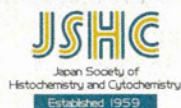


Program and Abstracts

August 26 - 29, 2012
Kyoto, Japan



International Federation of Societies
for Histochemistry and Cytochemistry



Japan Society of Histochemistry
and Cytochemistry

August 28, 2012 - Tuesday

August 28 (Tue)

8:20-8:50 Plenary Lecture 5 Room A

Chair: A. Matsuno (Ichihara, Japan)

- PL5 Nanoparticle-based immunocytochemistry reveals micro-architecture of the cell nucleus**
Pavel Hozák (Prague, Czech Republic)

8:50-9:20 Plenary Lecture 6 Room A

Chair: T. Ito (Kumamoto, Japan)

- PL6 TGF- β signaling in progression of cancer**
Kohei Miyazono (Tokyo, Japan)

9:30-11:30 Symposium 9 Room A

In vivo optical imaging and its applications to medicine

Chairs: T. Takamatsu (Kyoto, Japan)
D. Orringer (Boston, USA)

- S9-1 Label free in vivo stimulated Raman scattering microscopy for cancer surgery**
Daniel Orringer (Boston, USA)
- S9-2 Label-free optical imaging of biological molecules for the detection of lesional tissues**
Yoshinori Harada (Kyoto, Japan)
- S9-3 Photoacoustic imaging and sensing in medicine**
Miya Ishihara (Tokorozawa, Japan)
- S9-4 Intravital multiphoton imaging revealing cellular dynamics in bone physiology, inflammation and cancers**
Masaru Ishii (Osaka, Japan)
- S9-5 Raman spectroscopy for in vivo diagnosis and detection of gastric precancer and cancer at endoscopy**
Zhiwei Huang (Singapore, Singapore)

12:50-13:20 Journal sponsored lecture: AHC Lecture Room A

Chair: T. Koji (Nagasaki, Japan)

- J2 Aquaporin water channels of the cell membrane**
Kuniaki Takata (Maebashi, Japan)

13:20-14:50 Workshop 5 Room A

Deep tissue two-photon microscopy

Chairs: K. Takata (Maebashi, Japan)
T. Misgeld (Münich, Germany)

- WS5-1 In vivo imaging in the mouse spinal cord**
Thomas Misgeld (München, Germany) (22 min)
- WS5-2 In vivo imaging of axon branch stabilization by correlated neuronal activity**
Edward S. Ruthazer (Montreal, Canada) (22 min)
- WS5-3 Imaging analysis of synapse dynamics in vivo**
Shigeo Okabe (Tokyo, Japan) (22 min)
- WS5-4 Imaging of cellular dynamics during the adaptive immune response**
Takaharu Okada (Yokohama, Japan) (22 min)

Symposium 9

S9-1

Label free *in vivo* stimulated Raman scattering microscopy for cancer surgery

Daniel Orringer¹, Christian Freudiger², Minbiao Ji², Sunney Xie²

¹Department of Neurosurgery, Harvard Medical School and University of Michigan Medical School, Boston, Massachusetts, USA

²Department of Chemistry, Harvard University, Boston, Massachusetts, USA

Contact: danielorringer@gmail.com

Surgery remains essential in the treatment of cancer. However, surgeons lack a reliable method for delineating tumor from normal brain during surgery. Here we describe the use of stimulated Raman scattering (SRS) microscopy as a label-free means of differentiating healthy brain and from tumor-infiltrated brain on a cellular level. SRS microscopy effectively demonstrates key histologic hallmarks of normal brain structures as well as glioblastoma. Traditional hematoxylin and eosin light microscopy confirms that SRS microscopy can accurately identify microscopic infiltration of tumor cells into adjacent brain. Moreover, SRS microscopy is capable of differentiating tumor from normal brain both *ex vivo* and *in vivo* in human glioblastoma xenograft models. These results demonstrate the potential of SRS microscopy as a method for delineating tumor from normal brain during surgery.

S9-3

Photoacoustic Imaging And Sensing In Medicine

Miya Ishihara¹

¹Dept. of Medical Engineering, National Defense Medical College, Tokorozawa, Saitama, Japan
Contact: miyaishi@ndmc.ac.jp

Optical imaging has received great attention in biomedicine because of its rich contrast and non-ionizing radiation. Photoacoustics has been widely studied as new imaging modalities, which has overcome the drawback of pure optical imaging by taking advantage of rich optical contrast and ultrasonic spatial resolution for deep imaging. It is capable of high-resolution three-dimensional structural, functional, and molecular imaging.

Photoacoustic imaging is based on optical absorption and ultrasonic detection. The technique now is ready to provide clinicians with three-dimensional microvascular network using hemoglobin as endogenous optically absorbing molecules. The photoacoustic apparatus for small animal imaging has been offered commercially. The advantage of the photoacoustic imaging is that it can create multiscale multicontrast imaging of biological structures ranging in size from organelles to organs: from microscope to medical imaging system.

The state-of-the-art photoacoustic imaging technology and our approach will be introduced.

This research was partially supported by Health and Labour Science Research Grant for Research on Medical Device Development, and JST Industry-Academia Collaborative R&D Programs (In vivo Molecular Imaging: Towards Biophotonics Innovations in Medicine).

S9-2

Label-free optical imaging of biological molecules for the detection of lesional tissues

Yoshinori Harada¹, Tetsuro Takamatsu¹

¹Department of Pathology and Cell Regulation, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto, Japan, Contact: yoharada@koto.kpu-m.ac.jp

Label-free optical imaging is considered to be ideal for the detection of lesional tissues in patients from a viewpoint of safety. There is a possibility of unanticipated adverse reactions of exogenously administered dyes. Optical imaging of biomolecules in tissues was often expected to detect various diseases. Recent progressive technologies of laser light sources and optical receivers have made possible to identify minute biochemical changes associated with diseases which had difficulty in *in-situ* visualization without dyes. In this paper, we introduce our label-free optical imaging studies by using Raman scattering light and autofluorescence.

High-resolution Raman mapping analysis of rat infarct heart tissues was achieved by using slit-scanning Raman microspectroscopy in conjunction with resonance Raman effect of cytochromes. We also successfully obtained a Raman image of an artery and a vein in the proximity of a cardiomyocyte in an intact rat heart.

As for autofluorescence imaging studies, measurement of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) autofluorescence intensity together with eliminating the influence of hemoglobin was available to visualize adenomas in endoscopically resected colonic specimens. NADH is known for its role in cellular metabolism, and visualization of metabolic events during tumor development has potential for endoscopic detection of neoplasms.

We suggest that label-free optical imaging using Raman scattering light and metabolism-related intrinsic fluorophores can be applied for diagnostic imaging of human diseases, taking advantage of its non-invasive nature in the future.

S9-4

Intravital Multiphoton Imaging Revealing Cellular Dynamics in Bone Physiology, Inflammation and Cancers

Masaru Ishii^{1,2}, Junichi Kikuta^{1,2}, Yoshinori Kagawa¹

¹Laboratory of Cellular Dynamics, Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Osaka, Japan.

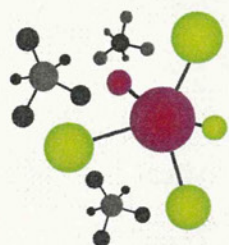
²JST, CREST, Tokyo, Japan.

Contact: mishii@ifrec.osaka-u.ac.jp

Intravital multiphoton microscopy has launched a new era in the field of biology. The near-infrared excitation laser for multi-photon microscopy can penetrate thicker specimens, enabling the visualization of living cell behaviors deep within tissues and organs without thin sectioning. By using this advanced imaging technique we have established a new system for visualizing *in situ* behavior of a diversity of living cells within intact tissues and organs.

Bone has been a mysterious organ where various kinds of hematopoietic cells undergo differentiation into specific lineages, processes that occur in specialized locations called 'niches', and proper localization of precursor cells to such niches is the first critical step. However, by means of conventional methodology such as histological analyses with fixed and decalcified bone tissues, the information regarding cellular movements was completely missing. By means of 'intravital' multiphoton microscopy, we succeeded in visualizing the various dynamic phenomena in bone marrow cavity. Especially we have focused on the behavior of osteoclast, a cell type contributing bone remodeling, and revealed a novel mechanism controlling migration and localization of osteoclasts *in situ*.

In this presentation, I will present the latest data on this new concept in the field of bone and inflammatory biology, as well as show our recent trials for visualizing and analyzing the cellular dynamics in various kinds of biological systems such as immune reaction and cancer cell invasion. I would also like to discuss the future application of this novel methodology in immunology and more.



XXIV IUPAC
SYMPOSIUM ON PHOTOCHEMISTRY
15 - 20 JULY 2012 | COIMBRA

A large abstract graphic design featuring a central grey sphere with a halftone pattern, connected to other spheres and lines. A large green semi-circle is at the top, a large red semi-circle is on the left, and a smaller green semi-circle is at the bottom. The text 'ABSTRACT BOOK' is printed on the central grey sphere.

ABSTRACT BOOK



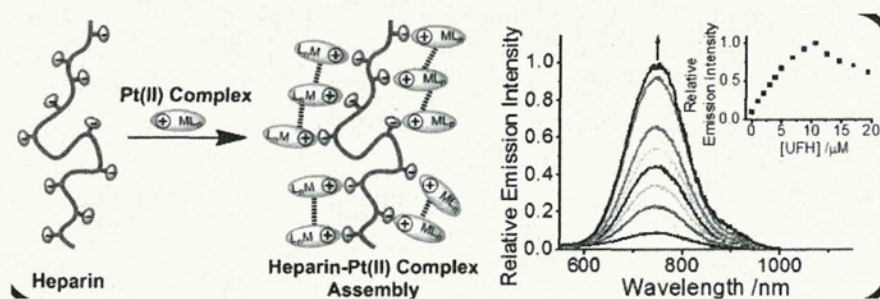
[PO152]

NIR-emissive alkynylplatinum(II) terpyridyl complex as a turn-on selective probe for heparin quantification by induced helical self-assembly behaviour

Margaret Ching-Lam Yeung¹; Vivian Wing-Wah Yam¹

¹The University of Hong Kong

A convenient and selective sensing protocol has been established for the quantification of both unfractionated and low-molecular-weight heparin based on the heparin-induced helical self-assembly feature of a NIR-emissive alkynylplatinum(II) terpyridyl complex, of which the detection range covers the clinical dosage level.



236

[PO153]

Photoacoustic measurements of various gold nanoparticles to design contrast agents for in vivo imaging

Miya Ishihara¹; Takeshi Hirasawa¹; Ryota Sato²; Toshiharu Teranishi²

¹National Defense Medical College; ²Kyoto University

We performed a comprehensive photoacoustic measurement of various gold nanoparticles in order to design exogenous imaging agents for enhancing the contrast. The shape of the gold nanoparticles was varied from spherical, to rod, and to octahedral structures. The temporal signals were sensitive to the shape of the particles and their concentration, which enabled to derive the optimum design.

