

図7 疑似波形へのガウス関数の畳み込みによる信号波形ピーク強度の減少。畳み込み処理により信号の時間幅が広がり、ピーク値が減少することが確認された。

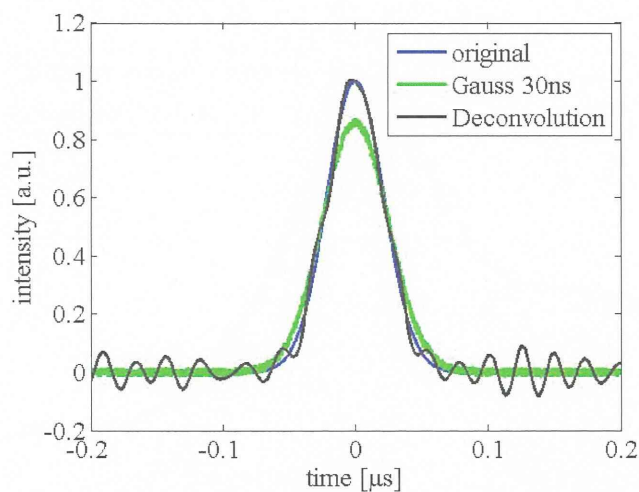


図8 Wiener法を用いた逆畳み込み処理前後の光音響信号波形の比較。疑似波形には信号対雑音比が100となるように白色雑音を加えている。逆畳み込み後の波形では信号のピーク値が元波形と同レベルに回復している。

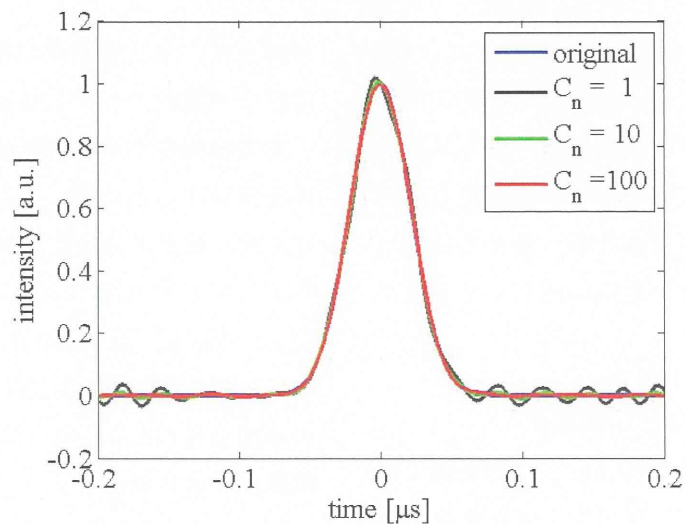


図9 Wiener法の $\sigma_n^2$ 項に乗じる係数 $C_n$ を変化させて逆畳み込み処理を行った波形の比較

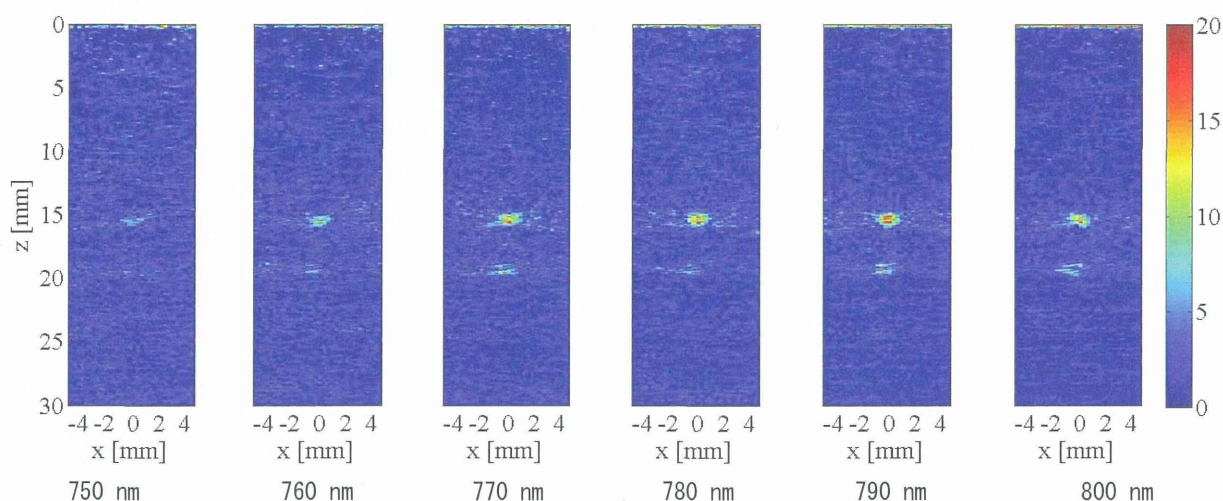


図 10 ICG ファントムを対象に、励起光波長を変化させて取得した光音響画像。励起光波長に応じて画像の輝度値が変化していることを確認できる。

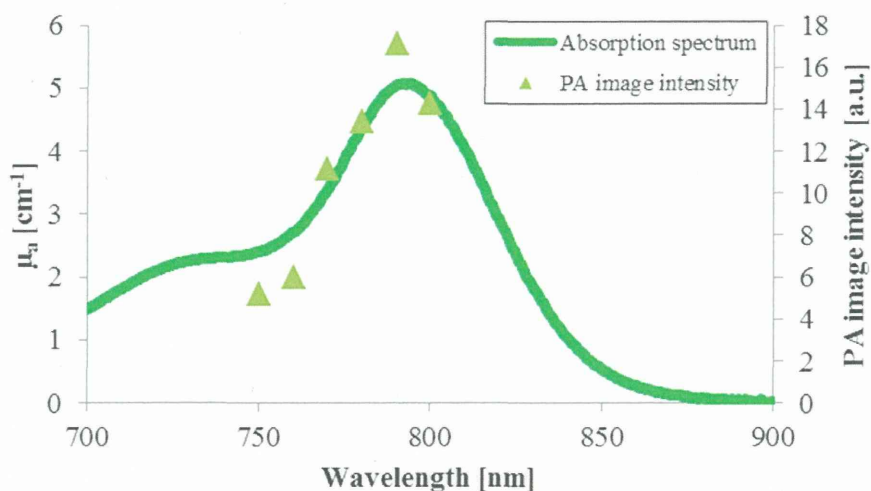


図 11 光音響画像の輝度値と ICG の光吸収スペクトルとの比較

を図 9 に示す。係数  $C_n$  の値を増加することにより、逆畳み込み処理により生じる振動成分を抑制できる。一方で、 $C_n$  が大きくなると逆畳み込み演算の正確性が失われ、信号波形のピーク値を完全に回復できなくなる問題が生じるため、乗じる係数はノイズが抑制できる範囲で最小の値とする必要がある。

## (2) ICG ファントムを対象とした実験

図 10 は、750 nm から 800 nm までの範囲で励起光の波長を変化させて、ファントムを撮像した光音響画像である。ICG の吸収極大である 790 nm

に向けて、光音響画像の輝度値が増加しており、ICG の光吸収スペクトルを反映している。

光音響画像の輝度値変化と、光吸収係数との関係を検証するために、これらの画像における輝度値の最大値と、分光光度計(U-3300, 日立製作所)で計測した ICG の吸収スペクトルとを重ねた画像が図 11 である。図 11 において、光吸収係数と光音響信号の輝度値との相関は 0.95 であり、非常に高い相関が得られた。この結果より、光音響画像の輝度値の波長依存性と光吸収スペクトルとの関係を基に色素を識別できる可能性を示された。

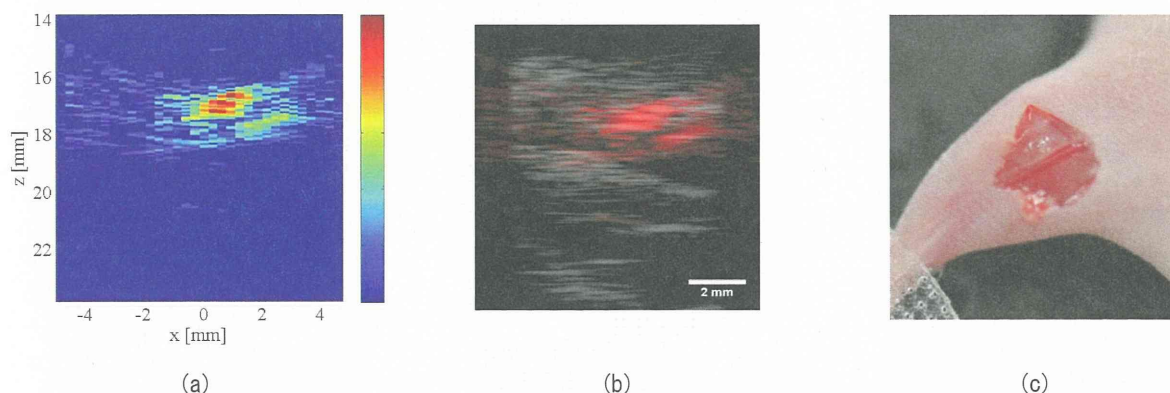


図 12 (a) マウス大腿部の光音響画像, (b) 光音響画像と超音波画像との重畳表示画像, (c) 光音響画像取得後に切開して血管を露出したマウス的大腿部。

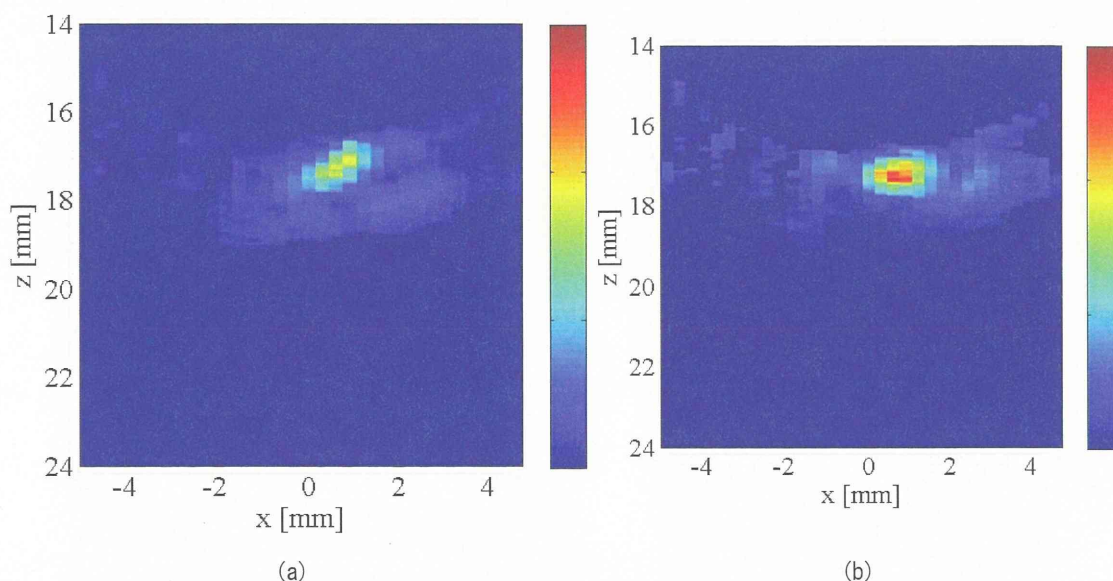


図 13 マルチスペクトル演算により算出した(a)脱酸素化ヘモグロビン(Hb)分布画像及び(b)酸素化ヘモグロビン(HbO2)分布画像

### (3) マウス大腿部の酸素飽和度分布イメージング

図 12(a)に励起光波長 750nm の条件で取得した光音響画像を示す。また、図 12(b)に超音波画像と重畳表示した画像を示す。図 12(c)に、光音響画像取得後に切開し、血管を露出したマウス的大腿部を示す。マウス的大腿部を図 12(c)の矢印の方向の断層画像を取得した。図 12(a)の光音響画像において、体表面近傍に高輝度点が観測されている。この高輝度点は、図 12(c)の血管であると考えられる。図 12(b)の超音波画像と光音響画像の重畳画像より、超音波画像では生体組織の界面が描出されるが、光音響画像では励起光波長を血液の吸収波長に合

わせることにより血液のみを選択的に画像化できている

図 13にマルチスペクトル演算により求めた酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの濃度分布をそれぞれ示す。さらに、これらの画像と、超音波画像とを重畳表示した画像を図 14 に示す。本画像においては、撮像対象の形態学的情報と、マルチスペクトル演算により得られる機能情報とを同時に表示可能である。

また、図 15(a)に図 13 の酸素化ヘモグロビン分布と脱酸素化ヘモグロビン分布との比より導出した酸素飽和度分布画像を示す。図 15(b)の画像にお

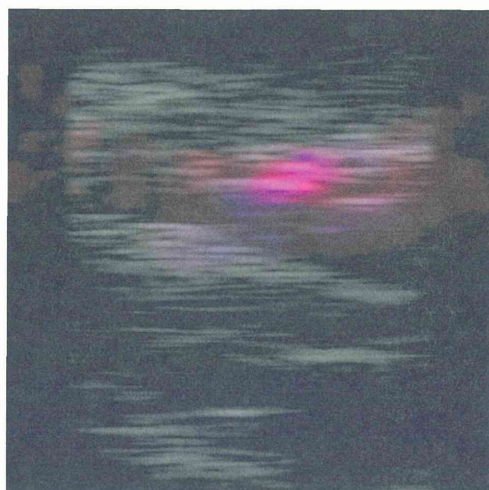


図 14 ヘモグロビン分布と酸素化ヘモグロビン分布, 及び超音波画像を重畳表示した画像

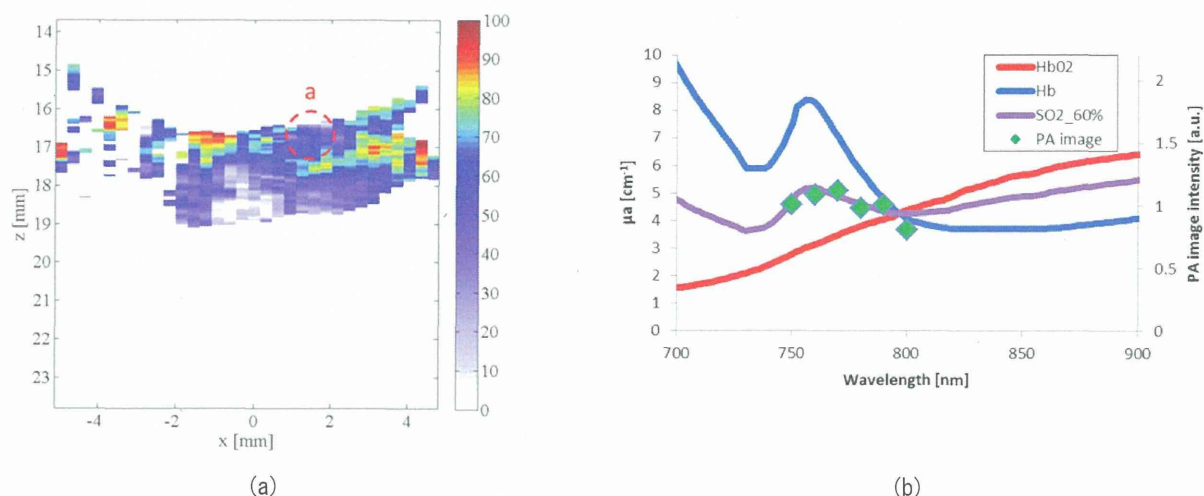


図 15 ヘモグロビン分布と酸素化ヘモグロビン分布の比から計算した酸素飽和度分布画像(a)及び、画像中の a 点における光音響信号強度の波長による変化(b)。算出された酸素飽和度(60%)のヘモグロビンの吸収スペクトルに応じて信号強度が変化している。

いて、図 13 の両画像において特に高輝度となっている図 15(a)の a 点における酸素飽和度は 60 %と算出されている。図 15(b)は、a 点における光音響画像の励起光波長による輝度値変化をプロットしたグラフであるが、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの吸収スペクトルから算出される、酸素飽和度 60 %のヘモグロビンの光吸収スペクトルに近い傾向で光音響画像の輝度値が変化していることが確認された。

本実験により、*in vivo*の条件下で計測した光音響画像の輝度値変化を基に、血管の酸素飽和度を算出で着ることを検証した。算出された酸素飽和

度の血液と、光音響信号の輝度値変化との間に高い相関があることを確認した。

## 【C-2】血液酸素飽和度計測法の評価

### (1) 血液酸素飽和度の計測

図 16(a)に、ウサギ頸部の動脈内血液を対象に、レーザー光の波長を 750, 770, 800 nm と変えて計測した光音響信号の信号波形を示す。また、図 16(b)には光音響プローブの位置合わせに用いたガイド用のカラードブラ画像を示す。光音響信号は超音波であるため、ほぼ一定の音速(1540 m/s: 生体軟組織の平均値[5])で伝播する。このため、レーザー

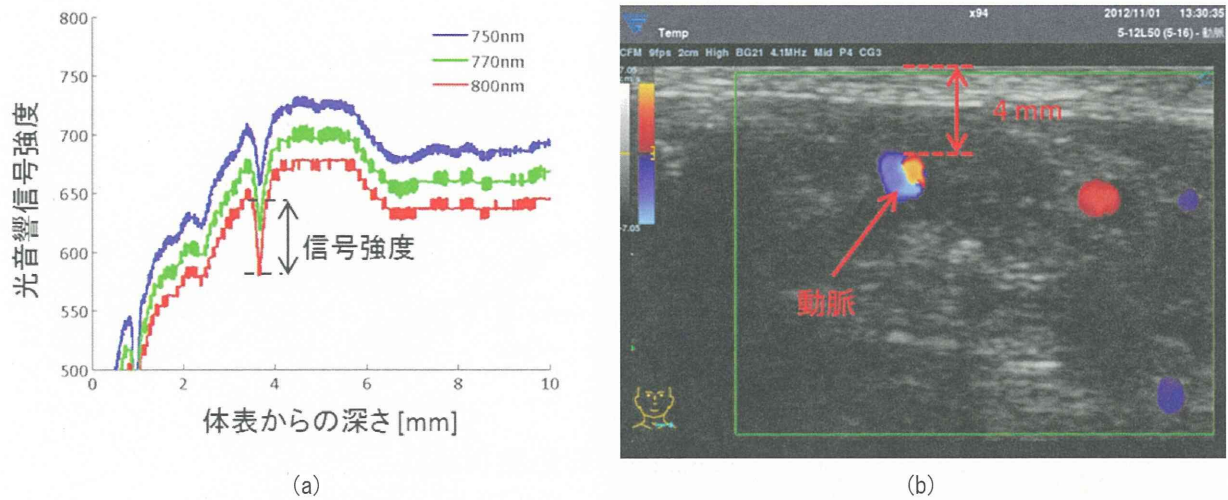


図 16 ウサギ頭部の動脈内血液を計測した光音響信号(a)とカラードプラ画像(b)。カラードプラ画像をガイドとして光音響プローブを設定した。

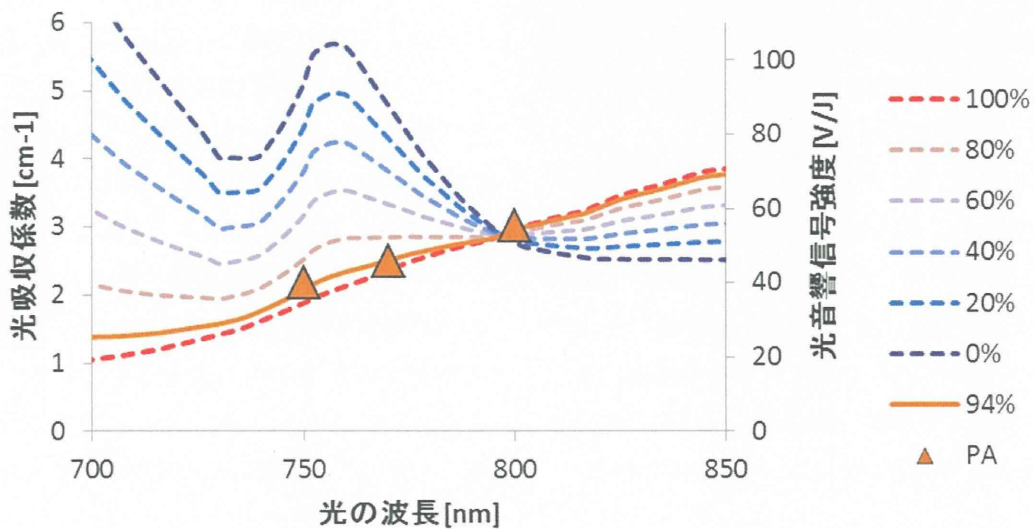


図 17 酸素飽和度によるヘモグロビンの光吸収特性の変化[3]と、光音響信号の強度との比較

を照射してから光音響信号を観測するまでの時間差に音速を乗ずることで深さに換算できる。図 16(a)では、カラードプラ画像との対応関係を明確にするために、信号到達時間に音速を乗じて深さに換算して表示している。図 16(b)のカラードプラ画像において、表面から深さ 4 mm に血管が描出されている。図 16(a)の信号波形においても、表面から深さ 4 mm において信号が観測されている。このため、光音響プローブにより、図 5(b)に描出されている血管内の血液を検知していると考えられ、画像を取得できない単素子のセンサを用いる

場合でも、カラードプラ画像をガイドとすることにより、目的とする血管内の血液を選択して計測できることを確認できた。また、図 16(a)より、光の波長により光音響信号の強度が変化していることが確認できる。この変化と、ヘモグロビンの光吸収特性とを比較した結果を図 17 に示す。ヘモグロビンの光吸収特性は、血液ガス分析器で計測したウサギ動脈血の酸素飽和度(94 %)及び総ヘモグロビン濃度(10.2 g/dL)を用いて算出した。図 6 より、光音響信号の強度変化は、ヘモグロビンの光吸収特性に非常によく対応することを確認できる。

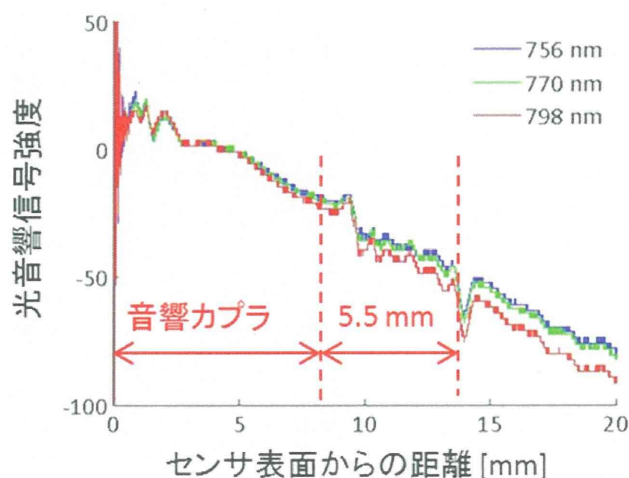


図 18 改良した装置系を用いてウサギの頸動脈内の血液を対象に計測した光音響信号波形

さらに、前述の信号処理法を用いて光音響信号の強度から血液酸素飽和度を計算した結果、酸素飽和度は 93 % と算出され、血液ガス分析器の計測結果と非常によく対応した。

上記の結果を含め、頸部、頸動脈、頸静脈を各々一点、鼠径部、大腿動脈、大腿静脈、大腿回旋静脈の合計五点を計測した。血液ガス分析器で計測した動脈血の酸素飽和度は 94 %、静脈血の酸素飽和度は 78 % であったのに対し、光音響技術による計測結果は動脈で平均 96.5 %、静脈の平均は 83.2 % であり、非常に近似した結果が得られた。

## (2) 改良した測定系を用いた計測結果

【B-2】(2-3)に示す改良した測定系を用いて、前回と同様の動物実験系を対象に光音響技術を用いて血液酸素飽和度計測を行った。人工呼吸器の呼吸回数を 20 回/分と設定することにより、動脈血の酸素飽和度を 90 % に安定させた。レーザー光の波長は、756, 770, 798 nm で順に変化させ、レーザー光のパルスエネルギーは 3 mJ/pulse とした。厚さ 10 mm の音響カプラが光音響プローブを押し当てることにより変形することを無視すると、フルエンスは 6.79 mJ/cm<sup>2</sup> となり、MPE の 3 分の 1 以下である。

上記の条件にてウサギの頸動脈内の血液を対象に計測した光音響信号の波形を図 18 に示す。図 18

より、ウサギの体表から 5.5 mm の深さにある血管内の血液を検出可能なことが確認された。現有の光学系を用いてコア径 400 μm の光ファイバで伝送可能なエネルギーは、最大で 6 mJ/pulse である。6 mJ/pulse のレーザー光を照射した場合のエネルギー密度は MPE 以下であるため、レーザー光のエネルギーを今回の実験条件である 3 mJ/pulse から 2 倍に増加可能である。現状のシステムのままだでもより深くの血管からも光音響信号を検出可能と考えられる。さらに、光ファイバのコア径を拡大することにより、MPE と同程度のエネルギーを伝送可能となる。

また、前述の実験と同様に光音響信号の強度は光の波長により変化した。光音響信号の強度から血液酸素飽和度を計算した結果、88.5 % と算出され、一例の計測であるが、血液ガス分析器による測定値 90 % と同等の値が得られた。

## (3) 呼吸性体動の影響に関する検討

図 19 に、超音波エコーにより取得した頸部血管の画像を示す。動脈と静脈とが近接して走行しており、カラードプラには頸部を頭側に流れる血流が検知されている。

図 20(a), (b), (c) に、当該部位を対象に、励起光波長 756, 777, 798 nm でそれぞれ計測した光音響信号の波形を示す。受信信号からノイズを除去す

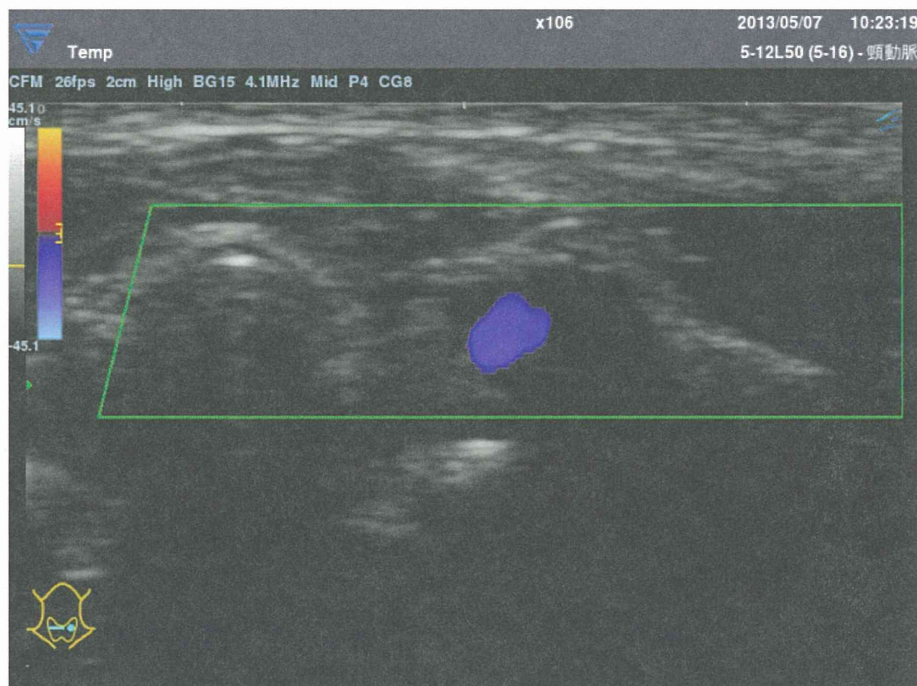


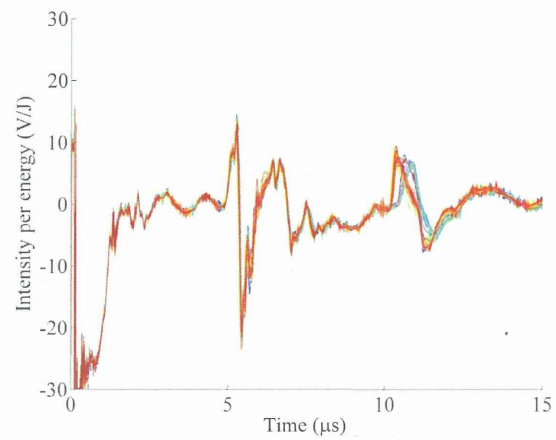
図 19 頸部血管を対象に取得したカラードプラ超音波エコー画像

る目的でフィルタ処理を適用した。各波長において 1/15 秒間隔に 40 回ずつ計測した信号を重畳して表示している。図 20 より、各励起波長での光音響信号波形が周期的に変化していることが確認できる。信号波形の変化はセンサの検出軸に対して水平方向の体動に由来しており、信号到達時間の変化はセンサの検出軸方向の体動に由来する。この体動は周期性より、呼吸や拍動による由来すると思われる。信号の強度も体動により変化していることから、波長ごとの信号強度を比較する本法による血液酸素飽和度同定に影響を与えることが予測される。

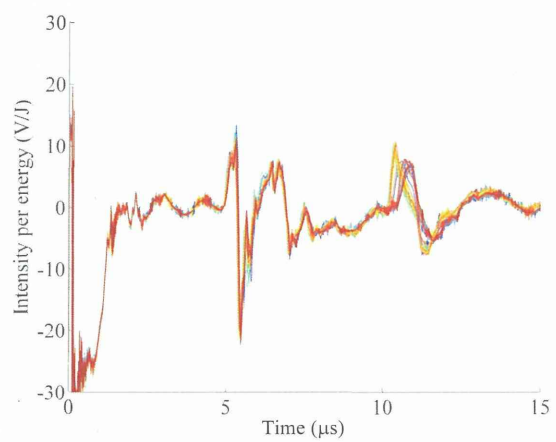
(1), (2)では、加算平均なしで光音響信号を計測する感度が得られていなかったことから、16 回の加算平均で信号を計測しており、結果的に体動の変化による影響も緩和されている状態であった。信号の加算平均時間が体動による信号波形変化の周期と一致している場合、体動の影響を緩和できるが、周期が異なる場合には影響を除去しきれない問題がある。

それぞれ 40 回取得した光音響信号波形の中から、最も信号強度が強い信号を選択し、それらの信号を比較することにより酸素飽和度を算出した。この時の信号波形を図 21(a)に示す。また、比較対象として、加算平均した信号波形を用いて酸素飽和度を算出した。加算平均回数は 8 回、32 回と変化させた。この時の信号波形を図 21(b), (c)にそれぞれ示す。これらの信号波形より、加算平均をした信号波形では、加算平均回数を増加することにより改善はみられるものの、波長ごとに信号波形が異なることが確認できる。また、位置ずれのある信号波形の加算平均により、信号波形のピークが不明瞭となる問題がある。

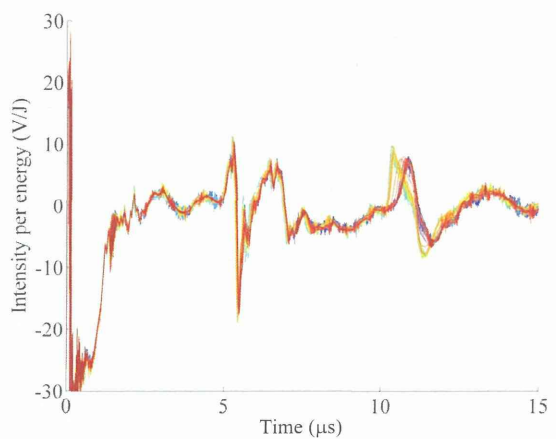
これらの信号波形を用いて酸素飽和度を計測した結果を図 22 に示す。この結果より、加算平均回数が少ない条件では、加算平均回数が多い条件と比較して観測結果が低値となった。この一方で、加算平均回数を増加した条件での計測値は、最も信号強度が強い信号を選択した波形に近づくことが確認された。



(a)



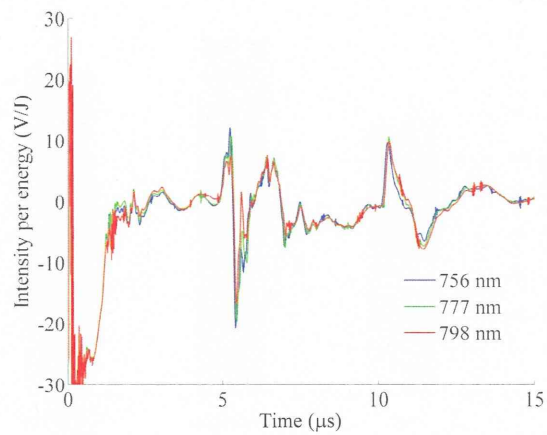
(b)



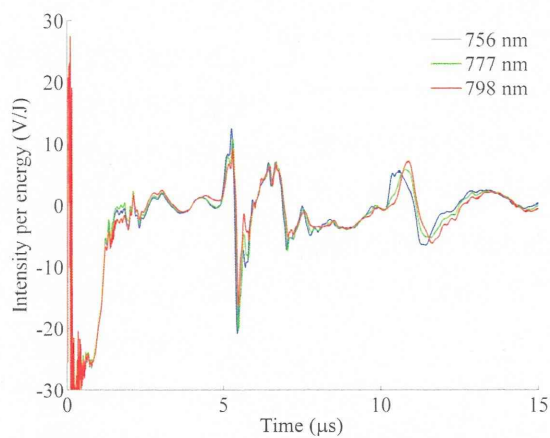
(c)

図 20 励起波長を変えて頸部血管を対象に計測した光音響信号波形 1/15 秒おきに 40 回計測した信号波形を色を変えながら重ね書き。(a) 756 nm, (b) 777 nm, (c) 798 nm

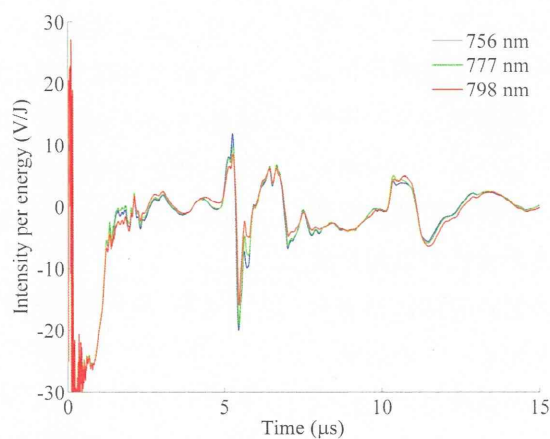




(a)



(b)



(c)

図 21 光音響信号波形の波長による変化。(a) 信号強度が最大となる信号を選択, (b) 加算平均 8 回, (c) 加算平均 32 回

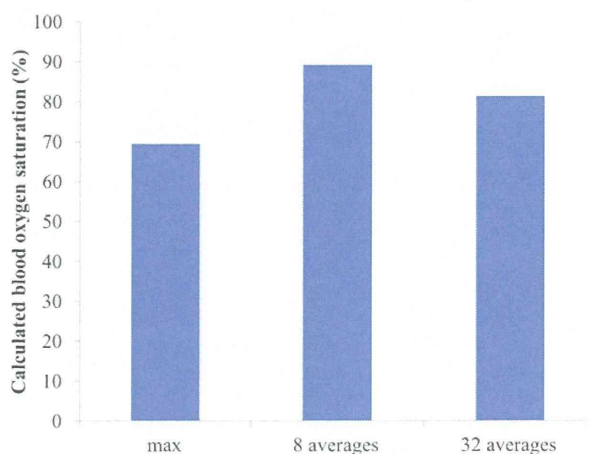


図 22 図 21 に表示した光音響信号波形の振幅から酸素飽和度を計測した結果

#### D. 考察

##### 【D-1】マルチスペクトルイメージング技術の開発

本分担研究では、複数の励起光波長で取得した光音響画像を基に、撮像対象内の光吸収体の種類及び状態を同定するマルチスペクトルイメージングに関して検討した。

本研究にて導入したマルチスペクトルイメージング手法は、励起光波長に依存した光音響画像の輝度値変化が光吸収体の光吸収スペクトルのみに起因する条件下で成り立つ。このため、励起光のパルス幅の波長依存性等の要因により生じる、光音響画像の輝度値変化は本演算の誤差要因となる。逆畳み込み処理の導入により、励起光のパルス幅により生じる誤差は抑制可能となった。この他の誤差要因として、周囲組織の光学特性の波長依存性が挙げられる。周囲組織の光学特性が励起光波長により変化すると、生体内の光吸収体に到達するフルエンスが波長により変化する。この結果、周囲組織における光減衰が大きい条件では光吸収体の光吸収係数が大きい場合でも発生する光音響信号は微弱となり、結果的に光音響画像は低輝度となる。周囲組織における光減衰の影響は、生体深部において特に大きくなるが、表面付近では大きくないと考えられる。本報告書にて示したマウス大腿部の血管の酸素飽和度データは、皮下1・2

mmにある血管を撮像したものであるため、この影響は限定的と考えられる。一方で、さらに深部の光吸収体について同様の解析を行う場合には周囲組織における光減衰の影響を補正する必要がある。このための手法として、有限要素法や、光輸送方程式を用いた光伝播解析を組み合わせる方法や、光減衰の影響を受けにくい光音響信号の時間波形を利用して光吸収係数を求める手法が考えられる。本法の精度向上のために、今後はこれらについて検討する。

上記の課題はあるものの、複数の波長の励起光により光音響画像を取得することにより、単一波長での光音響画像化だけでは得られない情報を得られることを実証した。さらに信号処理手法を確立したことで、光音響画像化技術に新たな価値を付与する基盤技術を構築できた。

##### 【D-2】血液酸素飽和度計測法の評価

今回我々の実験により、数サンプルの計測と比較を行った。統計処理を行うサンプル数を得ていないものの、従来の血液ガス分析器によるデータと光音響法による計測法の比較を行った限りでは、図 23 に示すとおり、計測の範囲内においては、非常に近似したデータを得ることができた。動静脈の血液酸素飽和度計測が非侵襲的な光音響技術により可能なことが示唆されている。一方で、励起

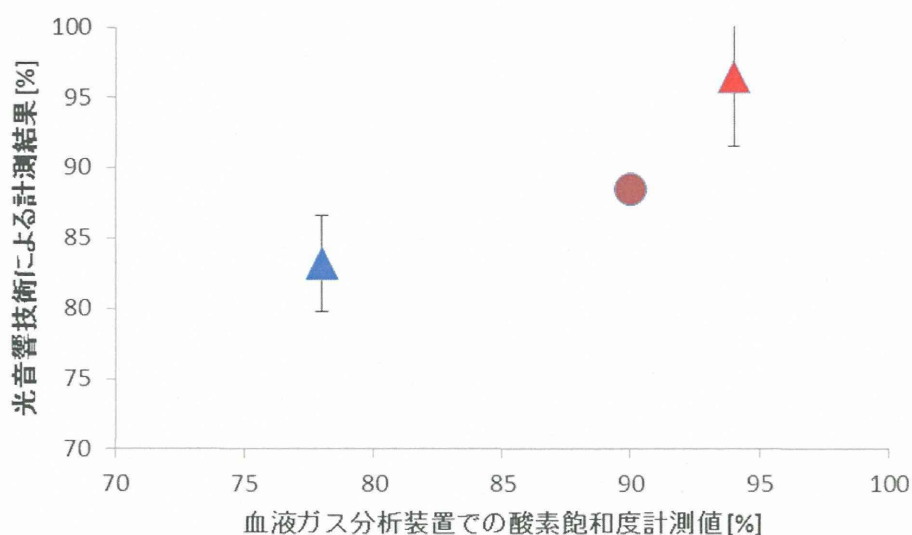


図 23 光音響技術を用いて計測した酸素飽和度と、血液ガス分析器での計測値との比較  
【C-2】(1)で得た計測値を▲【C-2】(2)で得た計測値を●でそれぞれプロットした。

光として照射するレーザー光が血管に到達するまでに、血管以外の組織によって減衰することが血液酸素飽和度計測の精度に大きく影響を与えるとの研究報告がある[7]。今回提示した実験結果においては、光減衰の影響はほとんど認められない。計測対象の血管以外が発生する信号がほとんど観測されていないことから、周囲組織が光を吸収することによる光減衰が小さかったためであると考えられる。今後実験を進めていく過程で、光減衰の影響が大きいことが確認された場合には、組織の光学特性の波長依存性に基づく補正項を掛ける等の対策が必要と考える。

また、この他の誤差要因として、体動によるモーションアーティファクトが考えられるため、この影響を除去する手法について検討した。

図 19 に示す超音波エコー画像より、動脈と静脈は近接して走行していることが多い。近接して走行する血管のうち、どちらを光音響で計測しているかを把握するためには、光音響法による観測領域が、超音波エコー画像のどの部分にあたるのかを予め正確に対応付ける必要がある。或いは、プロト機をもちれば、光音響画像を超音波画像に重畳して表示できるため、描出位置や超音波エコーへの血管壁の描出から、動脈と静脈とを識別でき

る。図 20 に示す信号波形より、信号波形は時間経過とともに呼吸性体動に由来するモーションアーティファクトが観測される。モーションアーティファクトによる信号波形変化には周期性があることから、十分に細かい時間間隔で周期以上の時間だけ信号を取得すれば、その信号の中には近似した信号波形が含まれると考えられる。

本分担研究にて、信号強度が最大の信号のみを抽出した条件はこの考えに基づいており、近似した信号波形を選択するためのパラメータとして最大値を使用している。信号の最大値を用いて近似した信号波形を選択した結果、図 21(a)に示す通り、計測波長において近似した信号波形を抽出できた。今回は最も簡単な信号振幅を用いて選択したが、異なる波長で取得した信号波形間の相似性を利用するなどの手法も考えられる。図 21(b), (c)に示す加算平均波形と比較すると、加算平均回数が少ない図 21(b)においては、加算平均内に信号波形変化の周期全体が含まれないことから、波長ごとに信号波形が異なる。加算平均回数を増加した図 21(c)においては、波長ごとに信号波形は近似するものの、信号波形のピークが消えている。

図 22 に示す血液酸素飽和度計測結果より、信号波形に対する前処理の方法により、血液酸素飽和

度の定量結果が異なることが示された。これは加算平均によりモーションアーティファクトの誤差が増加した結果と考えられる。

信号の取得範囲の分解識別能が現行の計測装置では約 6 mm であり、該当する範囲内に数本以上の動静脈が混在する場合には、すべての血管内の血液の平均値として血液酸素飽和度が計算されるため、各血管内血液の個別の酸素飽和度の計測は難しくなる。そのため各所の血管毎に血管内血液の酸素飽和度を計測するには、やや太い血管内の血液を狙う必要が生じる。現在の試作システムでは血液酸素飽和度の算出に数分を要するが、システムの開発を行えばリアルタイムでの算出表示は可能となるであろう。診療現場において、本法の応用可能なニーズは数多い。心臓カテーテル検査への応用や分娩時の胎児の酸素飽和度モニターなど集中治療分野への応用が期待される。酸素飽和度測定は現在指尖部のパルスオキシメータによる計測や、採血による血液ガス測定により行われている。我々の光音響技術による血液酸素飽和度計測法は、光音響の計測可能深度 15 mm の範囲で非侵襲的に血液酸素飽和度のマッピングが可能となる。

現状で行われている心房中隔欠損症や心室中隔欠損症の手術適応の決定には、短絡率の計測が必須となる。これには、大動脈、右心房、左心房(肺動脈末梢の採血で代用)、肺動脈の酸素飽和度計測が必要になる。心臓カテーテル検査という侵襲的な検査により行われる現行の手法は、非侵襲的に可能な本法の開発により置き換えられる可能性が期待される。特に新生児の検査診断には本法の利点は大きいものと考えられる。これら大血管内の酸素飽和度測定は現行の分解識別能約 6 mm の範囲内で十分可能と考えている。また、非侵襲的な手法から、胎児の動脈の血液酸素飽和度の持続モニターとして期待されるであろう。血液酸素飽和度測定という医療技術分野において、非侵襲化、マッピング化という改良が同時に進展する可能性

があり、医療界における応用の恩恵が大いに期待される。また、ヘモグロビンの存在を 3 次元で検知表示が可能になるため、漿液性の液体貯留や薬液貯留と血腫の識別が一層容易になる[8]。血腫や血管の存在がより鮮明に表示されるため、各種医療処置、外科手術の安全性が高いレベルで確保可能となるであろう。

## E. 結論

本研究では、光音響画像の輝度値が撮像対象である光吸収体の光吸収係数に感受性があることに基づき、励起光の波長を変化させて複数取得した光音響画像の輝度値変化と光吸収体の光吸収スペクトルとの相関を基に、撮像対象内における光吸収体の分布を画像化するマルチスペクトルイメージング技術について検討した。

本法の精度についてファントム実験により検証した結果、光音響画像の輝度値と光吸収体の光吸収係数との間に高い相関があることを確認した。

さらに動物実験に適用した結果、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの濃度分布画像を取得でき、それらの比を基に酸素飽和度分布を取得できた。今後は、パルスオキシメータ等の酸素飽和度測定法で計測した血液酸素飽和度と、本法で計測できる血液酸素飽和度とを比較し、本法の精度について検証する。また、本法の精度改善のために、光減衰の影響を受けにくい光吸収係数の同定法についても検討する。

本研究では、光音響技術を用いた酸素飽和度計測技術の精度を評価するための動物実験系を作成し、深さ 4 - 6 mm の血管内血液の酸素飽和度を光音響技術により計測する基礎実験を実施した。この結果、統計処理を行うサンプル数は得られていないものの、従来の血液ガス分析器による計測値と非常に近似した血液酸素飽和度を得ることができた。

また、装置系の改良により、MPE 以下のレーザー照射条件にて、深さ 5.5 mm 以上の血管を検出可

能となった。レーザー光の強度を上げることが可能であり、本装置にて深さ 10 mm 以上の血管内血液の酸素飽和度を計測可能となることが期待される。

さらに、本計測において呼吸性体動が誤差要因となることから、この影響を除去するための信号取得方法及び信号処理方法について検討を行った。検出系の検出感度向上により加算平均なしでの信号取得を可能とし、加算平均信号からは観測できなかった呼吸性体動による信号波形の変化の情報が得た。異なる波長で各 40 回ずつ受信し、信号強度が最大となる波形を選択して比較する手法を提案した。この結果より、加算平均した信号を使用するよりも、酸素飽和度の計測精度を向上できる可能性が示唆された。

今後は、統計処理を行うために計測数を増加し、本法の精度を明らかにすることにより、今後の製品化に向けたデータ取得を急ぎたい。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hirasawa T, Okawa S, Fujita M, Kushibiki T, Ishihara M. “Quantification of optical attenuation coefficient based on continuous wavelet transform of photoacoustic signals measured by a focused broadband acoustic sensor”, Proceedings of SPIE, 2014, 8943, p.89435Z-1-89435Z-8.
- 2) Hirasawa T, Fujita M, Okawa S, Kushibiki T, Ishihara M. “Quantification of effective attenuation coefficients using continuous wavelet transform of photoacoustic signals”, Applied Optics, 2013, 52(35), p.8562-8571.
- 3) Hirasawa T, Fujita M, Okawa S, Kushibiki T, Ishihara M. “Improvement in quantifying optical absorption coefficients based on continuous wavelet-transform by correcting distortions in temporal photoacoustic waveforms”, Proceedings of SPIE, 2013, 8581, p.85814J-1-85814J-7.
- 4) Hirasawa T, Ishihara M, Tsujita K, Hirota K, Irisawa K, Kitagaki M, Fujita M, Kikuchi M. “Continuous wavelet-transform analysis of photo-acoustic signal waveform to determine optical absorption coefficient”, Proceedings of SPIE, 2012, 8223, p.822333-1-822333-7.
- 5) 藤田真敬, 平沢壮, 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”, O Plus E (optics +electronics), 34(2), p.151-154.
2. 学会発表
- 6) Hirasawa T, Okawa S, Fujita M, Kushibiki T, Ishihara M. “Quantification of optical attenuation coefficient based on continuous wavelet transform of photoacoustic signals measured by a focused broadband acoustic sensor”, SPIE Photonics West BIOS 2014 Technical Summaries, 2014, p.326-327.
- 7) Hirasawa T, Fujita M, Okawa S, Kushibiki T, Ishihara M. “Improvement in quantifying optical absorption coefficients based on continuous wavelet-transform by correcting distortions in temporal photoacoustic waveforms”, SPIE Photonics West BIOS 2013 Technical Summaries, 2013, p.289-289.
- 8) 平沢壮, 榎引俊宏, 藤田真敬, 石原美弥. “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”, 生体医工学, 2012, 50(特別), p.212-212.
- 9) Hirasawa T, Ishihara M, Tsujita K, Hirota

- K, Irisawa K, Kitagaki M, Fujita M, Kikuchi M. "Continuous wavelet-transform analysis of photo-acoustic signal waveform to determine optical absorption coefficient", SPIE Photonics West BiOS 2012 Technical Summaries, 2012, p.268-268.
- 10) 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. "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", 日本レーザー医学会誌, 2011, 32(3), p.334-334.
- 11) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞. "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", Optics & Photonics Japan 2011, 2011, p.P65-1-P65-2.
- coefficient with an exact solution of a wave equation," Phys. Med. Biol. **53**, 6167-6177 (2008).
3. S. L. Jacques and S. A. Prahl, "Absorption Spectra for Biological Tissues (Oregon Medical Laser Center, OR)" (2004), retrieved March 12, 2013, <http://omlc.ogi.edu/spectra/>.
4. S. Or, H. Chan, and C. Choy, "P (VDF-TrFE) copolymer acoustic emission sensors," Sensors and Actuators A: Physical **80**, 237-241 (2000).
5. W. R. Hendee and E. R. Ritenour, *Medical imaging physics* (John Wiley and Sons, New York, 2002).
6. C. Li and L. V. Wang, "Photoacoustic tomography and sensing in biomedicine," Phys. Med. Biol. **54**, R59-97 (2009).
7. M. Sivaramakrishnan, K. Maslov, H. F. Zhang, G. Stoica, and L. V. Wang, "Limitations of quantitative photoacoustic measurements of blood oxygenation in small vessels," Physics in medicine and biology **52**, 1349-1361 (2007).
8. 藤田真敬, 平沢壮, 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," O plus E (optics + electronics) **34**, 151 - 154 (2012).

## H. 知的財産の出願・登録状況

なし

## I. 参考文献

1. B. Cox, J. G. Laufer, S. R. Arridge, and P. C. Beard, "Quantitative spectroscopic photoacoustic imaging: a review," J. Biomed. Opt. **17**, 061202 (2012).
2. Y. Wang and R. Wang, "Photoacoustic recovery of an absolute optical absorption

## 光音響画像の脳神経外科応用に関する基礎～臨床検討

研究分担者 平沢 壮 防衛医科大学校  
研究分担者 大谷 直樹 防衛医科大学校  
研究協力者 藤田 真敬 航空自衛隊

医用工学講座  
脳神経外科学講座  
航空医学実験隊

助教  
講師  
第2部長

### 要旨

本分担研究は、光音響イメージング技術の脳神経外科学分野への応用可能性を探索することを目的とし、①脳血腫の検出、②血行再建術におけるドナー血管の走行把握、③頸動脈プラークの質的診断の3つの応用について動物実験、基礎的検討、臨床実験を実施した。①脳深部の脳内血腫等の除去において、従来は術中支援装置として超音波診断装置を用いられているがその描出能力には限界があり、ヘモグロビンに対して高感度を有する光音響の特徴を生かした診断が期待される。②血行再建術における安全性確保のためは、ドナー血管の走行を確実に把握する必要がある。光音響画像化技術は、皮下の微細な血管網を高コントラストに画像化できる特徴より、現有の手法よりも手術操作の安全性向上が見込まれる。③不安定プラークは、軽度狭窄であっても破裂することにより塞栓症を生じる危険性があり、存在を的確に把握することは、脳梗塞の発症を予防する鍵となる。

### A. 研究目的

光音響画像化技術は、光と超音波の長所を融合した放射線被曝のない新しい画像診断ツールとして着目されており、造影剤の使用なく微細な血管網の画像化が可能な手法である。本研究事業にて開発している光音響画像化装置では、プローブ表面から約30mmの深部で約100 $\mu$ m径の血管の画像化が可能となっている。本装置は、一般的に画像診断で用いられている超音波診断装置とそのプローブに、レーザー装置及び、レーザー光を導光する光ファイバから構成される。生体への安全性について、レーザーについては、JIS C 6802：レーザー製品の安全基準にて規定されている。種々の条件下(波長、露光時間、動作モード、点光源、測定開口と距離など)で安全性の目安を与えるMPE(Maximum Permissible Exposure：最大許容露光量)を十分に下回る16mJ/cm<sup>2</sup>にて実施する。超音波については、JIS T 060にて規定されており、十分な安全性が確保されている状況である。

脳神経外科手術における光音響技術の応用が期待できる領域としては①脳血腫の検出、②血行再建術におけるドナー血管の走行把握、③頸動脈プ

ラークの質的診断等が考えられる。これらの有用性を検証すべく我々は基礎的実験、ならびに臨床応用を進めてきたので報告する。

#### 【A-1】脳血腫検出の基礎実験

術中支援装置として超音波診断装置を用いて、脳表から脳深部の病変(例えば脳内血腫、脳腫瘍等)を確認しながら安全かつ確実に病変部を除去することは重要である。現在の超音波画像ではその描出能力に限界があることと、脳血管の描出は不可能である。ここでは光音響画像化技術を用いた、正確な病変部描出、並びに脳血管病変部位の描出の可能性を追求することを目的とした。本実験では臨床研究に先立ち、ウサギ頭蓋内血腫モデルを作成し脳表から血腫が確認可能か否かを検証した。

#### 【A-2】血行再建術における光音響技術の有効性の検証

わが国では目覚ましい生活習慣の欧米化に伴い、動脈硬化のリスクが高い高齢者が急増している。特に脳梗塞は身体的・知的機能障害をもたらし、日常生活動作や生活の質を阻害する最大の要因である。なかでも頭蓋内・外血管狭窄症にともなう

血行動態性脳梗塞の発生率は近年上昇傾向にある。これらに対する予防治療としての外科的血管吻合による血行再建術の有効性は 1967 年に初めて報告されたがその有効性には確証がなかった。1998 年に本邦において randomized control study である Japanese EC-IC Bypass Trial (JET study) が開始された。その study において少なくとも重度の脳虚血症例では EC-IC bypass が有効であることが示され現在では標準的治療として広く普及している。本術式ではドナーとなる浅側頭動脈、後頭動脈を確認、剥離してレシピエントとなる脳表血管に吻合し血流を増加させることにある。その際、ドナー血管の走行を把握することは皮膚切開、開頭範囲を決める上で非常に重要な要因である。通常、術前に 3D-CTA によってある程度確認することは可能であるが、経皮的に確認する際には術中ドップラー血流計、ならびに動脈拍動を触知しながらマーキングしている。しかし、非常に細い血管では走行を把握することは困難であり、さらに全身麻酔下では触知困難となりさらに走行を把握することは困難を極める。すなわち、本装置を用いることで STA-MCA bypass 術前にドナー血管の確認を安全に非侵襲的に行うことが可能であると思われる。本研究では、血管位置情報取得により、超音響画像化手法の STA-MCA bypass 術の術前評価法への適用価値を検証することを目的とする。

#### 【A-3】頸動脈プラークの不安定性評価における超音響技術の有効性の検証

頸動脈狭窄症は戦後食スタイルの欧米化に伴い、脳梗塞の主たる要因として重要となってきた。本病変に対し、外科的に直接病変部を切除する頸動脈内膜剥離術(CEA)が行われてきた。従来の手術適応としては症候性病変では 70 %以上の狭窄、無症候性病変では 60 %以上の狭窄が示唆されている。たとえ軽度狭窄であってもプラークが破裂し、塞栓症を生じる危険性がある。特に破裂しやすい不

安定プラークの存在を術前に的確に把握することは、脳梗塞の発症と周術期合併症を予防する大きな鍵となる。本研究では、プラークの不安定性の評価に超音響技術が有用か否かを検討する。術中に得られたプラーク標本を近赤外分光法により解析するとともにプラークの病理学的検査との相関を調べ、超音響イメージングにより頸動脈プラークの診断を行うために用いる励起波長を最適化することを目的とする。

## B. 研究方法

### 【B-1】脳血腫検出の基礎実験

#### (1) 動物モデル

日本白色家兔(体重 4.5kg)を対象とした。術前麻酔として、ケタミン(50 ml/mg)3.3 ml と、キシラジン(20 mg/ml)1.2 ml を筋注投与した。また、計測中の維持麻酔として、ベントバルビタール(50 mg/ml)を生理食塩水で 10 倍希釈し、適宜静注した。ウサギの頭部を開頭し頭蓋を露出したのちに、頭蓋に穴を開けて、脳表を部分的に露出した。安定した超音響計測のためには脳表の露出部位を拡大する必要があるが、実験モデルの制約上、露出部位は 10×18 mm の領域であった。このため、極めて空間的に制約がある条件での計測である。

また、脳深部の病変モデルとして、脳内に血腫を作成した。血腫作成のための血液は頸動脈に予め確保しておいた動脈ルートから取得し、血液量は 40  $\mu$ l とし、シリンジポンプを用いて脳表から深さ 4 mm の部位に注入した。図 1 に頭蓋骨露出後の写真、手術用の穴をあけた写真、血腫作成後の写真をそれぞれ示す。

超音響計測を終了後に、計測前に頸動脈に予め確保しておいた動脈ルートより、ホルマリンを還流し、十分に組織を固定したのちに摘出し、その断面と超音響画像とを比較した。



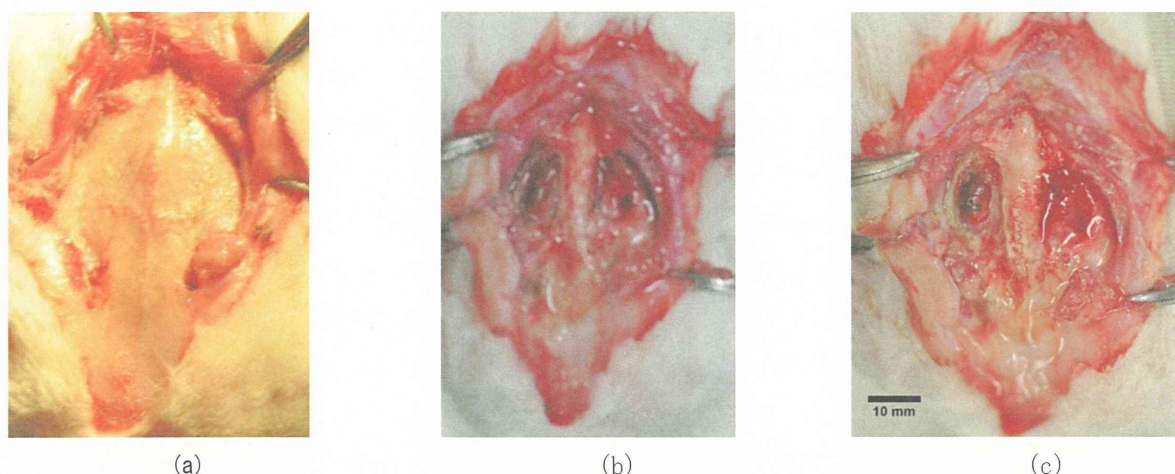


図1 ウサギの脳血腫イメージングの実験モデル。(a)頭蓋骨を露出した写真, (b)頭蓋骨に手術用の穴をあけた写真, (c)脳の右側に対して血液を注入して血腫を作成した写真。手術用の穴は 10×18mm であり, アレイ型探触子のサイズとほぼ同等である。

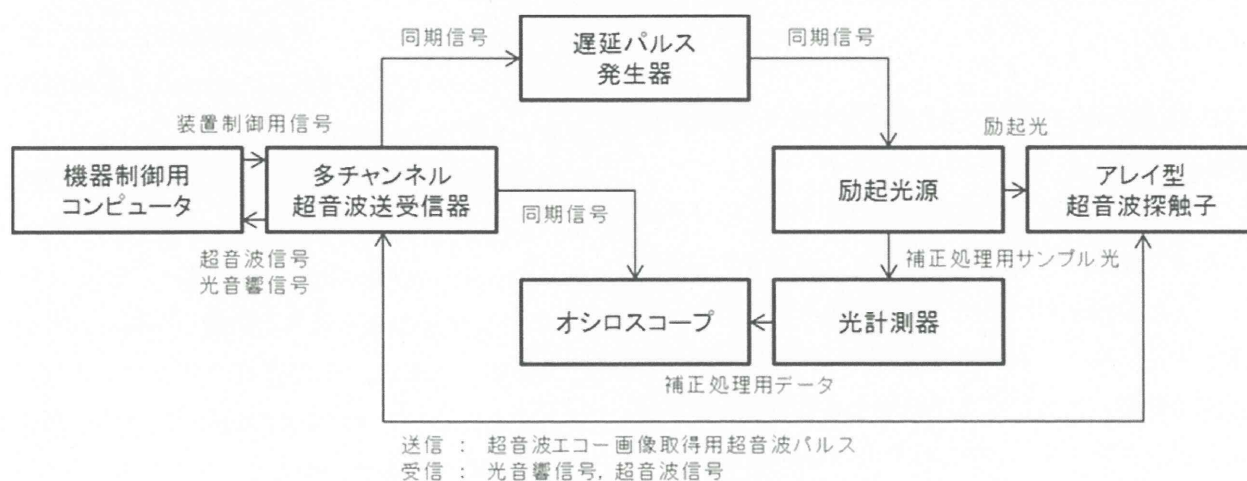


図2 基礎実験用実験機のシステム構成

(2) 計測方法

光音響イメージングを行うための実験装置として, 図2にブロック図を示す基礎実験用実験機を用いた。励起光源は, 波長可変 Ti:Sapphire レーザーを用いた。励起光のエネルギーを 2.0 – 2.5 mJ, 励起光波長を 750 – 800 nm の区間を 10 nm 間隔で変化させて, 6 波長の励起光で光音響画像を取得した。

アレイ型探触子は, 本実験の空間的制約を勘案し, 脳表露出部位より脳内にアプローチ可能な小型アレイ型探触子(10L32-A10, Olympus NDT)を用いた。本探触子の素子面は 10×7 mm であり, 10×18 mm の脳表露出部位よりも小さい。このた

め, ヒト用の臨床装置に使用される超音波プローブではアプローチ不可能な本モデルに適用可能である。

本実験における撮像部位である脳は, *in vivo* の条件では水浸が物理的に困難である。このため, 前述のマウス大腿部のマルチスペクトルイメージングとは異なり, 超音波診断に広く用いられる超音波ゲル(UF clear gel, フクダ電子)及び甲状腺や乳房の超音波診断に用いられる厚さ 10 mm の音響カップラ(Sonagel, タキロン)を介してアレイ型探触子を接触して光音響信号を計測した。音響カップラを使用せずに超音波ゲル層を厚くすることにより光音響信号を受信可能だが, 超音波ゲル内に含まれ

る気泡による光音響信号の反射が計測の妨げとなる。このため、気泡を含む可能性を有する超音波ゲル層は極力薄くする必要がある。一方で、音響カプラは気泡を含まない半固形状のゲルであるため、超音波ゲルと比較して気泡の影響を受けにくい。そのため、安定した信号受信が可能である。

本実験では、アレイ型探触子を図 1(b)における水平方向に配置し、冠状断画像を取得した。また、前述のマルチスペクトルイメージング技術を用いて脳内の血液酸素飽和度分布を画像化することを試みた。これらの画像を脳深部における病変モデルとして血腫を作成する前後に取得して比較することにより、本法により脳血腫を描出できるかを検証した。

#### 【B-2】 血行再建術における光音響技術の有効性の検証

脳梗塞、もしくは一過性虚血発作を生じた症候性の患者で頭蓋内血管狭窄にともなう脳血管予備脳低下をきたしEC-ICバイパス術の適応となる患者を対象とする。病室、もしくは手術室において経皮的に浅側頭動脈、あるいは後頭動脈を本装置を用いて観察しマーキングする。得られた光音響画像と3D-CTA画像を比較検討するとともに実際の剥離血管の走行とサイズを比較検討する。

研究に関する説明文書を手渡し、それに沿って口頭で詳細に説明した後で書面にて同意を得ることができた患者を対象とする。選択の自由と、研究に同意しない場合でも不利益を受ける事はないことを十分に説明する。得られた個人情報、防衛医科大学の個人情報管理者の指導のもとで、すべての個人情報を厳重に管理し、公的な発表に関しては匿名化を行い個人が決して特定されないように十分に配慮する。

#### 【B-3】 頸動脈プラークの不安定性評価における光音響技術の有効性の検証

頸動脈内膜剥離術(CEA)中に得られた頸動脈プ

ラーク検体に対して、脂質成分か壁内出血成分かを鑑別できるようにするべく光音響画像診断技術を施行する。不安定プラークマーカーの測定結果と、画像診断、プラークの性状との関係について統計学的に検討する。本研究は本人及び家族の同意を得た上で実施する。

光音響画像診断技術では、画像化対象の光吸収特性に合わせてレーザー光の波長を変更することにより、ヘモグロビンだけでなく多様な光吸収帯を高感度に画像化できる特徴を有する。さらに、レーザー光の波長を変えて同じサンプルを計測し、信号強度変化を観測することで、計測対象の光吸収特性に関する情報を得られる。これらの特徴を生かし、不安定プラークの光特性を評価し、頸動脈プラークの不安定性評価における光音響画像化技術の有用性を検証する。

光音響画像化技術は、計測対象の光吸収特性を高い空間分解能で計測可能であるが、狭帯域のパルスレーザー光を励起光として用いるため、1回の計測で1波長の光に対する情報しか得られない。このため、正常血管と不安定プラークとでコントラストが大きい、効果的な波長のレーザー光を選択して使用する必要がある。

今年度は、光音響画像化技術をプラークの不安定性評価に応用するための基礎検討として、不安定プラークの光吸収特性の計測を行った。光吸収特性を計測する手段として、近赤外分光法を用いた。本法では、光音響画像化技術と同様に、計測サンプルの光吸収特性を非破壊に評価できる。本法は空間分解能が低く、計測深さが浅い欠点を有するが、広い波長域での光吸収特性を一度に計測できる利点を有する。本法を用いて、CEAにより摘出した検体の光吸収特性を解析することにより、正常血管と不安定プラークとで異なる特性を有する光波長を同定する。これにより、光音響画像化技術において用いるレーザー光の波長を決定することを目的とする。

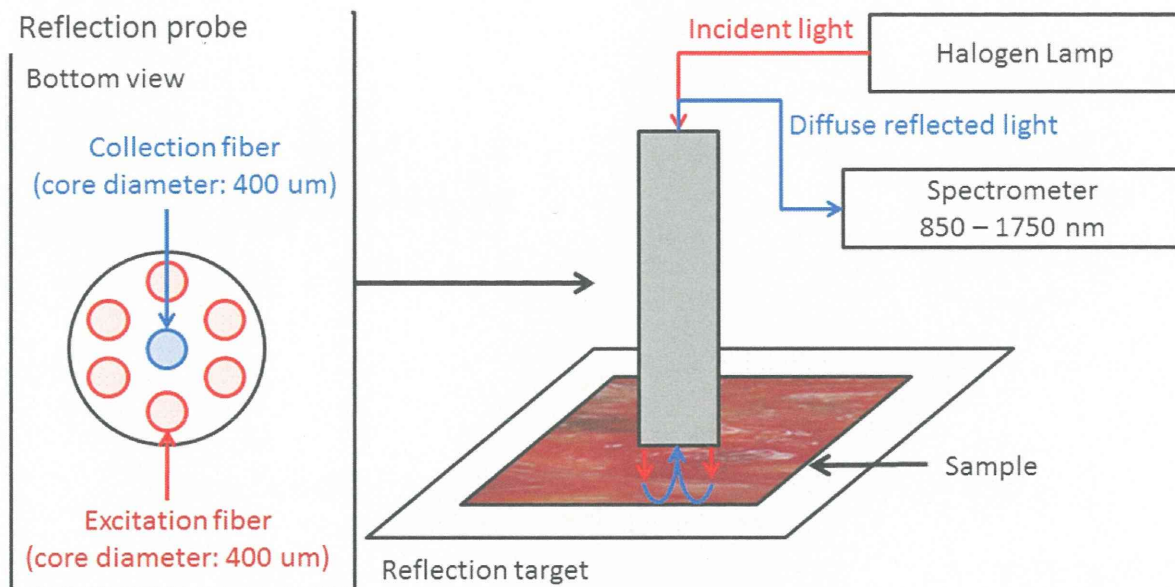


図3 近赤外分光分析に用いた実験

#### (1) 近赤外分光計測

近赤外分光法では、計測対象に近赤外波長を含む広帯域光を照射し、その拡散反射光を計測する。照射光と拡散反射光のスペクトルを比較することにより、計測対象の近赤外光に対する吸収特性を非破壊的に計測する。近赤外波長における光吸収は、分子結合の吸収帯に由来し、主にH等の軽い原子を含む分子結合(C-H, N-H, O-H, 及び S-H)の基本振動の倍音及び結合音に由来するものが観測される。血管及びプラークを構成する成分として考えられる、水、脂質、タンパク質は、それぞれ上記に挙げる結合を含むため、近赤外波長域においてそれぞれに特徴的な吸収帯が観測される。このため、近赤外波長域における光吸収特性を解析することにより、血管の構成成分に関する情報を得られる。

#### (2) 計測方法

防衛医科大学学校病院で行われた頸動脈内膜剝離術(CEA)により摘出した検体をサンプルとして近赤外分光計測を行った。なお、全ての研究は防衛医科大学学校倫理委員会の承認を得て行った。

計測に使用した拡散反射型の近赤外分光計測システムを図3に示す。サンプルは、計測波長域において均一かつ高い反射率を有する白色反射ターゲット(SRT-99-100, Labsphere, North Sutton, NH, USA)に固定した。1本の光収集用光ファイバの周囲に6本の光照射用光ファイバを配置した、送受光一体型の拡散反射プローブ(R400-7-VIS/NIR, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA)を接触した。H25年度から、光収集用光ファイバと光照射用光ファイバとを入れ替えている。タングステンハロゲン光源(HL-2000, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA)により発生した近赤外波長を含む広帯域光(360-2000 nm, 7 W)を、光照射用光ファイバを介して摘出検体に照射した。サンプル内を伝播して拡散反射した光を、光収集用光ファイバで収集し、850-1700 nmの波長域の光を1.66 nmの波長分解能で分光計測可能な小型分光器(NIR512, Ocean Optics, Dunedin, FL, USA)で測定して拡散反射光のスペクトルを得た。1検体あたり、4~7点のサンプル点を設定し、各サンプル点について4回ずつスペクトルを計測した。雑音を軽減するために、計測データに対して100回

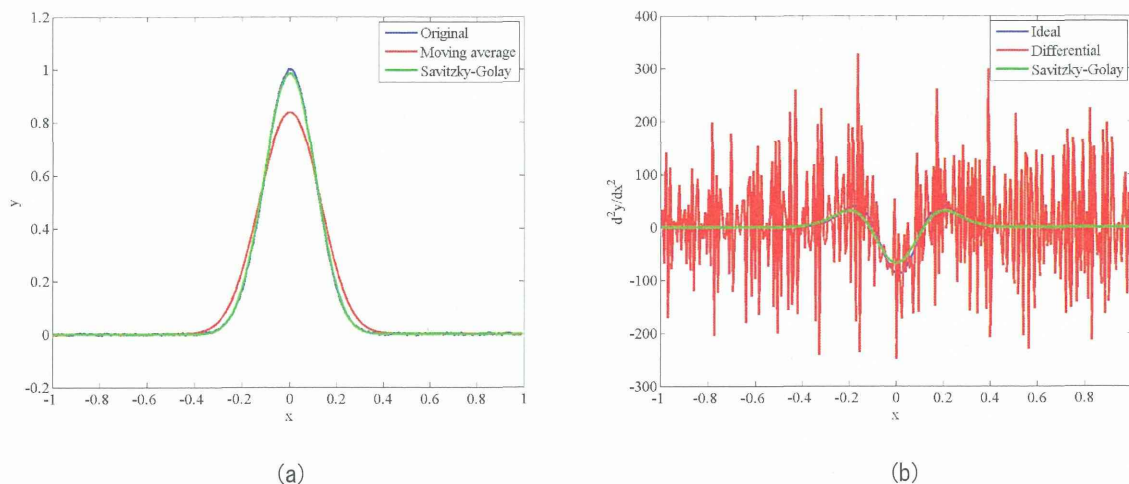


図4 Savitzky-Golay法を用いた移動平均(a)と2階微分(b)の従来法との比較

の加算平均処理を施した。

拡散反射光のスペクトルから、サンプルの光吸収特性を反映する相対拡散反射スペクトルを求めるためには、基準サンプルを対象とした計測値が必要である。基準サンプルは、計測波長域において拡散反射率が高く均一である必要があるため、前述の白色反射ターゲットとした。

### (3) 信号処理方法

拡散反射型の近赤外分光計測システムにより計測できるサンプルからの拡散反射光のスペクトルと、サンプルの光学特性の関係は、次式で示す Kubelka-Munk の方程式により関連付けられる[1, 2]。

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} = \cosh\left(\log \frac{1}{R}\right) - 1 \quad (1)$$

ここで、 $K$  は光吸収係数、 $S$  は光散乱係数、 $R$  は相対拡散反射スペクトルである。相対拡散反射スペクトルは次式で求めた。

$$R = \frac{I_R}{I_{R0}} \quad (2)$$

ここで、 $I_R$  はサンプルを対象に計測した拡散反射光のスペクトル、 $I_{R0}$  は基準サンプルを対象に計測した参照スペクトルである。

(1)式より、 $K/S$  はサンプルの光吸収スペクトルを反映することがわかる。(1)式は、 $K/S$  の変動が

小さい条件において、光を透過する均一な媒質に対して成立する Lambert Beer の法則と同様の形式に近似できる。

$$\frac{K}{S} \approx \log \frac{1}{R} \quad (3)$$

本分野では多くの場合に(3)式が用いられるため、本実験では(3)式で得られる  $\log(1/R)$  を光吸収スペクトルとして用いた。

プラークの構成成分と考えられる、脂質やコレステロール、及び正常血管にも含まれるコラーゲンや水分は、近赤外光領域において吸収帯を有する。しかしながら、これらの吸収帯は近接した波長に存在するため、弱い吸収帯は強い吸収帯に埋もれて検出が困難となる。近赤外分光分析の分野では、検出困難なピークを抽出する目的で吸収スペクトルを波長 $\lambda$  について2次微分した2次微分スペクトル  $d^2[\log(1/R)]/d\lambda^2$  が広く用いられているため、本研究でも吸収スペクトルに対して2次微分処理を施した。

2次微分処理により、吸収スペクトルに観測される0次のオフセット成分や、1次のトレンド成分を除去でき、吸収帯のピーク成分を強調できる。スペクトルのピークは放物線状の形状をとることから、2次以上の成分を有しており、2次微分処理では除去されない。さらに、2次微分処理により傾斜