

超音波速度変化による光吸収イメージング

堀 中 博 道

Optical Absorption Imaging by Detection of Ultrasonic Velocity Change

Hikomichi HORINAKA

A method by detection of ultrasonic velocity change due to light illumination was proposed for construction of optical absorption tomography of biological tissue. We could obtain ultrasonic velocity change images of Au nano-particles in the two phantoms which were made of highly optical scattering agar and the chicken breast meat by using the remodeled diagnostic ultrasonic equipment. The spectroscopic information of phantoms was also obtained from the dependence of ultrasonic velocity change image on the wavelength of lasers for illumination. Experimental results suggested that our imaging method had the possibility as a nanoparticle distribution monitor for cancer diagnosis.

Key words: optical tomography, ultrasonic velocity change, gold nano-particles, drug delivery system, spectroscopic information

医用画像診断装置として、X線CT、超音波診断装置、MRI等がよく知られている。これらは基本的に生体の組織形態を画像化する装置である。最近、生体の代謝情報や機能情報の画像化も必要とされ、装置の開発が望まれている。例えば、PET (positron emission tomography) は、体内におけるグルコースの分布を示すもので、初期がんの診断に用いられている。

ヘモグロビンなどは、酸素分子との結合によって近赤外域における光吸収スペクトルが変化する。生体物質の光吸収断層画像が測定できれば、その波長依存性から代謝情報や機能情報が得られると考えられ、多くの光学計測方法が提案されてきた。しかし、生体組織は光に対してきわめて強い散乱を示すので、生体深部の光断層画像を構築できる装置は、未だ実現していない。

そこで、生体の中で光は拡散するものと考え、光吸収情報を超音波でマッピングする方法として、(1) 超音波で光を変調する方式と、(2) 光で超音波を変調する方式を検討してきた。(1)の実現のために、光と超音波の相互作用領域におけるラマン・ナス回折の利用を考えた。(2)の実現

のために、光照射による吸収領域の温度上昇に伴う弾性定数の変化を超音波の速度変化として検出する方法を考案した¹⁻³⁾。(2)の方式のほうは、光が完全に拡散した状態でも信号強度や空間分解能を維持できるので、より実用性の高い方法と考えられる。ハイパーサーミア等の治療時における温度測定のために超音波速度を検出する研究例⁴⁾はあるが、光吸収情報の画像化を目的とする研究は前例がないと思われる。

光吸収断層画像測定法は、血液中の酸素濃度分布などの画像化への応用だけではなく、がんの診断や治療のためのドラッグデリバリーシステムに用いられるナノ粒子分布の検出への応用が期待される。ナノ粒子や抗がん剤を含むリポソーム、 dendrogram などのがん組織に選択的に堆積させるために、がんによる新生血管を利用するパッシブターゲティングとよばれる方式と、抗原抗体反応などを利用するアクティブターゲティングとよばれる方式がある⁵⁾。これらの医療診断、治療を効果的に行うためには、生体におけるナノ粒子の堆積状態や堆積領域の温度分布の画像装置が必要とされている⁶⁾。

現在、PAT (photo-acoustic tomography) が光吸収分布の測定やナノ粒子分布のモニターとして盛んに研究されている⁷⁾。しかし、現在の報告は、表面から数 mm 以下での測定に限られている。また、複数の音源の信号から画像を構築するために特別なアルゴリズムが必要である。

以下に、超音波速度変化による光吸収イメージング法について、測定原理、試作装置を説明し、基礎的な実験、ナノ粒子分布、物質識別のための分光画像情報の測定結果を示す。

1. 超音波速度変化による光情報の検出原理

図1のように吸収領域を含む生体組織に光を照射すると、光吸収領域で温度が上昇し、弾性定数の変化が生じ、超音波の速度が変化する。光照射の前後で超音波を走査して、超音波速度の変化領域を検出すれば、温度変化領域が検出でき、光吸収分布画像を得ることができる。

超音波の速度変化として、光断層画像を得るのに2つの方式が考えられる。1つは、連続波の超音波を試料に対して平行、回転移動させて得られた光による速度変化を投影データとして保存し、CT アルゴリズムを用いて速度変化分布画像を構築し、光吸収分布を得る方式である^{1,2)}。もう一方は、超音波パルスを用いて、組織境界からの反射パルスの到達時間と光照射による到達時間の変化を測定することで、吸収領域の位置情報と吸収情報を得る方式である³⁾。後者の方式は、片側から吸収領域の位置情報と光吸収情報を得ることができるので、医療診断装置としてより実用性があると考えられる。また、市販の超音波エコー診断装置が適用できると考えられ、超音波アレイトランスデ

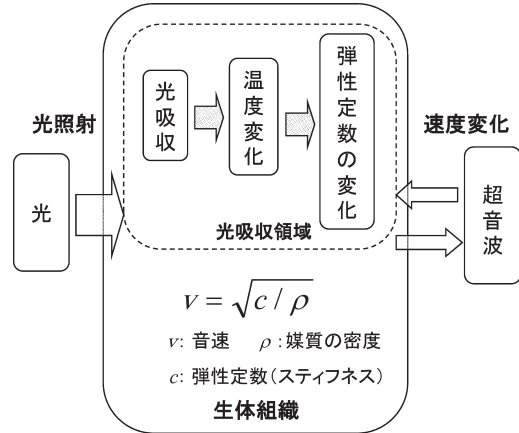


図1 超音波速度変化による光吸収情報の検出原理。

ューサーをプローブとした高速光断層画像装置が作製できる⁸⁾。

図2に示すように、超音波アレイトランスデューサーから送信された超音波パルスは試料中の音響インピーダンスの境界から反射される。通常のBモードイメージは、個々の超音波パルス波形の振幅から構築される。試料に光を照射すると、光吸収領域の前面の境界から反射した超音波パルスは図2の上図のようにシフトしないが、背後の境界から反射されるパルスは、光吸収による温度上昇によって下図に示すようにシフトする。例えば、伝播媒質が水であり、吸収体厚さが1 cm の場合、1°C の温度変化に対して約 18 ns の超音波パルスのシフトが予想される。

試料中の超音波の平均速度を v 、吸収領域の境界間の距離を d 、光照射による伝播時間の変化を $\Delta\tau$ とすると、光照射による境界間の速度変化 Δv は下記の式で示される。

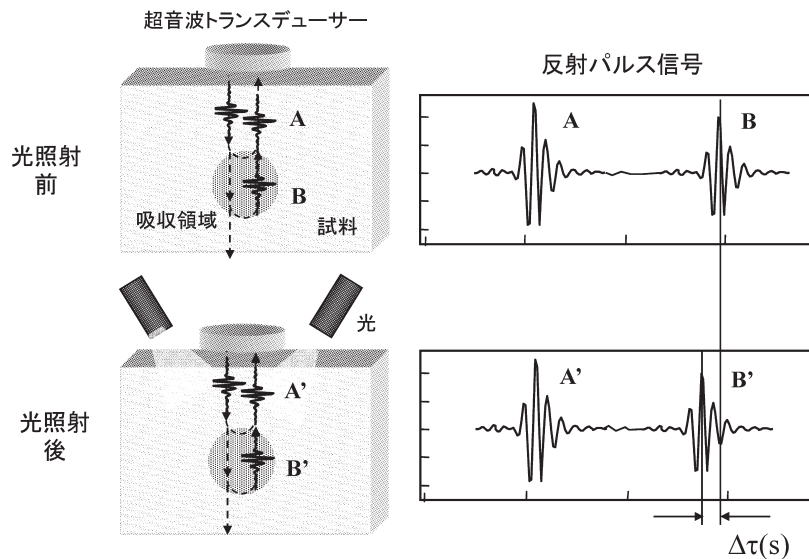


図2 光照射による超音波パルスエコーのシフト。

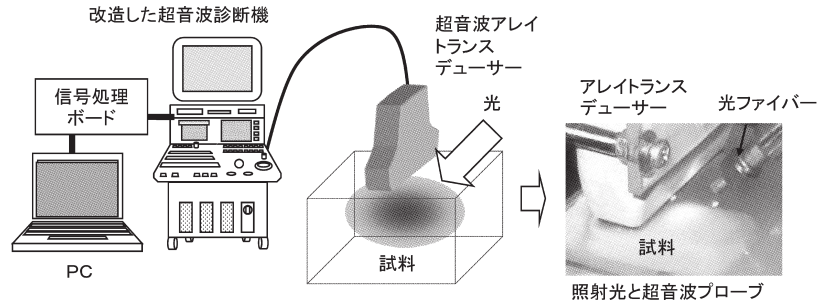


図3 超音波速度変化による光吸収イメージングの実験装置の構成。

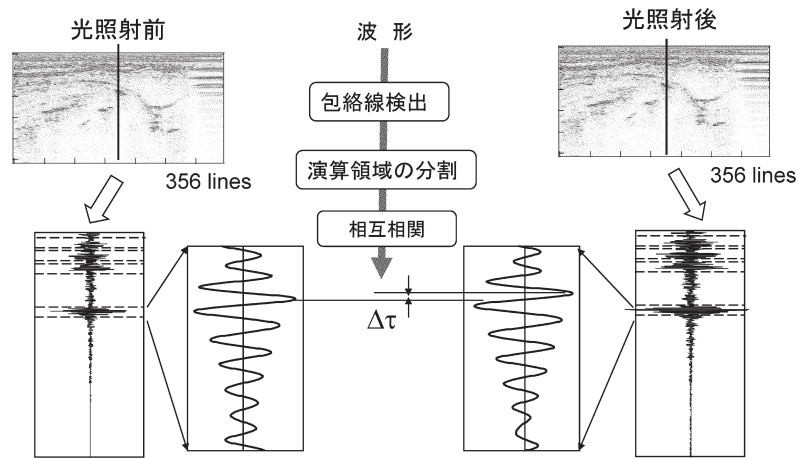


図4 超音波速度変化画像構築の手順。

$$\Delta v = \frac{v^2}{2d} \Delta \tau$$

水などでは超音波速度の温度依存性の実験式が知られているので、超音波の速度変化 Δv が求められれば、光照射による局所的な温度変化を決定できる。さらに、局所的な温度分布から光吸収分布を推定することができる。

本方式では、片側からの照明によって試料内部に光が拡散することが必要である。生体の光散乱は強く、片側からの照明でも生体内で光は十分拡散しており、吸収領域の背後にも回りこんでいることを、生体の散乱係数、吸収係数を用いたモンテカルロシミュレーションで確認している。吸収係数は、散乱領域を小さくするように作用する。

2. 測定装置

超音波エコーパルス速度変化によって光吸収断層画像を得るために、市販の超音波エコー装置を改造し、装置を試作した。図3に示すように、信号処理ボードが取り付けられ、RF信号を外部に取り出すことができる。レーザーの光は、ミラーあるいは、図3のように光ファイバーによって超音波トランスデューサーの横に導かれ、超音波アレイトランスデューサーによる超音波エコーの検出箇所を照

射するようになっている。光照射前後の超音波アレイトランスデューサーのエコーパルスの波形が、信号処理ボードを通じて外部のパーソナルコンピュータに取り込まれる。用いた超音波アレイトランスデューサーの中心周波数は13 MHzである。超音波画像は356ラインからなり、フレーム周波数は34 Hzである。

図4に、超音波速度変化イメージ構築の手順を示す。エコーパルスの波形を内挿によってサンプリング点を増加し、送信パルスの波形をもとに適切な長さに分割する。光照射前後で測定された波形間の対応する部分の相互相関演算を行い、光照射によるパルス間隔の変化を求める。各ラインの波形のシフト部分とシフト量を求めることで、超音波速度変化の二次元分布を得ることができ、温度変化画像、光吸収画像が求められる。

3. 実験

3.1 基礎実験

散乱物質としてイントラリピッドを含む寒天を作製し、一部を黒色に着色した。散乱物質の濃度は、報告されている生体の換算散乱係数 (12 cm^{-1}) になるように調節した。内部の吸収領域は外部からは検出できない。図5に試料の

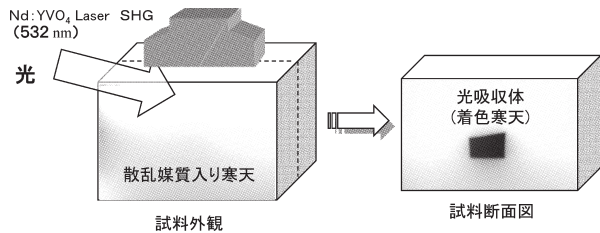


図5 超音波速度変化による光吸収断層画像の基礎実験の試料構造。

外観と断面図を示す。光源にNd:YVO₄レーザーの第二高調波(532 nm)を用い、拡散(0.3 W/cm²)して試料表面を照射した。図3の装置を用いて、通常のBモード画像(振幅画像)と超音波の速度変化画像を測定した。図6(a)は、試料の通常のBモード画像を示す。散乱領域と吸収領域はどちらも同じ寒天であり、密度、弾性定数の差がほとんどないために超音波振幅画像では吸収領域が検出できない。図6(b)は、超音波速度変化分布をグレースケールで照射時間ごとに示している。横のバーは、超音波速度変化から求めた温度変化を示す。超音波速度変化画像では吸収領域が明確に現れている。

本方式の空間分解能を調べるために、図7に、図6(a)と同じ散乱媒質内に2 mm角の着色領域を、それぞれ、2 mm, 4 mm, 6 mm 離して設置したときの超音波速度変化画像を示す。図7において、吸収体の間隔が4 mm, 6 mm の場合には分離が確認されるが、2 mm の場合には不明瞭になっている。本方式による光吸収画像の実際の分解能は、装置の超音波のビーム幅やビーム間隔よりも熱拡散によって決定される。

3.2 金ナノ粒子(球状)の分布測定⁹⁾

ナノ粒子の中で、金ナノ粒子は、生体中で安定な物質と考えられ、また、表面プラズモン共鳴のために特定の波長において光吸収を示す。金ナノ粒子(球状)の光吸収のピークの波長(520 nm)に合った光源として、Nd:YVO₄のレーザーの第二高調波(532 nm)を用いた。

本方式が金ナノ粒子分布に適用できることを示すために、高散乱媒質中の金ナノ粒子の光吸収断層画像を測定した。散乱媒質として、イントラリピッド入りの寒天を用い、その散乱係数を報告されている生体の散乱係数とほぼ同じ値になるように調整した。寒天と混ぜられたナノ粒子は、4×4×15 mm(長さ方向)の大きさのブロックにカットされた。2種類のブロックを準備し、図8の図中に示すように配置した。これらのブロックを互いに5 mm ずらせて配置した。これらの上に、上記の散乱媒質を含む寒天を流し、試料とした。試料を容器に入れ、水で満たした。

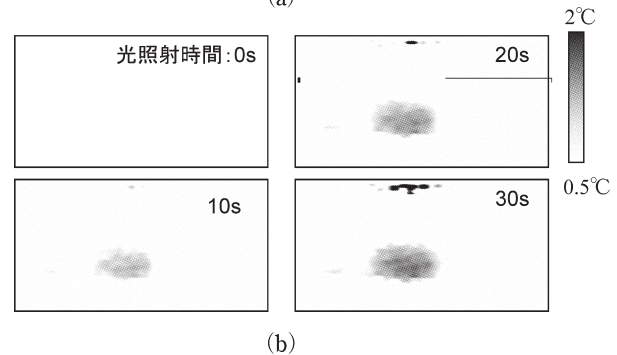
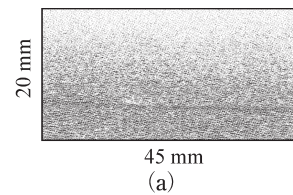


図6 通常のBモード(超音波振幅)画像(a)と超音波速度変化画像(b)。

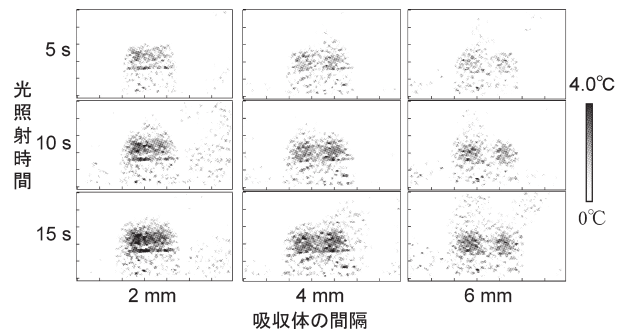


図7 間隔の異なる吸収領域の超音波速度変化画像。

上部に超音波アレイトランスデューサーを配置し、Nd:YVO₄レーザーのSHG光(532 nm)を光源とした。超音波アレイトランスデューサーと光源を、試料に対して相対的に移動させ、超音波の振幅画像と超音波速度変化画像を測定した。図8に、等高線表示で2 mm ごとの超音波速度変化画像を示す。金ナノ粒子が存在する範囲で光吸収分布が観測される。高散乱媒質中で金ナノ粒子の分布領域が検出できることが示された。

3.3 金ナノロッドの分光画像計測¹⁰⁾

金ナノロッドは、棒状の金ナノ粒子であり、そのアスペクト比によってプラズモン共鳴周波数を近赤外領域に設定できる。生体の吸収の少ない波長域で吸収ピークを示すので生体深部に適用でき、ドラッグデリバリーシステムに用いられるリポソームやデンドリマーの標識やフォトサーマル材料としての研究が行われている¹¹⁾。

図9(a)は、試料、光源、超音波アレイトランスデューサーの配置を示している。金ナノロッド(濃度0.1 m mol/

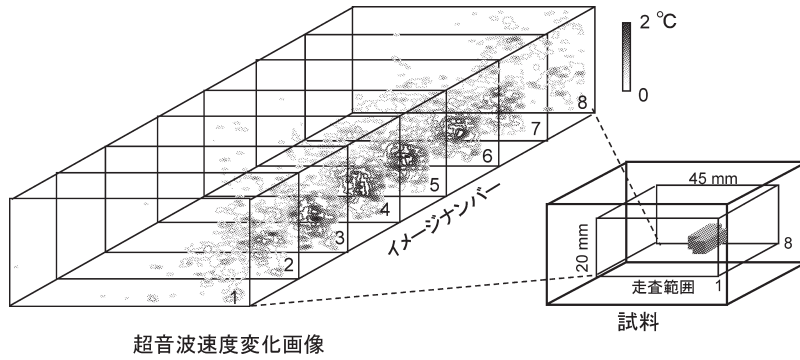


図8 高散乱媒質中の金ナノ粒子 (球状) の超音波速度変化 3D 画像。

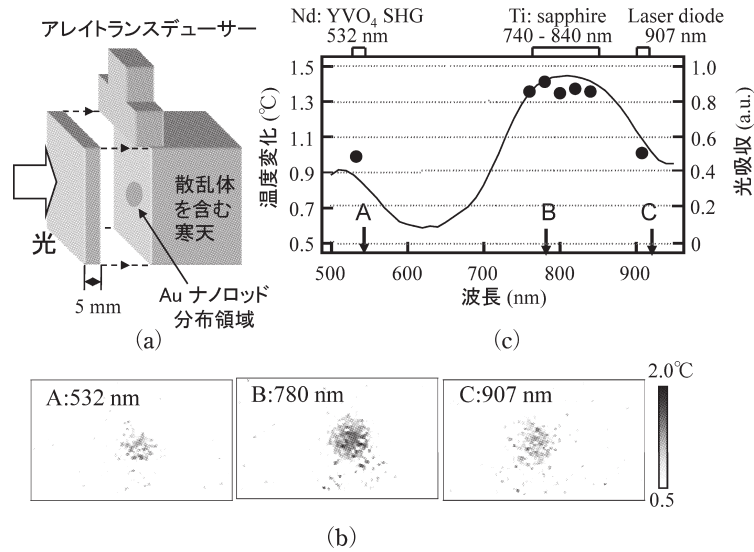


図9 高散乱媒質中の金ナノロッドの超音波速度変化分光画像測定。(a) 試料周辺、(b) 各光源に対する超音波速度変化画像の例、(c) 超音波速度変化の光照射による温度変化。

liter) を寒天に混ぜ、散乱媒質の中に挿入した。散乱媒質としてイントラリピッド入りの寒天を用いた。複数の波長の光源として、Nd:YVO₄レーザーの第二高調波 (532 nm)、Ti:サファイアレーザー (740~840 nm)、半導体レーザー (907 nm) を用いた。これらの光を拡散させて試料に照射し、いずれの光源に対しても表面での照度は 0.1 W/cm² になるように ND フィルターなどを用いて調整した。10 秒ごとに超音波速度変化画像を測定した。図 9 (b) に、532 nm, 780 nm, 907 nm の波長の光を照射したときの超音波速度変化画像をグレイスケールで示している。光吸収領域が現れており、波長依存性がみられる。光吸収領域の速度変化から温度変化を求め、図 9 (c) に黒丸で示した。図中のラインは、分光器を用いて測定した金ナノロッドの水溶液の透過光スペクトルから求めた光吸収スペクトルを示している。近赤外域の 800 nm 付近を中心とする光吸収を示している。黒丸で示した温度変化の値は、光吸収スペ

クトルによく対応していることがわかる。本方式によって、目的物質の分光画像が得られることが示された。これは、目的物質の吸収スペクトルがわかっているならば、複数の波長で超音波速度変化画像を測定することで、他の生体物質の光吸収分布から識別して測定できることを意味する。

3.4 動物組織中の金ナノロッドの分布画像

図 9 (c) の実験で用いた金ナノロッドを寒天に混ぜ、鶏肉中に挿入したものを試料として用いた。超音波アレイトランスデューサーを鶏肉上部に設置し、光源として金ナノロッドの吸収のピーク波長に近い発振波長の半導体レーザー (809 nm) を用いた。半導体レーザー光を光ファイバーで超音波アレイトランスデューサーの傍に導き、図 10 (a) に示すように、鶏肉表面を照射した。表面での光の強度は、皮膚の安全基準 (the ANSI Z 136.1 Safe Use of Lasers Standard) の 0.5 mW/cm² (連続光, 900 nm) にした。通常の超音波振幅画像 (B モード画像) を図 10 (b)

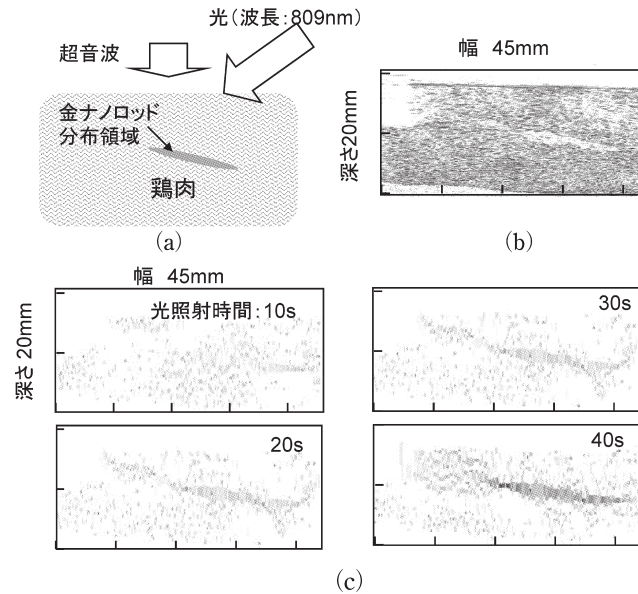


図10 鶏肉中の金ナノロッドの超音波速度変化画像の測定。(a) 試料, (b) Bモード (通常の超音波画像), (c) 超音波速度変化画像。

に示す。Bモード画像では金ナノロッドの分布領域が特定できない。図10(c)に、照射後、10秒ごとの超音波速度変化画像を示す。20秒以後の画像では、鶏肉の中でも金ナノロッドの分布領域が明瞭に現れている。

4. 本方式の実用化のための課題

4.1 測定深さの拡大

光に対する皮膚の安全基準では、連続の近赤外光 (900 nm) ならば 0.5 W/cm^2 以下となっている。現在の装置では、1箇所、あるいは2箇所から照射している。超音波トランスデューサーの周囲に光ファイバーを多数配置すれば、皮膚での安全基準を満たしながら、さらに、深部での光強度の確保が可能であると考えられる。超音波トランスデューサー周囲に8箇所の光源を配置することによって、約4cmの深さまで十分な光強度で変化の少ない拡散光の状態が得られることを、生体組織のデータを用いたモンテカルロシミュレーションによって確認している。

4.2 心臓の鼓動、振動の影響の抑制

本方式の医療診断装置としての実用性を示すためには、*in vivo*での実験が必要である。その場合、測定箇所や条件によっては、心臓の鼓動や振動の影響が懸念される。その対策として、1) より高速走査ができる超音波プロープを選び、鼓動に同期して超音波速度変化画像を検出する。2) 測定中の移動を検出し、補正するプログラムを開発する。3) 組織境界からの信号を使用せず、透過超音波信号を検出し、CTアルゴリズムを用いて画像構成する方法²⁾

の適用が考えられる。

生体深部の光吸収断層画像計測を目的として、超音波速度変化によるイメージング法を提案した。基礎実験を行い、高散乱媒質中の光吸収分布が得られることを示した。がんの診断や治療への応用が期待される金ナノ粒子に適用し、高散乱媒質中でその分布が得られることを示した。また、金ナノロッドは、生体組織の光吸収の少ない近赤外域に吸収のピークをもつので、鶏肉中で分布画像が得られることを示した。照射する光の波長を選ぶことで、分光画像も検出することができた。実際の生体組織の光吸収断層画像には、目的とする物質以外に多くの生体物質による光吸収分布が現れると予測される。分光画像情報は、目的とする物質の分布を抽出するために有効であると考えられる。

現在、本方式のがんの診断法としての可能性を調べるために、生体擬似試料においてヘモグロビン分布、血管造影剤分布、さらに、半導体ナノ粒子分布の計測も行っている。*in vivo*での実験を行い、上記に示した装置、測定方式の改良を行い、新しい診断装置を実現する。

文 献

- 1) H. Horinaka, K. Wada, A. Okasaka, Y. Cho, T. Matsunaka and S. Saimi: "Optical computed tomography imaging of absorbers hidden in scattering medium by detection of ultrasonic phase-shift caused by laser illumination," *Proc. 2000 IEEE Ultrasonic Symp.* (Puerto Rico, 2000) pp. 1709-1712.

- 2) H. Horinaka, T. Matsunaka, T. Iwade, T. Masumura, T. Kobayashi, T. Kiuchi, K. Wada and Y. Cho: "Optical imaging in scattering medium by detection of ultrasonic phase shift due to light illumination," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **41** (2002) 3555-3558.
- 3) H. Horinaka, T. Iwade, Y. Kanetaka, F. Ogushi, T. Matsuyama, K. Wada, T. Matsunaka and Y. Cho: "Imaging of ultrasonic velocity change corresponding to optical absorption distribution," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **42** (2003) 3287-3288.
- 4) M. Pernot, M. Tanter, J. Bercoff, K. R. Waters and M. Fink: "Temperature estimation using ultrasonic spatial compound imaging," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Control*, **51** (2004) 606-615.
- 5) T. M. Allen and P. R. Cullis: "Drug delivery systems: Entering the mainstream," *Science*, **303** (2004) 1818-1822.
- 6) K. Kono, K. Yoshino and T. Takagishi: "Effect of poly (ethylene glycol) grafts on temperature-sensitivity of thermosensitive polymer-modified liposomes," *J. Control Release*, **80** (2002) 321-332.
- 7) M. Eghtedari, A. Oraevsky, J. A. Copland, N. A. Kotov, A. Conjusteau and M. Motamedi: "High sensitivity of *in vivo* detection of gold nanorods using a laser optoacoustic imaging system," *Nano Lett.*, **7** (2007) 1914-1918.
- 8) H. Horinaka, T. Ura, Y. Nakatani, K. Wada and T. Matsunaka: "Spectroscopic three-dimensional imaging of light scattering medium by detection of ultrasonic velocity change owing to light illumination," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **45** (2006) 4761-4763
- 9) H. Horinaka, T. Matsunaka, N. Nakamura, T. Mukaiyama, S. Kawakami, K. Wada, Y. Hirano, C. Kojima and K. Kono: "Gold nanoparticle distribution monitor for drug delivery system based on optically assisted ultrasonic velocity-change imaging," *Electron. Lett.*, **43** (2007) 1254-1255.
- 10) N. Nakamura, T. Mukaiyama, S. Kawakami, T. Matsuyama, K. Wada, T. Matsunaka, K. Kono and H. Horinaka: "Monitoring device of Au nano-particle distribution in living body using ultrasonic velocity change image," *Proc. 2007 IEEE Ultrasonic Symposium* (New York, 2007) P5B-11.
- 11) T. Niidome, M. Yamagata, Y. Okamoto, Y. Akiyama, H. Takahashi, T. Kawano, Y. Katayama and Y. Niidome: "PEG-modified gold nanorods with a stealth character for *in vivo* applications," *J. Control Release*, **114** (2006) 343-347.

(2009年1月14日受理)