超音波/光音響マルチスケールイメージング

Ultrasound/Photoacoustic Multi-Scale Imaging

西條芳文 Yoshifumi SAIJO

アブストラクト 超音波あるいは強力短パルス光の照射により発生する光音響波を用いたイメージングは、波長にほぼ反比例する分解能を有する。医学・生物学領域に限っても、使用周波数は数 MHz から GHz 帯域に達するために、十数 cm から数 μm に達するスケラブルなイメージングが実現している。本稿では、筆者らのグループの研究成果を中心に、これらの画像技術について紹介し、その将来展望について言及する。

キーワード 超音波、波長、解像度、光音響

Abstract The resolution of the image obtained with ultrasound or photoacoustic signals, which are generated by very short and strong pulse light, is inversely proportional to the frequency of the waves. In the field of medicine and biology, the frequency used for imaging is variable between several MHz to GHz range. Thus, the imaging area is from 10–20 cm to micron order. In this article, these imaging technologies, mainly the authors' development are introduced and the future perspective is discussed.

Key words Ultrasound, Wavelength, Resolution, Photoacoustic

1. はじめに

筆者は循環器専門医であり、心臓の運動や血液の流れなど、生体のダイナミクスに直接関与する心血管系のバイオメカニクスの要素に深い関心をもっている。循環器の病気として知られる「動脈硬化」や「心筋梗塞」などは組織の機械的性質がそのまま病名になった例である。もちろん実際の診療では心電図、胸部 X 線写真、心エコー、血管造影、CT (computed tomography), MRI (magnetic resonance imaging), SPECT (single photon emission computed tomography), PET (positron emission tomography) などの各種画像診断手法を駆使しているが、研究では弾性波としての超音波の性質を上手に利用して組織の物理的・機械的特性を計測することに主眼を置いてきた。

東北大学では大正年代から緊密な医工連携研究が行われてきたが、超音波医工学の領域においても 1960 年代の心臓超音波断層図、1980 年代の医学・生物学用超音波顕微鏡、2010 年代の光音響イメージングなど、先端のイメージング技術が開発されてきた。

本稿では、超音波及び光音響イメージングにおける数 μm から十数 cm までのマルチスケールイメージングについて、

筆者らの研究成果を中心に紹介する。

2. 音波の周波数と画像の解像度・深達度

一般的に超音波の波長と周波数の間には式(1)のような関係が成立する。

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (1)$$

λ : 波長, c : 音速, f : 周波数である。

また、凹面振動子により発生した超音波ビームの幅と周波数の間には式(2)が成立する。

$$BD = \frac{1.02Fc}{fD} \quad (2)$$

BD : 中心から強度が 6 dB 低下する超音波ビーム幅, F : 焦点距離, c : 音速, f : 周波数, D : トランスデューサの直径である。

したがって、超音波画像の解像度は周波数にほぼ反比例する。一方、周波数を上げると音波の深達度が低くなるために撮像可能な深さが浅くなるというデメリットもある。図 1 に示すとおり、各周波数帯域の超音波診断の対象として、数 MHz では腹部、心臓、7.5~13 MHz では頸動脈、体表、20~60 MHz では血管内超音波 (IVUS: intravascular ultrasound), 超音波内視鏡 (EUS: endoscopic ultrasound), 100 MHz 以上では超音波顕微鏡が例示されている。経験的には生体内での超音波の深達度は波長の 200~300 倍程度であり、解像度と深達度のトレードオフを考慮して超音波の周波数を選択してすることになる。

医学領域以外に目を向けると、周波数 15~200 kHz を用いた魚群探知機では指向角 (≒ 解像度) が 200 kHz で 12~

西條芳文 非会員 東北大学大学院医工学研究科医工学専攻医療機器創生医工学講座医用イメージング研究分野
E-mail saijo@tohoku.ac.jp
Yoshifumi SAIJO, Nonmember Nonmember (Biomedical Imaging Laboratory, Division of Medical Device Innovation, Major of Biomedical Engineering, Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku University, Japan).
電子情報通信学会 基礎・境界ソサイエティ
Fundamentals Review Vol.15 No.3 pp.181-190 2022 年 1 月
©電子情報通信学会 2022

図1 超音波の周波数と解像度の関係 各周波数における代表的な超音波画像。

15°, 50 kHz で 40° くらいであるが、200 kHz の超音波で水深 100～200 m まで探索することが可能である。したがって、超音波のスケラビリティは実用的にも非常に大きいといえる。

3. 臨床超音波画像

臨床超音波診断装置が備える機能について、基本となる B モード（断層像，本来は brightness mode の意），パルスドプラ（ある 1 点での血流速度の時間経過を観察），連続波ドプラ（ある 1 ライン上での血流の最高速度の時間経過を観察），カラードプラ（超音波ビーム方向の血流速度の二次元分布を観察）は 30 年前には既に確立していた技術で，現在でも実地医療においてはこれらの機能だけで十分に対応可能である。余談であるが，筆者が研究を開始した当時の上司（指導教授ではない）からは「超音波の研究には伸びしろがない」といわれ，研究を続けることができるか不安を覚える時期もあったのは確かである。

一方，この 30 年間で新たに臨床応用された超音波医学の新技术を列举してみる。本稿のメインピックではないので，ここでは簡単に記述するが，それぞれについての成書が発行されるほどの技術や臨床知見の集積がある。

おなかの中の赤ちゃんの表情まで映し出したことで世間の脚光を浴びたりアルタイム三次元エコーは，1980 年代からの研究が 20 世紀末に結実したものである。マイクロバブルを造影剤として用いた造影超音波は虚血性心疾患における心臓の灌流領域の検出や肝臓の RF アブレーション治療の際の治療効果の把握などに有用性を示した。これらの技術は CT で実現されていたものを超音波診断でも実現し，超音波が簡単で手軽なだけでなく，ほかのモダリティと比肩する診断能力を有することを示したものである。

一方，超音波特有の技術として，組織をトランスデューサで僅かに圧迫した際の変位を位相レベルで検出して組織の弾性を推定するエラストグラフィ（elastography, Jonathan Ophir の造語）が 1990 年代に発展した。現在では診断用の超音波トランスデューサから送信された強力な集束波（push beam）により組織を超音波の進行方向に変位させる

ことで組織の弾性を評価する Echosense の FibroScan[®]，同様の push beam によって超音波の進行方向に直交する方向に発生するせん断波を検出するせん断波エラストグラフィなどは，組織のバイオメカニクス計測法あるいは超音波組織性診断法として，各種臨床ガイドラインにも掲載されるまで一般化している。

心臓が収縮・拡張したときの超音波動画像上のスペックルの動きを optical flow により追跡し組織の動きを定量的解析するスペックルトラッキングによる心筋のストレイン（正確には strain rate）イメージングは，心筋自体の収縮能を安定に評価する手法として循環器領域で重要な位置を占めるに至っている。更に最近では B モード画像に時空間フィルタを適用することで微小血流を表示する手法（キャノンメディカルシステムズの SMI[®]，GE の B-flow[®]）などの手法も実用化されている。

IVUS は本邦では 1994 年に保険償還され，当時劇的に発展を遂げた心臓の冠動脈インターベンション治療，特に冠動脈内ステント留置術のほとんどの症例で用いられたため，日本では欧米よりも圧倒的に症例が多く，様々な臨床研究が行われた。IVUS により従来は剖検組織でしか知りえなかった冠動脈の病理が臨床的に観察可能になったことで，虚血性心疾患の病態解明が大きく進展した。当初の IVUS の周波数は 20 MHz であったが，時期をおって高周波数化が進み，現在では 60 MHz の IVUS も上市され，空間分解能，フレームレートとともに従来と比較して大きく向上している。

4. 超音波顕微鏡の歴史と原理

1949 年ロシアの Sokolov は，周波数 3000 MHz の音波と可視光の波長とが同じオーダーであることから，高周波数超音波を用いることにより，光学顕微鏡では観察不可能な不透明な試料を光学顕微鏡と同等の解像度で観察できる超音波顕微鏡の概念を提唱した⁽¹⁾。高周波数技術及びその解析手法が未熟であった当時は実現に至らなかったが，1959 年イリノイ大学の Dunn らにより使用周波数 12 MHz の ultrasonic absorption microscopy が発表され，Sokolov の提案が全くの夢物語ではないことが実証された⁽²⁾。更に，1970 年代，レーダや人工衛星通信開発により高周波数技術が発展し，1972 年 Kessler らによるレーザ光走査型超音波顕微鏡（SLAM: scanning laser acoustic microscopy）や，1973 年 Quate らによる機械走査型超音波顕微鏡（SAM: scanning acoustic microscopy）などが次々に発表され⁽³⁾，その概念の提唱から四半世紀で，数百 MHz 領域の超音波を用いてミクロレベルを可視化する超音波顕微鏡が完成した。

1985 年当時の超音波顕微鏡のトランスデューサは，酸化亜鉛の薄膜を用いた平面圧電素子から送信された超音波を，サファイアロッドの音響レンズにより円錐状に集束することで，200 MHz で 10 μm の解像度を実現した。送信される超音波の強度が弱かったため，80 波程度のバースト波を用い，送信周波数を 10 MHz ずつ変えることで疑似的なパルス応答

図2 超音波顕微鏡における平面振動子、音響レンズと対象物の間の音響カプラの模式図

を得て、組織の厚みと音速を同時計測していた^{(4), (5)}。2001年以降はPVDF-TrFEのような高分子フィルムの圧電素子を凹面加工した凹面振動子から中心周波数80~100 MHzの超音波パルスを送信し、パルス応答を周波数解析することで、種々の音響パラメータを算出している⁽⁶⁾。

図2に示すようにトランスデューサと試料の間には蒸留水や生理的食塩水が音響カプラとして用いられる。トランスデューサは薄切した試料あるいは単層に培養された細胞の上を機械的に二次元走査しながら、超音波を送受信する。したがって、表示される画像はCモード像（試料の表面を上部から俯瞰した像、constant depth mode）になる。

超音波顕微鏡という用語について明確な定義はなく、1970年代にはSAMしか存在しなかったためSAMを超音波顕微鏡とみなしていたが、1990年代後半からUBM（ultrasonic biomicroscope、直訳すると超音波生体顕微鏡）のように、高周波数超音波による高解像度Bモード画像を描画するシステムも出現したため、現在ではいずれも超音波顕微鏡の概念に包含して用いている。

5. 超音波顕微鏡の医学的有用性

超音波医学における超音波顕微鏡の応用は以下に述べる3点を主目的としている。

第1は、組織を無染色で観察可能なことを利用した迅速診断、あるいは細胞に蛍光物質や抗体処理を施さずに生きたまま観察することである。凍結切片を光学顕微鏡で観察するときや培養細胞を位相差顕微鏡で観察するときには、組織・細胞の輪郭は描出されるが、内部はほぼ無色であるため、含有する物質に関する情報はもたらされない。これに対して超音波顕微鏡では、超音波の音響特性の違いにより、組織・細胞内部はあたかも染色を施したかのように描出されるので、診断の正確性が向上する。既に皮膚科領域では、光学顕微鏡と同等の臨床的意義が認められている⁽⁷⁾。

第2の目的は、臨床超音波画像を理解するための基礎的な音響特性データの収集である。脂肪肝や肝組織の線維化など

の超音波組織性状診断の理解のため、数MHz帯域における超音波の強度やエコーパターンと、生検組織の光学顕微鏡所見が対比されてきたが、両者の解像度は100倍近く違い、診断が一致しないことも多かった。ここで光学顕微鏡と同等の解像度の超音波顕微鏡を用いることで、組織の種類と音響特性が密接に関係することが実証され、エコー強度やパターンについての理論的な裏づけが得られるようになった。

第3の目的は、組織のバイオメカニクスに関する情報の収集である。組織弾性と超音波の音速の間には式(3)の関係がある。

$$E = \frac{(1-\sigma)\rho c^2}{(1+\sigma)(1-2\sigma)} \quad (3)$$

E : ヤング率, ρ : 密度, c : 音速, σ : ボアソン比である。また、組織の超音波吸収と組織粘性の間には式(4)の関係がある。

$$\alpha = \frac{2f^2\pi^2}{3\rho c^3} \left(\eta_v + \frac{4}{3}\eta_s \right) \quad (4)$$

α : 吸収, f : 周波数, π : 円周率, ρ : 密度, c : 音速, η_v : 体積粘性率, η_s : せん断粘性率である。

光学顕微鏡では基本的に組織の化学的特性に基づいて染色が行われるが、超音波顕微鏡では組織の機械的特性の違いを音響特性の違いにより検出する。したがって、心臓⁽⁸⁾や動脈硬化⁽⁹⁾あるいは骨など、その物理的な特性が注目される臓器においては、超音波顕微鏡による音響特性計測は非常に重要な情報をもたらすことになる。

6. 超音波顕微鏡による冠動脈の観察

IVUSにおける正常冠動脈像は内膜側から高、低、高エコーの3層構造を示す。超音波顕微鏡による冠動脈組織の観察は、IVUSとはほぼ同じ周波数帯域の超音波を用いて層ごとの音響特性を定量的に計測することで3層構造の成因を明らかにすることができる。

剖検時に摘出した冠動脈組織をホルマリン固定し、10 μm に薄切しスライドガラス上に載せて超音波顕微鏡用試料を作成した。中心周波数80 MHzの超音波顕微鏡により、音速の二次元分布を表示した⁽⁶⁾。

図3は正常冠動脈組織の光学顕微鏡像(a. ヘマトキシリン・エオジン染色)と超音波顕微鏡像(b. 音速分布)である。超音波顕微鏡像では内膜では音速が速く、中膜では遅く、外膜では再び速くなっており、IVUSにおける冠動脈の3層構造を裏付ける結果となっている。

図4は音速の速いコラーゲン線維が主体の内膜肥厚が認められ、いわゆる安定プラークの状態と考えられる。図5では脂肪が存在していたことを示唆する空隙を覆うfibrous capと呼ばれる薄いコラーゲン線維が認められ、いわゆる不安定プラークの状態と考えられる。注視すべきポイントはfibrous capの音速が遅いことである。これらのコラーゲンの音速の違いは、コラーゲンの微細構造の違いに基づくと考えられている。一般に、タイプ1のコラーゲンは硬い機械的特性を

図3 正常冠動脈組織の a. 光学顕微鏡像（ヘマトキシリン・エオジン染色）と b. 超音波顕微鏡像（音速分布） 超音波顕微鏡像はIVUSにおける冠動脈の3層構造を裏付ける。

図4 安定プラークの a. 光学顕微鏡像（ヘマトキシリン・エオジン染色）と b. 超音波顕微鏡像（音速分布），音速の速いコラーゲン線維が主体の内膜肥厚（C）

図5 不安定プラークの a. 光学顕微鏡像（ヘマトキシリン・エオジン染色）と b. 超音波顕微鏡像（音速分布），脂肪が存在していたことを示唆する空隙を覆う fibrous cap（F）と呼ばれる薄いコラーゲン線維の音速は低い

示すが、マクロファージを主体とする細胞の出現により、コラーゲンが変性を受け、その機械的特性が脆弱になる。以前は徐々に血管内腔が狭くなりやがては閉塞することが心筋梗塞の原因と考えられていたが、現在では不安定プラークが破綻することこそが心筋梗塞などの急性冠症候群の原因となることが示されており、超音波顕微鏡による動脈硬化の病態解明に対する有用性が示された一例である⁽¹⁰⁾。

7. 超音波顕微鏡による培養細胞の観察

細胞の力学的特性は様々な細胞機能に関係しており、その

図6 C2C12 細胞内部の a. 音速及び b. 音響インピーダンスの C モード像と c. 音響インピーダンスの B モード像

特性は細胞内分子や細胞骨格の局在によって決定される。したがって、細胞の力学的特性は細胞内部構造や細胞機能に密接に関係しており、超音波顕微鏡を用いた細胞の音響特性の計測により、細胞の力学的特性を明らかにすることには大きな意義がある⁽¹¹⁾。

高分子フィルムの凹面振動子では 150 MHz 以上の高周波数超音波の発生が困難であったため、新たに開発した光学-超音波ハイブリッド顕微鏡⁽¹²⁾では酸化亜鉛薄膜にサファイアロッドの音響レンズを装着した中心周波数 350 MHz の超音波トランスデューサを計測に用いた。また、時間領域と周波数領域の解析を組み合わせることで細胞の厚み、音速、音響インピーダンスなどの音響特性の算出精度を向上させた。図6はC2C12細胞内部の音速及び音響インピーダンスのCモード像と音響インピーダンスのBモード像である。細胞を三次元的に観察することで、細胞の核の音響インピーダンスは低く、細胞骨格の音響インピーダンスは高いことが示され、生きている細胞のバイオメカニクス計測を実現した。

細胞の高精度な音響特性算出を実現することで、今後、力学的特性の関わる疾患の機序解明や試薬の細胞に与える影響の解明などに応用が期待される。

8. 光音響イメージング

ごく短い時間で発振する光源を物質に照射すると、物質中の光吸収体が光エネルギーを吸収し、熱エネルギーに変換される。光吸収体はごく短い時間で温度が上昇し、光吸収体の内部で瞬間的に圧力変化が生じる。光吸収体は光源パルスの照射時間に応じて膨張・収縮を繰り返し、その際に発生する疎密波が周囲の媒質に伝搬する。この現象は光音響効果と呼ばれ、1880年にAlexander Graham Bellによって発表された現象としても知られている。光音響効果により生じる光音響信号の大きさ $P_0(z)$ は式(5)及び(6)で示される⁽¹³⁾。

$$P_0(z) = \Gamma \mu_a F_0 \exp(-\mu_a z) \quad (5)$$

$$\Gamma = \frac{\beta v_s^2}{c_p} \quad (6)$$

Γ : グリュナイゼン定数, β : 体積膨張率, v_s : 物質の音

速, c_p : 定圧比熱, μ_a : 吸光係数, F_0 : 照射された光の体表でのフルエンス, z : 体表からの深さである。

グリュナイゼン定数 (Grüneisen parameter) は本来, 結晶全体の体積によって変化する結晶の格子振動の振動数を近似的に一定とし, 振動数の体積依存性を表す定数であるが, 式(6)に示すとおり音響的特性と熱的特性を関係づけるものである。

光音響効果を効率よく発生させるには, 用いる光源のパルス幅 τ_p に関して, 式(7)及び(8)の条件を満たす必要がある。

$$\tau_p \ll \tau_{str} = \frac{d}{v_s} \quad (7)$$

$$\tau_p \ll \tau_{th} = \frac{d^2}{4\alpha} \quad (8)$$

τ_{str} : 応力緩和時間, τ_{th} : 熱緩和時間, d : 光音響波を発生させる立方体領域の代表的長さ, α : 熱拡散係数である。

式(7)及び(8)はそれぞれ応力閉じ込め条件, 熱閉じ込め条件と呼ばれる。応力閉じ込め条件は光照射中の光吸収体における体積膨張の伝搬を無視できることを示し, 熱閉じ込め条件は光照射中の熱拡散を無視できる条件を示す。生体組織では $\tau_{str} \cong 60$ ns, $\tau_{th} \cong 18$ ms となり, これらの条件を満たすためにナノ秒パルスの光源を使うことで効率よく光音響波を発生させることができる。このとき発生した光音響波は広い周波数帯域をもち, その周波数特性は光音響波の発生源である光吸収体の物性を反映する。また式(5)の吸光係数 μ_a は物質ごとに異なる。

生体組織中の血管内の主な光吸収体である赤血球ヘモグロビン波長 400 及び 530 nm 付近の光を多く吸収し, 皮膚表面付近に多く存在しているメラニンのはほぼ全ての波長帯において光を大きく吸収する。そのため, 同じ物質でも照射する光源の波長によって発生する光音響波の強度は異なり, 逆という物質特有の波長帯域の光を照射することで物質に特異的な光音響信号を得ることができる。

2002 年, ワシントン大学の Wang らのグループが photoacoustic tomography による生体組織イメージングを発表し⁽¹⁴⁾, その後相次いで微小血管のイメージングを発表して以来^{(15)~(17)}, 光音響イメージングは全世界の生体光学及び超音波医学領域の研究者を魅了し, 21 世紀前半において最も進歩した医用イメージングとって過言ではない。

しかし, スケーラビリティという観点では, 超音波イメージングほどの広がりはない。これは, 生体組織内での光の深達度が低く, 実用的には体表 2 cm 程度でしか光音響信号を発生できないからである。体内の診断については, 体腔内光音響イメージングの開発を待つことになる。

9. 光音響イメージングの種類と解像度

光音響イメージングの光源としてはナノ秒レベルの短パルスレーザが多く用いられてきた。しかし, 最近では短パルス・高出力の特殊な LED を光源とする光音響イメージング装置も市販されている。

光音響イメージングでは光の照射と音響 (超音波) の受信様式により大別すると, 光音響トモグラフィー (PAT: photoacoustic tomography), 音響分解能光音響顕微鏡 (AR-PAM: acoustic resolution photoacoustic microscopy), 光学分解能光音響顕微鏡 (OR-PAM: optical resolution photoacoustic microscopy), の 3 種類の光音響イメージングが実用化されている。一般的には, PAT, AR-PAM, OR-PAM の順に解像度が高くなっていく。

PAT の空間分解能は超音波のパルス幅や画像構築法などの細かいパラメータなどの影響もあり, 単純な数式では表すことができないが, およそ超音波トランスデューサの中心周波数に依存する。

AR-PAM の空間分解能 R_{AR} は式(9)で示される。

$$R_{AR} = 0.71 \frac{\lambda_A}{NA_A} = 0.71 \frac{v_A}{NA_A \cdot f_A} \quad (9)$$

NA_A : トランスデューサの開口数, v_A : 媒質中の音速, λ_A : 超音波の波長, f_A : 中心周波数である。

また, OR-PAM の空間分解能 R_{OR} は式(10)で示される。

$$R_{OR} = 0.51 \frac{\lambda_0}{NA_0} \quad (10)$$

NA_0 : 光学系の開口数, λ_0 : レーザの波長である。

本稿では 3 種類の光音響イメージングについて概説する。

10. 光音響トモグラフィー (PAT)

10.1 LED を用いた PAT⁽¹⁸⁾

光源としてレーザの代わりに短パルス, 高エネルギーの LED を用いることで, シンプルな光音響トモグラフィーが実現可能である。LED を用いた PAT は 2015 年プレキシオン株式会社 (現在は CYBERDYNE 株式会社に事業譲渡) から Acoustic X として市販された。図 7 に示すとおり, 中心周波数 7 MHz, 長さ 40.32 mm, 素子間隔 0.315 mm の 128 ch のリニアアレー型超音波トランスデューサの両側に LED アレー光源を設置することで光音響トランスデューサが構築されている。LED アレー光源は直列 26 個の素子 4 列からなり, 1 列めと 3 列めには 820 nm, 2 列めと 4 列めには 940 nm の LED チップが配置される。LED 光のパルス幅は強度半値幅で 70 ns で, パルス繰り返し周波数 4 kHz で駆動する。1 パルスあたりの光エネルギーは 820 nm 光源で 64 μ J, 940 nm 光源で 57 μ J である。本システムでは超音波断層像も画像化できるが, PAT 構築の際には光音響信号を更に 97 dB のアンプにより増幅することで, 深さ方向に 1024 個 (深さ約 38.4 mm) の超音波/光音響信号が取得可能である。画像化領域は, 横 40.32 mm, 縦 38.4 mm である。

図 8a はヒト指の超音波 + 光音響断層像で図 8b はトランスデューサを図 8a の断面に直交する方向に機械走査して, 三次元再構築したものを指の上方から俯瞰した像である。白黒の超音波画像で指の構造, パワー表示で血管が認められる。

図7 リニアアレー型超音波トランスデューサの両側にLEDアレ－光源を設置した光音響トランスデューサ

図8 a. ヒト指の超音波＋光音響断層像, b. トランスデューサの機械走査による三次元再構築像

10.2 パラボリックアレートランスデューサを用いたPAT^{(19)~(21)}

心臓や血管内の血球など速い動きのある組織は機械走査の間に動いてしまい三次元画像構築が困難である。そこで、開口角度90°のパラボラアンテナ様の形状のパラボリックアレートランスデューサを開発した。図9はパラボリックア

図9 パラボリックアレートランスデューサの外観と模式図

図10 AR-PAMによる手掌内の微小血管像

レートランスデューサの外観と模式図で、256個の直径4 mmのLiNbO₃（ニオブ酸リチウム：LN）コンポジット振動子を七つのリング状に配置しており、中心にレーザー照射用の穴が開いている。

超音波の送受信及び光音響信号の受信にはプログラマブル超音波送受信装置（Vantage 256, Verasonics社）を用いた。サンプリング周波数は62.5 MHzである。光源として波長410～1400 nm可変、パルス幅6 ns、繰り返し周波数20 Hz、強度5 mJの波長可変短パルスレーザーを用いた。光ファイバを通して対象に照射したレーザースポット径は1 cm程度で、可視化領域2 mm×2 mm×2 mmにほぼ均一な強度のレーザーが照射された。

xy, xz, yz平面の3断面についてはフレームレート10 Hzでリアルタイム表示が可能である。データ収集は20 Hzで行っているので、オフラインで三次元画像を構築した後はフレームレート20 Hzの動画が観察可能である。図10は手掌の微小血管像である。動画像の観察により微小血管の中を赤血球が移動する様子も観察可能であり、体内の微小血流通視化技術として、現在、最も空間分解能が高いと考えられる。

11. 音響分解能光音響顕微鏡 (AR-PAM) ⁽²²⁾

株式会社アドバンテストとの共同研究により AR-PAM 実用機を開発し、光超音波顕微鏡 Hadatomo™ Z (図 11) として上市した。この装置では、微小血管の酸素飽和度の計測のために 532 nm と 556 nm と異なる波長のマイクロチップレーザー光源を一つずつ用いた。それぞれの光源の照射エネルギーは 16 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ 以下、パルス幅 10 ns、繰り返し周波数 2 kHz で、米国国家規格協会 (ANSI) の安全基準の半分以下を満たしている。

市販バージョンでは中心周波数 80 MHz、圧電材は PVDF-TrFE、素子外形は 3.2 mm、焦点距離 4.0 mm、中心の穴の直径 0.5 mm の単素子トランスデューサを用いたが、研究専用機として中心周波数 60 MHz、圧電材が LN コンポジット、光ファイバを通すために中心の穴の直径 1.0 mm、素子外形は ch1: 3.05 mm, ch2: 4.26 mm, ch3: 5.20 mm, ch4: 6.00 mm、焦点距離 6.0 mm のアニュラレートランスデューサを開発し、両者の画質や被写界深度 (DOF) について比較した。

底面にフィルムを張った直径 3 cm の円筒状構造物に脱気水を入れたアプリケーション内でボイスコイルによりトランスデューサを二次元ラスタスキャンした。皮膚とフィルムの間

図 11 光超音波顕微鏡 Hadatomo™ の外観

には超音波検査用ジェルを薄く塗り光音響信号の透過をよくした。ラスタスキャンの 1 ステップ幅を 15 μm または 30 μm にすること、また 6 mm $\times$ 3 mm または 6 mm $\times$ 6 mm の範囲を観察することが可能なシステムを構築した。

図 12 はほぼ皮下 0.5~1.0 mm の深さの超音波 + 光音響の最大値投影像 (MIP : maximum intensity projection) である。血管の酸素飽和度はカラー表示され、皮膚の毛包、皮脂腺などの構造物は超音波により白黒表示されている。

アニュラレートランスデューサによる DOF 拡大を確認するために、ヒト皮膚の血管網を中心周波数 80 MHz の単素子トランスデューサと中心周波数 60 MHz のアニュラレートランスデューサで観察した。焦点は皮下 0.5 mm に固定し、図 13a は幾何学的焦点付近 0.5 mm 厚の単素子による MIP 像、図 13b は同部位のアニュラレーによる MIP 像、図 13c は深さ 1 mm 付近の単素子による MIP 像、図 13d は同部位のアニュラレーによる MIP 像である。焦点付近では単素子の方がアニュラレーより周波数の高さを反映して解像度が高い。しかし、深さ 1 mm 付近では単素子は焦点から外れているために感度が落ちているのに対し、アニュラレーでは不明瞭ながら血管網が観察されている。

図 12 ほぼ皮下 0.5~1.0 mm の深さの超音波 + 光音響の最大値投影像 MIP : maximum intensity projection.

図 13 a. 焦点付近 0.5 mm 厚の単素子による MIP 像, b. 同部位のアンジュラレーによる MIP 像, c. 深さ 1 mm 付近の単素子による MIP 像, d. 同部位のアンジュラレーによる MIP 像

12. 光学分解能光音響顕微鏡 (OR-PAM) ⁽²³⁾

一般的に、数十 MHz 帯域の超音波のビーム幅は光よりも広く、超音波イメージングでは往路復路ともに超音波が拡散するが、光音響イメージングでは往路は光が照射されるので、超音波の拡散は復路だけであり、音と光を組み合わせることで画像解像度が高くなることが期待される。このため、臨床的シチュエーションでは使いにくいセッティングではあるが、図 14 のように細胞の下方からレーザを照射し、発生した光音響信号が上方に設置された超音波トランスデューサにより受信されるような OR-PAM システムを構築した。レーザ照射には波長 532 nm、パルス幅 6 ns、繰り返し周波数 10 kHz のレーザを用い、ビームエクステンダー、中性濃度フィルタ、開口数 0.13 の対物レンズによりコア径 3 μm のシングルモードファイバにカップリングした。光ファイバより照射されたレーザ光は 50 倍の対物レンズにより集光され、光学収差が無視できる程度の厚み 10 μm のプラスチックディッシュの底を通して細胞に照射された。発生した光音響信号は中心周波数 50 MHz、直径 2.4 mm、焦点距離 3.2 mm の PVDF-TrFE 製の凹面振動子により検出された。光音響信号の強度は極めて小さいため、低ノイズアンプにより 28 dB 増幅し 8 bit の高速デジタイザによりサンプリングレート 5 GS/s で取得した。更に 100 回の平均化を施して 1 ポイントのデータとした。レーザの光軸と凹面振動子の焦点を完全に一致させ、ディッシュを固定した試料保持台をピエゾ素子による精密 xy ステージコントローラで機械走査することで 200 $\times$ 200 ポイントの光音響信号を取得した。全ての機器のコントロールは LabVIEW で行い、MATLAB 2018a

図 14 OR-PAM システムの模式図 細胞の下方からレーザを照射し、発生した光音響信号が上方に設置された超音波トランスデューサにより受信される。

でオフライン解析して画像化した。

この OR-PAM システムの理想的な方位分解能は、波長 532 nm、対物レンズの開口数 0.42 から計算すると 650 nm である。また、距離分解能は超音波トランスデューサの受信スペクトルのピークが 61 MHz であるので 22 μm 程度になる。したがって、対象物の光音響信号の三次元分布を得ることはできるが、実質的には上部から俯瞰した C モード像をもってこの OR-PAM の性能評価を行った。図 15 は USAF

図 15 USAF 1951 分解能ターゲット (Thorlabs 社) のグループナンバー 7 の部分の光音響画像

図 16 a. 赤血球モデルとして用いた直径 10 μm の赤色ポリスチレン球の OR-PAM 像と b. 強拡大像

図 17 a. ウシ赤血球の OR-PAM 像と b. 強拡大像

1951 分解能ターゲット (Thorlabs 社) のグループナンバー 7 の部分の光音響画像で、200 μm $\times$ 200 μm の領域を 0.25 μm ステップで可視化したものである。分解能ターゲットで 2.19 μm まで可視化できたが、光音響信号の立ち上がりなどを計測した結果、方位分解能は 660 nm であることが示された。

図 16a は赤血球モデルとして用いた直径 10 μm の赤色ポリスチレン球の OR-PAM 像と強拡大像 (図 16b) である。図 17 はウシ赤血球 (直径 5 μm 程度でヒト赤血球よりも小さい) の OR-PAM 像 (a) と強拡大像 (b) である。ポリス

チレン球の方は中心近くの光音響信号が強く、赤血球は周辺が強い。これは対象物の形状に起因し、相対的に厚い部分からの光音響信号が強いためと考えられる。

13. まとめ

本稿では高い周波数になると解像度が向上するスケーラビリティを有する超音波／光音響イメージングについて、特に生体組織計測への応用を中心に紹介してきた。

医療従事者の常識としては、超音波はマクロレベルの観察法であり、ミクロレベルの超音波画像は非常識であったが、最近ようやく市民権を得たような気がする。これは中心周波数 60 MHz の IVUS (VISICUBE[®]) や中心周波数 70 MHz の超音波診断装置 (富士フイルム SonoSite Vevo MD[®]) が臨床応用されたことに起因するのだろう。

光音響イメージングについては、光の深達度が現実的には 2 cm 程度にとどまり、そのスケーラビリティは超音波よりも低いが、体腔内での使用が可能なシステムが開発されたり、血流や酸素飽和度だけではなく血糖の分布・代謝などが体外から計測できたりするようになると、超音波とは異なる道筋で発展していくことが期待される。

文 献

- (1) S. Sokolov, "The ultrasonic microscope," Doklady Akademii Nauk SSSR., vol. 64, pp. 333-335, 1949.
- (2) F. Dunn, and W.J. Fry, "Ultrasonic absorption microscope," J. Acoust. Soc. Am., vol. 31, pp. 632-633, 1959.
- (3) R.A. Lemons, and C.F. Quate, "A scanning acoustic microscope," Proc. IEEE Ultrason. Symp., pp. 18-20, 1973.
- (4) H. Okawai, M. Tanaka, N. Chubachi, and J. Kushibiki, "Non-contact simultaneous measurement of thickness and acoustic properties of a biological tissue using focused wave in a scanning acoustic microscope," Jpn. J. Appl. Phys., vol. 26, suppl., pp. 52-55, 1987.
- (5) Y. Saijo, M. Tanaka, H. Okawai, and F. Dunn, "The ultrasonic properties of gastric cancer tissues obtained with a scanning acoustic microscope system," Ultrasound Med. Biol., vol. 17, no. 7, pp. 709-714, 1991.
- (6) Y. Saijo, N. Hozumi, K. Kobayashi, N. Okada, E.D. Santos Filho, H. Sasaki, T. Yambe, and M. Tanaka, "Ultrasonic tissue characterization of atherosclerosis by a speed-of-sound microscanning system," IEEE Trans. Ultrason., Ferroelectr., Freq. Control, vol. 54, no. 8, pp. 1571-1577, 2007.
- (7) R.J. Barr, G.M. White, J.P. Jones, L.B. Shaw, and P.A. Ross, "Scanning acoustic microscopy of neoplastic and inflammatory cutaneous tissue specimens," J. Invest. Dermatol., vol. 96, no. 1, pp. 38-42, 1991.
- (8) Y. Saijo, M. Tanaka, H. Okawai, H. Sasaki, S. Nitta, and F. Dunn, "Ultrasonic tissue characterization of infarcted myocardium by scanning acoustic microscopy," Ultrasound Med. Biol., vol. 23, no. 1, pp. 77-85, 1997.
- (9) Y. Saijo, H. Sasaki, H. Okawai, S. Nitta, and M. Tanaka, "Acoustic properties of atherosclerosis of human aorta obtained with high-frequency ultrasound," Ultrasound Med. Biol., vol. 24, pp. 1061-1064, 1998.
- (10) Y. Saijo, C.S. Jorgensen, and E. Falk, "Ultrasonic tissue characterization of collagen in lipid-rich plaques in apoE-deficient mice," Atherosclerosis, vol. 158, no. 2, pp. 289-295, 2001.
- (11) Y. Saijo, H. Sasaki, M. Sato, S. Nitta, and M. Tanaka,

- "Visualization of human umbilical vein endothelial cells by acoustic microscopy," *Ultrasonics*, vol. 38, no. 1-8, pp. 396-399, 2000.
- (12) Y. Saijo, J. Shikama, K. Yoshida, R. Nagaoka, M. Arakawa, and K. Kobayashi, "Multiparametric characterization of a single cell by an ultrasound and optical combined microscope," *Proc. 2014 IEEE Int. Ultrason. Symp.*, pp. 727-730, 2014.
 - (13) M. Xu and L.V. Wang, "Photoacoustic imaging in biomedicine," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 77, 041101, 2006.
 - (14) X.D. Wang, Y. Xu, M.H. Xu, S. Yokoo, E.S. Fry, and L.V. Wang, "Photoacoustic tomography of biological tissues with high cross-section resolution: reconstruction and experiment," *Med. Phys.*, vol. 29, no. 12, pp. 2799-2085, 2002.
 - (15) X.D. Wang, G. Ku, M.A. Wegiel, D.J. Bornhop, G. Stoica, and L.V. Wang, "Noninvasive photoacoustic angiography of animal brains in vivo with near-infrared light and an optical contrast agent," *Optics Letters*, vol. 29, no. 7, pp. 730-732, 2004.
 - (16) G. Ku, X.D. Wang, X.Y. Xie, G. Stoica, and L.V. Wang, "Imaging of tumor angiogenesis in rat brains in vivo by photoacoustic tomography," *Appl. Opt.*, vol. 44, no. 5, pp. 770-775, 2005.
 - (17) K. Maslov, G. Stoica, and L.V. Wang, "In vivo dark-field reflection-mode photoacoustic microscopy," *Optics Letters*, vol. 30, no. 6, pp. 625-627, 2005.
 - (18) 阿賀野俊孝, 佐藤直人, 繁田裕介, 上村哲司, 粟津邦男, "LED 光源光音響イメージングによるヒトリンパ系の in vivo リアルタイム画像化," *日本レーザー医学会誌*, vol. 39, no. 1, pp. 11-16, 2018.
 - (19) R. Nagaoka, T. Tabata, R. Takagi, S. Yoshizawa, S. Umemura, and Y. Saijo, "Development of real-time 3-D photoacoustic imaging system employing spherically curved array transducer," *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelectr., Freq. Control*, vol. 64, no. 8, pp. 1223-1233, 2017.
 - (20) R. Nagaoka, T. Tabata, S. Yoshizawa, S. Umemura, and Y. Saijo, "Visualization of murine lymph vessels using photoacoustic imaging with contrast agents," *Photoacoustics*, vol. 9, pp. 39-48, 2018.
 - (21) R. Nagaoka, S. Yoshizawa, S. Umemura, and Y. Saijo, "Basic study of improvement of axial resolution and suppression of time side lobe by phase-corrected Wiener filtering in photoacoustic tomography," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 57, 07LD11, 2018.
 - (22) Y. Saijo, T. Ida, H. Iwazaki, J. Miyajima, H. Tang, R. Shintate, K. Sato, T. Hiratsuka, S. Yoshizawa, and S. Umemura, "Visualization of skin morphology and microcirculation with high frequency ultrasound and dual-wavelength photoacoustic microscope," *Proc. SPIE, 10878, Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2019*, 108783E, 2019.
 - (23) R. Shintate, T. Morino, K. Kawaguchi, R. Nagaoka, K. Kobayashi, M. Kanzaki, and Y. Saijo, "Development of optical resolution photoacoustic microscopy with sub-micron lateral resolution for visualization of cells and their structures," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 59, SKKE11, 2020.

(US 研究会提案, 2021 年 9 月 11 日受付,
2021 年 10 月 12 日再受付)

西條 芳文 (非会員)

1988 東北大・医卒. 1993 同大学院博士課程了.
以来, 臨床循環器病学, 心エコー, 高周波数超音波による生体イメージング, 血流イメージング, 光音響イメージングの研究に従事. 現在, 東北大・医工学研究科・教授. 医博. 1997 年度世界超音波医学会臨床部門最優秀論文賞受賞. 著書「Vascular Ultrasound」など.