

名古屋大学博士論文

波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いた高分解能かつ  
高侵達な生体イメージング

2017 年 6 月

名古屋大学大学院工学研究科

量子工学専攻

川越寛之

(指導教員 西澤典彦 教授)

# 目次

<b>第 1 章</b>	<b>序論</b>	<b>1</b>
1.1	研究の背景	1
1.2	光コヒーレンストモグラフィ (OCT)	3
1.3	本研究の目的	4
1.4	本論文の構成	5
<b>第 2 章</b>	<b>OCT イメージングの基礎</b>	<b>13</b>
2.1	はじめに	13
2.2	OCT イメージングにおける断層像・3 次元像の構築手順	13
2.3	低コヒーレンス干渉と OCT イメージングにおける深さ方向分解能	15
2.4	OCT イメージングの測定感度	18
2.5	超広帯域光源を用いた超高分解能 OCT	20
2.6	波長分散が深さ方向分解能に与える影響	23
<b>第 3 章</b>	<b>波長 1.7 <math>\mu\text{m}</math> 帯を用いた高侵達な生体イメージング</b>	<b>29</b>
3.1	はじめに	29
3.2	近赤外光を用いた生体イメージングにおける光減衰	29
3.3	波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯光源を用いた生体イメージングの高侵達化	32
3.4	1.7 $\mu\text{m}$ 帯 OCT イメージング	34
<b>第 4 章</b>	<b>高散乱かつ水を多く含む試料における OCT イメージングの 波長依存性の比較</b>	<b>41</b>
4.1	はじめに	41
4.2	OCT イメージングの波長依存性の評価系	41
4.3	生体ファントムの OCT イメージングの波長依存性の比較結果	47
4.4	考察と結論	54

<b>第 5 章</b>	<b>高出力 SC 光を用いた波長 1.7 <math>\mu\text{m}</math> 帯超高分解能 OCT の 高感度・高侵達化</b>	<b>59</b>
5.1	はじめに	59
5.2	高繰り返し超短パルスファイバレーザを用いた高出力な 1.7 $\mu\text{m}$ 帯 SC 光生成システムの概要	60
5.3	SWNT フィルムを用いた 高繰り返し超短パルスファイバレーザの開発	61
5.4	高繰り返し超短パルスファイバレーザに基づく 1.7 $\mu\text{m}$ 帯高出力 SC 光の生成	65
5.5	波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯高出力 SC 光源を用いた 超高分解能 OCT イメージング	68
5.6	高散乱体の OCT イメージング比較	70
5.7	考察と結論	74
<b>第 6 章</b>	<b>高速, 高侵達, 高分解能な生体イメージングを可能にする 1.7 <math>\mu\text{m}</math> 帯超高分解能スペクトルドメイン OCT (SD-OCT)</b>	<b>79</b>
6.1	はじめに	79
6.2	1.7 $\mu\text{m}$ 帯 SD-OCT における深さ方向分解能と 測定深度のトレードオフ	80
6.3	高分解能と広いイメージングレンジを両立する フルレンジ SD-OCT	86
6.4	1.7 $\mu\text{m}$ 帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システム	91
6.5	フルレンジ SD-OCT イメージング結果	98
6.6	考察と結論	102
<b>第 7 章</b>	<b>1.7 <math>\mu\text{m}</math> 帯超高分解能 OCT を用いた生体深部イメージング における空間分解能の定量的な評価</b>	<b>107</b>
7.1	はじめに	107
7.2	生体中における深さ方向分解能の評価系	108

7.3	測定結果	113
7.4	考察と結論	122
<b>第 8 章</b>	<b>結論と今後の展望</b>	<b>127</b>
8.1	結論	127
8.2	今後の展望	130
	<b>謝辞</b>	<b>135</b>
	<b>本研究に関する学術発表</b>	<b>136</b>



# 第 1 章 序論

## 1.1 研究の背景

われわれの体内では、約 60 兆個の細胞から成る生命システムが構築されている。この生命システムの中で、種々の酵素反応、遺伝情報の転写や翻訳、免疫反応、疾患の発生など複雑で高度な生命現象が生じている[1-6]。生命現象を理解することは、“生命”とは何であるのかを追及する基礎生物学や、疾患のメカニズムおよびその治療法・予防法を研究する医学分野において大きな価値がある。

生体中で起こる生命現象は、単一の細胞でなく、複数の細胞やその周辺環境の影響を多大に受けて発生・変化することが良く知られている[1-6]。さらに、近年の研究では、細胞集団の 3 次元的な空間分布からも影響を受けることが分かってきている[7-14]。したがって、生命現象を理解するためには、3 次元的に分布している細胞集団を同時に、かつ、それぞれの細胞がどのように生命現象に寄与しているかを調べる必要がある。

生命現象を理解する上で、現象を直接画像化するバイオイメージング手法は極めて重要な技術である。画像から得られる空間的・時間的情報は、複雑な生命現象をシンプルに、かつより深く理解する手助けとなる。生命現象のイメージングにおいて、生体へのダメージが少なく、高い空間分解能を有する光イメージング法は非常に強力なツールである[15-17]。これまでに、光学顕微鏡を代表とする光イメージングによって、微生物の発見や細胞・細胞内器官の同定など、生物学・医学分野の発展に欠かすことのできない重要な知見が得られてきた[1,4,5]。そして近年、生体内部で起こる生命現象をより深く理解するために、生命現象を 3 次元的かつ高分解能に観察できる光イメージング法の実現が求められている。

生体組織を高分解能かつ、より深く（高侵達に）イメージングするために、様々な光イメージング法が研究されている。本論文では、サンプルの表面から観察可能な最大の深さを、“侵達長”という言葉で表す。図 1.1 に生体組織のイメージングにおける光イメ

ーシング法ごとの空間分解能および侵達長の典型値, および, マウス脳のイメージング報告例における分解能と侵達長を示す.

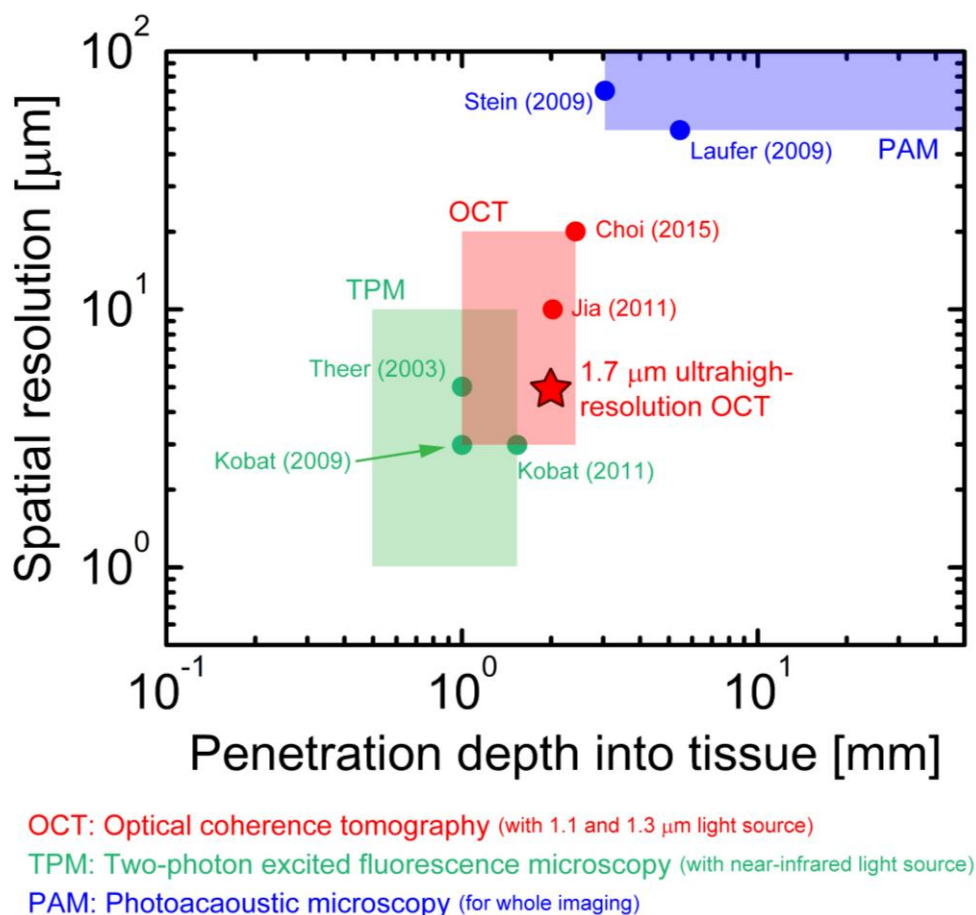


図 1.1 生体組織のイメージングにおける空間分解能と侵達長.

●は, マウス脳のイメージング報告例における分解能と侵達長を示す.

近赤外域 (波長  $>0.8 \mu\text{m}$ ) の高出力な超短パルス光源によって, 生体内で非線形効果 (2光子励起蛍光など) を励起しイメージングを行う非線形顕微鏡 (2光子励起蛍光顕微鏡) は, 非常に高い空間分解能 (約  $1 \mu\text{m}$ ) で生体組織の高侵達なイメージングが行える技術である[18,19]. 従来の可視光を用いた顕微鏡と異なり, 生体中での光減衰が小さい近赤外光をもちいることで, 生体組織に対して  $1 \text{ mm}$  程度の侵達長が達成できる[20–23]. 様々な蛍光標識や蛍光タンパク質と組み合わせることで, 生体中の特定の分子のみをイメージングすることができ, 生体組織の深部で起こる生命現象の解明に有効な手法の一つである[18–23]. 生体中での光吸収によって発生する超音波を検出してイメージング

を行う超音波顕微鏡は、超音波が生体中で受ける信号減衰量が光に比べて 2-3 桁小さいことから、数 mm から数 cm と非常に高侵達なイメージングが可能で、生体中の器官や組織全体をまるごとイメージングすることが実現されている[24-29]。非線形顕微鏡や超音波顕微鏡を用いた、生体組織の高侵達かつ高分解能なイメージングが積極的に研究・開発されているが、高侵達性と高分解能性を両立するイメージングの実現には至っていない。例えば、生物学・医学分野で近年盛んに研究が行われているマウスやラットの脳のイメージングでは、組織中に存在する神経細胞や毛細血管の太さが 10  $\mu\text{m}$  前後で、表面から 1 mm 以上深部に存在するため[20,22]、脳組織における生命現象を解明するためには、5  $\mu\text{m}$  程度の空間分解能と 2 mm 程度の侵達長を持ち合わせたイメージング法が必要である。

## 1.2 光コヒーレンストモグラフィ (OCT)

生体内を高分解能かつ 3 次元的に観察できる技術の候補の一つに、光コヒーレンストモグラフィ (Optical coherence tomography: OCT) がある[30-33]。OCT では、広帯域光源と干渉計を用いた低コヒーレンス干渉計測によって、高い空間分解能性 (5  $\mu\text{m}$  程度) と高感度・高侵達性 (1-2 mm) を実現し、光学的セクショニングによる断層イメージングが行える。また、生体内部から返ってくる散乱光のエコー (振幅と位相情報) を検出することで、サンプルの深さ方向に沿った情報を一度に取得でき、高速な断層・3 次元イメージングが行える。さらに、生体内の構造および屈折率分布から生じる散乱光を信号光とするため、染色や切片化といった前処理が不要で、生体組織をありのままに観察することができる。

これまでに OCT イメージングによって、生物学・医学分野における重要な知見が数多く得られてきた。1991 年に Fujimoto らの研究グループは、OCT を用いて網膜の非破壊イメージングを実現し、網膜が複数の薄い層から成り立っていることを初めて明らかにした[30]。この発見は、従来の切片化を伴う病理検査では明らかにできなかった。OCT による非破壊イメージングは現在の眼科では必要不可欠な技術となっており、様々な疾

患（白内障，緑内障，網膜剥離など）に対する早期診断法や術後経過の観察法として用いられている[32–34]．さらに，生物学で脊椎動物のモデル動物として使用されるメダカやゼブラフィッシュの OCT イメージングによって，生体中の器官の発生や機能変化に関する知見が得られている[35–39]．近年，OCT を用いた生体組織や生命現象の観察の応用範囲の拡大が期待されており，皮膚下のガン組織の早期診断・治療の経過観察，脳組織中の情報伝達のメカニズム解明等を OCT によって明らかにしようとする試みが精力的に続けられている[40–45]．しかし，脳や皮膚といった高散乱組織の OCT イメージングでは，組織内部への侵達長が 1 mm 程度に制限されており，深部の構造や深部で生じる生命現象を観察することは困難であった．近年，長波長帯光源を用いた高侵達な OCT イメージングシステムが報告されているが，空間分解能が 20  $\mu\text{m}$  程度に制限されており，高侵達かつ高分解能な高散乱体イメージングは困難であった[46,47]．高散乱組織に対して高侵達かつ高分解能な OCT イメージングが実現すれば，生命現象をより深く理解することができ，生物学・医学分野の発展に大きく貢献することができると期待される．

### 1.3 本研究の目的

本研究の目的は，脳や皮膚といった高散乱組織の深部を高分解能かつ高侵達にイメージングできる技術の実現である（図 1.1 中の★印）．近年，より高侵達な生体イメージングを可能にするためのアプローチの一つとして，高散乱な生体組織中における信号減衰が小さい波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の光が注目されている[48–59]．本研究では，光の干渉によって高侵達かつ高分解能なイメージングが行える OCT に，波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の光源を用いることで，高散乱組織の深部における高分解能かつ高侵達な 3 次元イメージングが実現できるのではないかと考え，1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT 技術の開発を行った．さらに，1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT による生体イメージングの基本的な知見を得るために，OCT イメージングの波長依存性や空間分解能の変化を評価した．

## 1.4 本論文の構成

本論文は全 8 章で構成される．以下に各章の内容を記す．

### 第 1 章 序論

本研究の背景，研究の目的および本論文の構成を記した．

### 第 2 章 OCT イメージングの基礎

全ての OCT イメージングに共通する，広帯域光源と干渉計を用いた低コヒーレンス干渉について述べ，OCT イメージングにおける高感度・高侵達性および高分解能性がどのように実現されているかについて説明する．さらに，細胞レベルでの高空間分解能なイメージングを可能にする，超広帯域なスペクトル光源を用いた超高分解能 OCT を紹介する．

### 第 3 章 波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯を用いた高侵達な生体イメージング

高散乱な生体組織におけるイメージングの侵達長の向上に有効な長波長帯光源の利用，特に波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の活用について，生体イメージングにおける侵達長の制限要因とともに解説する．これまでに報告されている 1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いた OCT イメージングについても述べ，超広帯域光源を用いた 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT の可能性と課題について述べる．

### 第 4 章 高散乱かつ水を多く含む試料における OCT イメージングの波長依存性

1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いた生体イメージングにおける侵達長および画像コントラストの評価を目的とし，生体模擬試料（生体ファントム）を用いた OCT イメージングの侵達長と画像コントラストの波長依存性の比較を予備実験として行った．生体ファントムの OCT イメージング結果から，1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いることで，高散乱な組織イメージングにおいて，侵達長および深部における画像コントラストが向上することを示す．

## 第5章 1.7 $\mu\text{m}$ 帯高出力 SC 光源による 1.7 $\mu\text{m}$ 帯超高分解能 OCT の高侵達化

1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの高侵達化を目指して行った、高繰り返し超短パルスファイバレーザの開発およびそれを用いた高出力 1.7  $\mu\text{m}$  帯超広帯域光の生成について述べる。さらに、開発した高出力光源を用いて高感度・高侵達な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングを実現したのでそれについても述べる。

## 第6章 高速、高侵達、高分解能な生体イメージングを可能にする 1.7 $\mu\text{m}$ 帯超高分解能スペクトルドメイン OCT (SD-OCT)

高速、高侵達かつ高分解能な生体深部イメージングの実現を目指し開発した、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 SD-OCT システムについて説明する。位相シフト法に基づくフルレンジ法を用いて、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT における深さ方向分解能とイメージングレンジ（測定可能深度）のトレードオフを回避し、高分解能かつ高侵達な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT イメージングを実現した。開発した SD-OCT を用いてマウス脳の高速、高侵達かつ高分解能な 3 次元イメージングを行ったのでその結果について述べる。

## 第7章 1.7 $\mu\text{m}$ 帯超高分解能 OCT を用いた生体深部イメージングにおける空間分解能の定量的な評価

超広帯域なスペクトル光源を用いる 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による生体深部イメージング時の深さ方向分解能の変化について定量的な評価を行った。生体深部イメージングにおいても、分散補償を行うだけで高空間分解能が達成できることを示した。

## 第8章 結論と今後の展望

本論文の成果をまとめ、総括と生体イメージング実現に向けた展望を記す。

## 第1章に関する参考文献

- [1] 中束 嘉晃, 生命の科学—細胞の分子的理解— (培風館, 1998).
- [2] 池北 雅彦, 榎並 勲, 辻 勉, 生物を知るための生化学 (丸善, 2011).
- [3] 安藤 祥司, 熊本 栄一, 兒玉 浩明, 高崎 洋三, 生命の化学—バイオサイエンスの基礎づくり (化学同人, 2001).
- [4] 中村 運, 基礎生物学—分子と細胞レベルから見た生命像 (培風館, 2014).
- [5] 曾我部 正博, 臼倉 治郎, バイオイメーjing (共立出版, 1998).
- [6] 畑山 巧, ベーシック生化学 (化学同人, 2009).
- [7] 竹澤 俊明, 動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス, 第4章 (2) 生体内環境モデルとなる培養担体の開発 (シーエムシー出版, 2007).
- [8] 渡邊 昌俊, 高木 陽光, 3次元培養細胞における前立腺がん細胞の生物学的特性, *薬学雑誌* **128**(1), 37–44 (2008).
- [9] 草森 浩輔, 西川 元也, 高橋 有己, 高倉 善信, 細胞スフェロイド化技術の開発と細胞治療への応用, *Drug Delivery System* **28**(1), 45–53 (2013).
- [10] K. M. Yamada, and E. Cukierman, “Modeling Tissue Morphogenesis and Cancer in 3D,” *Cell* **130**, 601–610 (2007).
- [11] L. G. Griffith, and M. A. Swartz, “Capturing complex 3D tissue physiology in vitro,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 211–224 (2006).
- [12] G. D. Prestwich, “Simplifying the Extracellular Matrix for 3-D Cell Culture and Tissue Engineering: A Pragmatic Approach,” *J. Cell. Biochem.* **101**, 1370–1383 (2007).
- [13] J. Lee, M. J. Cuddihy, and N. A. Kotov, “Three-Dimensional Cell Culture Matrices: State of the Art,” *Tissue Eng. Part B* **14**(1), 61–86 (2008).
- [14] R. Edmondson, J. J. Broglie, A. F. Adcock, and L. Yang, “Three-Dimensional Cell Culture Systems and Their Applications in Drug Discovery and Cell-Based Biosensors,” *Assay Drug Dev Technol.* **12**(4), 207–218 (2014).
- [15] 佐治 英郎, 田畑 泰彦編, ますます広がる分子イメージング技術 (メディカル ドゥ, 2008).

- [16] 浜地 格, 二木 史朗編, 生命現象を理解する分子ツール (化学同人, 2010).
- [17] 日本化学会編, ここまで進んだバイオセンシング・イメージング (化学同人, 2012).
- [18] P. TC So, “Two-photon Fluorescence Light Microscopy,” *Encyclopedia of Life Science* (2002).
- [19] F. Helmchen, and W. Denk, “Deep tissue two-photon microscopy,” *Nat. Methods* **2**(12), 932–940 (2005).
- [20] P. Theer, M. T. Hasan, and W. Denk, “Two-photon imaging to a depth of 1000  $\mu\text{m}$  in living brains by use of a  $\text{Ti}:\text{Al}_2\text{O}_3$  regenerative amplifier,” *Opt. Lett.* **28**(12), 1022–1024 (2003).
- [21] D. Kobat, M. E. Durst, N. Nishimura, A. W. Wong, C. B. Schaffer, and C. Xu, “Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation,” *Opt. Express* **17**(16), 13354–13364 (2009).
- [22] D. Kobat, N. G. Horton, and C. Xu, “In vivo two-photon microscopy to 1.6-mm depth in mouse cortex,” *J. Biomed. Opt.* **16**(10), 106014 (2011).
- [23] R. Kawakami, K. Sawada, A. Sato, T. Hibi, Y. Kozawa, S. Sato, H. Yokoyama, and T. Nemoto, “Visualizing hippocampal neurons with in vivo two-photon microscopy using a 1030 nm picosecond pulse laser,” *Sci. Rep.* **3**, 1014 (2013).
- [24] 下村 隆, 光を音に変換する光音響効果を利用した Photoacoustic Imaging (*Dojin news* **145**, 2012). <http://www.dojindo.co.jp/letterj/145/index.html>
- [25] 石原 美弥, 4. 超音波イメージングの最新動向 1) 光音響イメージングの現状と展望, *インナービジョン* **29**(7), 45–48 (2014).
- [26] J. Xia and L. V. Wang, “Small-Animal Whole-Body Photoacoustic Tomography: A Review,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **61**(5), 1380–1329 (2014).
- [27] J. Laufer, E. Zhang, G. Raivich, and P. Beard, “Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner,” *Appl. Opt.* **48**(10), D299–D306 (2009).
- [28] E. W. Stein, K. Maslov, and L. V. Wang, “Noninvasive, in vivo imaging of the mouse brain using photoacoustic microscopy,” *J. Appl. Phys* **105**, 102027 (2009).



- [29] J. Yao and L. V. Wang, “Photoacoustic brain imaging: from microscopic to macroscopic scales,” *Neurophotonics* **1**(1), 011003 (2014).
- [30] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, and J. G. Fujimoto, “Optical coherence tomography,” *Science* **254**(5035), 1178–1181 (1991).
- [31] J. M. Schmitt, “Optical coherence tomography (OCT): A Review,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.* **5**(4), 1205–1215 (1999).
- [32] W. Drexler, M. Liu, A. Kumar, T. Kamali, A. Unterhuber, and R. A. Leitgeb, “Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality,” *J. Biomed. Opt.* **19**(7), 071412 (2014).
- [33] J. G. Fujimoto and W. Drexler, “Introduction to OCT,” Chap. 1 in *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., 3–64, Springer Reference (2015).
- [34] M. Adhi and J. S. Duker, “Optical coherence tomography — current and future applications,” *Curr. Opin. Ophthalmol.* **24**(3), 213–221 (2013).
- [35] F. M. Gladys, M. Matsuda, Y. Lim, B. J. Jackin, T. Imai, Y. Otani, T. Yatagai, and B. Cense, “Developmental and morphological studies in Japanese medaka with ultra-high resolution optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express* **6**(2), 297–308 (2015).
- [36] M. W. Jenkins and A. M. Rollins, “4-D OCT in Developmental Cardiology,” Chap. 65 in *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., 2003–2023, Springer Reference (2015).
- [37] A. L. Huckenpahler, M. A. Wilk, R. F. Cooper, F. Moehring, B. A. Link, J. Carroll, and R. F. Collery, “Imaging the adult zebrafish cone mosaic using optical coherence tomography,” *Vis. Neurosci.* **33**, e011 (2016).
- [38] K. D. Rao, A. Alex, Y. Verma, S. Thampi, and P. K. Gupta, “Real-time in vivo imaging of adult Zebrafish brain using optical coherence tomography,” *J. Biophotonics* **2**(5), 288–291 (2009).

- [39] T. J. Bailey, D. H. Davis, J. E. Vance, and D. R. Hyde, "Spectral-domain optical coherence tomography as a noninvasive method to assess damaged and regenerating adult zebrafish retinas," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **53**(6), 3126–3138 (2012).
- [40] J. Welzel, "Optical coherence tomography in dermatology: a review," *Skin Res. Technol.* **7**, 1–9 (2001).
- [41] M. C. Pierce, J. Strasswimmer, B. H. Park, B. Cense, and J. F. de Boer, "Advances in Optical Coherence Tomography Imaging for Dermatology," *J. Invest. Dermatol.* **123**, 458–463 (2004).
- [42] Y. Yasuno, S. Makita, Y. Sutoh, M. Itoh, and T. Yatagai, "Birefringence imaging of human skin by polarization-sensitive spectral interferometric optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **27**(20), 1803–1805 (2002).
- [43] G. Liu and Z. Chen, "Optical Coherence Tomography for Brain Imaging," Chap. 7 in *Optical Methods and Instrumentation in Brain Imaging and Therapy*, S. J. Madsen, Ed., 157–172, Springer (2013).
- [44] E. Osiac, T. A. Balseanu, B. Catalin, L. Mogoanta, C. Gheonea, S. N. Dinescu, C. V. Albu, B. V. Cotoi, O. S. Tica, and V. Sfredel, "Optical coherence tomography as a promising imaging tool for brain investigations," *Rom. J. Morphol. Embryol.* **55**, 507–512 (2014).
- [45] S. Tamborski, H. C. Lyu, H. Dolezyczek, M. Malinowska, G. Wilczynski, D. Szlag, T. Lasser, M. Wojtkowski, and M. Szkulmowski, "Extended-focus optical coherence microscopy for high-resolution imaging of the murine brain," *Biomed. Opt. Express* **7**(11), 4400–4414 (2016).
- [46] W. J. Choi, and R. K. Wang, "Swept-source optical coherence tomography powered by a 1.3- $\mu\text{m}$  vertical cavity surface emitting laser enables 2.3-mm-deep brain imaging in mice in vivo," *J. Biomed. Opt.* **20**(10), 106004 (2015).
- [47] Y. Jia, and R. K. Wang, "Label-free in vivo optical imaging of functional microcirculations within meninges and cortex in mice," *J. Neurosci. Methods* **194**(1), 108–115 (2010).
- [48] U. Sharma, E. W. Chang, and S. H. Yun, "Long-wavelength optical coherence tomography at 1.7  $\mu\text{m}$  for enhanced imaging depth," *Opt. Express* **16**(24), 19712–19723 (2008).

- [49] V. M. Kodach, J. Kalkman, D. J. Faber, and T. G. van Leeuwen, “Quantitative comparison of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm,” *Biomed. Opt. Express* **1**(1), 176–185 (2010).
- [50] S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, and K. Itoh, “Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  Region with Fiber Laser Supercontinuum in Low-Water-Absorption Samples,” *Appl. Phys. Express* **4**, 052501 (2011).
- [51] S. Ishida and N. Nishizawa, “Quantitative comparison of contrast and imaging depth of ultrahigh-resolution optical coherence tomography images in 800–1700 nm wavelength region,” *Biomed. Opt. Express* **3**(2), 282–294 (2012).
- [52] P. Wang; H. W. Wang; M. Sturek, and J. X. Cheng, “Bond-selective imaging of deep tissue through the optical window between 1600 and 1850 nm,” *J. Biophotonics* **5**(1), 25–32 (2012).
- [53] N. G. Horton, K. Wang, D. Kobat, C. G. Clark, F. W. Wise, C. B. Schaffer and C. Xu, “In vivo three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain,” *Nat. Photon.* **7**, 205–209 (2013).
- [54] C. Xu and F. W. Wise, “Recent advances in fibre lasers for nonlinear microscopy,” *Nat. Photon.* **7**, 875–882 (2013).
- [55] L. A. Sordillo, Y. Pu, S. Pratavieira, Y. Budansky, and R. R. Alfano, “Deep optical imaging of tissue using the second and third near-infrared spectral windows,” *J. Biomed. Opt.* **19**(5), 056004 (2014).
- [56] S. P. Chong, C. W. Merkle, D. F. Cooke, T. Zhang, H. Radhakrishnan, L. Krubitzer, and V. J. Srinivasan, “Noninvasive, in vivo imaging of subcortical mouse brain regions with 1.7  $\mu\text{m}$  optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **40**(21), 4911–4914 (2015).
- [57] L. A. Sordillo, L. Lindwasser, Y. Budansky, P. Leproux, R. R. Alfano, “Near-infrared supercontinuum laser beam source in the second and third near-infrared optical windows used to image more deeply through thick tissue as compared with images from a lamp source,” *J. Biomed. Opt.* **20**(3), 030501 (2015).

- [58] R. H. Wilson, K. P. Nadeau, F. B. Jaworski, B. J. Tromberg, and A. J. Durkin, “Review of short-wave infrared spectroscopy and imaging methods for biological tissue characterization,” *J. Biomed. Opt.* **20**(3), 030901 (2015).
- [59] L. Shi, L. A. Sordillo, A. R. Contreras, and R. Alfano, “Transmission in near-infrared optical windows for deep brain imaging,” *J. Biophotonics* **9**(1–2), 38–43 (2016).

## 第2章 OCT イメージングの基礎

### 2.1 はじめに

本研究では、高散乱組織の高分解能かつ高侵達なイメージングを可能にする OCT システムの開発・検討を行った。そこでまず本章では、OCT イメージングの基礎となる低コヒーレンス干渉について説明する。ただし、低コヒーレンス干渉の説明に入る前に、OCT イメージングにおける断層像・3次元像の構築手順について説明する（2.2 節）。OCT における干渉波形計測が、サンプルの深さ方向情報の取得に対応していることを示す。2.3 節において、広帯域光源と干渉計を用いた低コヒーレンス干渉計測について述べる。2.4 節では、OCT イメージングの侵達長を決める要因の一つである OCT システムの測定感度について説明する。2.5 節では、超広帯域光源を用いた超高分解能 OCT を紹介する。2.6 節において、超高分解能 OCT の深さ方向分解能を劣化させる波長分散の影響について述べる。

### 2.2 OCT イメージングにおける断層像・3次元像の構築手順

OCT システムは、光源、干渉計（ファイバカプラを用いることが多い）、ビームスキャナを備えたサンプルアーム、リファレンスマirrorが配置されたリファレンスアーム、検出器、信号処理・画像表示用の PC によって構成される（図 2.1）[1-3]。図 2.1 に示すように、サンプル光はサンプル上方から垂直に入射され、サンプル表面および内部から返ってきた散乱光が干渉計へと戻り、リファレンス光の戻り光と合わさって干渉波形を形成する。したがって、OCT イメージングで計測する干渉波形には、サンプルの深さ方向に沿った情報が含まれている。

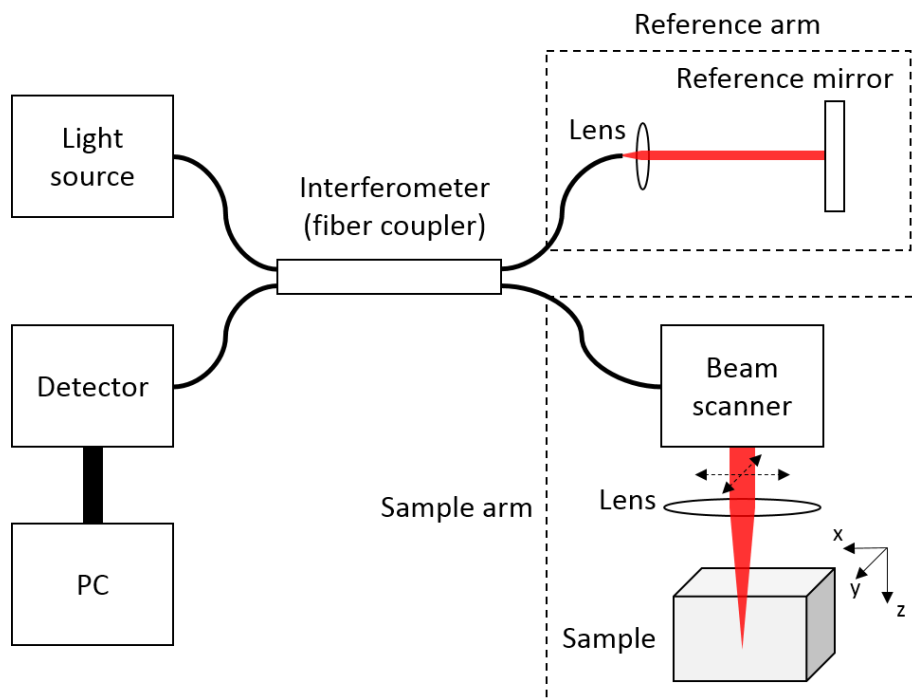


図 2.1 OCT システムの基本構成.

図 2.2 に OCT イメージングにおける画像構築手順を示す. OCT イメージングの基本単位である干渉波形は, 先ほど述べたように, サンプルの深さ方向情報に対応する (図 2.2(1)). ビームスキャナでサンプル光をスキャンし, サンプルの断層像 (2 次元像, 図 2.2(2)), 3 次元像を取得する (図 2.2(3)). OCT イメージングでは, 深さ方向の測定を A-scan (A-line), 断層像を B-scan と呼ぶ[3].

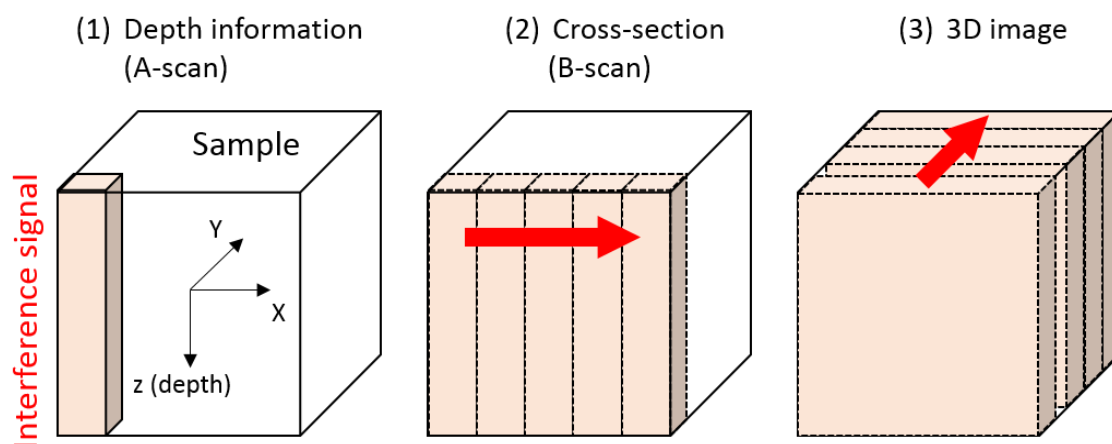


図 2.2 OCT イメージングの手順.

## 2.3 低コヒーレンス干渉と OCT イメージングにおける

### 深さ方向分解能

OCT イメージングでは，サンプルの深さ方向情報を表す干渉波形を直接的に測定するタイムドメイン OCT (TD-OCT) と，干渉スペクトルのフーリエ変換によって取得するフーリエドメイン OCT (FD-OCT) システムが報告されている[3,4]．本節では，TD-OCT における干渉波形の生成法を用いて，OCT イメージングの基礎となる低コヒーレンス干渉について説明する．なお，FD-OCT の 1 種であるスペクトルドメイン OCT (SD-OCT) の場合の説明は第 6 章で記す．

低コヒーレンス干渉には，広帯域光源と干渉計が用いられる[1-4]．説明にはマイケルソン干渉計を用いるが（図 2.3），マッハツェンダー干渉計を用いた OCT システムも報告されている[5,6]．

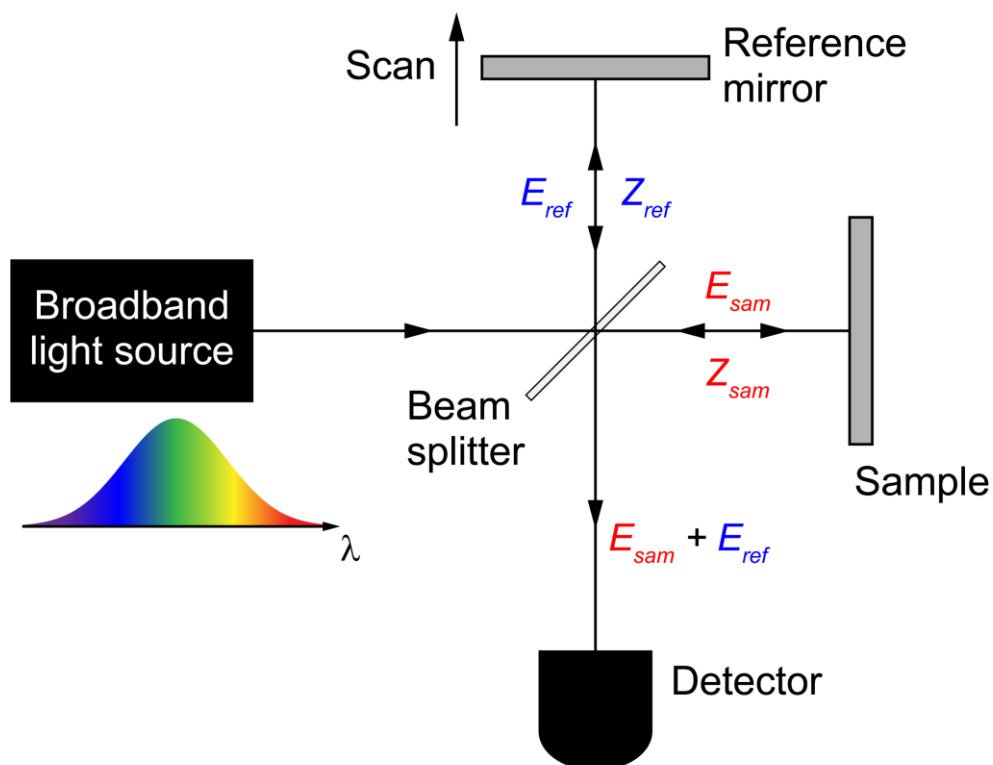


図 2.3 広帯域光源とマイケルソン干渉計によって構成される低コヒーレンス干渉計．

広帯域光源から出力された光は、ビームスプリッタによってリファレンス光とサンプル光に分けられる。リファレンス光とサンプル光はそれぞれ異なる光路を通過した後、ビームスプリッタによって再結合され検出器上で干渉する。ビームスプリッタからリファレンスミラーおよびサンプルまでの光路長をそれぞれ  $Z_{ref}$ ,  $Z_{sam}$  とすると、ビームスプリッタで再結合するリファレンス光およびサンプル光の複素電界はそれぞれ、 $E_{ref}(t - 2Z_{ref}/c)$ ,  $E_{sam}(t - 2Z_{sam}/c)$  と表せる。 $c$  は光の速度である。ここで、リファレンス光のサンプル光に対する相対的な時間遅延を  $\tau = 2(Z_{ref} - Z_{sam})/c$  と置くと、検出器出力  $I_d(\tau)$  は、

$$I_d(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} |E_{sam}(t) + E_{ref}(t - \tau)|^2 dt \quad (2.1)$$

となる。光電変換の過程で、検出器出力は入力電界の 2 乗に比例することに留意する必要がある。検出器の出力が実数となることを考慮すると、式(2.1)は以下のように展開できる。

$$\begin{aligned} I_d(\tau) &= \int_{-\infty}^{\infty} |E_{sam}(t) + E_{ref}(t - \tau)|^2 dt \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} |E_{sam}(t)|^2 dt + \int_{-\infty}^{\infty} |E_{ref}(t)|^2 dt + \int_{-\infty}^{\infty} E_{sam}(t) E_{ref}^*(t - \tau) dt + c.c. \\ &= I_{sam} + I_{ref} + 2Re \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} E_{sam}(t) E_{ref}^*(t - \tau) dt \right\} \end{aligned} \quad (2.2)$$

ここで、右辺 2 行目の c.c. は、第 3 項の複素共役成分を示している。第 3 行の第 3 項が OCT イメージングの元となる干渉信号成分である。干渉成分がサンプル光とリファレンス光の積の形で表されているように、サンプル内部から返ってくる微弱な信号光（散乱光）は、高強度なリファレンス光で増幅されて干渉信号として検出される。この干渉による増幅効果のおかげで、OCT ではサンプルの内部構造を高感度に測定できる。

図 2.3 に示すようにリファレンスミラーの位置を走査し、サンプル光とリファレンス光との間の遅延時間  $\tau$  を連続的に変化させると、検出器出力  $I_d(\tau)$  は、光源から出力



される光の自己相関とみなせる．Wiener-Khinchin の定理より，相関計測で得られる信号波形  $G(\tau)$  は，光源のスペクトル強度  $S(f)$  のフーリエ変換となる[2,7]．光源のスペクトル強度  $S(f)$  がガウシアン波形の場合，得られる信号波形  $G(\tau)$  もガウシアン波形となる．すなわち，

$$S(f) = \frac{2\sqrt{\ln(2)/\pi}}{\Delta f} \exp\left[-4\ln(2)\left(\frac{f-f_0}{\Delta f}\right)^2\right] \quad (2.3)$$

のとき，

$$G(\tau) = \exp\left[-\left(\frac{\pi\Delta f\tau}{2\sqrt{\ln(2)}}\right)^2\right] \exp(-i2\pi f_0\tau) \quad (2.4)$$

となる（図 2.4）[2]．ここで， $f_0$ ， $\Delta f$  は光源の中心周波数と周波数領域におけるスペクトル幅（FWHM）， $\tau$  は遅延時間である．

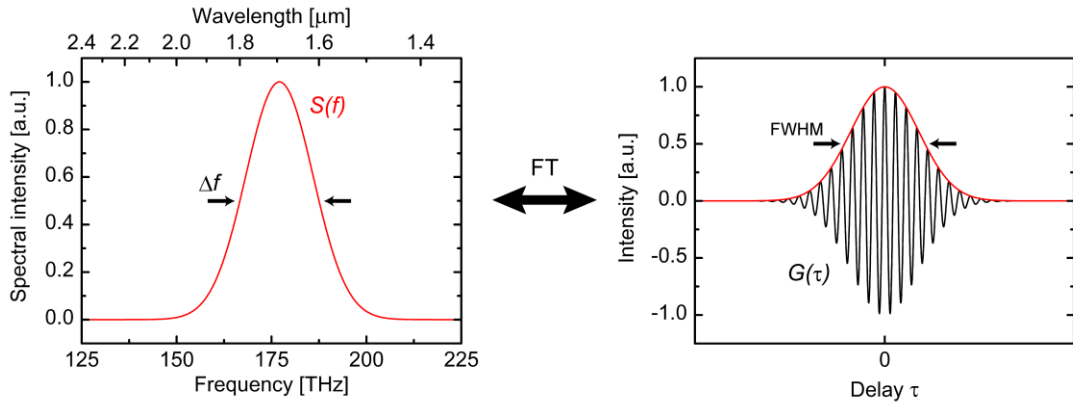


図 2.4 光源のスペクトル強度波形と干渉計から出力される干渉信号波形の関係．  
（ガウシアンスペクトルの場合）

図 2.4 に示すように，低コヒーレンス干渉計では，サンプル光とリファレンス光との間の遅延が 0 になる位置の周辺でのみ干渉波形が観測される．この干渉波形が観測される距離（包絡線の半値幅）のことをコヒーレンス長と呼び，OCT イメージングでは深さ方向分解能に対応する[2-4]．OCT の深さ方向分解能  $\Delta z$  は， $G(\tau)$  の大きさの半値全幅（FWHM）から，

$$\Delta z = \frac{2c \ln(2)}{\pi} \cdot \frac{1}{n} \cdot \frac{1}{\Delta f}$$

$$\approx 0.44 \cdot \frac{1}{n} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \quad (2.5)$$

となる． $c$  は光の速度， $n$  はサンプルの屈折率（空気中では  $n=1$ ）， $\lambda_0$ ， $\Delta \lambda$  は，光源スペクトルの中心波長と波長領域におけるスペクトル幅（FWHM）である．

TD-OCT では，リファレンスミラーの位置を時間的に走査することで，サンプルの深さ方向情報を表す干渉波形を直接測定する（図 2.5）[1-4]．

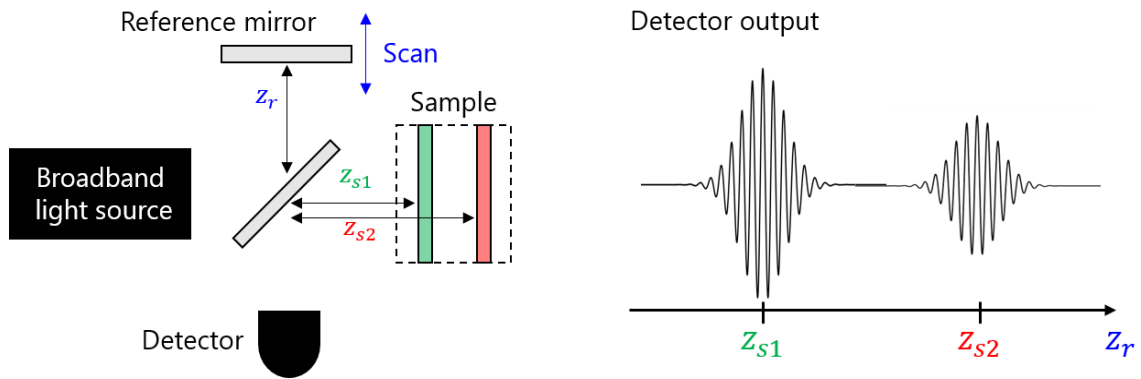


図 2.5 TD-OCT における干渉波形の測定法．

リファレンスミラーの位置を連続的に走査しサンプルの深さ方向情報を得る．

## 2.4 OCT イメージングの測定感度

OCT イメージングの測定感度は，どれくらい微弱な散乱光を検出できるかという指標である．高感度な OCT システムほど，サンプルのより深い位置から返ってくる微弱な散乱光を検出することができ，高侵達な OCT イメージングが実現できる．近年の OCT システムでは，測定感度が 100 dB 前後のものが一般的である[8,9]．測定感度 100 dB とは，サンプルから返ってくる散乱光の光強度が，サンプルへの入射光強度から 10 桁減衰した場合でも干渉信号が検出できることを表している．異なる OCT システム

の測定感度を普遍的に評価・比較するため、一般的に次に示す手順を用いて OCT の測定感度を計測する。サンプルアーム内の集光レンズの集光位置にミラーを配置し、サンプル光を（可能な限り）全て干渉計に戻す。検出器の飽和を防ぐためサンプルアーム内に ND フィルタを挿入し、サンプルミラーとリファレンスミラーから返ってきた光から成る干渉信号を測定する。このとき OCT の測定感度は、得られた干渉信号の強度の信号対雑音比（SNR）にサンプルアームに挿入した ND フィルタの減衰量を 2 倍した値を加えた値となる。ここで ND フィルタの減衰量を 2 倍するのは、サンプル光がミラーの反射前後で ND フィルタを 2 度通過するためである。

OCT システムのノイズフロアを決定する主なノイズ源は以下に示す 3 つである[10]。一つ目は、検出される光子数のゆらぎ（ショットノイズ）である。ショットノイズは光出力の平方根に比例し、エネルギーは光出力に比例する。つまり、OCT 測定におけるショットノイズのエネルギー  $\sigma_{shot}^2$  は、サンプル光とリファレンス光の出力の和  $P_s + P_r$  に比例する。実際の OCT イメージングでは、 $P_r \gg P_s$  なので、 $\sigma_{shot}^2 \propto P_r$  となる。

二つ目のノイズ源は、レーザ光源の相対強度雑音（Relative intensity noise: RIN）である。RIN はレーザ光強度のふらつきであるため、そのエネルギーはレーザ光強度の 2 乗に比例する。すなわち、 $\sigma_{RIN}^2 \propto (P_s + P_r)^2$  である。実際の OCT イメージングでは、 $P_r \gg P_s$  なので、 $\sigma_{RIN}^2 \propto P_r^2$  となる。

三つ目のノイズ源は、検出器ノイズである。検出器ノイズは光出力に依存しないノイズの集合で、熱ノイズや電氣的なノイズを含む。ここでは、検出器ノイズのエネルギーを  $\sigma_{det}^2$  とする。

OCT イメージングで得られる干渉信号のエネルギー  $\varepsilon_s$  は、 $P_s P_r$  に比例するから、OCT イメージングにおける信号対雑音比（SNR）は、

$$\begin{aligned} SNR &\equiv \frac{\varepsilon_s}{\sigma_{shot}^2 + \sigma_{RIN}^2 + \sigma_{det}^2} \\ &= \frac{c_a P_s P_r}{c_b P_r + c_c P_r^2 + \sigma_{det}^2} \end{aligned} \quad (2.6)$$

と表せる。ここで、 $c_a$ 、 $c_b$ 、 $c_c$  は、測定器の特性によって決まる比例定数である。

図 2.6 に、リファレンス光強度に対する OCT イメージングの SNR の典型例を示す。式(2.6)から分かるように、OCT イメージングの SNR はリファレンス光出力に依存し、リファレンス光出力を最適化することで、ショットノイズレベルの高感度な測定が可能である。また、SNR の重要な特性として、OCT イメージングの SNR はサンプル光出力  $P_s$  に比例する。したがって、サンプル光への入力光（光源の出力）を高くすることで SNR を向上させることができる。ただし、生体イメージングでは、光照射による生体へのダメージを防ぐため、サンプル光の最大値は制限される。ANSI (American National Standards Institute) が定めた安全基準によると[11]、波長 1.5–1.8  $\mu\text{m}$  帯のパルスレーザを用いた皮膚のイメージングにおいては、9.6 mW がサンプルにダメージを与えない最大許容入射光強度とされている。

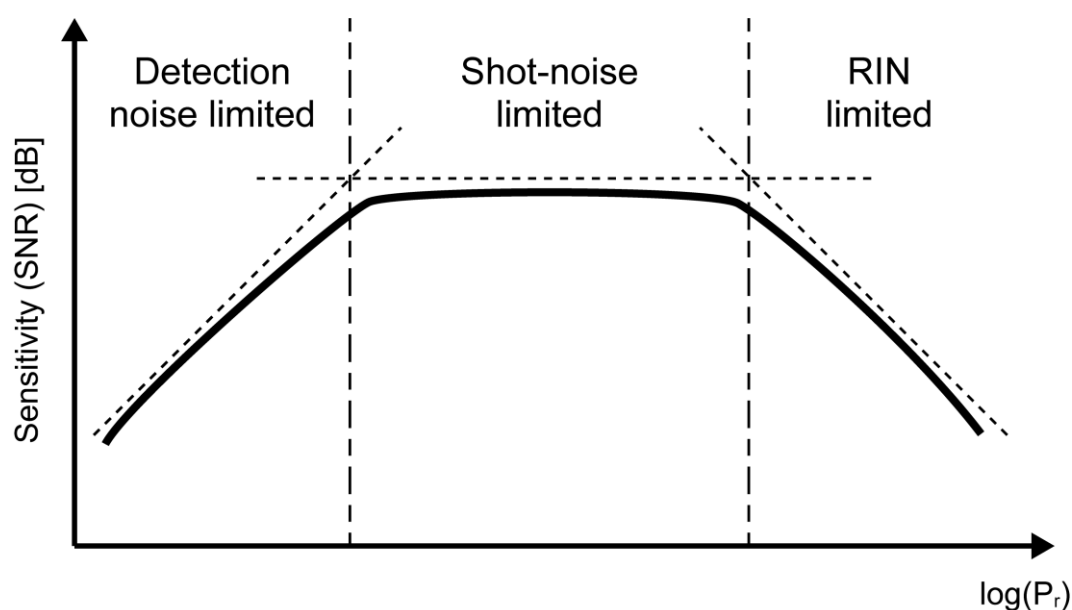


図 2.6 OCT イメージングにおける測定感度 (SNR) とノイズの関係。

## 2.5 超広帯域光源を用いた超高分解能 OCT

OCT の深さ方向分解能は、式(2.5)に示すように、光源のスペクトル幅に反比例するため、より広帯域なスペクトル光源を用いることで、より高い分解能を実現できる。図 2.7

に光源のスペクトル幅に対する深さ方向分解能の変化をプロットする．光源スペクトルは中心波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7  $\mu\text{m}$  のガウスガウシアンスペクトルを仮定し，生体組織中 ( $n=1.38$ ) で深さ方向分解能をプロットしている．数百 nm に広がった超広帯域なスペクトルを持つ光源を OCT に用いることで，1–5  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能が達成できる．1–5  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能を有する OCT は，従来の高分解能 OCT (深さ方向分解能 $\sim 10 \mu\text{m}$ ) に対して，特に，超高分解能 OCT と呼ばれている[12–16]．超高分解能 OCT によって，網膜中の層構造の詳細なイメージングや，生体組織中の細胞・細胞内小器官の高分解能なイメージングが実現されている (図 2.8) [12,17]．

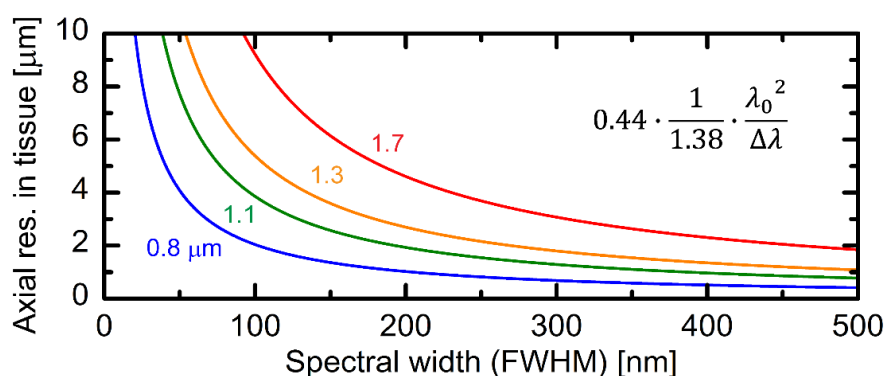


図 2.7 光源のスペクトル幅と OCT の深さ方向分解能の関係．

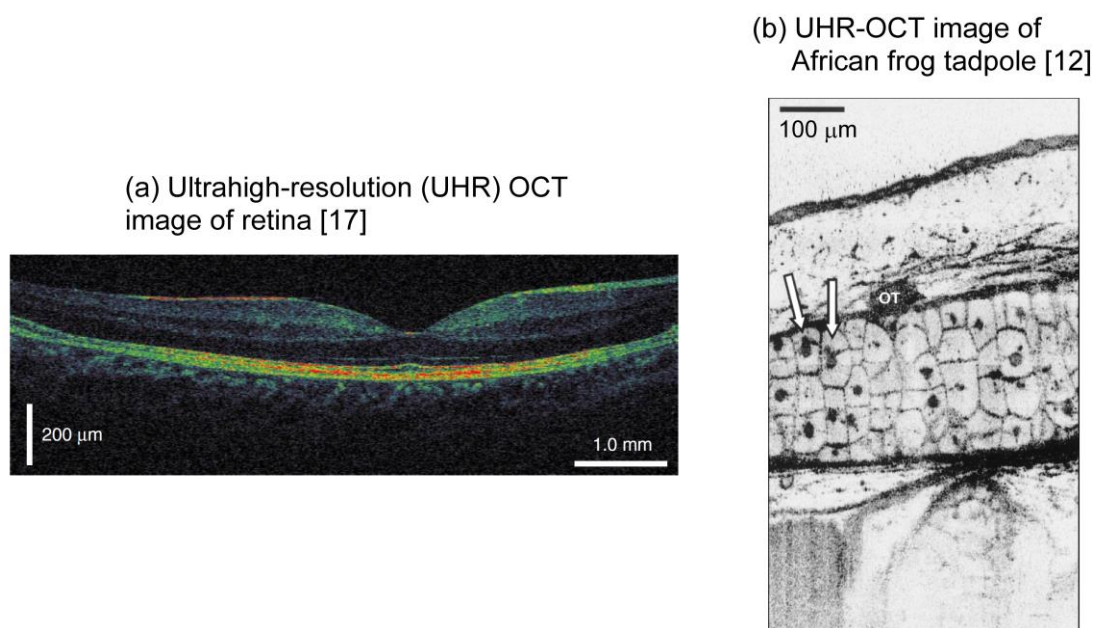


図 2.8 超広帯域光を用いた超高分解能 OCT イメージング例．

超高分解能 OCT イメージングを実現する超広帯域スペクトル光源には、スーパーluminescentダイオード (Super luminescent diode: SLD) をスペクトル連結させたもの [16] や、超短パルス固体レーザ [12]、非線形効果によって生成したスーパーコンティニウム (Supercontinuum: SC) 光などが用いられる [13,17] (表 2.1)。第 3 章で詳しく述べるように、生体組織の光減衰の大きさは光の波長に依存するため、生体組織の高侵達な OCT イメージングを実現するためには、光源の波長を減衰係数が小さくなる領域に合わせる必要がある。しかし、SLD や超短パルス固体レーザから出力される光の波長帯やスペクトル幅は増幅媒質によって決定され任意に制御することが困難である。一方、SC 光の中心波長は、SC 光の種光となる超短パルス光の中心波長を非線形効果によって制御することで近赤外域 (波長 0.8–2.0  $\mu\text{m}$  帯) において任意に調整ができる。さらに、SC 光のスペクトル幅は非線形効果によって広げられるため、SLD や超短パルス固体レーザのように増幅媒質の帯域の制限を受けず、300 nm を超えるような超広帯域なスペクトルを生成することが可能である。中心波長が可変かつ超広帯域なスペクトルを有する SC 光を用いることで、高侵達かつ超高分解能な OCT イメージングが実現できる。

表 2.1 OCT イメージングに用いられる広帯域光源 (典型値) [3].

Light source	Center wavelength [ $\mu\text{m}$ ]	Spectral width (FWHM)	Output power
SLD	0.8 (AlGaAs)	20–60 nm	10–30 mW
	0.9–1.1 (InGaAs)	50–100 nm	10–30 mW
	1.3–1.6 (InGaAs/InP)	80–100 nm	10–20 mW
Solid-state laser	0.8 (Ti:sapphire)	140–300 nm	~200 mW
	1.06 (Nd:glass)	40 nm	~100 mW
	1.3 (Cr:forsterite)	~250 nm	~100 mW
SC source	0.8–2.0	100–400 nm	10–100 mW

## 2.6 波長分散が深さ方向分解能に与える影響

これまでに概説したとおり，OCT において深さ方向分解能は使用する光源の波長，スペクトル幅やスペクトル形状で決まる．実際の OCT イメージングにおいて，この光源の特性で決まる深さ方向分解能を実現するには，サンプル光とリファレンス光が受ける波長分散量を揃えることも必要になる[3,18,19]．OCT の深さ方向分解能に影響を与えるのは，サンプル光とリファレンス光が受ける波長分散の差のみである[3]．したがって，高い深さ方向分解能を実現するには，サンプル光とリファレンス光に同じ量の波長分散を与えれば良く，サンプル光とリファレンス光のそれぞれを分散補償する必要はない．特に，超広帯域なスペクトル光源を用いる超高分解能 OCT では，スペクトルの広帯域性を活かした高い深さ方向分解能を達成するため，波長分散量の調整がより重要になる[3,20–22]．波長分散は，OCT 干渉計を構成するデバイスや測定試料における伝搬定数の周波数依存性によって生じている．伝搬定数  $\beta(\omega)$  は，光源の中心周波数  $\omega_0$  の周りでテーラー展開すると，次式のように表せる．

$$\beta(\omega) = \beta(\omega_0) + \left. \frac{d\beta}{d\omega} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \left. \frac{d^2\beta}{d\omega^2} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0)^2 + \frac{1}{6} \left. \frac{d^3\beta}{d\omega^3} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0)^3 + \dots \quad (2.7)$$

$\beta(\omega_0)$  は光源の中心周波数における伝搬定数， $d\beta(\omega)/d\omega$  は群速度の逆数である．OCT の深さ方向分解能に最も影響を与えるのは，第 3 項の群速度分散（2 次の分散） $d^2\beta(\omega)/d\omega^2$  である．図 2.9 に群速度分散が干渉波形に与える影響の概念図を示す．サンプル光とリファレンス光が受ける群速度分散に差があるとき，干渉波形のスペクトル位相が周波数に対して非線形になり，干渉波形が鈍ってしまい（半値）幅が広がってしまう．したがって，干渉波形の半値幅で決定される OCT の深さ方向分解能が劣化し，また干渉波形のピーク強度も低下するため，OCT イメージングの測定感度も劣化する．

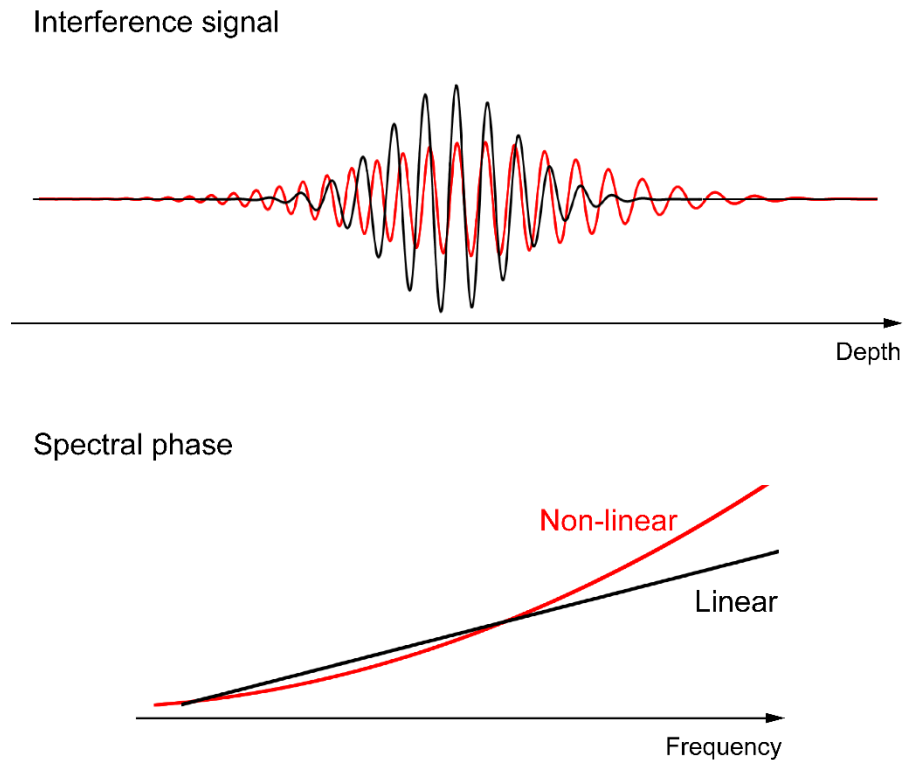


図 2.9 群速度分散が干渉波形に与える影響の概念図. 群速度分散のミスマッチが存在する場合(赤), スペクトル位相が非線形になり, 干渉波形が鈍ってしまう.

超高分解能 OCT による高分解能なイメージングを実現するために, 様々な分散補償法が提案されている. 代表的な分散補償の一例として, 適当な波長分散量を持つ光学ガラスを用いた分散補償法がある. この手法では, 光ファイバやレンズで構成される OCT システム内で発生する分散ミスマッチ (サンプル光とリファレンス光が受ける波長分散の差) を, 光学ガラスをサンプルもしくはリファレンスアームに挿入することで補正する[3,12,13,15,17]. しかし, 実際の OCT イメージングでは, 生体組織の波長分散も考慮する必要がある, 生体中の波長分散は測定深さや位置によって異なるため, 光学ガラスだけで分散補償を十分に行うことは困難である. また, 光学ガラスでは 2 次の分散 (群速度分散) しか補償できない. 深さ方向分解能が  $1\text{ }\mu\text{m}$  より高くなる場合, 3 次以上の波長分散の影響が大きくなることが報告されており[24], この場合に光学ガラスのみで分散補償を行うと干渉波形が非対称になり, OCT イメージにアーチファクトが生じる可能性がある[3,24,25]. 干渉波形のスペクトル位相を数値解析的に補正する分散補償法は, 測定深さや位置ごとに異なる分散補償量を与えることが可能で, 高次の分散も補償



できるため、高分解能な OCT イメージングの実現に有効である[21,23,26]. 数値計算を用いた分散補償法の一例としては, 取得した干渉波形のスペクトル位相に対して様々なパターンの補償項を追加し, 反復法を用いて最も OCT イメージがシャープになるようなスペクトル位相を決定する方法がある[21,26].

## 第 2 章に関する参考文献

- [1] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, and J. G. Fujimoto, “Optical coherence tomography,” *Science* **254**(5035), 1178–1181 (1991).
- [2] J. M. Schmitt, “Optical coherence tomography (OCT): A Review,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.* **5**(4), 1205–1215 (1999).
- [3] *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., Springer Reference (2015).
- [4] A. F. Fercher, W. Drexler, C. K. Hitzenberger, and T. Lasser, “Optical coherence tomography—principles and applications,” *Rep. Prog. Phys.* **66**, 239–303 (2003).
- [5] I. Grulkowski, J. J. Liu, J. Y. Zhang, B. Potsaid, V. Jayaraman, A. E. Cable, J. S. Duker, and J. G. Fujimoto, “Reproducibility of a Long-Range Swept-Source Optical Coherence Tomography Ocular Biometry System and Comparison with Clinical Biometers,” *Ophthalmology* **120**(11), 2184–2190 (2013).
- [6] T. Torzicky, S. Marschall, M. Pircher, B. Baumann, M. Bonesi, S. Zotter, E. Götzinger, W. Trasischker, T. Klein, W. Wieser, B. Biedermann, R. Huber, P. Andersen, C. K. Hitzenberger, “Retinal polarization-sensitive optical coherence tomography at 1060 nm with 350 kHz A-scan rate using an Fourier domain mode locked laser,” *J. Biomed Opt.* **18**(2), 026008 (2013).
- [7] J. W. Goodman, *Statistical Optics*, John Wiley and Sons, 164–169 (1985).
- [8] L. An, P. Li, G. Lan, D. Malchow, and R. K. Wang, “High-resolution 1050 nm spectral domain retinal optical coherence tomography at 120 kHz A-scan rate with 6.1 mm imaging depth,” *Biomed. Opt. Express* **4**(2), 245–259 (2013).
- [9] J. G. Fujimoto, Y. Chen, and A. Aguirre, “Biomedical Imaging Using Optical Coherence Tomography,” Chap. 7 in *Biomedical Optical Imaging*, J. G. Fujimoto, D. L. Farkas Eds., 161–195, Oxford University Press (2009).

- [10] R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, and A. F. Fercher, "Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography," *Opt. Express* **11**(8), 889–894 (2003).
- [11] American National Standard for Safe Use of Lasers (ANSI Z136.1, 2007).
- [12] W. Drexler, U. Morgner, F. X. Kartner, C. Pitris, S. A. Boppart, X. D. Li, E. P. Ippen, and J. G. Fujimoto, "In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **24**(17), 1221–1223 (1999).
- [13] I. Hartl, X. D. Li, C. Chudoba, R. K. Ghanta, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, J. K. Ranka and R. S. Windeler, "Ultrahigh-resolution optical coherence tomography using continuum generation in an air–silica microstructure optical fiber," *Opt. Lett.* **26**(9), 608–610 (2001).
- [14] W. Drexler, U. Morgner, R. K. Ghanta, F. X. Kartner, J. S. Schuman, and J. G. Fujimoto, "Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography," *Nat. Med.* **7**(4), 502–507 (2001).
- [15] B. Povazay, K. Bizheva, A. Unterhuber, B. Hermann, H. Sattmann, A. F. Fercher, W. Drexler, A. Apolonski, W. J. Wadsworth, J. C. Knight, P. St. J. Russell, M. Vetterlein and E. Scherzer, "Submicrometer axial resolution optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **27**(20), 1800–1802 (2002).
- [16] MT Tsai, JJ Hung, and MC Chan, "Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography with LED-Phosphor-Based Broadband Light Source," *Appl. Phys. Express* **6**, 122502 (2013).
- [17] M. Nishiura, T. Kobayashi, M. Adachi, J. Nakanishi, T. Ueno, Y. Ito, and N. Nishizawa, "In vivo Ultrahigh-Resolution Ophthalmic Optical Coherence Tomography Using Gaussian-Shaped Supercontinuum," *Jpn. J. Appl. Phys.* **49**, 012701 (2010).
- [18] C.K. Hitzenberger, A. Baumgartner, and A.F. Fercher, "Dispersion induced multiple signal peak splitting in partial coherence interferometry," *Opt. Commun.* **154**, 179–185 (1998).
- [19] C. K. Hitzenberger, A. Baumgartner, W. Drexler, and A. F. Fercher, "Dispersion Effects in Partial Coherence Interferometry: Implications for Intraocular Ranging," *J. Biomed. Opt.* **4**(1), 144–151 (1999).

- [20] B. Cense, N. A. Nassif, T. C. Chen, M. C. Pierce, SH Yun, B. H. Park, B. E. Bouma, G. J. Tearney, and J. F. de Boer, "Ultrahigh-resolution high-speed retinal imaging using spectral-domain optical coherence tomography," *Opt. Express* **12**(11), 2435–2447 (2004).
- [21] M. Wojtkowski, V. J. Srinivasan, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, A. Kowalczyk, and J. S. Duker, "Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation," *Opt. Express* **12**(11), 2404–2422 (2004).
- [22] W. Drexler, "Ultrahigh-resolution optical coherence tomography," *J. Biomed. Opt.* **9**(1), 47–74 (2004).
- [23] A. F. Fercher, C. K. Hitzenberger, M. Sticker, R. Zawadzki, B. Karamata and T. Lasser, "Numerical dispersion compensation for Partial Coherence Interferometry and Optical Coherence Tomography," *Opt. Express* **9**(12), 610–615 (2001).
- [24] T. R. Hillman and D. D. Sampson, "The effect of water dispersion and absorption on axial resolution in ultrahigh-resolution optical coherence tomography," *Opt. Express* **13**(6), 1860–1874 (2005).
- [25] Y. Chen and X. Li, "Dispersion management up to the third order for real-time optical coherence tomography involving a phase or frequency modulator," *Opt. Express* **12**(24), 5968–5978 (2004).
- [26] Y. Yasuno, Y. Hong, S. Makita, M. Yamanari, M. Akiba, M. Miura, and T. Yatagai, "In vivo high-contrast imaging of deep posterior eye by 1- $\mu$ m swept source optical coherence tomography and scattering optical coherence angiography," *Opt. Express* **15**(10), 6121–6139 (2007).

## 第3章 波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯を用いた 高侵達な生体イメージング

### 3.1 はじめに

本研究では、波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の光が脳などの高散乱な生体組織に対して高侵達性を示すことに着目し、高侵達かつ高分解能なイメージングの実現のために、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT の開発・検討を行った。本章では、1.7  $\mu\text{m}$  帯の光が高散乱組織に対して高侵達となる要因を、1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いた高侵達な生体イメージングについて先行研究を例に挙げ概説する。はじめに 3.2 節において、1.7  $\mu\text{m}$  帯が高侵達性を示す要因である、近赤外光を用いた生体イメージングにおける光減衰の要因およびその波長依存性について解説する。次に 3.3 節では、1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いた高侵達な生体イメージングの実例をいくつか紹介する。3.4 節において、1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いた OCT イメージングの歴史と課題・展望について述べる。

### 3.2 近赤外光を用いた生体イメージングにおける光減衰

現在、光イメージング法を用いて生体中のより深い位置を高分解能に観察する場合、可視光（波長 0.4–0.8  $\mu\text{m}$ ）に比べて、生体中に存在する光吸収体が少なく散乱の影響も小さい近赤外光（波長 >0.8  $\mu\text{m}$ ）が光源として用いられる[1–4]。しかし、近赤外光を用いた高分解能イメージングにおいても、脳や皮膚といった高散乱な組織への侵達長は、依然として数百  $\mu\text{m}$  から 1 mm 程度に制限されている[5–10]。この主な要因として、①光散乱と②水の吸収による信号減衰が挙げられる（図 3.1）。本節では、散乱および水の吸収による信号減衰量が近赤外光の波長に依存することを説明する。

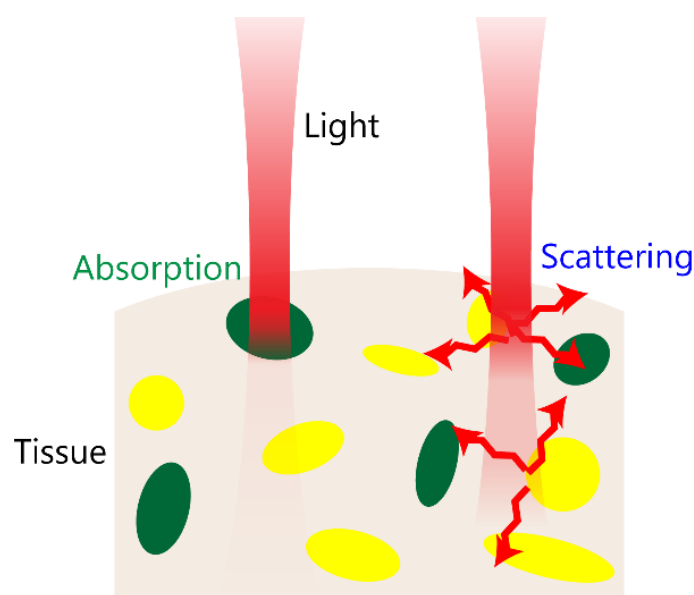


図 3.1 生体組織中で生じる光吸収, 光散乱による信号光の減衰.

脳や皮膚などの生体中で強く光が散乱される要因は、生体組織が、サイズ・形状・屈折率の異なる多くの細胞や細胞外マトリックスが集まって形成されているためである[11]。例えば、哺乳類の細胞の直径は  $5\text{--}75\text{ }\mu\text{m}$  程度の分布を持ち、細胞核やミトコンドリアなどの細胞内小器官のサイズはナノスケールからマイクロスケールまで非常に広く分布している[11]。また、屈折率も  $1.3\text{--}1.4$  程度の分布を持っている[11]。

散乱体に光が入射したときに生じる散乱の大きさは、(平均) 散乱係数  $\mu_{\text{scat}}'$  というパラメータで定義され、式(3.1)に示すように、波長に依存することが良く知られている[11–13]。

$$\mu_{\text{scat}}' = A \cdot \lambda^{-SP} \quad (3.1)$$

ここで、 $\lambda$  は光の波長、 $A$  は散乱の大きさを決定する散乱体に固有の定数である。 $SP$  は、散乱の大きさの波長依存性を左右するパラメータである。 $SP$  の値は主に、光の波長に対する散乱体のサイズに依存し、散乱体のサイズが波長と同程度またはそれよりも小さい場合 (レイリー散乱)  $SP = 4$ 、波長と同程度の場合 (ミー散乱)  $SP = 0.2 - 4$  となることが報告されている[11,14]。レイリー散乱、ミー散乱いずれの場合においても、散乱係数は波長が長いほど小さくなるため、長波長帯では生体内で生じる光散乱による

信号減衰が小さくなる．先ほど述べたように，生体組織を構成する細胞等は，ナノスケールからマイクロスケールの大きさのものが混在するため，生体中の光散乱には，レイリー散乱とミー散乱のいずれもが関与している[12]．ただし，脳や皮膚のイメージングにおいては，ミー散乱がレイリー散乱よりも信号減衰に影響することが報告されている[12]．

生体組織の大部分（約 70%）は水（ $\text{H}_2\text{O}$ ）で構成されているため[15–17]，生体イメージングの侵達長は，散乱だけでなく水の吸収も大きく影響する．図 3.2 に近赤外波長域における水の吸収スペクトルを示す[18]．散乱は長波長帯ほど小さくなるが，水の吸収は長波長帯ほど大きくなる．したがって，近赤外光を用いた高侵達な生体イメージングの実現には，散乱と水の吸収からなる信号減衰が最小となる最適な波長帯を選択することが重要である．ここで，図 3.2 に示すように，波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7, 2.2  $\mu\text{m}$  帯で水の吸収は極小となるため，これらの波長帯では散乱と水の吸収から成る信号減衰が小さくなると予想される．

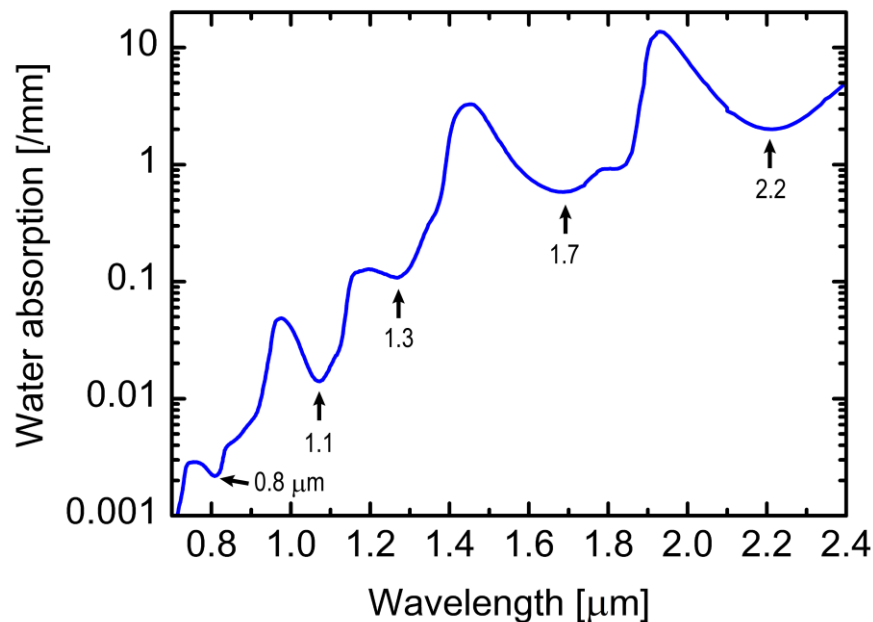


図 3.2 水の吸収スペクトル[18]．水の吸収係数は波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7, 2.2  $\mu\text{m}$  帯で極小となる．

### 3.3 波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯光源を用いた生体イメージングの高侵達化

生体イメージングの高侵達化に関する近年の研究では、近赤外光を用いた高散乱組織のイメージングにおいては、水の吸収よりも光散乱による信号減衰が支配的であることが示唆されている[5,14,19,20]。これまでの生体イメージングでは主に波長 0.8  $\mu\text{m}$  帯が使用されてきたが[1-4]、更なる高侵達化を目指して、散乱による信号減衰が小さい 1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯を利用した生体イメージングが盛んに研究されており、実際にイメージングの高侵達化が達成されている[21-26]。しかし、1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯光源を用いた場合でも、高散乱な脳や皮膚のイメージングでは、依然として侵達長は数百  $\mu\text{m}$  から 1 mm 程度で、深部観察に十分な侵達長は得られていない。

近年、1 mm 以上の高侵達な生体イメージングを実現するために、散乱による信号減衰が 1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯よりもさらに小さくなる、波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯が高い注目を集めている。図 3.3 に、光散乱と水の吸収による信号減衰を考慮した、マウスの脳組織のイメージングにおける侵達長（理論値）の波長依存性を示す[27]。図 3.3 の縦軸は、減衰係数の逆数である減衰距離であり、減衰距離が長いほど信号減衰が小さいことを示している。マウス脳の深部観察においては、波長 0.8–1.4  $\mu\text{m}$  では、光散乱（ミー散乱）によって侵達長が大きく制限されるが、より長波長である 1.7  $\mu\text{m}$  帯では、散乱係数の減少に加えて水の吸収も極小となるため、最も深い侵達長が得られることが予想されている。Horton らは、1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いた多光子蛍光顕微鏡システムによって、マウス脳の表面から 1.4 mm までの深部観察を実現した[27]。

Alfano らのグループでは、広帯域な波長帯（0.5–2.5  $\mu\text{m}$ ）での測定が行える透過観察システムを用いて、脳や粘膜といった高散乱組織における信号減衰の波長依存性を測定し、1.7  $\mu\text{m}$  帯が最も信号減衰が小さいことを実験的に示している（図 3.4）[28–30]。1.7  $\mu\text{m}$  帯よりもさらに長波長帯である 2.2  $\mu\text{m}$  帯では、散乱による信号減衰は小さくなるが、水の吸収による減衰が 1.7  $\mu\text{m}$  帯よりも 3 倍以上大きくなってしまうため、水を多く含む生体組織のイメージングでは 1.7  $\mu\text{m}$  帯よりもトータルの信号減衰が大きくなってしまう。



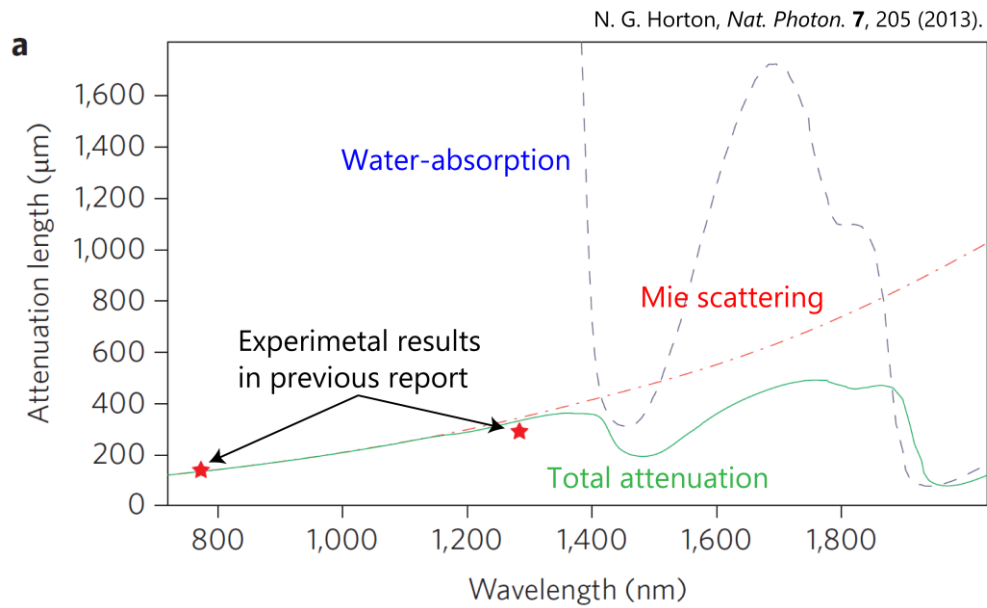


図 3.3 マウスの脳組織におけるイメージング浸達長(理論値)の波長依存性[27].  
縦軸は減衰距離(減衰係数の逆数)になっているため、値が大きいほど信号減衰が小さいことを示す。

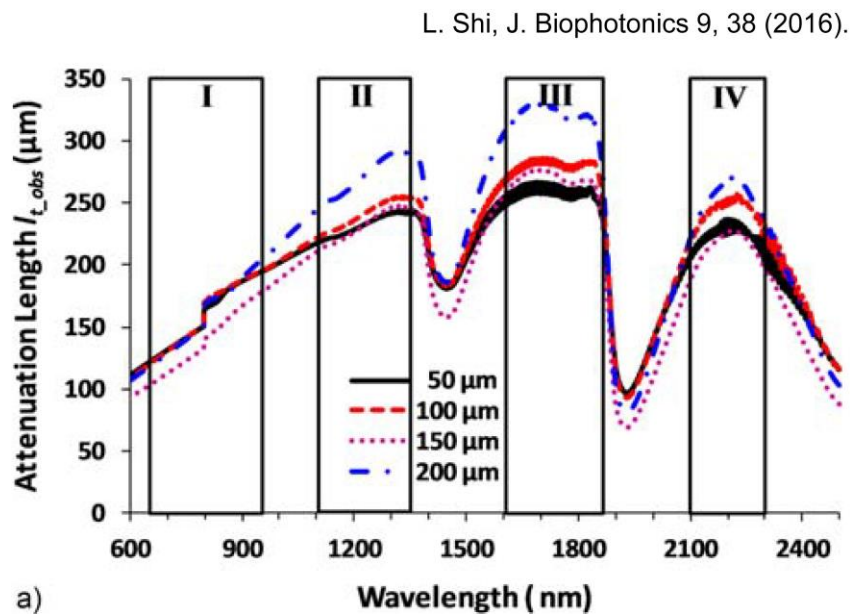


図 3.4 ラット脳における減衰距離の波長依存性[30].  
50–200  $\mu\text{m}$  厚にスライスした大脳皮質の透過率から減衰距離を算出している。

以上の研究例が示すように、波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の光は、散乱による信号減衰が 1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯よりもさらに小さく、水の吸収と合わせた生体中で生じるトータルの信号減衰が近赤外域で最も小さくなる。信号減衰の低下によって、生体の深部まで信号光が到達

し、イメージングの侵達長が向上する。上記の報告例の他にも、1.7  $\mu\text{m}$  帯付近で発光する蛍光プローブを用いた生体イメージングにおいても、1.7  $\mu\text{m}$  帯の利用によってイメージングの侵達長が向上することが示されている[31–33]。

### 3.4 1.7 $\mu\text{m}$ 帯 OCT イメージング

OCT でも同様に、高散乱な生体中での信号減衰が小さい波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いた高侵達イメージングの研究が進められている。1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT システムは、2008 年に Sharma らによって初めて報告された[34]。従来 OCT で利用されてきた 0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯より長波長な 1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いることで、試料中における散乱による信号減衰を小さくすることができ、高散乱な試料（ヒト皮膚等）における OCT イメージングの侵達長の向上が確認された[34]。また、2010 年の Kodach らの研究では、水を多く含む高散乱体（リピッド溶液）の OCT イメージングにおいて、水を多く含む場合でも（体積比 70%）、散乱が強い試料（散乱係数: 1–3 /mm @1.7  $\mu\text{m}$  帯）に対しては、1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いることで 1.3  $\mu\text{m}$  帯 OCT より高侵達化が可能であることが報告されている[35]。脳や皮膚組織に含まれる水の体積比および散乱係数はそれぞれ、約 70%、2–3 /mm（波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯）であるため[15–17,30,36]、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT は脳や皮膚組織の高侵達なイメージングに有効であると言える。

OCT では生体内部から返ってくる散乱光を基に画像を構築するため、1.7  $\mu\text{m}$  帯光源を用いて散乱係数を小さくし散乱光の量を減らすと、OCT イメージのコントラスト（SNR）が低下してしまう恐れがある。この点に関しては、次章の予備実験の結果が示すように、生体深部においては、①低散乱係数から導かれる信号減衰の減少によって、より深部までサンプル光が到達することや、②組織の深部で発生する多重散乱光によるバックグラウンドノイズの上昇が短波長帯に比べて小さいことから、高散乱な生体組織の深部では、短波長帯 OCT よりも高い画像コントラストが得られ、高侵達なイメージングが実現できると言える。

中心波長が  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯の超広帯域光源を用いることで、高侵達かつ高分解能な OCT イメージングが実現できる。ただし、第 2 章で示したように、OCT の深さ方向分解能は光源の中心波長の 2 乗に比例するため、高分解能な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングの実現には、 $0.8\text{--}1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT で用いる光源以上に広帯域なスペクトルが必要である。例えば、生体中（屈折率を 1.38 と仮定）で  $5\text{ }\mu\text{m}$  の深さ方向分解能を達成するために必要な光源のスペクトル幅（FWHM）は、中心波長  $0.8, 1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯では約  $40\text{ nm}, 110\text{ nm}$  であるが、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯においては  $190\text{ nm}$  となる。我々の研究グループではこれまでに、超短パルス光と光ファイバ中で生じる非線形効果を活用した超広帯域光、スーパーコンティニューム（SC）光源を中心波長  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯で開発し、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT で初めて  $5\text{ }\mu\text{m}$  以下の高い深さ方向分解能を実現した（図 3.5）[37]。

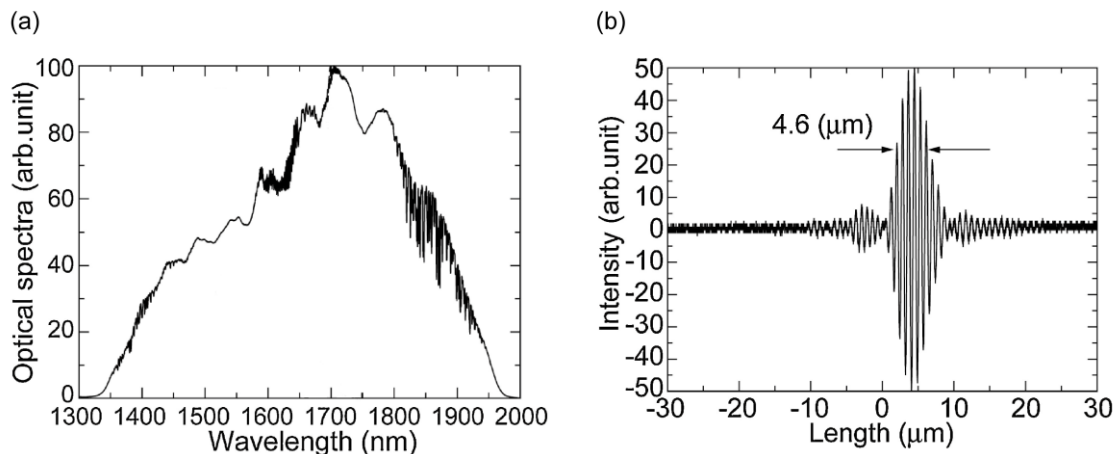


図 3.5 (a) 超短パルスファイバレーザを基に生成した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル。  
(b)  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いて取得した OCT 干渉波形[37]。

高散乱組織の深部の観察において、高侵達性と高分解能性を併せ持つ  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT は非常に強力なツールであると言える。しかし、従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT では測定感度が  $95\text{ dB}$  程度に制限されていたため、深部観察に十分な侵達長を実現できていなかった。また、従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT はタイムドメイン方式を採用しており、サンプルの深さ方向情報の取得にリファレンスミラーの機械的な走査が必要であった。ミラーの走査速度が  $100\text{ Hz}$  に機械的に制限されていたため、XY 平面内の 1 点の深さ方向情報の取得に  $0.1\text{ ms}$  ( $1/100\text{ Hz}$ ) を要し、OCT 断層像（B-scan）を

512 個の深さ方向情報 (A-scan) で構築する場合, 1 枚の OCT 断層像を取得するのに約 5 秒必要であった. そのため, 生体を生きたままの状態で観察することや高速な生命現象を捉えるのが困難であった.

高速かつ高感度な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムが誕生すれば, 脳や皮膚の深部で起こる生命現象の観察が可能になると考え, 本研究では, 高出力な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた高感度な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムの開発 (第 5 章), および, イメージングの高速化を目指して 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 SD-OCT システムの開発を行った (第 6 章).

### 第 3 章に関する参考文献

- [1] R. Weissleder, “A clearer vision for in vivo imaging,” *Nat. Biotechnol.* **19**, 316–317 (2001).
- [2] V. J. Pansare, S. Hejazi, W. J. Faenza, and R. K. Prudhomme, “Review of Long-Wavelength Optical and NIR Imaging Materials: Contrast Agents, Fluorophores, and Multifunctional Nano Carriers,” *Chem. Mater.* **24**, 812–827 (2012).
- [3] T. Jin, “Non-Invasive Near-Infrared Fluorescence Imaging in the Second Optical Window,” *JJSLSM* **36**(2), 195–200 (2015).
- [4] K. K. Tsia, “Essential Basics of Light-Matter Interaction in Biophotonics,” Chap. 2 in *Understanding Biophotonics, Fundamentals, Advances, and Applications*, L. L. Tsia, Ed., 57–198, Pan Stanford (2015).
- [5] R. R. Anderson and J. A. Parrish, “The Optics of Human Skin,” *J. Invest. Dermatol.* **77**, 13–19 (1981).
- [6] A. Abdo and M. Sahin, “NIR Light Penetration Depth in the Rat Peripheral Nerve and Brain Cortex,” *Proc. 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, 1723–1725 (2007).
- [7] N. Chen, CH Wong, and C. J. R. Sheppard, “Focal modulation microscopy,” *Opt. Express* **16**(23), 18764–18769 (2008).
- [8] G. M. Palmer, K. Vishwanath, and M. W. Dewhirst, “Application of Optical Imaging and Spectroscopy to Radiation Biology,” *Radiat. Res.* **177**(4), 365–375 (2012).
- [9] M. Mehrmohammadi, S. J. Yoon, D. Yeager, and S. Y. Emelianov, “Photoacoustic Imaging for Cancer Detection and Staging,” *Curr. Mol. Imaging* **2**(1), 89–105 (2013).
- [10] L. A. Sordillo, Y. Pu, S. Pratavieira, Y. Budansky, and R. R. Alfano, “Deep optical imaging of tissue using the second and third near-infrared spectral windows,” *J. Biomed. Opt.* **19**(5), 056004 (2014).
- [11] V. V. Tuchin, “Tissue Optics and Photonics: Light-Tissue Interaction,” *J. Biomed. Photonics Eng.* **1**(2), 98–134 (2015).

- [12] S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review," *Phys. Med. Biol.* **58**, R37–R61 (2013).
- [13] M. H. Niemz, *Laser-Tissue Interactions, Fundamentals and Applications*, Springer (2003).
- [14] S. Johnsen and E. A. Widder, "The Physical Basis of Transparency in Biological Tissue: Ultrastructure and the Minimization of Light Scattering," *J. Theor. Biol.* **199**, 181–198 (1999).
- [15] H. Neeb, V. Ermer, T. Stocker, and N.J. Shaha, "Fast quantitative mapping of absolute water content with full brain coverage," *Neuroimage* **42**, 1094–1109 (2008).
- [16] N. Nakagawa, M. Matsumoto, and S. Sakai, "In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy," *Skin Res. Technol.* **16**, 137–141 (2010).
- [17] H. Arimoto and M. Egawa, "Imaging wavelength and light penetration depth for water content distribution measurement of skin," *Skin Res. Technol.* **21**, 94–100 (2015).
- [18] L. Kou, D. Labrie, and P. Chylek, "Refractive indices of water and ice in the 0.65- to 2.5- $\mu\text{m}$  spectral range," *Appl. Opt.* **32**(19), 3531–3540 (1993).
- [19] A. N. Yaroslavsky, P. C. Schulze, I. V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich and H. J. Schwarzmaier, "Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range," *Phys. Med. Biol.* **47**, 2059–2073 (2002).
- [20] R. H. Wilson, K. P. Nadeau, F. B. Jaworski, B. J. Tromberg, and A. J. Durkin, "Review of short-wave infrared spectroscopy and imaging methods for biological tissue characterization," *J. Biomed. Opt.* **20**(3), 030901 (2015).
- [21] P. Theer, M. T. Hasan, and W. Denk, "Two-photon imaging to a depth of 1000  $\mu\text{m}$  in living brains by use of a Ti:Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> regenerative amplifier," *Opt. Lett.* **28**(12), 1022–1024 (2003).
- [22] D. Kobat, M. E. Durst, N. Nishimura, A. W. Wong, C. B. Schaffer, and C. Xu, "Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation," *Opt. Express* **17**(16), 13354–13364 (2009).
- [23] D. Kobat, N. G. Horton, and C. Xu, "In vivo two-photon microscopy to 1.6-mm depth in mouse cortex," *J. Biomed. Opt.* **16**(10), 106014 (2011).

- [24] R. Kawakami, K. Sawada, A. Sato, T. Hibi, Y. Kozawa, S. Sato, H. Yokoyama, and T. Nemoto, “Visualizing hippocampal neurons with in vivo two-photon microscopy using a 1030 nm picosecond pulse laser,” *Sci. Rep.* **3**, 1014 (2013).
- [25] J. M. Schmitt, A. Knüttel, M. Yadlowsky, and M. A. Eckhaus, “Optical-coherence tomography of a dense tissue: statistics of attenuation and backscattering,” *Phys. Med. Biol.* **39**(10), 1705–1720 (1994).
- [26] M. A. Choma, K. Hsu, and J. A. Izatt, “Swept source optical coherence tomography using an all-fiber 1300-nm ring laser source,” *J. Biomed. Opt.* **10**(4), 044009 (2005).
- [27] N. G. Horton, K. Wang, D. Kobat, C. G. Clark, F. W. Wise, C. B. Schaffer and C. Xu, “In vivo three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain,” *Nat. Photon.* **7**, 205–209 (2013).
- [28] L. A. Sordillo, Y. Pu, S. Pratavieira, Y. Budansky, and R. R. Alfano, “Deep optical imaging of tissue using the second and third near-infrared spectral windows,” *J. Biomed. Opt.* **19**(5), 056004 (2014).
- [29] L. A. Sordillo, L. Lindwasser, Y. Budansky, P. Leproux, R. R. Alfano, “Near-infrared supercontinuum laser beam source in the second and third near-infrared optical windows used to image more deeply through thick tissue as compared with images from a lamp source,” *J. Biomed. Opt.* **20**(3), 030501 (2015).
- [30] L. Shi, L. A. Sordillo, A. R. Contreras, and R. Alfano, “Transmission in near-infrared optical windows for deep brain imaging,” *J. Biophotonics* **9**(1–2), 38–43 (2016).
- [31] S. Diao, J. L. Blackburn, G. Hong, A. L. Antaris, J. Chang, J. Z. Wu, B. Zhang, K. Cheng, C. J. Kuo, and H. Dai, “Fluorescence Imaging In Vivo at Wavelengths beyond 1500 nm,” *Angew. Chem.* **127**, 14971–14975 (2015).
- [32] G. Hong, A. L. Antaris, and H. Dai, “Near-infrared fluorophores for biomedical imaging,” *Nat. Biomed. Eng.* **1**, 1–22 (2017).
- [33] S. Zhu, Q. Yang, A. L. Antaris, J. Yue, Z. Ma, H. Wang, W. Huang, H. Wan, J. Wang, S. Diao, B. Zhang, X. Li, Y. Zhong, K. Yu, G. Hong, J. Luo, Y. Liang, and H. Dai, “Molecular

- imaging of biological systems with a clickable dye in the broad 800- to 1,700-nm near-infrared window,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**(5), 962–967 (2017).
- [34] U. Sharma, E. W. Chang, and S. H. Yun, “Long-wavelength optical coherence tomography at 1.7  $\mu\text{m}$  for enhanced imaging depth,” *Opt. Express* **16**(24), 19712–19723 (2008).
- [35] V. M. Kodach, J. Kalkman, D. J. Faber, and T. G. van Leeuwen, “Quantitative comparison of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm,” *Biomed. Opt. Express* **1**(1), 176–185 (2010).
- [36] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, and V. V. Tuchin, “Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000nm,” *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, 2543–2555 (2005).
- [37] S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, and K. Itoh, “Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  Region with Fiber Laser Supercontinuum in Low-Water-Absorption Samples,” *Appl. Phys. Express* **4**, 052501 (2011).



## 第4章 高散乱かつ水を多く含む試料における OCT イメージングの波長依存性の比較

### 4.1 はじめに

これまでに、波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いることで、生体中で受ける散乱による光減衰を低減でき、短波長帯 OCT と比べ侵達長が向上できることが示されている[1-5]。一方、OCT 測定で得られる干渉信号は生体中から返ってきた散乱光から生成されているため、散乱係数の減少は OCT 信号光強度の減少につながる。したがって、1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いて散乱係数を減少させることは、OCT イメージのコントラストを低下させる可能性がある。高散乱組織の深部観察を実現するためには、OCT イメージングの侵達長だけでなく画像コントラスト (SNR) も考慮する必要がある。

そこで本研究では、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いることで高散乱組織の高侵達かつ高コントラストなイメージングが行えるかどうかを確認するため、OCT イメージングの波長依存性を評価した。リピッド溶液（大豆油脂肪乳剤）による生体模擬試料（生体ファントム）を用いて、脳や皮膚といった高散乱かつ水を多く含む生体組織の OCT イメージング特性を定量的に評価した。波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7  $\mu\text{m}$  帯で OCT イメージングの比較を行い、高散乱組織の深部観察では、1.7  $\mu\text{m}$  帯で最も高侵達かつ高コントラストな OCT イメージが取得できることを明らかにした。

### 4.2 OCT イメージングの波長依存性の評価系

#### 4.2.1 波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7 $\mu\text{m}$ 帯 OCT システム

高散乱な生体組織の深部観察における、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT の侵達長および画像コントラストの優位性を示すために、1.7  $\mu\text{m}$  帯を含む4つの波長帯で OCT イメージングの評価

を行った．比較の波長帯として，一般的に OCT で用いられる  $0.8\text{ }\mu\text{m}$  帯と，近年の高侵達イメージングの主流である  $1.1$ ,  $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯を用いた．光の波長が OCT イメージに与える影響を評価するため，光源の波長を除く主要な OCT イメージング特性（測定感度，深さ方向分解能およびサンプルへの照射条件）を統一した．

$0.8$ ,  $1.1$ ,  $1.3$ ,  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT システムの光源として，超短パルスレーザと高非線形ファイバを組み合わせ発生させた SC 光を用いた（図 4.1）． $0.8$ ,  $1.1\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光には，チタンサファイアレーザ（Ti:sapphire, Mai-Tai HP, Spectra Physics）およびネオジムガラスレーザ（Nd:glass, High Q Laser Production）を種光として用いた[6,7]．チタンサファイアレーザおよびネオジムガラスレーザから出力される超短パルス光のパルス幅はそれぞれ， $83\text{ fs}$ ,  $100\text{ fs}$  であった． $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光は，エルビウム（Er）添加超短パルスファイバレーザ（femtolite B-5, IMRA）からの出力パルス光（パルス幅:  $\sim 100\text{ fs}$ ）を高非線形ファイバに入力し生成した SC 光のうち， $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯のみを波長フィルタによって抜き出した[4]． $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光は，上記の Er 添加超短パルスファイバレーザからの出力パルス光（中心波長  $1.56\text{ }\mu\text{m}$ ）を光ファイバ中で生じる非線形効果（パルス内誘導ラマン散乱）によって波長シフトさせて生成した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超短パルス光を高非線形ファイバに入力することで生成した[3,4]．高非線形ファイバに入力する超短パルス光の強度を調整することで，ファイバ中で生じる非線形効果の大きさを制御し，OCT の深さ方向分解能（生体中換算）が約  $5\text{ }\mu\text{m}$  になるように，各波長帯の SC 光のスペクトル幅を調整した．

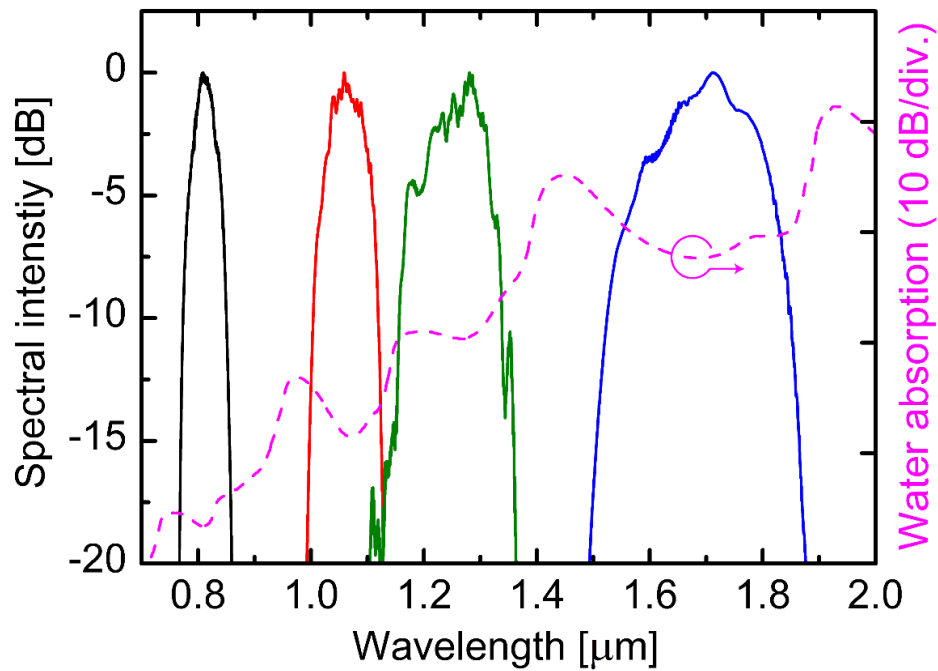


図 4.1 波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光スペクトル.

生成した SC 光を用いて図 4.2 に示す TD-OCT システムを構築した[4]. OCT システム内にあるファイバカップラやレンズ, 検出器はデバイスごとに対応した動作波長域が存在するため, 本研究では, SC 光源の中心波長帯 0.8, 1.1, 1.3, 1.7  $\mu\text{m}$  帯それぞれに対応したデバイスを用いて, 波長帯ごとに TD-OCT システムを構築した. サンプル光とリファレンス光の干渉効率を最大にするため, 偏波コントローラと分散補償ガラスを干渉計内に配置し, サンプル光とリファレンス光の偏光および波長分散を揃えた[8]. 2 つのフォトダイオードと差動増幅回路によって構成されるバランス検出回路を用い, レーザ強度ノイズを抑制し高感度な OCT イメージングが行える構成にした[8].

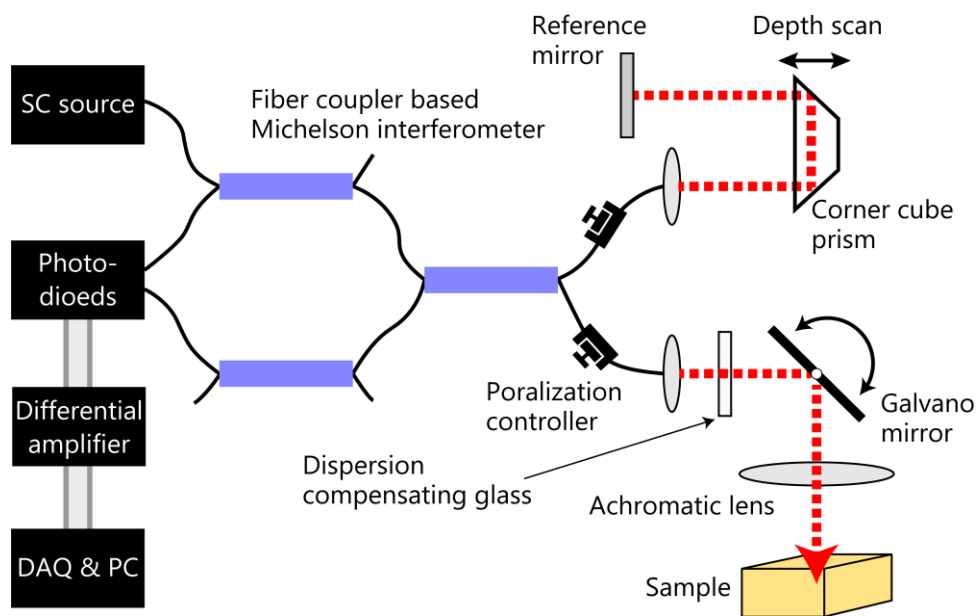


図 4.2 生体ファントムの OCT イメージングの波長依存性比較結果.

OCT イメージングの波長依存性を議論するためには、各波長帯の OCT システムのイメージング特性を合わせておく必要がある[2,4]. 本研究では、OCT イメージングの侵達長および画像コントラストに影響する、測定感度、サンプルにミラーを置いたときのディテクタへの戻り光強度、サンプル光を集光した際のレイリー長を 4 波長帯で揃えた(表 4.1). また、リファレンスミラーの走査速度で決定される深さ方向情報 (A-scan) の取得速度は、4 波長帯全ての OCT システムで 100 Hz に統一し測定を行った.

表 4.1 各波長帯における OCT システムの基礎特性.

Wavelength	Sensitivity [dB]	Axial res. [ $\mu\text{m}$ ]	Rayleigh range [mm]	Return from sample mirror [ $\mu\text{W}$ ]
0.8 $\mu\text{m}$	90.4	5.1	0.27	~100
1.1 $\mu\text{m}$	92.0	5.2	0.28	~100
1.3 $\mu\text{m}$	90.6	5.4	0.29	~100
1.7 $\mu\text{m}$	88.4	5.2	0.37	~100

(深さ方向分解能とレイリー長はサンプルの屈折率が 1.35 のときの値)

#### 4.2.2 リピッド溶液を用いた生体ファントム

本研究では、光学特性を任意に設定できる生体ファントムを用いて、高散乱な生体組織における OCT イメージングの特性を定量的に評価した。本論文におけるイメージングのメインターゲットは、脳や皮膚といった高散乱かつ水分を多く含む（約 70%）高散乱組織である。高散乱組織に代わる生体ファントムとして、高散乱かつ水を多く含むリピッド溶液を用いた。リピッド溶液を用いた生体ファントムは、溶液に含まれるリピッド滴や水（ $\text{H}_2\text{O}$ ）の含有比率を変更することで散乱係数および吸収係数を簡単に調整することができるため、生体光イメージングの定量的な評価によく利用されている[9,10]。OCT イメージングの侵達長と画像コントラストが生体組織の散乱係数に対してどのように変化するかを調べるため、20%リピッド溶液（イントラリポス 20%，大塚製薬）を水（ $\text{H}_2\text{O}$ ）と重水（ $\text{D}_2\text{O}$ ）を用いて希釈し、リピッド濃度（ファントム全体に対する体積比）が 1, 2, 3, 5, 8, 10, 15% の生体ファントムを用意した。脳や皮膚の近赤外域における光吸収特性は、体積比 70% の水の吸収特性とほぼ一致する[11–13]。高散乱組織の吸収特性を再現するため、生体ファントムに含まれる水の体積比が 70% になるように重水を加えた。本研究では、ファントムの屈折率は波長  $0.8\text{--}1.7\mu\text{m}$  帯において一定（1.35）であると仮定し解析を行った。

#### 4.2.3 OCT イメージングの侵達長とコントラスト（SNR）の定義

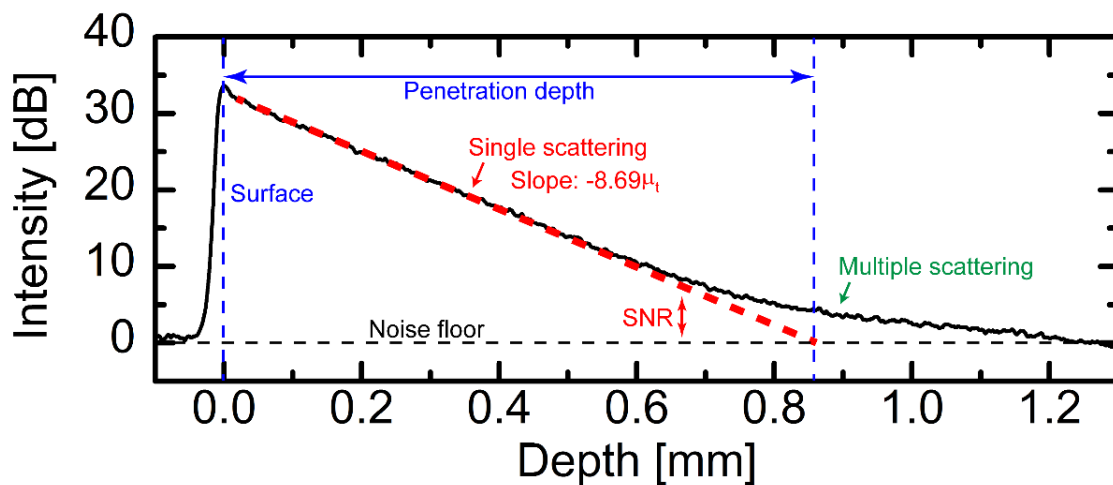


図 4.3 生体ファントム測定で得られる OCT 信号強度プロファイルの例。

深さ方向に対して均一な構造及び屈折率を持つサンプルを OCT で測定した場合、OCT 信号強度の深さに対する減衰の様子は単一散乱モデルで説明できることが報告されている[1,2,14,15]。単一散乱モデルとは、サンプル中で一度だけ散乱が起これと仮定し、サンプル中における光の減衰を検討するモデルである。本実験で用いた生体ファントム（リピッド溶液）も、巨視的に見ると、深さ方向に対して均一な構造および屈折率を持つため、単一散乱モデルを用いて OCT イメージングの侵達長および画像コントラストを定義した。単一散乱モデルにおいて、サンプル表面から深さ  $z$  の位置から返ってくる OCT 信号強度  $P(z)$  は、以下の式で示すように指数関数的に減衰する。

$$P(z) = P_0 \exp(-\mu_t \cdot 2z) \quad (4.1)$$

ここで、 $P_0$  はサンプル表面から返ってくる OCT 信号強度、 $\mu_t$  は減衰係数である。式(4.1)の対数をとると、

$$\begin{aligned} 10 \cdot \log_{10} \left( \frac{P(z)}{P_0} \right) &= -20\mu_t \cdot \log_{10} e \cdot z \\ &\approx -8.69\mu_t \cdot z \end{aligned} \quad (4.2)$$

となり、OCT 信号強度を対数表示したときには、信号減衰が測定深さに対して線形に減衰する。図 4.3 に生体ファントムの測定で得られる OCT 信号強度の深さ方向に沿ったプロファイルを示す。サンプル表面付近では、測定深さに対して線形に OCT 信号強度が減衰しており、単一散乱モデルを使用することができることが分かる。サンプルの深部では、単一散乱モデルから求めた減衰直線より測定値が大きくなっている。これは、多重散乱によるアーチファクトと考えられ、サンプルの深部では多重散乱の影響で OCT イメージングの実効的なノイズフロアが上昇していることを示している[1]。本研究では、OCT イメージングの侵達長を、サンプル表面から、単一散乱モデルで求めた直線とノイズフロアが交差する深さまでの距離と定義し、各深さ位置での画像コントラスト (SNR) は、単一散乱モデルで求めた直線とノイズフロアとの比と定義し、波長間の比較を行った。

### 4.3 生体ファントムの OCT イメージングの波長依存性の比較結果

リピッド濃度の異なる生体ファントムを用い、OCT イメージングの侵達長と画像コントラストが、組織の散乱係数と光の波長に対してどのように変化するかを評価した。

生体ファントムの OCT イメージング結果を図 4.4 に示す。散乱の影響が最も小さいリピッド濃度が 1% のファントムでは、水の吸収による信号減衰が最も大きい 1.7  $\mu\text{m}$  帯では、1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯と比較して明らかに侵達長が短かった。また、0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングでは 20 dB 程度の画像コントラストが得られていたのに対し、1.7  $\mu\text{m}$  帯では 10 dB 強のコントラストしか得られなかった。これは、比較に用いた 4 波長帯の中で、1.7  $\mu\text{m}$  帯において最も散乱光の発生が少なく、OCT 信号に寄与する散乱光強度が小さくなってしまったことが原因と考えられる。リピッド濃度が上昇しファントム中で生じる光散乱が大きくなるにつれて、0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯では、ファントム表面近傍のコントラストは向上するが、散乱による信号減衰が増加するため、侵達長が明らかに減少している。リピッド濃度が 8, 15% のファントムでは、4 波長帯の中で散乱の影響が最も小さくなる 1.7  $\mu\text{m}$  帯で、最も高侵達な結果が得られた。また、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージのコントラストはリピッド濃度の上昇に伴い、ファントムの表面近傍だけでなく深部でも向上した。

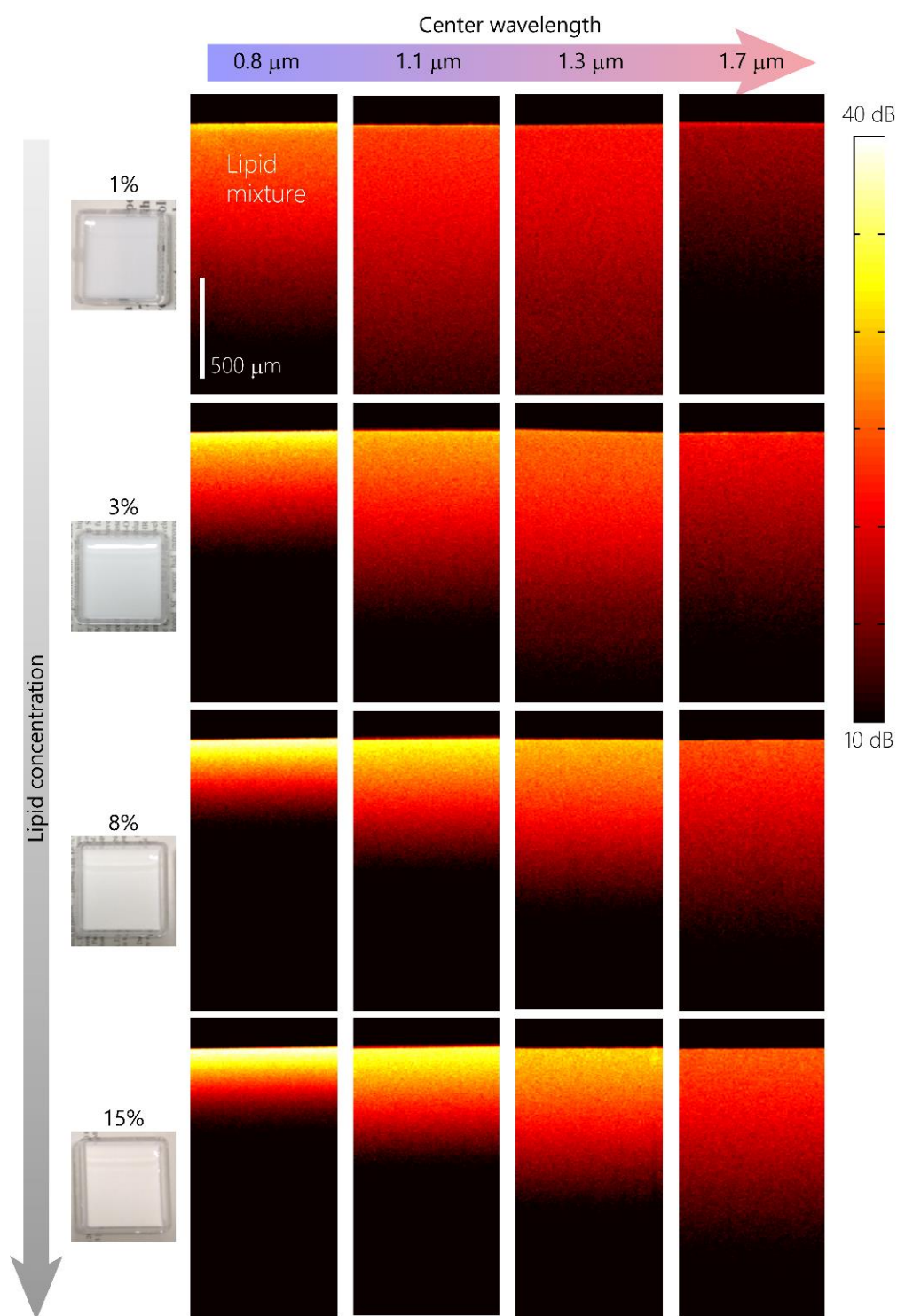


図 4.4 生体ファントムの OCT イメージング結果(30 回平均後). 横方向のスキャン幅は約 1 mm.

図 4.5 にファントムの深さ方向に沿った OCT 信号強度プロファイルを, 図 4.6 に単一散乱モデルを使って求めた減衰係数を示す. OCT 信号強度プロファイルは, 信号強度



のばらつきを十分に低下させるため、同じ位置で測定した OCT 信号を 900 回平均した。なお、図 4.5 の実線は OCT 信号強度の測定値を、点線は単一散乱モデルから求めた減衰直線を示している。OCT 信号の SNR はイメージング速度(深さ方向情報の取得速度)および平均化回数に依存するため、イメージング速度、平均化回数を変更すると図 4.5 に示す OCT 信号の SNR も増減する。しかし本研究では、4 波長帯全てで同一データ取得速度、同一平均化回数にて OCT 信号を取得したため、各波長における SNR の相対的な大小関係には、サンプルの散乱係数・吸収係数の波長依存性のみが影響する。波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯では、散乱係数が大きくなっても OCT 信号の減衰直線の傾きがほぼ一定であることが分かる(図 4.6)。一方、OCT 信号強度はリピッド濃度が高いほど強くなっている。したがって、OCT イメージング結果で見られたように、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングでは、リピッド濃度上昇に伴い、ファントム深部でのコントラストが向上する。波長 0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯では、リピッド濃度の上昇に伴い明らかに信号減衰直線の傾きが大きくなっている(図 4.6)。また、0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯を用いた高リピッド濃度ファントムの測定では、サンプル深部で単一散乱モデルから求めた減衰直線と実際の測定結果が大きく解離している。これは、多重散乱によって OCT イメージングの実効的なノイズフロアが上昇していることを示唆している[1]。1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT では、サンプル深部における多重散乱の影響は確認されなかった。

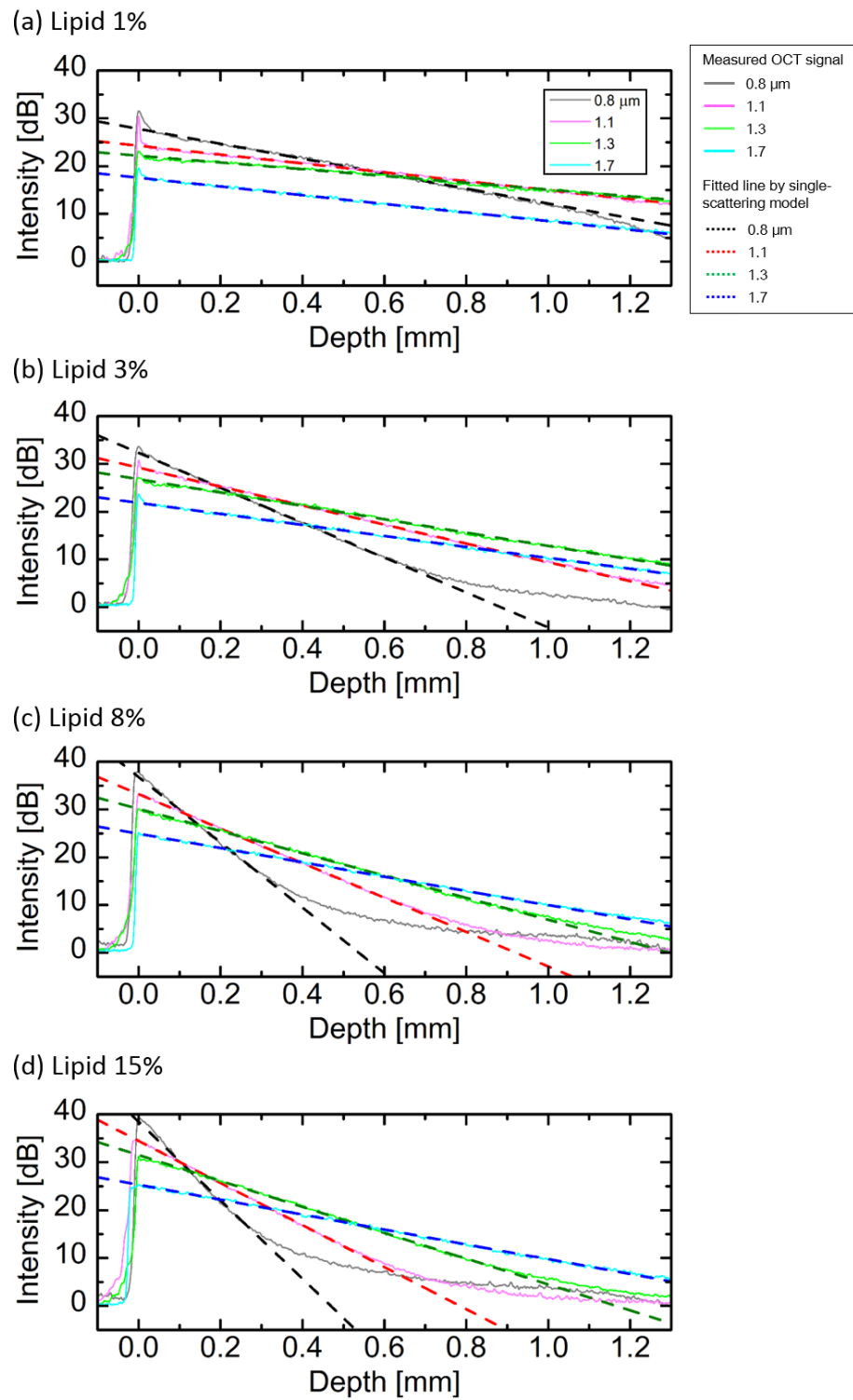


図 4.5 ファントムの深さ方向に沿った OCT 信号強度プロファイル(900 回平均).

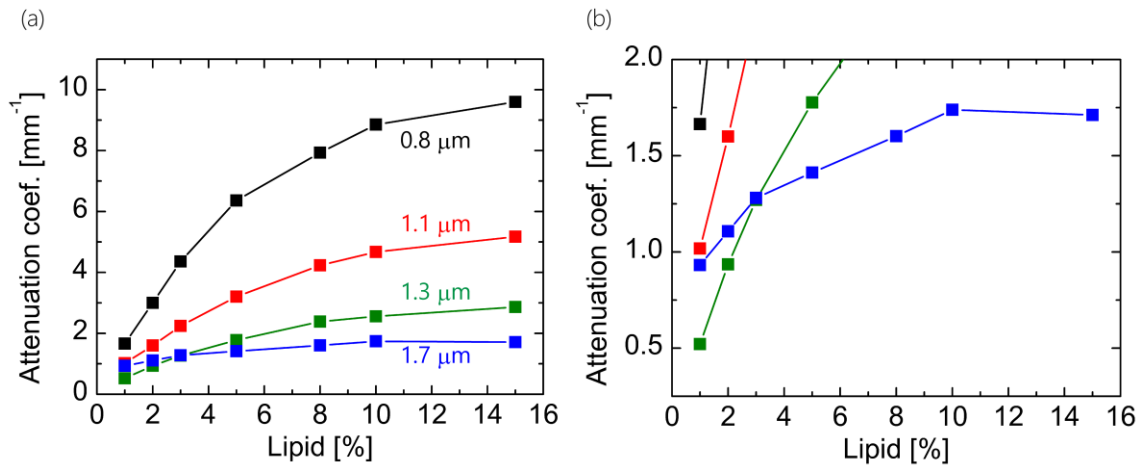


図 4.6 単一散乱モデルから求めた減衰係数の波長, リピッド濃度依存性.

(b)は(a)の低散乱係数領域を拡大した図である.

図 4.7 に, 単一散乱モデルを使用して求めた OCT イメージングの侵達長の波長依存性を示す. 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングでは, リピッド濃度が低く散乱が小さいファントムに対しては, 画像コントラストが低く, 水による吸収が支配的であるため, 侵達長が 1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージに比べて短くなった. リピッド濃度の上昇に伴い, 波長 0.8–1.3  $\mu\text{m}$  帯の侵達長が大きく減少しているのに対し, 1.7  $\mu\text{m}$  帯は侵達長がリピッド濃度によらずほぼ一定で, 高散乱なファントム (リピッド濃度 5–15%) に対しては, これまでの報告と同様に, 最も高い侵達長が得られた[1,2].

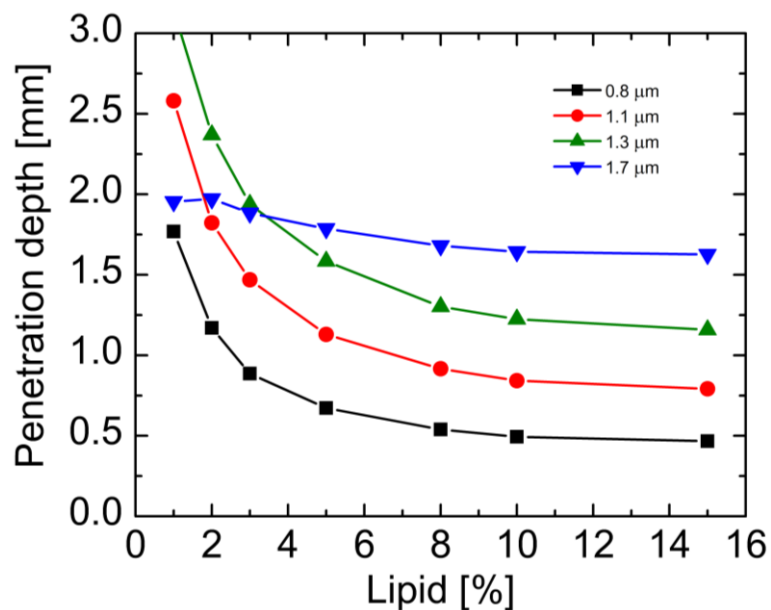
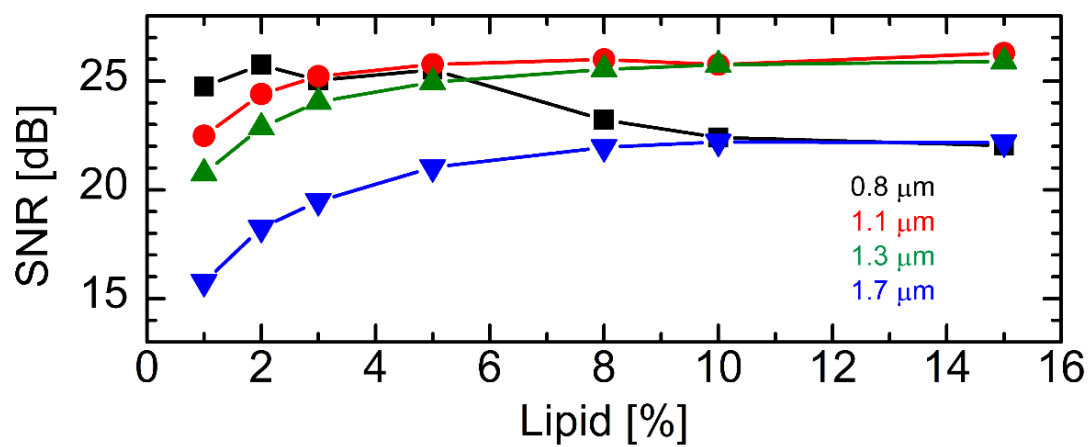


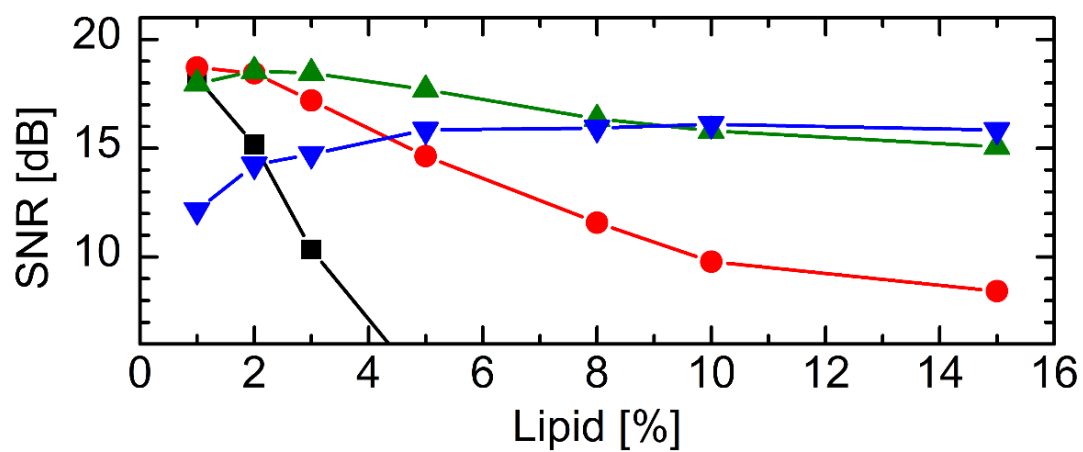
図 4.7 ファントムの OCT イメージングにおける侵達長.

単一散乱モデルによって求めた OCT 信号強度の減衰直線を用いて, ファントムの表面から 0.2, 0.6, 1.0 mm 深部における OCT イメージの SNR を求めた (図 4.8). サンプル表面近傍の OCT イメージングにおいては (図 4.8(a)), 1.7  $\mu\text{m}$  帯における低散乱特性は画像コントラストを低下させてしまう. 一方で, 高散乱組織の深部測定においては (図 4.8(b), (c)), 1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いることで 1.3  $\mu\text{m}$  帯 OCT と同程度またはそれ以上の画像コントラストが達成される. 散乱係数の大きいサンプルほど, サンプル深部の高コントラストな OCT イメージを取得するために, 1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いる優位性が向上している.

(a) Imaging depth: 0.2 mm



(b) Imaging depth: 0.6 mm



(c) Imaging depth: 1.0 mm

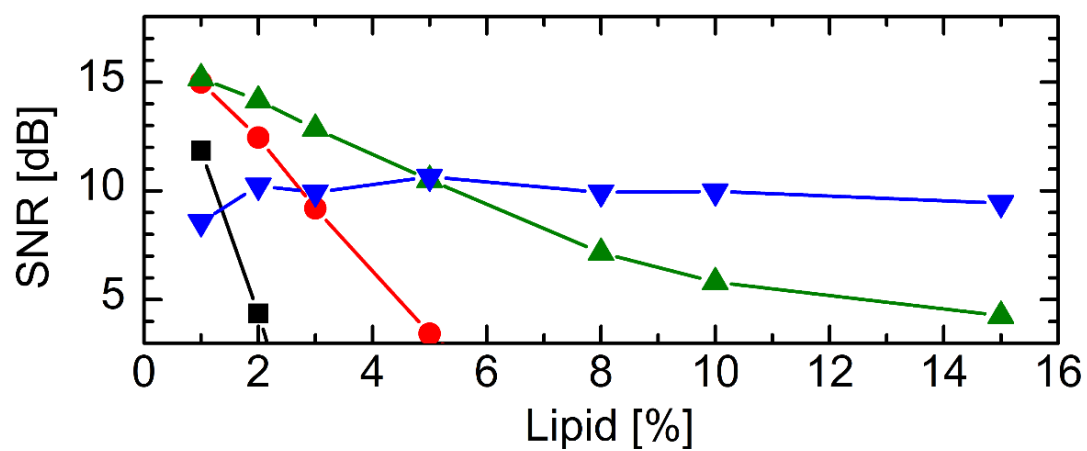


図 4.8 測定深さ(a) 0.2 mm, (b) 0.6 mm, (c) 1.0 mm における画像コントラスト(SNR)。

## 4.4 考察と結論

1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングによる高散乱組織の高侵達かつ高分解能イメージングの実現を目指し研究を行う前段階として、高散乱組織の OCT イメージングにおける波長依存性を比較し、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングの侵達長およびコントラストの評価を行った。脳や皮膚といった高散乱かつ水を多く含む生体組織における OCT イメージング特性を定量化するために、リピッド溶液を用いた生体ファントムを作成し OCT イメージング比較を行った。測定感度およびサンプル光の照射条件が等しい波長 0.8, 1.1, 1.3, 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT システムによるイメージングの波長依存性の比較によって、高散乱組織の OCT イメージングにおいては、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いることで組織のより深い位置をより高いコントラストで観察できることが分かった。

本研究で使用したリピッド溶液（リピッド濃度 10%）の波長 1.6  $\mu\text{m}$  帯における散乱係数は約 2 /mm であり [2]、これまでに報告されている脳や皮膚組織の波長 1.6–1.7  $\mu\text{m}$  帯における散乱経緯数 1–3 /mm と同程度である [16,17]。本研究で作成したリピッド溶液は、水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) の体積比が 70% になるように重水 ( $\text{D}_2\text{O}$ ) を加えており、脳や皮膚組織に含まれる水分量も約 70% である [11,12]。したがって、リピッド濃度 10% の溶液のイメージング結果は、実際の脳や皮膚を測定した際に得られる結果と近いことが予想される。図 4.7 に示すように、リピッド濃度 10% に対しては、1.7  $\mu\text{m}$  帯で最も高侵達な結果が得られており、実際の脳や皮膚組織の OCT イメージングにおいても、波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いることで、他の波長帯の OCT よりも高侵達なイメージングが実現できると期待できる。

本研究では、サンプル光が生体ファントムから受ける波長分散の影響については考慮していなかった。ファントム中に多く含まれる水は分散性媒質であることが良く知られており、これまでの研究で、水を多く含むサンプルの OCT イメージングでは干渉信号波形が水の波長分散の影響でなまってしまい、信号強度ピークが下がってしまうことが報告されている [18–21]。本研究では、分散の影響が無い場合の深さ方向分解能を揃えるために、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT で最も広帯域なスペクトルを持つ SC 光を使用した。したがって、波長分散による信号強度ピークの減少の影響は 1.7  $\mu\text{m}$  帯で最大であったと予想さ

れる．最適な分散補償を与え OCT 信号のピーク強度を回復した状態で波長依存性を評価した場合，サンプル深部における 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージのコントラストの優位性は，今回得られた結果以上になると期待できる．1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による生体深部イメージングにおける波長分散の影響は第 7 章で詳しく議論している．1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による水を多く含むサンプルの測定では，水の波長分散の影響で OCT 信号ピークが 5 dB 程度低下していた．第 7 章では、分散補償を行うことで波長分散の影響による信号減衰を回復でき、OCT 信号強度の低下を抑制できることを示している．

## 第4章に関する参考文献

- [1] U. Sharma, E. W. Chang, and S. H. Yun, “Long-wavelength optical coherence tomography at 1.7  $\mu\text{m}$  for enhanced imaging depth,” *Opt. Express* **16**(24), 19712–19723 (2008).
- [2] V. M. Kodach, J. Kalkman, D. J. Faber, and T. G. van Leeuwen, “Quantitative comparison of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm,” *Biomed. Opt. Express* **1**(1), 176–185 (2010).
- [3] S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, and K. Itoh, “Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  Region with Fiber Laser Supercontinuum in Low-Water-Absorption Samples,” *Appl. Phys. Express* **4**, 052501 (2011).
- [4] S. Ishida and N. Nishizawa, “Quantitative comparison of contrast and imaging depth of ultrahigh-resolution optical coherence tomography images in 800–1700 nm wavelength region,” *Biomed. Opt. Express* **3**(2), 282–294 (2012).
- [5] S. P. Chong, C. W. Merkle, D. F. Cooke, T. Zhang, H. Radhakrishnan, L. Krubitzer, and V. J. Srinivasan, “Noninvasive, in vivo imaging of subcortical mouse brain regions with 1.7  $\mu\text{m}$  optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **40**(21), 4911–4914 (2015).
- [6] M. Nishiura, T. Kobayashi, M. Adachi, J. Nakanishi, T. Ueno, Y. Ito, and N. Nishizawa, “In vivo Ultrahigh-Resolution Ophthalmic Optical Coherence Tomography Using Gaussian-Shaped Supercontinuum,” *Jpn. J. Appl. Phys.* **49**, 012701 (2010).
- [7] S. Bourquin, A. D. Aguirre, I. Hartl, P. Hsiung, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, T. A. Birks, W. J. Wadsworth, U. Bunting, and D. Kopf, “Ultrahigh resolution real time OCT imaging using a compact femtosecond Nd:glass laser and nonlinear fiber,” *Opt. Express* **11**(24), 3290–3297 (2003).
- [8] *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., Springer Reference (2015).
- [9] B. W. Pogue and M. S. Patterson, “Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry,” *J. Biomed. Opt.* **11**(4), 041102 (2006).
- [10] S. T. Flock, S. L. Jacques, B. C. Wilson, W. M. Star, and M. J.C. van Gemert, “Optical



- Properties of Intralipid: A Phantom Medium for Light Propagation Studies,” *Lasers Surg. Med.* **12**, 510–519 (1992).
- [11] H. Neeb, V. Ermer, T. Stocker, and N.J. Shaha, “Fast quantitative mapping of absolute water content with full brain coverage,” *Neuroimage* **42**, 1094–1109 (2008).
  - [12] N. Nakagawa, M. Matsumoto, and S. Sakai, “In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy,” *Skin Res. Technol.* **16**, 137–141 (2010).
  - [13] H. Arimoto and M. Egawa, “Imaging wavelength and light penetration depth for water content distribution measurement of skin,” *Skin Res. Technol.* **21**, 94–100 (2015).
  - [14] J. M. Schmitt, A. Knüttel, A. Gandjbakhche, and R. F. Bonner, “Optical characterization of dense tissues using low-coherence interferometry,” *Proc. SPIE* **1889**, 197–211 (1993).
  - [15] J. M. Schmitt, “Optical coherence tomography (OCT): A Review,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.* **5**(4), 1205–1215 (1999).
  - [16] L. Shi, L. A. Sordillo, A. R. Contreras, and R. Alfano, “Transmission in near-infrared optical windows for deep brain imaging,” *J. Biophotonics* **9**(1–2), 38–43 (2016).
  - [17] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, and V. V. Tuchin, “Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000nm,” *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, 2543–2555 (2005).
  - [18] C. K. Hitzenberger, A. Baumgartner, W. Drexler, and A. F. Fercher, “Dispersion Effects in Partial Coherence Interferometry: Implications for Intraocular Ranging,” *J. Biomed Opt.* **4**(1), 144–151 (1999).
  - [19] B. Cense, N. A. Nassif, T. C. Chen, M. C. Pierce, SH Yun, B. H. Park, B. E. Bouma, G. J. Tearney, and J. F. de Boer, “Ultrahigh-resolution high-speed retinal imaging using spectral-domain optical coherence tomography,” *Opt. Express* **12**(11), 2435–2447 (2004).
  - [20] T. R. Hillman and D. D. Sampson, “The effect of water dispersion and absorption on axial resolution in ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Opt. Express* **13**(6), 1860–1874 (2005).
  - [21] S. Marschall, C. Pedersen, and P. E. Andersen, “Investigation of the impact of water absorption on retinal OCT imaging in the 1060nm range,” *Biomed. Opt. Express* **3**(7), 1620–

1631 (2012).

## 第5章 高出力 SC 光を用いた波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯 超高分解能 OCT の高感度・高侵達化

### 5.1 はじめに

第3章、第4章で述べたように、高散乱な生体組織中での光減衰が小さい波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯を用いた OCT は、高散乱組織に対して高侵達かつ深部で高コントラストなイメージを取得することができる。したがって、高感度な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムによって、脳や皮膚などの高散乱組織の深部を明瞭に観察できると期待される。

筆者らのグループではこれまでに、超短パルスレーザを用いて波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯に超広帯域なスペクトルを持つスーパーコンティニューム光（SC 光）を生成し、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムを開発した[1]。しかし、第3章で述べたように、これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムは、他の波長帯の OCT と比べて測定感度が低く、侵達長を大きく向上させることができていなかった。第2章で述べたように、OCT システムの高感度化には、光源の高出力化が有効な手法である。しかし、これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光生成システムでは、高強度な超短パルスによって誘起される過剰な非線形効果によって出力が制限されてしまうため、SC 光の高強度化は困難であった。

そこで本研究では、SC 光の生成に利用する超短パルス光の高繰り返し化を行うことで、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を光出力化し、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの高感度化と、高侵達化を実現した。今回開発した高出力な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光生成システムの概要を 5.2 節で述べる。5.3 節において、単層カーボンナノチューブ（Single-wall carbon nanotube: SWNT）を用いた高繰り返し超短パルスファイバレーザについて説明する。開発した SWNT 超短パルスファイバレーザに基づく 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光生成について 5.4 節で述べる。5.5 節では、高出力 SC 光源による 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT の高感度化について説明し、5.6 節において高散乱組織の OCT イメージング比較結果を紹介する。5.7 節で考察と結論を述べる。

## 5.2 高繰り返し超短パルスファイバレーザを用いた

### 高出力な 1.7 $\mu\text{m}$ 帯 SC 光生成システムの概要

本研究では、SC 光生成に用いる超短パルス光の高繰り返し化を行うことで、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の高出力化を試みた。高繰り返し超短パルス光を用いることで、超短パルス光のパルスエネルギーは従来 SC 光の生成に使用されていた超短パルス光と同程度であっても、SC 光の平均出力が向上する。また、超短パルスのパルスエネルギーは従来 SC 光の生成に使用されていた超短パルス光と同程度なので、SC 光生成における過剰な非線形効果は現れず、ガウス型のスペクトル形状を持つ SC 光が生成できる。第 2 章で述べたように、OCT で得られる干渉波形の形状は OCT 光源のスペクトル波形のフーリエ変換で与えられる。したがって、光源のスペクトル形状がガウス型の場合、干渉波形もガウス型となり単一のピークを持つ。一方、光源のスペクトル形状がガウス型でない場合（例えば矩形など）、干渉信号のメインピークの周辺に多数のサイドローブが発生し、OCT イメージングにおいてはアーチファクトの主要因となってしまう。高繰り返し超短パルス光を用いて生成した SC 光は、高出力かつガウス型のスペクトル形状を持つことが予想されるため、高感度・高侵達でアーチファクトフリーな OCT イメージングの実現が期待できる。

図 5.1 に高繰り返し超短パルスファイバレーザに基づく 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光生成システムの概要を示す。はじめに、高繰り返し周波数で発振する Er 添加超短パルスファイバレーザを新たに開発した。Er 添加超短パルスファイバレーザおよび Er 添加光ファイバ増幅器（Er-doped fiber amplifier: EDFA）で増幅した超短パルス光の中心波長は 1.56  $\mu\text{m}$  帯であるため[2,3]、偏波保持ファイバ（Polarization maintaining fiber: PMF）中で生じるパルス内誘導ラマン散乱を利用して超短パルス光の中心波長を 1.7  $\mu\text{m}$  帯へとシフトさせる[1,4,5]。PMF への入力光パルスがソリトンパルスするとき、パルス光は最も効率よく長波長帯へとシフトすることが知られている[4]。したがって、1.7  $\mu\text{m}$  帯への波長シフトの効率を最大化するため、ソリトンパルスが出力されるように超短パルスファイバレーザを設計・開発した。1.7  $\mu\text{m}$  帯へ波長シフトした超短パルス光を高非線形ファイバ

に入射し、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を生成する。次節以降で、システムの各部を詳しく説明する。

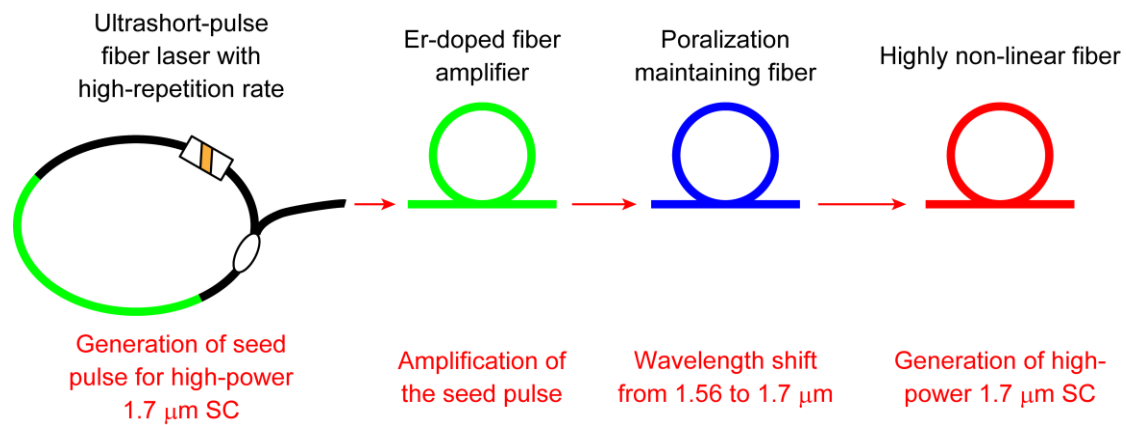


図 5.1 SWNT フィルムを用いた高繰り返し Er 添加超短パルスファイバレーザ。

### 5.3 SWNT フィルムを用いた高繰り返し超短パルスファイバレーザの開発

超短パルスファイバレーザから出力されるパルス光の繰り返し周波数はファイバレーザ共振器長に反比例するため、高繰り返し化のために短尺な共振器長をもつ超短パルスファイバレーザを開発した。図 5.2 に開発した単層カーボンナノチューブ (SWNT) フィルムを用いた高繰り返し超短パルスファイバレーザを示す。

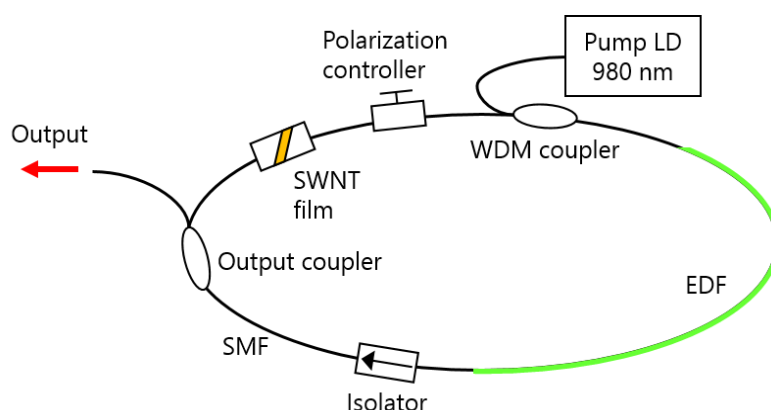


図 5.2 SWNT フィルムを用いた高繰り返し Er 添加超短パルスファイバレーザ.

EDF: Er 添加ファイバ, WDM coupler: 波長分割多重コプラ

一般的な超短パルスファイバレーザで可飽和吸収体として使用される半導体可飽和吸収ミラー (SESAM) [6]は、光ファイバから空間に光を出す必要があるため共振器長が長くなってしまふ。一方、SWNT をポリイミドフィルムに分散させた SWNT フィルムは、ファイバレーザ内にあるファイバコネクタ間に挟み込むことができるため共振器長の大幅な短尺化が可能である[2,3,7]. 本研究では、産業技術総合研究所で製作された、HiPco 法によって精製された直径約 1.2 nm の SWNT を用い、波長 1.5  $\mu\text{m}$  帯で可飽和吸収特性を得た (図 5.3(a)) [2,8,9]. 図 5.3(b)に使用した SWNT フィルムの可飽和吸収特性を示す. 非飽和時の線形吸収率は 39%で、高強度な入射光に対しては、吸収率が約 29%まで低下した (変調度 10%). さらに共振器長を短くするために、高濃度に添加された Er 添加ファイバ (Er 80-8/125, LIEKKI) を使用した. SWNT フィルムと高濃度添加光ファイバを用いることで、共振器長約 1.8 m の短尺な超短パルスファイバレーザを実現し、パルスの繰り返し周波数は従来 SC 光源の 2 倍以上である 110 MHz を達成した (従来: 約 50 MHz) [1]. また、後段で高効率な波長シフトを実現するため、超短パルスファイバレーザ全体の分散値を異常分散となるようにファイバの種類・長さを最適化し、ソリトンパルスが出力されるようにした[3,10–13].

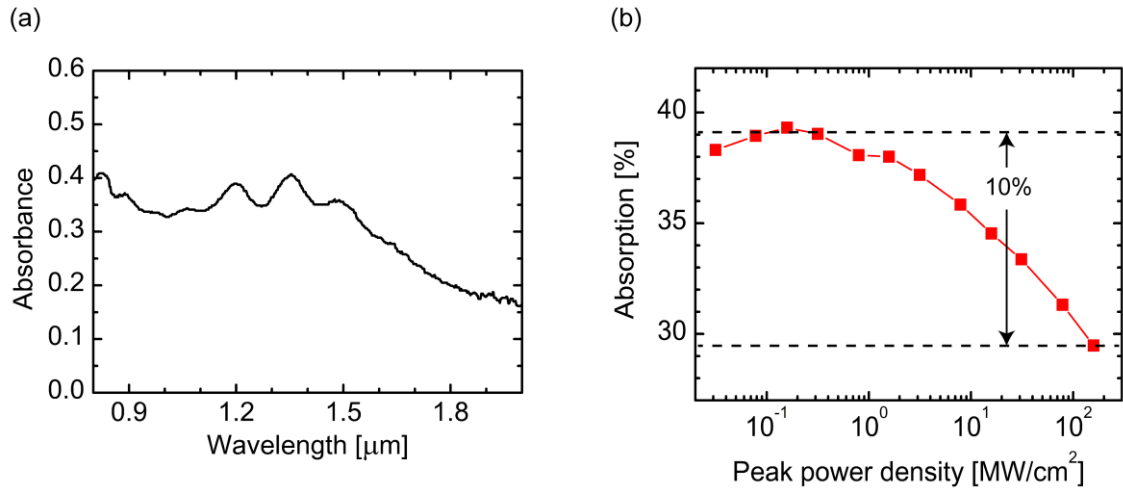


図 5.3 SWNT フィルムの可飽和吸収特性.

(a) 吸収スペクトル. (b) 入射光強度に対する吸収率の変化

図 5.4 に出力パルス列の時間波形を示す. 超短パルス光が 9.1 ns 間隔で等間隔に出力されていることが分かる. 9.1 ns の時間周期は, 基本繰り返し周波数 110 MHz に対応する. 図 5.5(a) にパルス列の RF スペクトルを示す. パルス列は基本繰り返し周波数の 110 MHz とその高調波成分から成り立っており, それ以外の RF 周波数成分は存在しないことが分かる. RF 周波数帯よりも低周波域のノイズ特性を評価するため, 基本繰り返し周波数 (110 MHz) 周辺でシングルサイドバンド測定を行った (図 5.5(b)) [3,14,15]. 10 kHz 周辺にピークが存在するが, それらのノイズレベルは, 10 MHz の信号ピークに対して 100 dB 以上スペクトル強度が低いことが確認できた. このように, 基本繰り返し周波数とその高調波以外の周波数成分の強度は十分に小さく, 開発した超短パルスファイバレーザは繰り返し周波数 110 MHz で高安定に発振していることが確認できた.

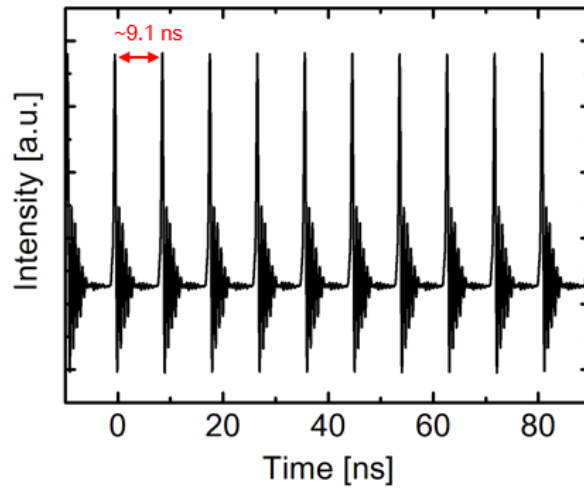


図 5.4 SWNT ファイバレーザの出力パルス列の時間波形.

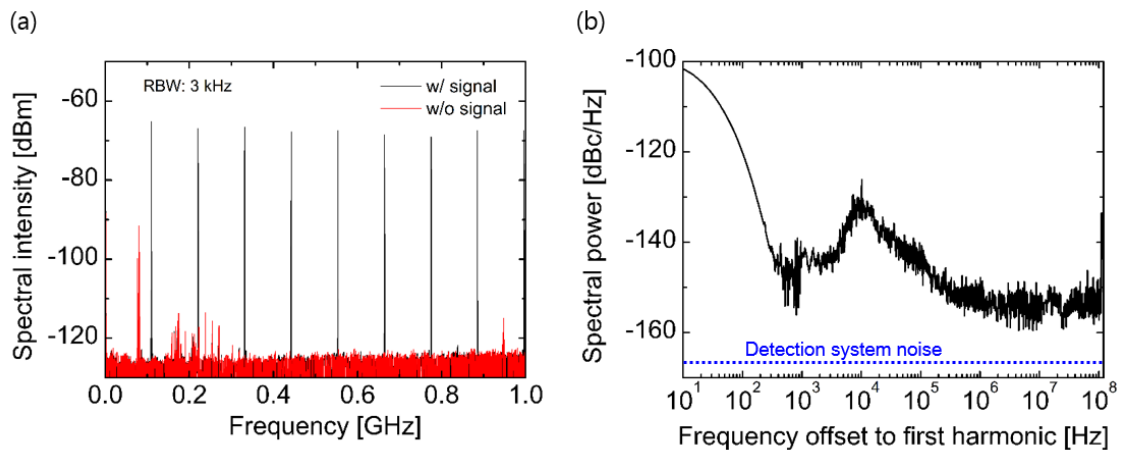


図 5.5 SWNT ファイバレーザの(a) RF スペクトルおよび(b) シングルサイドバンド測定結果. (a) の黒線は RF スペクトルの検出系にファイバレーザ出力光を入れた状態, 赤線は出力光を遮断した状態での RF スペクトルアナライザの出力を示している.

開発した超短パルスファイバレーザの出力は約 40 mW であった. 図 5.6 に出力パルスの光スペクトルおよび第 2 高調波 (SHG) 自己相関計を用いて測定した自己相関波形を示す. スペクトル波形は  $\text{sech}^2$  関数によくフィットしており, 出力パルスがソリトンパルスであることが分かる. 自己相関波形の半値全幅は 265 fs で, ソリトンパルスの場合, パルス幅 171 fs に対応する. スペクトル幅と時間幅の積 (時間バンド幅積) は 0.378 で, 理想的なソリトンパルスにおける値 (0.315) に近いことから出力パルスがソリトンパルスであることが確認できる. したがって, この後の波長シフトにおいて, 高効率



に  $1.7\ \mu\text{m}$  帯へと超短パルスをシフトさせることができる[4].

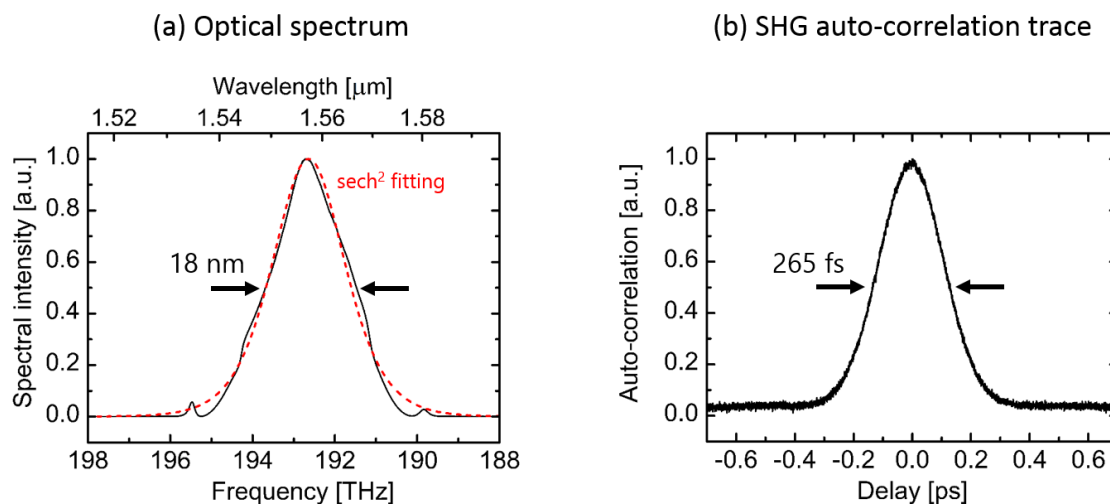


図 5.6 超短パルスファイバレーザの出力パルス特性. (a) 光スペクトル波形. (b) 自己相関波形.

## 5.4 高繰り返し超短パルスファイバレーザに基づく

### 1.7 $\mu\text{m}$ 帯高出力 SC 光の生成

繰り返し周波数  $110\ \text{MHz}$  の超短パルスファイバレーザからの出力パルスを種光として、高出力な  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SC 光の生成を行った.

はじめに、Er 添加ファイバ光増幅器によって増幅された超短パルス光を偏波保持ファイバ (Polarization maintaining fiber: PMF) に入射し、波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯に超短パルス光を生成した[1,4,5]. PMF のコア径および長さを最適化して PMF 中で生じる非線形効果の大きさを最適化し、波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯に波長シフトするようにした. 図 5.7 に PMF 通過後の超短パルスの光スペクトル波形を示す. PMF に入射した中心波長  $1.56\ \mu\text{m}$  の超短パルス光のうち、 $1.7\ \mu\text{m}$  帯への波長変換に寄与しなかった成分はカットオフ周波数  $1.6\ \mu\text{m}$  のロングパスフィルタによって除去している. ファイバレーザ出力直後のパルスの中心波長は  $1.56\ \mu\text{m}$  であったが、PMF 伝搬後は  $1.7\ \mu\text{m}$  帯まで波長シフトしていることが分

かる．スペクトルの半値幅は 21.4 nm で，パルス形状が  $\text{sech}^2$  型と仮定した場合，パルスの時間幅は 137 fs と見積もられる．波長シフト後のパルスの平均出力は 120 mW であったため，パルスエネルギーおよびピークパワーはそれぞれ，1.09 nJ，8.0 kW と見積もられる．これは従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光源における種光パルスと同程度であり，超高分解能 OCT に必要な超広帯域スペクトルを持つ SC 光が生成できる．ただし，超短パルス光の繰り返し周波数は 2 倍高繰り返し化されているので，従来の SC 光より 2 倍高い平均出力が得られる．

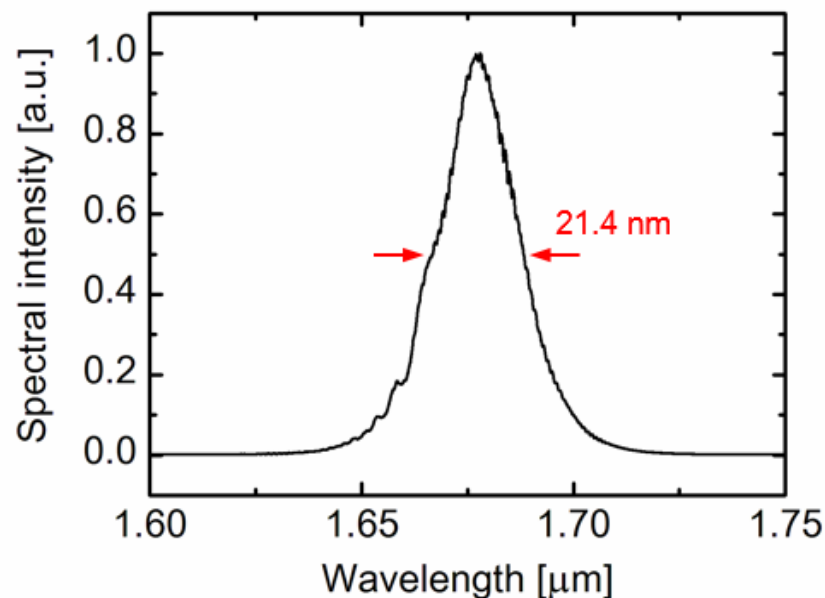


図 5.7 波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯超短パルス光のスペクトル．

生成した波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯超短パルス光を高非線形ファイバ（Highly non-linear fiber: HNLF）に入射し，波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を生成した．本研究では，波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯で正常分散を示す HNLF を用いて，主に自己位相変調の効果で SC 光を生成した．自己位相変調の効果が支配的となる状態で SC 光を生成することで，単峰かつガウス型に近いスペクトルを得ることができ，高品質な OCT イメージングが実現できる[1,16–18]．生成した波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル波形を図 5.8 に示す．生成した SC 光の中心波長およびスペクトルの半値幅（FWHM）はそれぞれ，1.7  $\mu\text{m}$ ，242 nm であった．図 5.8 に示す SC 光スペクトルに対してガウスフィッティングを行った結果，決定係数 ( $R^2$ ) が 0.95

となり、ガウシアン型に近いスペクトル形状であることが確認できた。従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光スペクトルのガウスフィッティングにおける  $R^2$  は 0.72 であったため、本研究で開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光のスペクトルはよりガウス型に近い結果となった。したがって、開発した高出力 SC 光を 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングに使用した際、従来 SC 光を用いた場合と比較して、干渉信号のメインピークへのエネルギーの集中による測定感度の向上およびアーチファクトフリーな OCT イメージの生成が可能になると予想される。パルスの高繰り返し化により SC 光の平均出力は、従来の波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の 2 倍高強度な 60 mW を達成した[1]。SC 光出力の 2 倍高出力化によって、OCT イメージングの感度も 2 倍（3 dB）向上することが見込まれる。

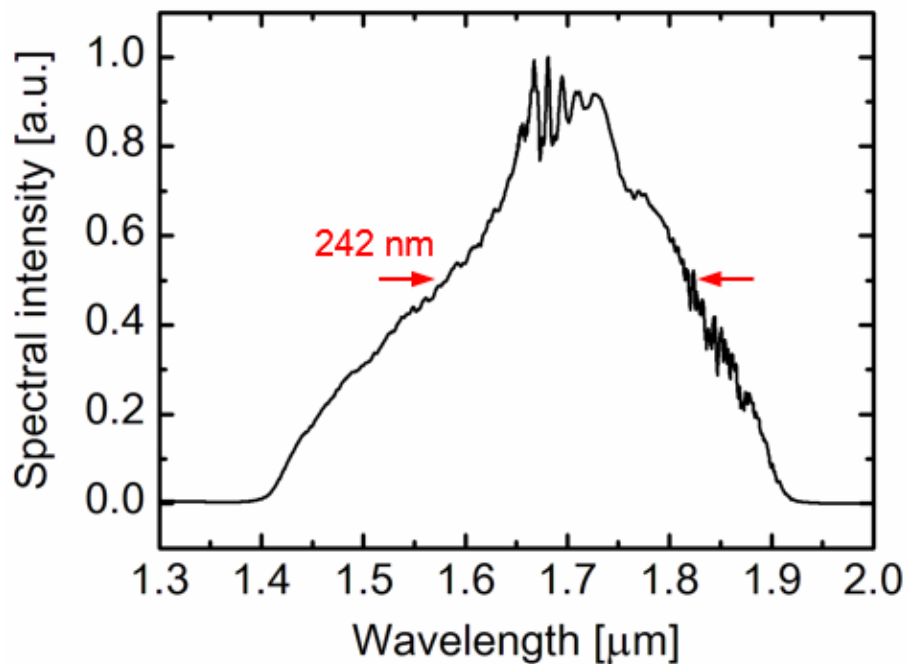


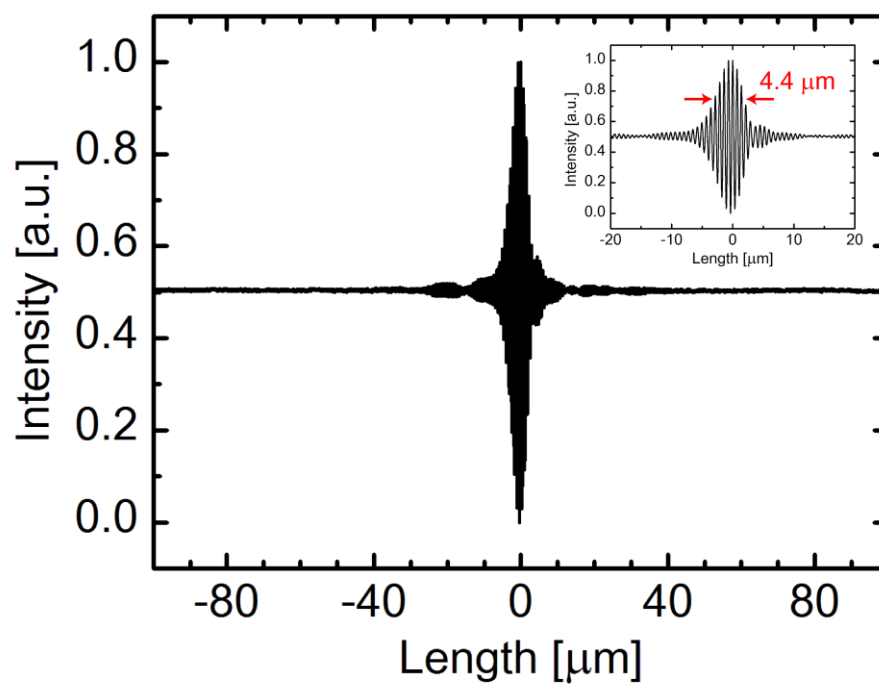
図 5.8 波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光のスペクトル。

## 5.5 波長 1.7 $\mu\text{m}$ 帯高出力 SC 光源を用いた

### 超高分解能 OCT イメージング

開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いて、OCT イメージングの特性評価を行った。OCT イメージングには、1.7  $\mu\text{m}$  帯 TD-OCT システムを用いた（第 4 章参照）。図 5.9(a) にサンプルにミラーを置いて測定した干渉波形を示す。干渉波形の半値幅（OCT 深さ方向分解能）は約 4.4  $\mu\text{m}$  で、超高分解能性を示している。焦点距離 50 mm のアクロマティックレンズを用いてサンプル光を集光した際の横方向分解能は、約 33  $\mu\text{m}$  であった。干渉波形の包絡線を二乗検波法を用いて抽出し、対数表示した OCT 信号（図 5.9(b)）から、測定感度は 105 dB であることが分かる（ディテクタの飽和を防ぐために、サンプル光強度を 40 dB 減衰させてある）。従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた場合の測定感度は 95 dB であったので、10 dB の高感度化を達成した[1]。10 dB の高感度化のうち 3 dB は、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の高出力化（2 倍）によるものである。残りの 7 dB の高感度化については、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル形状が単峰になったことによる干渉信号メインピークへのエネルギーの集中と、過剰な非線形効果が抑制されたことによるノイズフロアの減少が寄与していると考えられる。しかし現段階では、この 7 dB の測定感度向上を定量的に説明することは困難である。今後、数値計算等を用いて、SC 光生成時に生じるノイズ成分の評価や干渉信号ピークへのエネルギーの集中について検討・評価を行う。

(a) Interference signal



(b) OCT signal

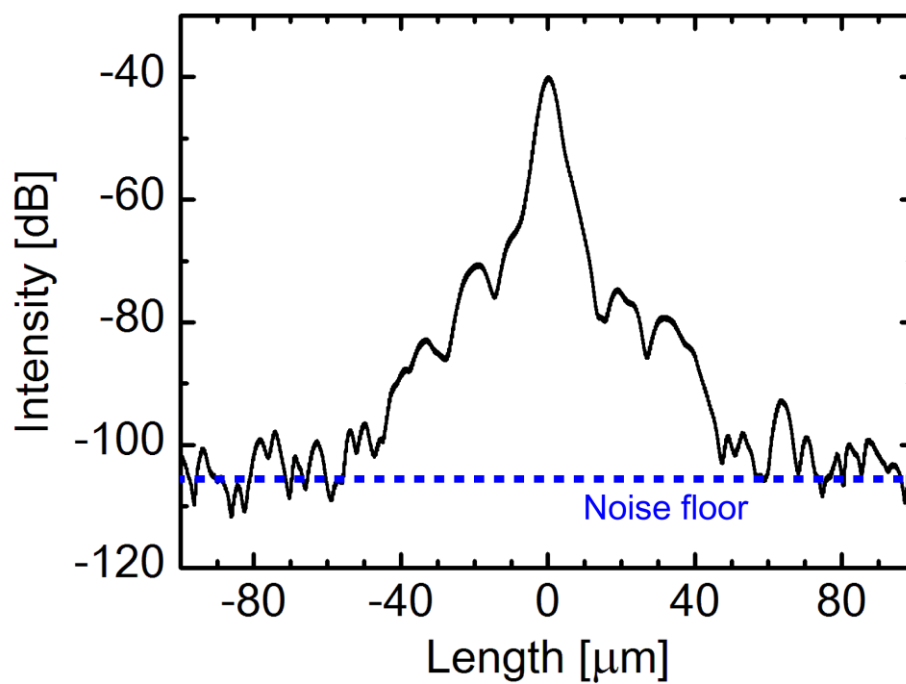


図 5.9 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いて取得した OCT 干渉波形.

## 5.6 高散乱体の OCT イメージング比較

開発した高感度な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT を用いて、高散乱体における OCT イメージングの侵達長を比較した。侵達長の比較のために、従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光源（パルス繰り返し: 50 MHz）と 1.3  $\mu\text{m}$  帯 SC 光源を用いた超高分解能 OCT システムを用意した[1,19]。比較に用いた OCT システムの基本特性を表 5.1 にまとめた。1.3  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT では、サンプルへの入射光強度が 1.7  $\mu\text{m}$  帯と比べて小さくなっているが、検出器の低ノイズ性から 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT と同等の測定感度（105 dB）を実現している。高散乱なサンプルとして、ヒトの乳歯、指、豚の甲状腺を用いた。水分含有量の異なるサンプルを用いることで、開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT システムによる OCT イメージングにおける水の影響も考慮した。それぞれのサンプルに含まれる水分量は、約 4–10%（ヒトの乳歯）、約 60%（ヒトの指（表皮、真皮））、約 15%（爪）である。豚の甲状腺に含まれる水分量は定量的には不明だが、乳歯や指よりも多いと考えられる。

表 5.1 比較に用いた OCT システムのイメージング特性.

SC source	Output of SC [mW]	Sensitivity [dB]	Axial resolution in tissue [ $\mu\text{m}$ ]	Incident power on sample [mW]
1.7 $\mu\text{m}$ (110 MHz)	60	105	3.2	6.7
1.7 $\mu\text{m}$ (50 MHz)	30	95	3.3	3.0
1.3 $\mu\text{m}$	7.3	105	3.0	0.8

### 5.6.1 ヒトの乳歯の OCT イメージングの比較結果

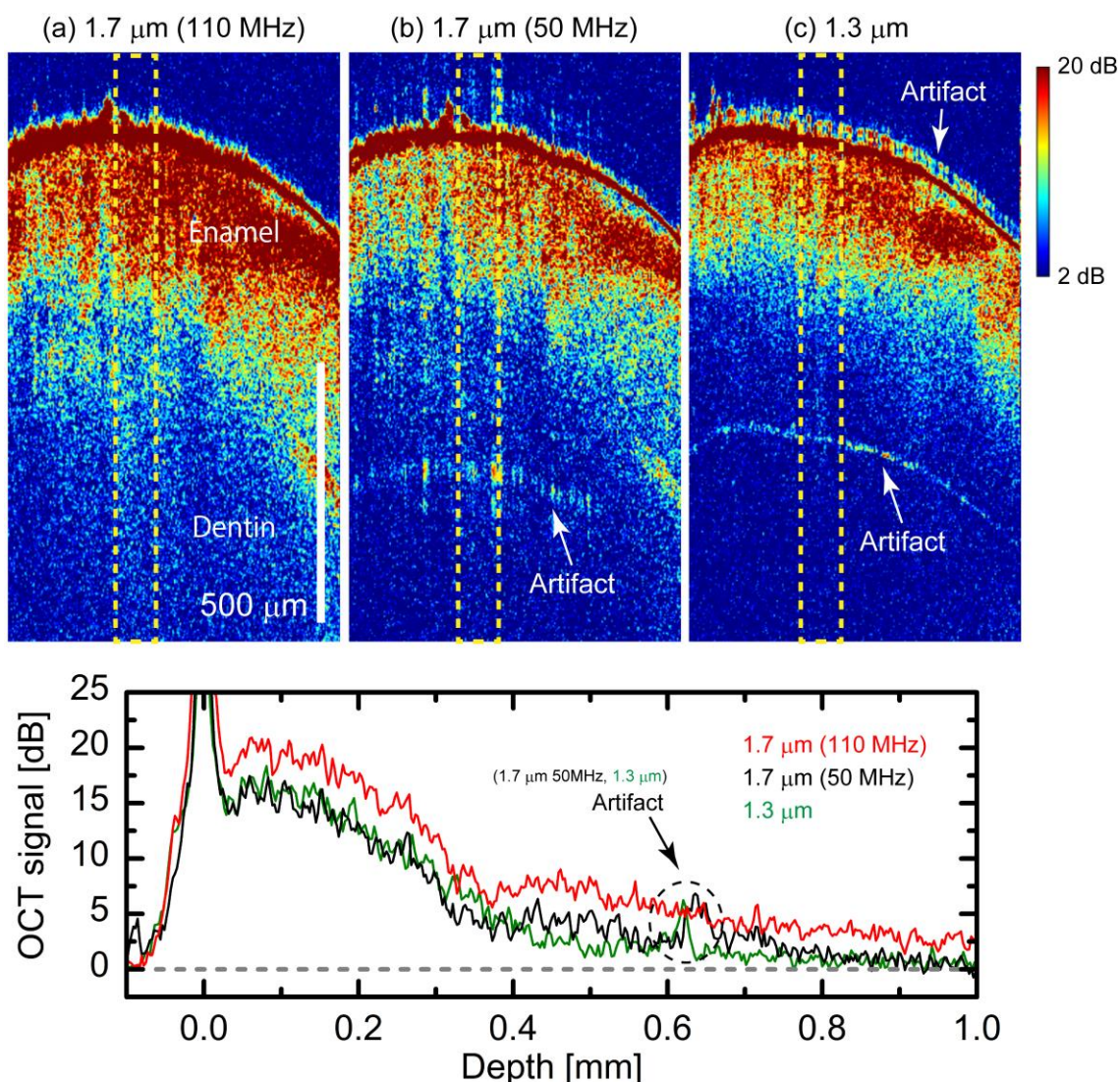


図 5.10 ヒト乳歯の OCT イメージング結果.

図 5.10 にヒトの乳歯の OCT イメージングの結果を示す. 3 つのシステムで取得した OCT イメージのコントラストは統一して表示している. OCT イメージとともに, イメージ中の黄色点線で囲った範囲を平均した OCT 信号強度の深さ方向プロファイルを示す. サンプルの表面を深さ 0 mm としている. OCT イメージおよび OCT 信号強度プロファイルから, 本研究で開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた場合, イメージング範囲全域で高コントラストかつ最も高侵達な OCT イメージングが実現できたことが分かる. OCT 信号強度プロファイルから, 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光源を用いた場合は, 表面か



ら 1 mm 以上深部でも象牙質から返ってくる散乱光を検出できていることが分かる．一方，従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光，1.3  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた場合は，表面から約 0.8 mm 深部で OCT 信号強度がノイズフロアまで落ち切っており，深部から信号を検出できていないことが分かる．OCT イメージ(b), (c)の深部に構造のようなものが映っているが，これは従来 1.7  $\mu\text{m}$  帯および 1.3  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル形状がガウス型から離れていたことで発生するアーチファクトである[16]．

#### 5.6.2 ヒトの指・爪部の OCT イメージングの比較結果

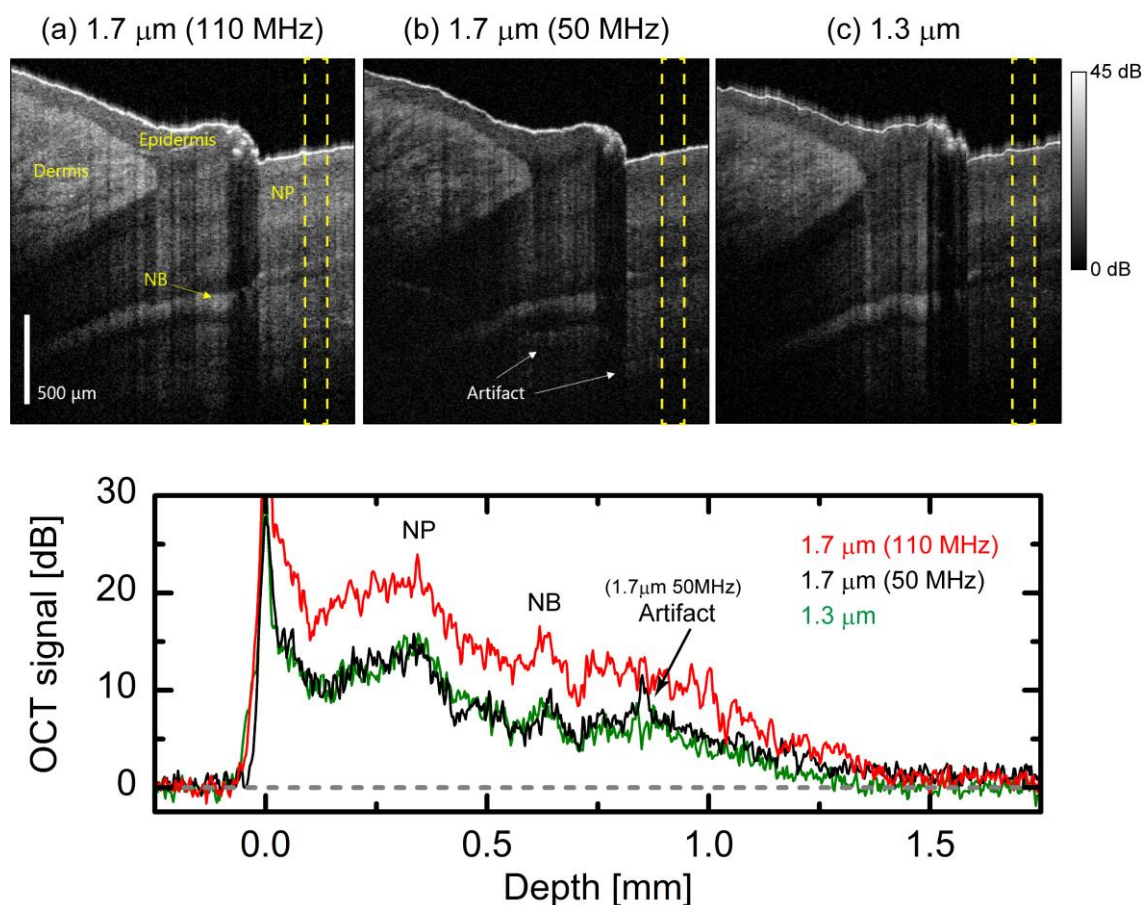


図 5.11 ヒトの指・爪部イメージング結果. NP: 爪板. NB: 爪床.

図 5.11 にヒトの指・爪部の OCT イメージングの結果および爪部の深さに沿った OCT 信号強度プロファイルを示す．水分含有量が異なる爪部 (~15%)，表皮・真皮部 (~60%) のいずれの部位でも，1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた場合，最も高コントラストかつ高



侵達なイメージングが行えたことが分かる．OCT 信号強度プロファイルから，信号が検出可能な深さは、1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた場合に約 1.5 mm まで，従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光，1.3  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた場合には約 1.3 mm であることが分かった．

### 5.6.3 豚の甲状腺の OCT イメージングの比較結果

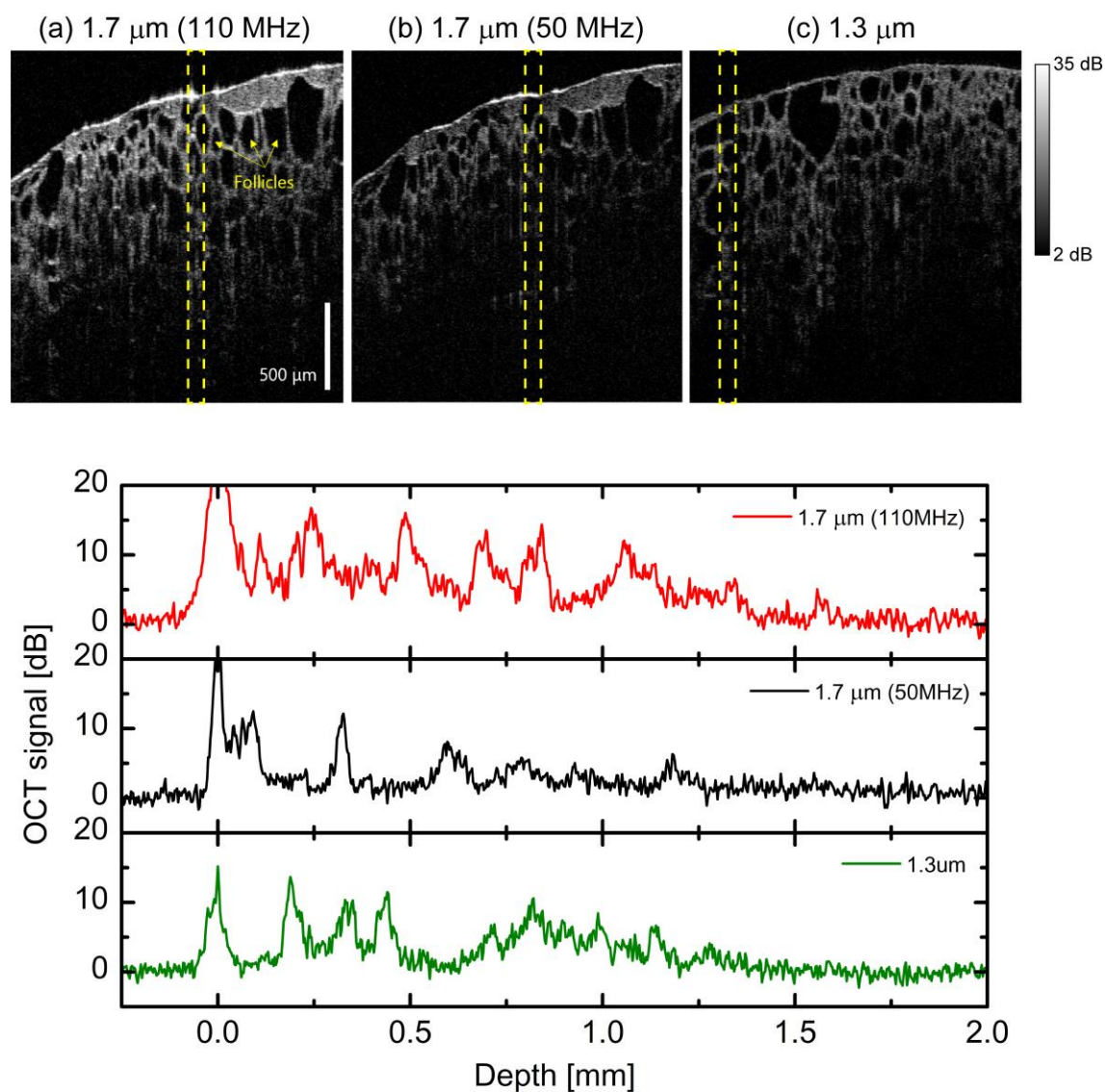


図 5.12 豚の甲状腺の OCT イメージング結果．

図 5.12 に豚の甲状腺の OCT イメージング結果および OCT 信号強度プロファイルを示す．1.7  $\mu\text{m}$  帯と 1.3  $\mu\text{m}$  帯では測定に用いた甲状腺サンプルが異なるため定量的に比

較することは困難であるが、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた場合、表面から  $1.5\text{ mm}$  以上の深さにある濾胞の壁面を観察することができている。一方、従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光、 $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた場合、表面から  $1.2\text{--}1.3\text{ mm}$  までしか観察できなかった。

高散乱体の OCT イメージング結果から、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた高感度な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムによって、従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光源および  $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光源を用いた OCT イメージングと比較して、高散乱体の OCT イメージングにおける侵達長が向上することを確認した。また、OCT イメージのコントラストの向上も確認できた。

また、今回測定したヒト皮膚中の表皮・真皮や豚の甲状腺は、水分を多く含むサンプルであったが、水の吸収による信号減衰よりも散乱が小さくなることによる信号減衰の低下のほうが支配的であったため、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた OCT イメージングでは、同じ測定感度の  $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングより高侵達な結果を得ることができた。

## 5.6 考察と結論

本研究では、高感度・高侵達な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの実現を目指して、高繰り返し超短パルスファイバレーザを用いた高出力な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光の開発を行った。可飽和吸収体として SWNT フィルムを活用したファイバレーザを新たに開発し、繰り返し周波数  $110\text{ MHz}$  の超短パルス列の生成に成功した。従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光の繰り返し周波数は  $50\text{ MHz}$  であり、2 倍以上の高繰り返し化を実現した。SC 光の種光である超短パルス光の高繰り返し化によって、 $60\text{ mW}$  の平均出力を持つ高出力な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光の生成に成功した。開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた OCT イメージングでは、測定感度  $105\text{ dB}$ 、深さ方向分解能  $4.4\text{ }\mu\text{m}$  と高感度かつ超高分解能性を実現した。今回得られた  $105\text{ dB}$  の測定感度は、現状、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT における最高感度である。開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光、従来の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光、 $1.3\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた高散乱体の OCT イメージングの比較によって、高出力な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を

用いることで、最も高侵達かつ高コントラストな OCT イメージングが得られることを示した。

本研究では、超短パルス光の高繰返し化による 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の高出力化が、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの高感度化・高侵達化に有効であることを実証した。SWNT 超短パルスファイバレーザの繰返し周波数をさらに向上させることができれば、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT のさらなる高感度化・高侵達化が期待できる。SWNT フィルムの飽和回復速度は数 ps であるので、SWNT フィルム自身は、GHz オーダまでパルスの繰返しを向上するポテンシャルを持っている[20,21]。現実のファイバレーザの開発では、高繰返し化に伴うゲインファイバの短尺化、超短パルス光の品質劣化によって繰返し周波数は制限されるが、これまでに SWNT フィルムを用いた高繰返し超短パルスファイバレーザでは、約 200 MHz まで高繰返し化が達成されている[7]。繰返し周波数 200 MHz の SWNT 超短パルスファイバレーザを 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の高出力化に応用できれば、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの測定感度がさらに 3 dB 程度向上すると考えられる。

光源の高出力化による OCT イメージングの高感度化・高侵達化では、サンプルへの入力光強度が高くなり過ぎると、サンプルにダメージを与えてしまう可能性があることに注意しなければならない。第 2 章で述べたように、波長 1.5–1.8  $\mu\text{m}$  帯光源を用いる場合の皮膚組織への最大許容入射光強度は 9.6 mW であるため[22]、現状の OCT システムを用いる場合は、SC 光源のさらなる高出力化による OCT イメージングの高感度化は困難である。しかし、分岐比を最適化したマッハツェンダー干渉計による OCT システムとより高出力な SC 光を用いれば、サンプルへの入射光強度は今回と同じままにサンプルへの入射比率を下げ、干渉波形に寄与するサンプルからの戻り光量を増やせるため、測定感度をさらに向上させることができる[16,23]。このように、OCT システムの改良を行うことで、SC 光の高出力化による測定感度・侵達長のさらなる向上が実現できる。

## 第 5 章に関する参考文献

- [1] S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, and K. Itoh, “Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  Region with Fiber Laser Supercontinuum in Low-Water-Absorption Samples,” *Appl. Phys. Express* **4**, 052501 (2011).
- [2] S. Y. Set, H. Yaguchi, Y. Tanaka, and M. Jablonski, “Mode Locking Using a Saturable Absorber Incorporating Carbon Nanotubes,” *J. Lightw. Technol.* **22**(1), 51–56 (2004).
- [3] N. Nishizawa, Y. Seno, K. Sumimura, Y. Sakakibara, E. Itoga, H. Kataura, and K. Itoh, “All-polarization-maintaining Er-doped ultrashort-pulse fiber laser using carbon nanotube saturable absorber,” *Opt. Express* **16**(13), 9429–9435 (2008).
- [4] N. Nishizawa and T. Goto, “Compact System of Wavelength-Tunable Femtosecond Soliton Pulse Generation Using Optical Fibers,” *IEEE Photon. Technol. Lett.* **11**(3), 325–327 (1999).
- [5] J. Takayanagi, T. Sugiura, M. Yoshida, and N. Nishizawa, “1.0–1.7- $\mu\text{m}$  Wavelength-Tunable Ultrashort-Pulse Generation Using Femtosecond Yb-Doped Fiber Laser and Photonic Crystal Fiber,” *IEEE Photon. Technol. Lett.* **18**(21), 2284–2286 (2006).
- [6] L. A. V. Zuniga and Y. Jeong, “Wavelength-Tunable, Passively Mode-Locked Erbium-Doped Fiber Master-Oscillator Incorporating a Semiconductor Saturable Absorber Mirror,” *J. Opt. Soc. Korea* **17**(2), 117–129 (2013).
- [7] M. Tsuzuki, L. Jin, M. Yamanaka, V. Sonnenchein, H. Tomita, A. Sato, T. Ohara, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, T. Iguchi, and N. Nishizawa, “Midinfrared optical frequency comb based on difference frequency generation using high repetition rate Er-doped fiber laser with single wall carbon nanotube film,” *Photon. Res.* **4**(6), 313–317 (2016).
- [8] H. Kataura, Y. Kumazawa, Y. Maniwa, I. Umez, S. Suzuki, Y. Ohtsuka, and Y. Achiba, “Optical Properties of Single-Wall Carbon Nanotubes,” *Synth. Met.* **103**, 2555–2558 (1999).
- [9] F. Shohda, T. Shirato, M. Nakazawa, J. Mata, and J. Tsukamoto, “147 fs, 51 MHz soliton

- fiber laser at 1.56  $\mu\text{m}$  with a fiber-connector-type SWNT/P3HT saturable absorber,” *Opt. Express* **16**(25), 20943–20948 (2008).
- [10] G. P. アグラワール著, 小田 垣孝, 山田 興一共訳, 非線形ファイバー光学 原著 第2版 (吉岡書店, 1997).
  - [11] L. F. Mollenauer, R. H. Stolen, and J. P. Gordon, “Extreme picosecond pulse narrowing by means of soliton effect in single-mode optical fibers,” *Opt. Lett.* **8**(5), 289–291 (1983).
  - [12] T. Brabec, Ch. Spielmann, and E Krausz, “Mode locking in solitary lasers,” *Opt. Lett.* **16**(24), 1961–1963 (1991).
  - [13] I. N. Duling III, “All-fiber ring soliton laser mode locked with a nonlinear mirror,” *Opt. Lett.* **16**(8), 539–541 (1991).
  - [14] U. Keller, K. D. Li, M. Rodwell, and D. M. Bloom, “Noise Characterization of Femtosecond Fiber Raman Soliton Lasers,” *IEEE J. Quantum Electron.* **25**(3), 280–288 (1989).
  - [15] G. T. Harvey, M. S. Heutmarker, P. R. Smith, M. C. Nuss, U. Keller, and J. A. Valdmanis, “Timing Jitter and Pump-Induced Amplitude Modulation in the Colliding-Pulse Mode-Locked (CPM) Laser,” *IEEE J. Quantum Electron.* **27**(2), 295–301 (1991).
  - [16] *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., Springer Reference (2015).
  - [17] M. Nishiura, T. Kobayashi, M. Adachi, J. Nakanishi, T. Ueno, Y. Ito, and N. Nishizawa, “In vivo Ultrahigh-Resolution Ophthalmic Optical Coherence Tomography Using Gaussian-Shaped Supercontinuum,” *Jpn. J. Appl. Phys.* **49**, 012701 (2010).
  - [18] J. Takayanagi, N. Nishizawa, T. Sugiura, M. Yoshida, and T. Goto, “Generation of Pedestal-Free 22-fs Ultrashort Pulse Using Highly Nonlinear Fiber and Reverse-Dispersion Fiber,” *IEEE J. Quantum Electron.* **42**(3), 287–291 (2006).
  - [19] S. Ishida and N. Nishizawa, “Quantitative comparison of contrast and imaging depth of ultrahigh-resolution optical coherence tomography images in 800–1700 nm wavelength region,” *Biomed. Opt. Express* **3**(2), 282–294 (2012).
  - [20] A. Martinez and S. Yamashita, “Multi-gigahertz repetition rate passively modelocked fiber

- lasers using carbon nanotubes,” *Opt. Express* **19**(7), 6155–6163 (2011).
- [21] S. Yamashita, Y. Inoue, K. Hsu, T. Kotake, H. Yaguchi, D. Tanaka, M. Jablonski, and S. Y. Set, “5-GHz Pulsed Fiber Fabry–Pérot Laser Mode-Locked Using Carbon Nanotubes,” *IEEE Photon. Technol. Lett.* **17**(4), 750–752 (2005).
- [22] American National Standard for Safe Use of Lasers (ANSI Z136.1, 2007).
- [23] J. M. Schmitt, “Optical coherence tomography (OCT): A Review,” *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.* **5**(4), 1205–1215 (1999).

## 第6章 高速, 高侵達, 高分解能な生体イメージング を可能にする 1.7 $\mu\text{m}$ 帯超高分解能スペクトル ドメイン OCT (SD-OCT)

### 6.1 はじめに

筆者はこれまでに, 超広帯域なスペクトルを有する 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光の高出力化を通して, 高散乱体の高侵達かつ高分解能な OCT イメージングを実現してきた[1]. しかし, これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムは, 第3章で述べたように, タイムドメイン (TD) 方式で構築されていたため, 1枚の OCT イメージの取得に約 5 s を要していた. したがって, 高速な生命現象を捉えられないだけでなく, 組織を生きたまま観察したり (*in-vivo* 観察), 3次元計測を行うことも困難であった.

OCT イメージングの高速化には, 分光器とラインディテクタを用いて干渉スペクトルを測定し, フーリエ変換によって深さ方向の干渉信号を取得するスペクトルドメイン OCT (SD-OCT) が有効である[3,4]. また SD-OCT では, 干渉波形の生成・検出法の違いから TD-OCT より高感度な測定が行えるため[5], SD-OCT 化によって 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングの高感度化も期待できる. 近年, 波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯の光を高速かつ低ノイズで測定できる InGaAs フォトダイオードアレイ (PDA) が開発され[6,7], 1.7  $\mu\text{m}$  帯においても SD-OCT システムが構築可能となった. これまでに InGaAs-PDA を利用した高速な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムを用いて, 血管内のプラーク検出やマウス脳の *in-vivo* イメージングが実現されてきている[6,7]. しかし一方で, これまでに報告されている 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT では深さ方向分解能が 10  $\mu\text{m}$  程度に制限されていた. 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 SD-OCT の実現には, 超広帯域スペクトルを検出する必要があるが, それによって深さ方向分解能とイメージングレンジ (測定可能深度) の間にトレードオフの関係が生じてしまうため, 超高分解能性が達成されていなかった. 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT の高空間分

解能化が実現すれば、高散乱組織の深部で起こる生命現象を細かくかつ高速に観察することができるようになるため、生命現象をより深く理解することが可能である。

本章では、高散乱組織の深部を高速、高感度、かつ高分解能で観察可能な  $1.7\ \mu\text{m}$  帯超高分解能 SD-OCT の開発について述べる。はじめに 6.2 節において、 $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SD-OCT における深さ方向分解能と測定深度のトレードオフについて、SD-OCT における干渉信号の生成法と合わせて説明する。次に 6.3 節において、トレードオフを回避し、高い深さ方向分解能でサンプル深部を観察するために利用した、位相シフト法に基づくフルレンジ SD-OCT イメージングについて述べる[8,9]。開発した  $1.7\text{-}\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT のシステム構成を 6.4 節で紹介する。6.5 節で、開発した  $1.7\text{-}\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システムを用いて撮影したマウス脳およびいくつかの高散乱体のイメージング結果を示す。最後に 6.6 節において考察および結論を述べる。

## 6.2 $1.7\ \mu\text{m}$ 帯 SD-OCT における深さ方向分解能と

### 測定深度のトレードオフ

$1.7\ \mu\text{m}$  帯 SD-OCT では、超高分解能化に必要な超広帯域スペクトル検出に伴い、深さ方向分解能と測定可能深度の間にトレードオフの関係が生じ、高分解能で組織深部を観察することができない。深さ方向分解能と測定可能深度のトレードオフは、①干渉スペクトル強度のフーリエ変換によって生じるゴーストイメージの発生と、②広帯域スペクトル検出に伴う測定感度の低下（測定深さに対する依存性）が原因で生じる。深さ方向分解能とのトレードオフで制限される測定可能深度は、SD-OCT システムの光学系の設計のみで決定される。実際の SD-OCT イメージングでは、システムの設計由来の測定可能深度と、前章まで述べてきたサンプル中での信号減衰の両方が侵達長（サンプルのどの深さまで観察できるか）に影響するため、SD-OCT イメージングの侵達長は測定可能深度よりも短くなってしまう。

ゴーストイメージの発生メカニズムを理解するために、SD-OCT における干渉信号波



形の生成法について説明する．SD-OCT では分光器を用いて波長ごとに測定した干渉スペクトルをフーリエ変換することで深さ方向の干渉信号を得る[9,11]．図 6.1 に 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムの基本構成を示す．

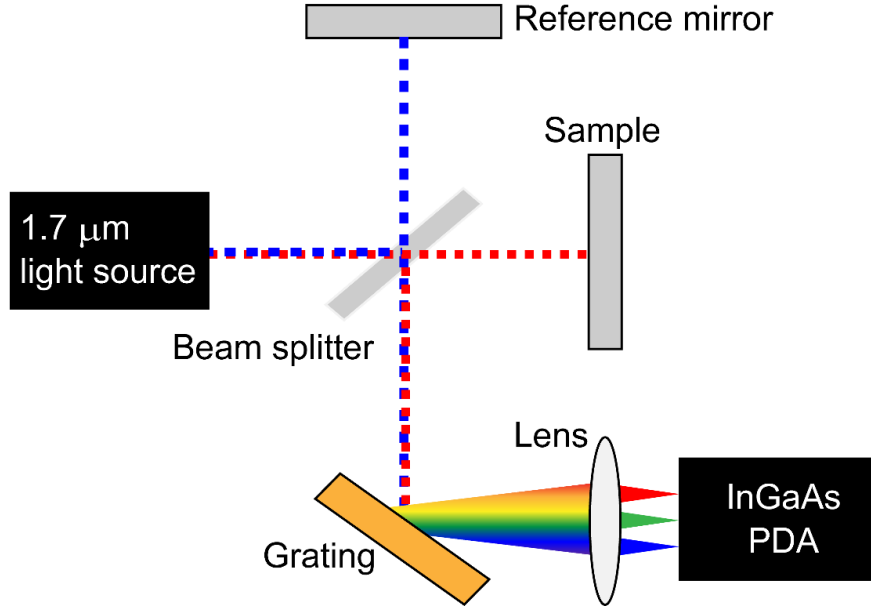


図 6.1 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムの基本構成．

サンプル光とリファレンス光の光路長をそれぞれ  $Z_{sam}$ ,  $Z_{ref}$  とすると，干渉計から出力されるサンプル光とリファレンス光の合成電界  $E_d(k)$  は，

$$E_d(k) = E_{sam} \exp(ik \cdot 2Z_{sam}) + E_{ref} \exp(ik \cdot 2Z_{ref}) \quad (6.1)$$

と表される．ここで， $k = 2\pi/\lambda$  は光の波数である．合成電界は分光器で波長分割された後，InGaAs-PDA によって波長（波数）ごとに検出される．このとき，InGaAs-PDA の出力  $I_d(k)$  は次式のようにになる．

$$\begin{aligned} I_d(k) &= |E_d(k)|^2 \\ &= |E_{sam}(k)|^2 + |E_{ref}(k)|^2 + E_{sam} E_{ref}^* \exp\{i2k(Z_{sam} - Z_{ref})\} + c.c. \\ &= Const. + 2E_{sam} E_{ref} \cos\{2k(Z_{sam} - Z_{ref})\} \end{aligned} \quad (6.2)$$

回折格子を用いた分光では、空間的に等波長間隔で分割されるが、取得した干渉スペクトルに対して線形補間を行うことで、等波長間隔から等波数間隔へ変換することができる[9–11]。図 6.2 に SD-OCT で得られる干渉スペクトルの例を示す。リファレンスミラーの位置を固定すると、干渉スペクトル上にサンプルの位置（深さ）に対応した周波数の干渉フリンジが現れる（図 6.2(a), (b)）。サンプルに複数の界面が存在するとき、InGaAs-PDA で検出される干渉スペクトルは異なる周波数のフリンジの足し合わせとなる（図 6.2(c)）。

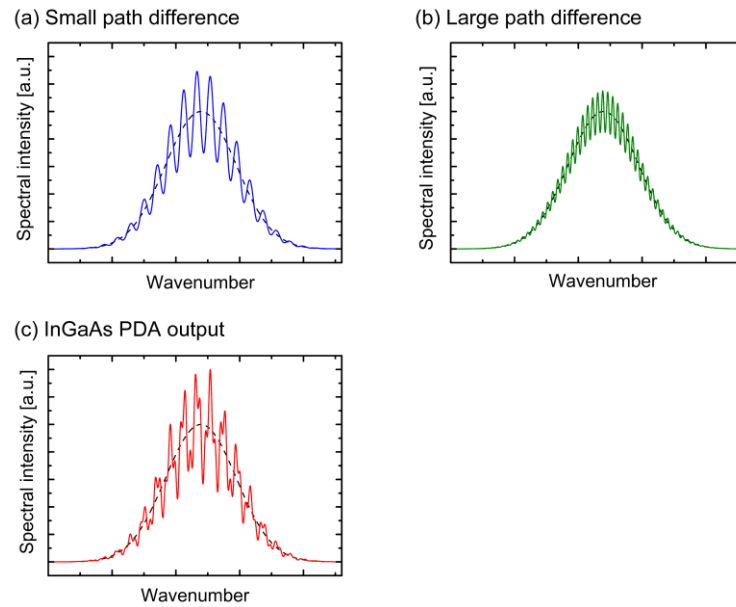


図 6.2 式(6.2)を用いて計算した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT で測定される干渉スペクトルの例。光源は、中心波長 1.7  $\mu\text{m}$ 、スペクトル半値幅 300 nm のガウス型スペクトルを仮定（点線）。(a,b) サンプルアーム内に単一の反射層（または散乱層）が存在する場合に得られる干渉スペクトル（実線）。反射層は、サンプル光とリファレンス光の光路長差  $(Z_{\text{sam}} - Z_{\text{ref}})$  が、(a) 30  $\mu\text{m}$  および、(b) 80  $\mu\text{m}$  となる位置に存在し、(a)と(b)では異なる反射率を仮定している（反射率は波長に依らず一定と仮定）。(c) サンプルアーム内に複数の反射（散乱）層が存在する場合に得られる干渉スペクトル（実線）。反射層の位置はリファレンス光との光路長差が 30  $\mu\text{m}$  と 80  $\mu\text{m}$  となる場所にあると仮定している。

InGaAs-PDA 出力のフーリエ変換は、 $\cos(kz_0) \xleftrightarrow{F} \frac{1}{2} \{ \delta(z + z_0) + \delta(z - z_0) \}$  となることに留意すると、

$$\begin{aligned}
I_d(z) &= FT\{I_d(k)\} \\
&= AC\{E_{sam}^2(k)\} + AC\{E_{ref}^2(k)\} + 2E_{sam}E_{ref} \left[ \gamma(z) \otimes \left\{ \delta(z \pm 2(Z_{sam} - Z_{ref})) \right\} \right]
\end{aligned}
\tag{6.3}$$

となる．ここで， $AC\{ \}$  は，自己相関の演算子， $\gamma(z)$  は，スペクトル波形のフーリエ変換で与えられるコヒーレンス関数（第 2 章参照）， $\otimes$  は畳み込み演算子である[9,11]．干渉スペクトルをフーリエ変換して得られる深さ方向の干渉波形の例を図 6.3 に示す．

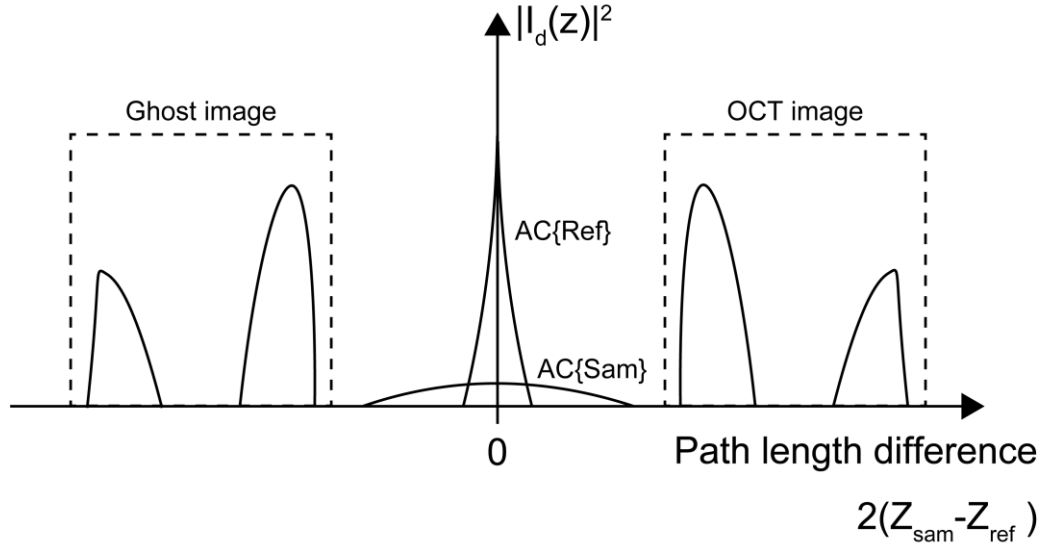


図 6.3 干渉スペクトルのフーリエ変換で得られる干渉波形．

InGaAs-PDA の出力  $I_d(k)$  はスペクトル強度（実数）であるため，フーリエ変換後の干渉信号波形はサンプルとリファレンスの光路差 0 に対して対称的に現れる．このうち一方の信号は，実際のサンプル位置に対応した OCT イメージであり，他方は OCT イメージと位相共役なゴーストイメージと呼ばれる[8,9,11]．通常，SD-OCT イメージングではゴーストイメージが OCT イメージに重ならないように，リファレンス光とサンプル光の光路長差が 0 となる位置（深さ）がサンプルの表面より上に来るようにリファレンスミラーの位置を決定する（図 6.4(a)）．OCT イメージとゴーストイメージが重なり，サンプルの構造を正確に観察できなくなるのを防ぐため，光路長差が 0 となる位置をサン

プル中に配置することができない (図 6.4(b)).

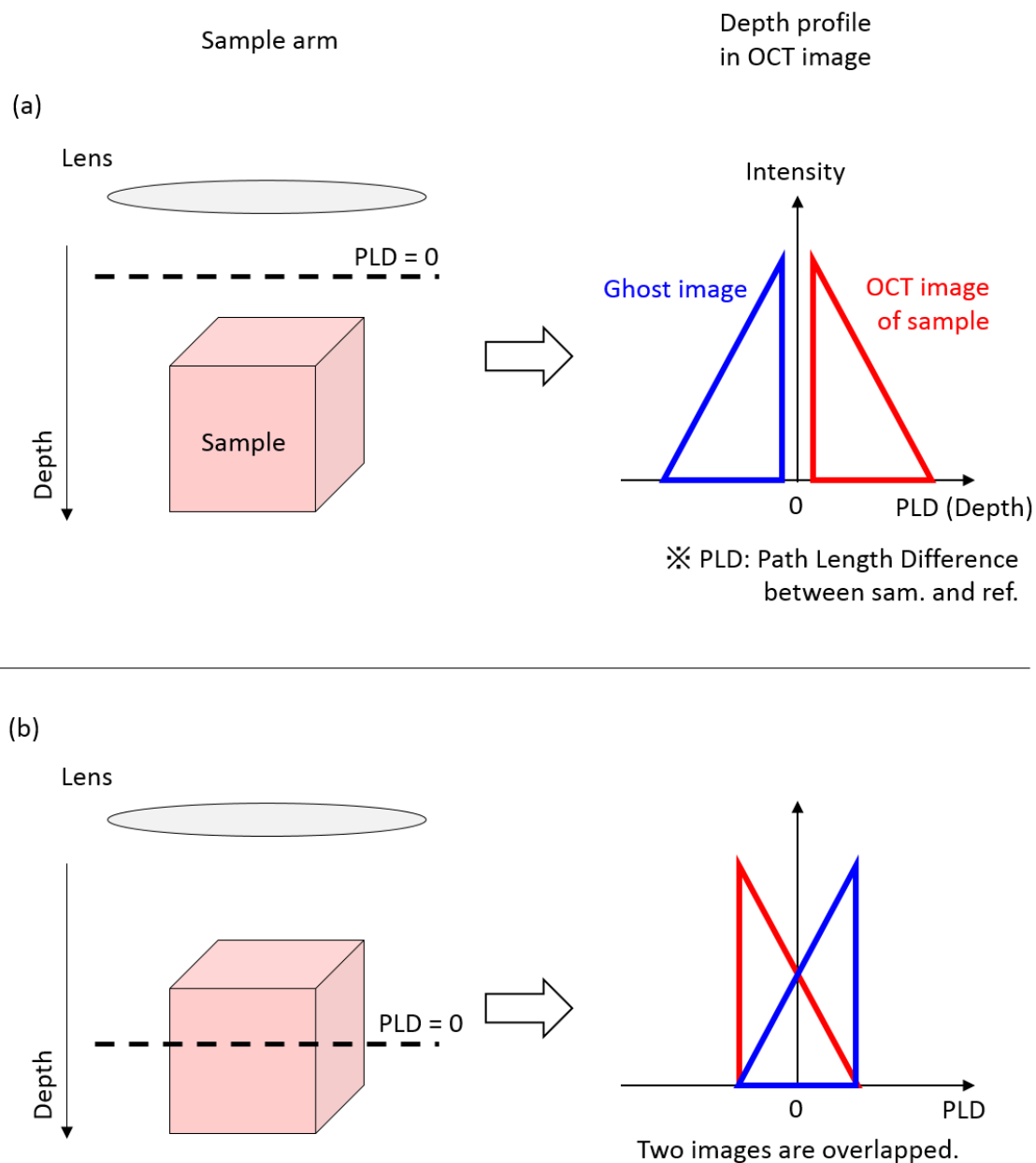


図 6.4 光路長差 (PLD: path length difference) が 0 となる位置とサンプル位置の関係. (b) PLD が 0 となる位置をサンプル中に置くと, OCT イメージとゴーストイメージが重なってしまい, サンプルの構造が正確に観察できない.

さらに,  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SD-OCT では, 超高分解能化に必要な超広帯域スペクトルの検出によって測定深度が大幅に制限される. 第 2 章で述べたように,  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT で高い

深さ方向分解能を達成するには、半値幅約 300 nm のスペクトルが必要である．測定に使用できる InGaAs-PDA の物理的なサイズは有限であるため、超広帯域なスペクトルを検出する場合、分光器の波長分解能が低下してしまう．ここで、図 6.2 に示すように、リファレンスとサンプルの光路長差が大きくなるほど干渉スペクトル上に現れる干渉フリンジの周波数は高くなるので、波長分解能の低い分光器では高周波の干渉フリンジを正しく再現することができない（図 6.5）．高周波の干渉フリンジが正しく再現されないことによって、フーリエ変換後の干渉信号ピークが低下するため、リファレンスミラーとの光路差が大きくなるサンプル深部における OCT 測定感度が低下してしまう．この測定深度に依存した測定感度の低下をロールオフと呼ぶ[3,9–11]．

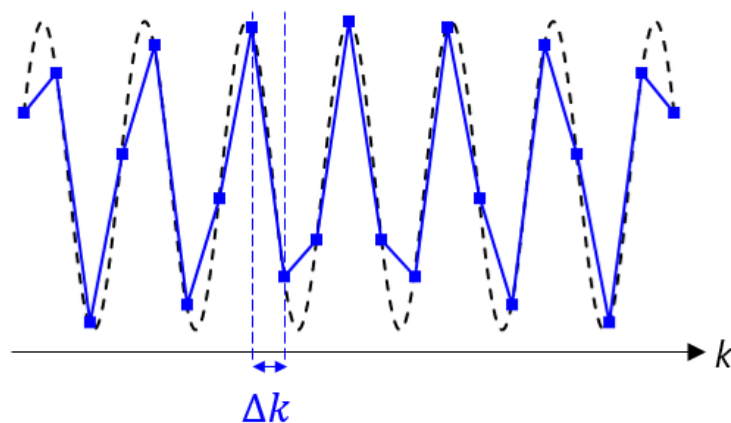


図 6.5 波長(波数)分解能  $\Delta k$  の低い分光器による高周波フリンジ測定．

生体中での深さ方向分解能が $\sim 3 \mu\text{m}$ と $\sim 6 \mu\text{m}$ の $1.7 \mu\text{m}$ 帯 SD-OCT における測定感度のロールオフの理論値を図 6.6 に示す[3]．一般的に OCT の測定感度が 10 dB 低下すると、イメージのコントラストが大幅に減少し構造が観察できなくなる．OCT イメージングの侵達長を、信号ピークから 10 dB 強度が低下する深さとする、深さ方向分解能 $\sim 3 \mu\text{m}$ の $1.7 \mu\text{m}$ 帯 SD-OCT システムでは、測定可能深度は 0.8 mm 程度であることがわかる．

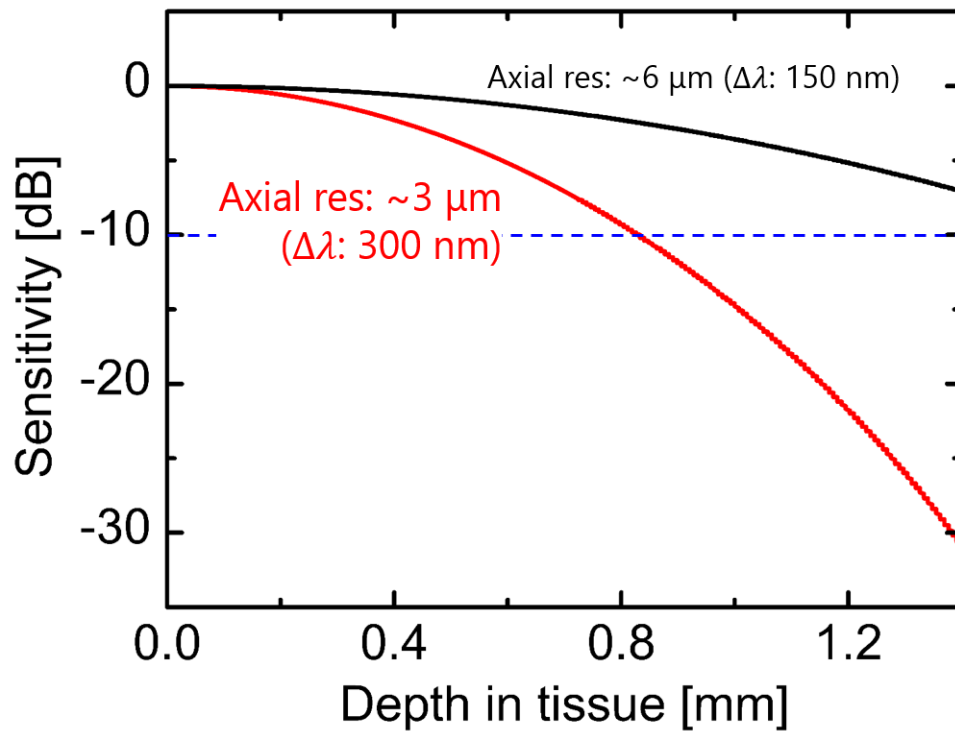


図 6.6 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT における測定感度のロールオフ理論値.

### 6.3 高分解能と広いイメージングレンジを両立する

#### フルレンジ SD-OCT

前節で述べたように、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT では、ゴーストイメージの発生と超広帯域スペクトル検出に伴う測定感度のロールオフによって、高い深さ方向分解能でサンプル深部を観察できなかった。しかし、ゴーストイメージの発生を抑制することができれば、高分解能でサンプル深部を観察することが可能になる。そこで本研究では、位相シフト法を用いて複素干渉スペクトルを回復することのできるフルレンジ OCT[8,9]を用いて、高分解能でゴーストイメージフリーな 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムを構築した。

フルレンジ OCT の概要は、サンプル光の位相を変化させながら干渉スペクトルを測定し、得られた干渉スペクトル強度から干渉スペクトルの位相を回復させることで、フーリエ変換後のゴーストイメージを抑制するというものである[8]。フルレンジ OCT に

おけるゴーストイメージの抑制および複素干渉スペクトルの生成について、再び数式を用いて説明する．ガルバノミラーを用いてサンプル光をスキャンし（B-scan）、OCT 断層像を取得する場合を考える．OCT 断層像を取り終えたとき、InGaAs-PDA の出力は、各スキャン位置の深さ情報に対応する波数情報が連なった 2 次元データ配列となる．ここで、サンプル光の位相を、隣り合ったスキャン位置ごとに  $\phi$  だけシフトさせたとすると、InGaAs-PDA 出力は、

$$I_d(k, X) = |E_{sam}(k, X) \exp(-i\phi X) \exp(ik \cdot 2Z_{sam}) + E_{ref}(k) \exp(ik \cdot 2Z_{ref})|^2 \quad (6.4)$$

となる．ここで、 $X$  は OCT 断層像中の横方向の位置（ピクセル位置）を示し、 $X=1, 2, 3, \dots, N$  である（ $N$  は OCT 断層像に含まれる A-scan（深さ方向情報）の数）．式(6.4)を展開すると、次式のようになる．

$$\begin{aligned} I_d(k, X) &= |E_{sam}(k, X)|^2 + |E_{ref}(k)|^2 \\ &\quad + E_{sam} E_{ref}^* \exp(-i\phi X) \exp\{i2k(Z_{sam} - Z_{ref})\} \quad \dots \text{OCT イメージ成分} \\ &\quad + E_{sam}^* E_{ref} \exp(+i\phi X) \exp\{-i2k(Z_{sam} - Z_{ref})\} \quad \dots \text{ゴーストイメージ成分} \end{aligned} \quad (6.5)$$

式(6.2)と比較すると、サンプル光に位相シフトを与えたことで、InGaAs-PDA 出力に含まれる OCT イメージ成分とゴーストイメージ成分に異なる符号の位相シフトが与えられていることが分かる．式(6.5)をスキャン方向（ $X$ ）に沿ってフーリエ変換すると、

$$\begin{aligned} FT_{X \rightarrow U}\{I_d(k, X)\} &= FT\{|E_{sam}(k, X)|^2\} + FT\{|E_{ref}(k)|^2\} \\ &\quad + B(k, U - \phi) + \bar{B}(k, U + \phi) \end{aligned} \quad (6.6)$$

となり、OCT イメージ成分  $B$  と、ゴーストイメージ成分  $\bar{B}$  が空間周波数領域で分離できる（図 6.7）．周波数フィルタで OCT イメージ成分  $B$  のみを抽出し、逆フーリエ変換によって元の次元に戻すと、

$$\begin{aligned}
I_d'(k, X) &= IFT_{U \rightarrow X} \{ FT_{X \rightarrow U} \{ I_d(k, X) \} \} \\
&= E_{sam} E_{ref}^* \exp(-i\phi X) \exp\{i2k(Z_{sam} - Z_{ref})\} \quad (6.7)
\end{aligned}$$

上式に示すように OCT イメージ成分のみを含んだ複素干渉スペクトルを取得すること

For specific wavenumber (k),

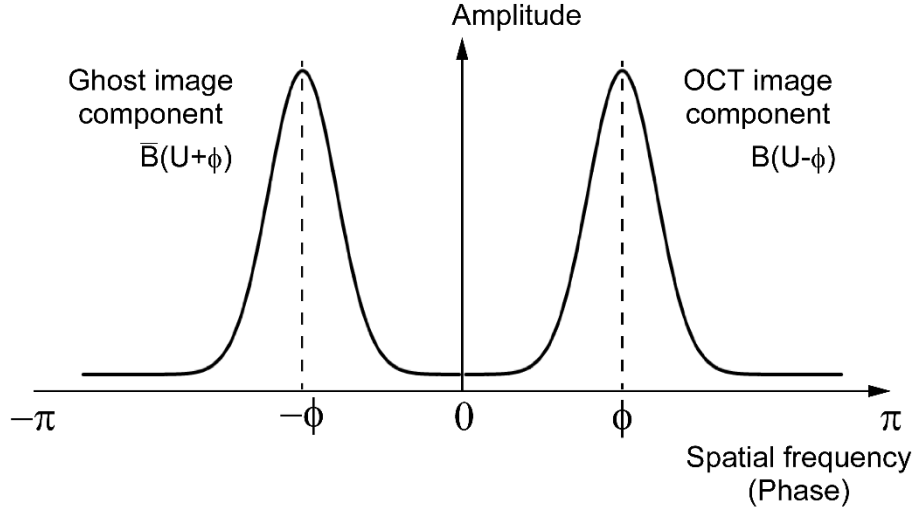


図 6.7 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT における測定感度のロールオフ理論値.

ができる．この複素干渉スペクトルを通常の SD-OCT と同様に波数方向に沿ってフーリエ変換することで，ゴーストイメージフリーな OCT イメージを再構築することができる．ここで示したように，隣り合う A-scan ごとに位相変調を与えながら OCT 断層像を取得する位相シフト法を特に B-M 法と呼ぶ[8,9,12,13]．従来の 1 A-scan に対して複数の位相シフトを与えて複素干渉スペクトルを回復する方法では OCT イメージング速度が犠牲になっていたが[8,14–16]，B-M 法では画像取得と同時に位相シフトを与えるので，通常の SD-OCT と同じ速度でイメージングが行え，高速なイメージング用途に適している．

本研究では，サンプル光に位相変調を与える手法としてガルバノミラーを用いた B-M 法を採用した[12,13]．OCT 断層像を取得する際に用いるガルバノミラーに，意図的にビームをずらしてサンプル光を入射することで，スキャン位置ごとに一定の位相シフトを与えることができる．図 6.8 に位置オフセットを与えたガルバノミラーをスキャン



した際のジオメトリを示す．オフセットを与えることで，ガルバノミラーのスキャン時にスキャン位置に応じて光路長が追加され（図 6.8 中の赤点線），サンプル光の位相が変化する．スキャン位置ごとに追加される光路長  $\Delta z$  は，

$$\Delta z \approx s \cdot \frac{\Delta\beta}{N} \quad (6.8)$$

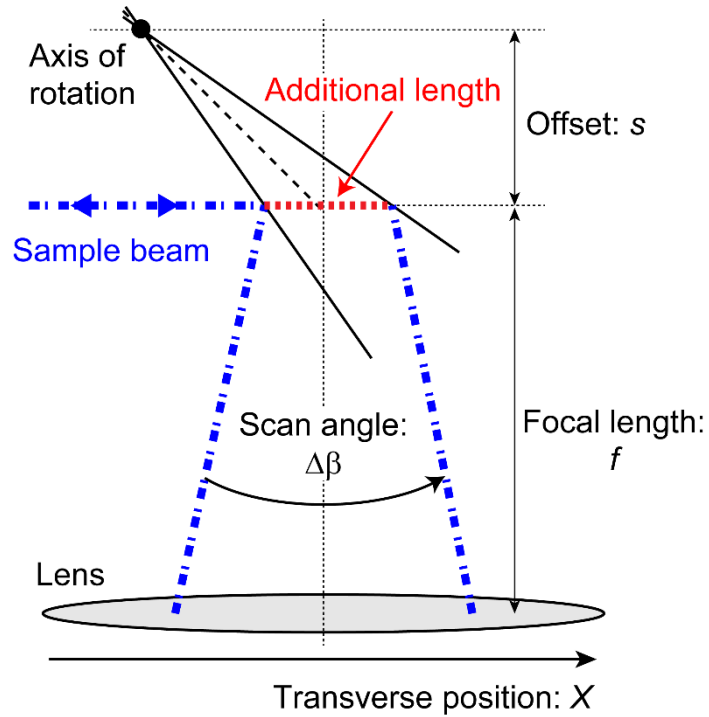


図 6.8 ガルバノミラーを用いた位相シフト法(B-M 法)

ここで， $s$  はサンプル光入射位置のガルバノミラーの回転中心に対するオフセット量， $\Delta\beta$ ， $N$  は OCT 断層像取得時のサンプル光の振り角，および横方向のピクセル数（A-scan 数）である[12]．式(6.8)で表される光路長が付加された時，サンプル光の位相はスキャン位置ごとに，

$$\begin{aligned} \phi &= k \cdot 2\Delta z \\ &= 2ks \cdot \frac{\Delta\beta}{N} \end{aligned} \quad (6.9)$$

だけシフトする．ここで、 $k$  は光の波数である．係数 2 は、サンプル光が付加された光路長を往復することを表している．

式(6.9)から分かるようにスキャン位置ごとの位相差は光の波数（波長）に依存するため、超広帯域スペクトルを用いる  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 SD-OCT では注意が必要である．ゴーストイメージを確実に抑制するためには、空間周波数領域で OCT イメージ成分が位相 0 から  $\pi$  の間に収まっていなければならない．前述の条件を達成するために、本研究では光源スペクトルの中心波長  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  において位相差  $\phi$  が  $\pi/2$  となるようにオフセット量を調整した．このとき、光源スペクトルの両端である波長  $1.4\text{ }\mu\text{m}$  および  $2.0\text{ }\mu\text{m}$  では、スキャン位置ごとの位相差が  $0.61\pi$ 、 $0.43\pi$  となり、OCT イメージ成分を所望の領域に収めることができる（図 6.9）．

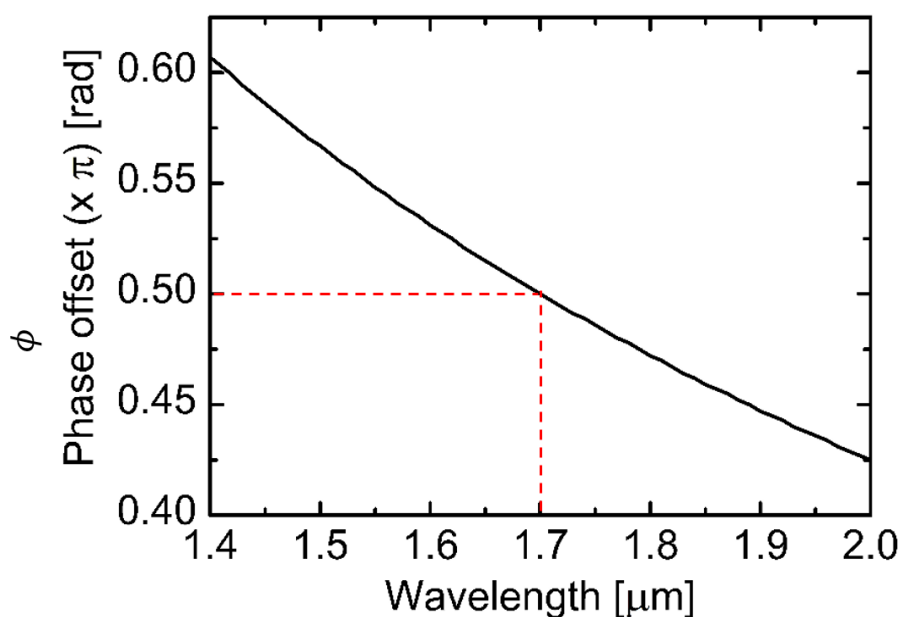


図 6.9 位相オフセットの波長依存性．

なお、B-M 法で位相シフトを与える方法として、今回用いたガルバノミラーのオフセット以外にも、音響光変調器や電気光変調器（AOM, EOM）などの外部変調器やピエゾ素子付きのリファレンスミラーを利用することもできる[8,9]．しかし、AOM や EOM の光学透過波長帯域では、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光の全スペクトル域をカバーすることができないため、SC 光のスペクトルを狭窄化してしまい OCT の深さ方向分解能が劣化する．一方、ガルバノミラーやピエゾ素子付きのリファレンスミラーは  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光の全ス

クトル範囲において高反射率を示すため、SC 光のスペクトル幅を損なうことなく超高分解能性を実現することができる。さらに、B-M 法では、A-scan ごとにサンプル光かりファレンス光の位相を  $\pi/2$  シフトさせる必要がある。本研究で開発する 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT における A-scan の速度は InGaAs-PDA のスキャンレート 47 kHz であるが、 piezo 素子付きのリファレンスミラーの動作周波数は 47 kHz よりも低いため、A-scan ごとにリファレンス光の位相を  $\pi/2$  ずつシフトさせるためには piezo 素子のスキャン法に工夫が必要である[8]。一方、本研究で採用した位置オフセットを与えたガルバノミラーによる位相シフト法では、ガルバノミラーを OCT 断層像 (B-scan) の取得レート (本研究の場合、83.6 Hz) に合わせて動作させるだけで、自動的に A-scan ごとにサンプル光に  $\pi/2$  の位相シフトが与えられる。以上の理由から、本研究で目標とする高速、高侵達、高分解能な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT の実現に最適な、オフセット付きのガルバノミラーによる位相シフト法を採用した。

## 6.4 1.7 $\mu\text{m}$ 帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システム

1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光および前節で述べた位相シフト法を用いて 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システムを構築した (図 6.10)。より高い深さ方向分解能を実現するため、本研究ではスペクトル半値幅 300 nm に広がった 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた[2]。サンプルアームは、3 次元スキャンに使用する X-Y ガルバノミラーと焦点距離 50 mm のアクロマティックレンズ (AC254-050-C, Thorlabs) で構成した。横方向分解能 (焦点位置でのスポットサイズ) は  $\sim 56 \mu\text{m}$  であった。フルレンジ OCT イメージングを行うために、X ガルバノミラーへのサンプル光の入射位置は、前節で述べたように回転中心に対してオフセットを与えている。ショットノイズレベルでの OCT イメージングを達成するため、可変 ND フィルタを用いてリファレンス光の光量を調整した。

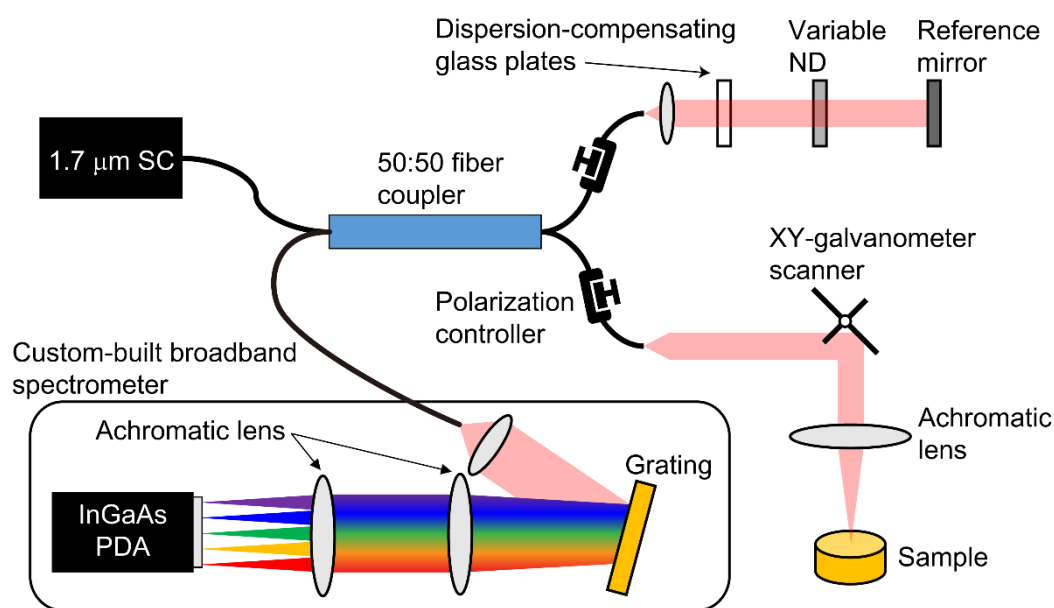


図 6.10 開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システム.

波長幅約 600 nm に広がった 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を検出するため、分光器を設計・開発した. 図 6.11 に光線追跡ソフト Optic Studio (Zemax) を用いて設計した分光器の構成を示す.

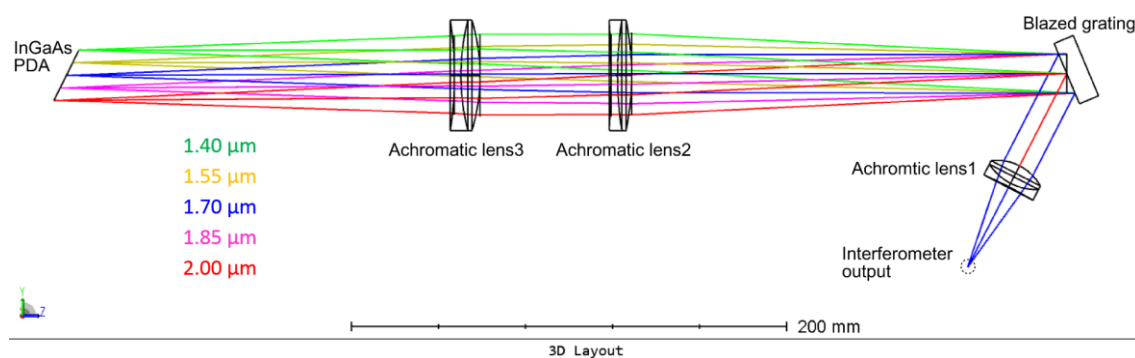


図 6.11 波長 1.4–2.0  $\mu\text{m}$  を検出可能な広帯域分光器.

干渉計 (ファイバコプラ) からの出力光はアクロマティックレンズを用いてコリメートされ, 回折格子 (015-200, 島津製作所) によって空間的に波長分割される. 光源のスペクトル範囲全域 (1.4–2.0  $\mu\text{m}$ ) で色収差の影響が小さくなるように, アクロマティックレンズを 2 枚 (AC508-040-C, AC508-050-C, とともに Thorlabs) 用いて InGaAs-PDA (SU1024LDH-2.2RT-0250/LC, Goodrich) 上に集光し, 干渉スペクトルの検出を行った.

図 6.12 に Optic Studio で計算した検出器面上での強度分布（波長  $1.700\ \mu\text{m}$ ,  $1.701\ \mu\text{m}$  成分）を示す．2 波長の強度プロファイルから，設計した分光器の波長分解能の理論値は約  $1\ \text{nm}$  と見積もられる．

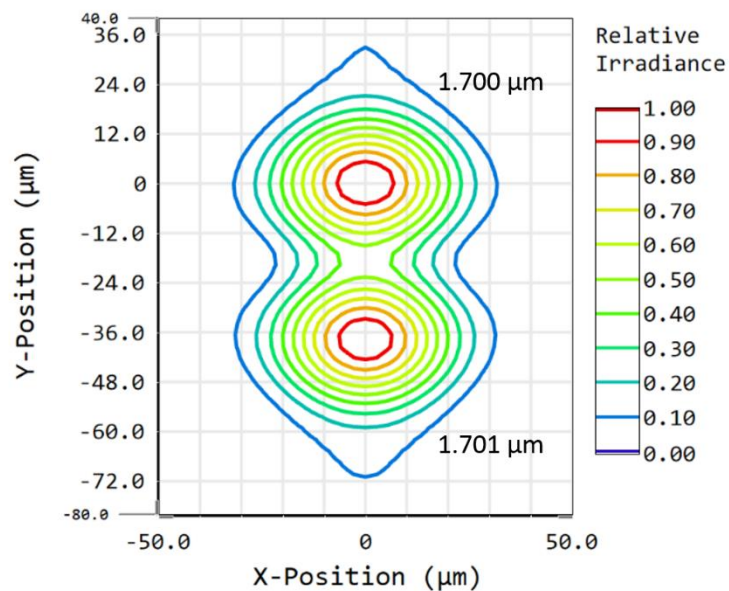


図 6.12 InGaAs-PDA 受光面における強度分布．

開発した分光器を用いて測定した  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトルを図 6.13 に示す．干渉計として利用したファイバカプラと回折格子で発生する光ロスの波長依存性によって少しスペクトル幅が減少しているが，超高分解能 OCT イメージングに十分な  $300\ \text{nm}$  の半値幅を得ることができた．

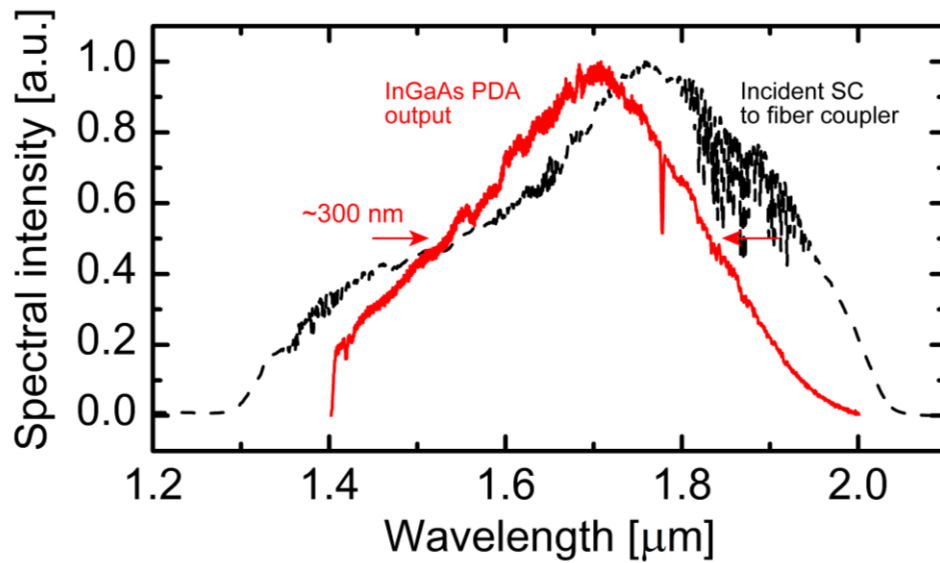


図 6.13 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光スペクトル.

黒: ファイバカプラ干渉計への入力光(図 6.10 左上). 赤: InGaAs PDA 出力(図 6.10 左下).

開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムの特性を評価するために、ミラーをサンプルとして測定した. InGaAs-PDA の飽和を防ぐため、サンプルアームに ND フィルタを挿入した. ガルバノミラーとビーム位置オフセットを用いた位相シフト法によって、空間周波数領域で OCT イメージ成分とゴーストイメージ成分が明瞭に分離されている (図 6.14). 本研究では、空間周波数領域で位相  $0-\pi$  の領域にある成分を OCT イメージ成分、 $-\pi-0$  に存在する成分をゴーストイメージ成分としたが、OCT イメージとゴーストイメージは位相共役でどちらも同じサンプルの構造情報を含んでいるため、左右どちらの信号成分を OCT イメージ成分として扱ってもゴーストイメージを抑制した OCT イメージを取得することができる[8].

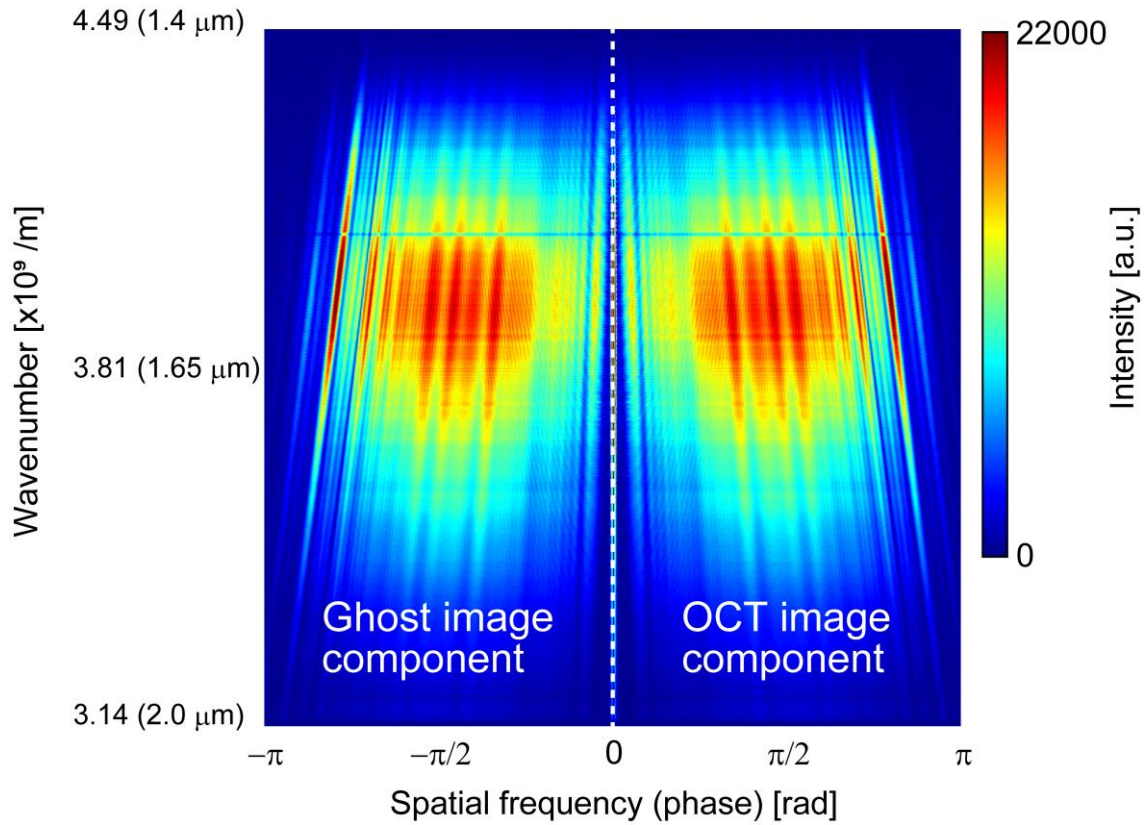
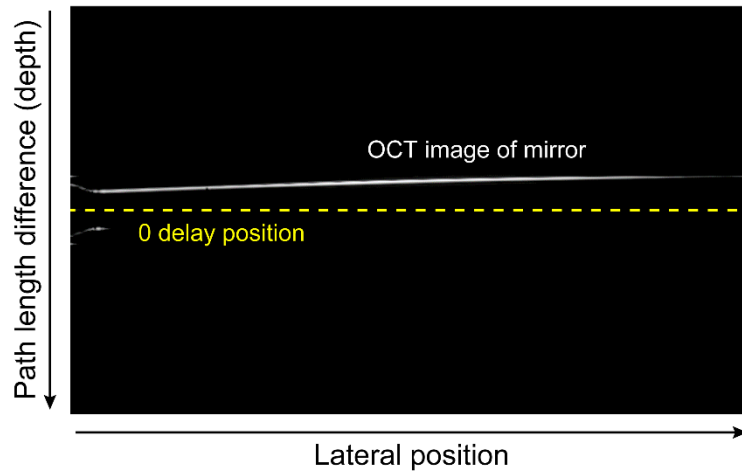


図 6.14 空間周波数信号成分(ミラー測定時).

図 6.15 に測定したミラーの OCT 断層像を示す. フルレンジ処理を行わなかった場合, 光路差 0 位置を中心に OCT イメージとゴーストイメージが対称的に現れている (図 6.15(b)). 一方で, 空間周波数領域で OCT イメージのみを抽出し再構築したフルレンジ OCT イメージでは, ゴーストイメージが抑制されている (図 6.15(a)). スキャン位置によってミラー像が傾いているのは, 位相シフトを与えるために, サンプル光の光路長をスキャン位置ごとに変化させているためである. また, OCT 断層像を連続で取得する際には, 1 断層像ごとにガルバノミラーを初期位置に戻す動作 (バックワードスナッピング) が入るため, 次の断層像の撮り始め位置 (断層像の左端) では, サンプル光に与える位相差が  $\pi/2$  から外れてしまう [12]. したがって, 画像の左端ではゴーストイメージが現れてしまう.

(a) Full-range OCT image of mirror



(b) Conventional OCT image

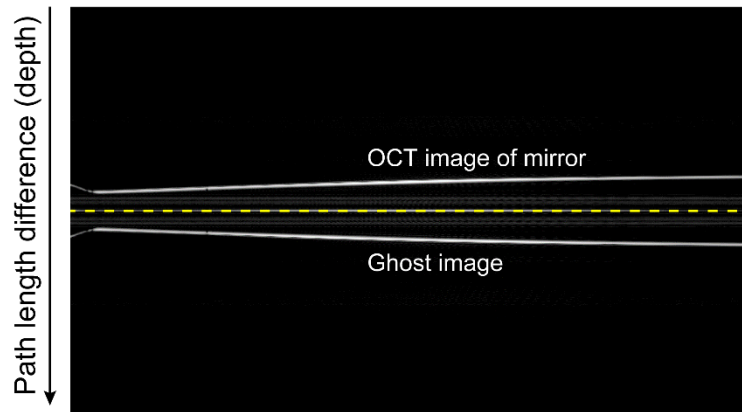


図 6.15 ミラーの OCT 断層像. フルレンジ処理を施すことでゴーストイメージが抑制されている.

リファレンスミラーの位置を変えて測定した OCT 干渉信号波形を図 6.16 に示す. 開発したフルレンジ OCT では, ゴーストイメージが 40 dB 程度抑制されていることが分かる. 生体組織の OCT イメージングのダイナミックレンジ (信号対雑音比) の典型値は 40 dB 程度である[9,11,17]. したがって, ゴーストイメージを 40 dB 抑制した場合, ゴーストイメージはノイズレベルまで低減されるため, 今回開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT では, ゴーストイメージフリーな OCT イメージングが行える. 光路長差が負の領域に小さなピークがいくつか存在するが, これらはゴーストイメージではなく, SC 光のスペクトル形状がガウス型から少し解離していることや分散補償が最適化されていないことで発生するサイドローブである. サイドローブの信号強度は



OCT 干渉信号のメインピークから 25–30 dB 以上小さいため、サイドローブが原因で OCT 像に発生するアーチファクトの影響は小さいと言える。Y 軸ガルバノミラーを走査して 3 次的にイメージングを行った場合でも、40 dB 程度のゴーストイメージ抑制量が確認できた。したがって、断層計測だけでなく、ゴーストイメージフリーな 3 次元計測も行える。超広帯域な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いたことで、生体中で 3.6  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能を達成することができた。OCT 干渉波形のメインピークを含まない領域の信号強度の平均値をノイズフロアとすると（サイドローブはノイズの平均値に含む）、測定感度は最大で約 100 dB であり、測定感度のロールオフは -10 dB/ $\pm 360 \mu\text{m}$ （生体中換算距離）であった。分光器の波長分解能が約 1 nm の場合の測定感度のロールオフの理論値は -10 dB/580  $\mu\text{m}$  であるが[3]、分光器の光学系調整のミスアライメントおよび光線追跡ソフトによる設計では考慮しきれなかった収差の影響によって劣化したと考えられる。OCT イメージング速度は、OCT 断層像を 512 A-line で構成したとき、83 frame/s であった（50 A-line のバックワードスナッピングを含む）。

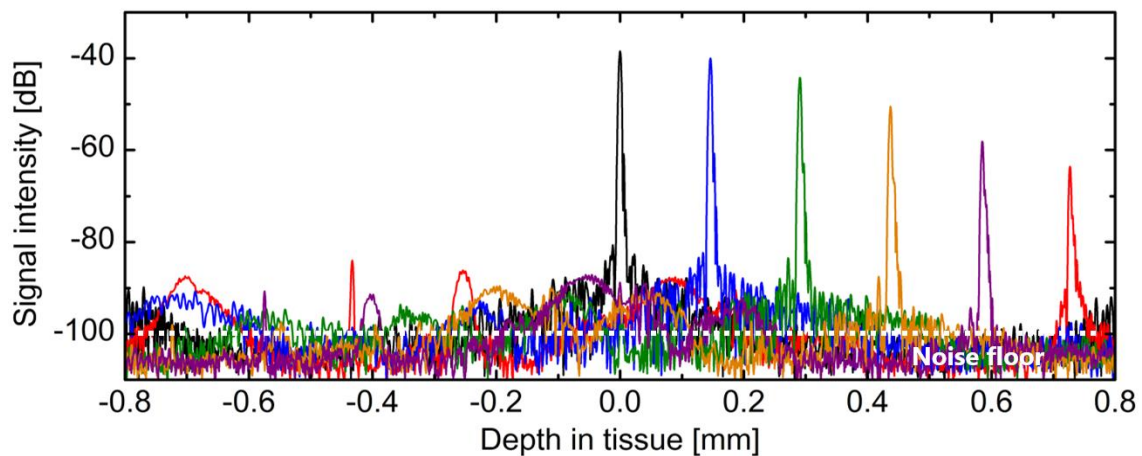


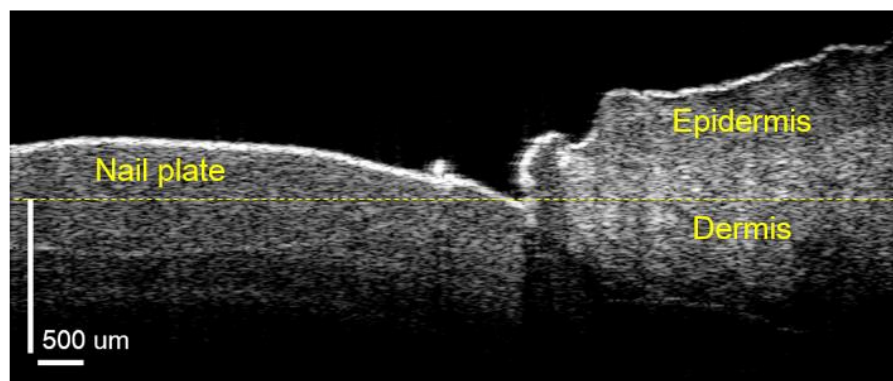
図 6.16 光路長差を 0 (黒線) から +0.75 mm (赤線) まで 0.15 mm 刻みで変更しながら取得した OCT 干渉波形。位相シフト法に基づくフルレンジ法を適用したことで、ゴーストイメージ（横軸が負の領域に発生する）を 40 dB 以上抑制できている。横軸が負の領域に発生している小さなピークはサイドローブである。

## 6.5 フルレンジ SD-OCT イメージング結果

### 6.5.1 高散乱な生体組織の SD-OCT イメージング

実際の生体組織で高侵達かつ高分解能な OCT イメージングが行えるかを確認するために、開発した  $1.7\ \mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システムを用いて、高散乱な生体組織の OCT イメージングを行った。はじめに、ヒトの指・爪部のイメージングを行った（図 6.17）。図中の黄色点線は、サンプルアームとリファレンスアームの光路長差が 0 になる深さを示している。(a)に示すフルレンジ OCT イメージでは、表皮の下にある真皮の深部まで観察が行えているが、(b)に示す通常の SD-OCT イメージでは、ゴーストイメージが OCT イメージと重なってしまい、爪板と真皮の深部構造を正しく観察できていない。

(a) Full-range SD-OCT image of finger nail



(b) Conventional SD-OCT image

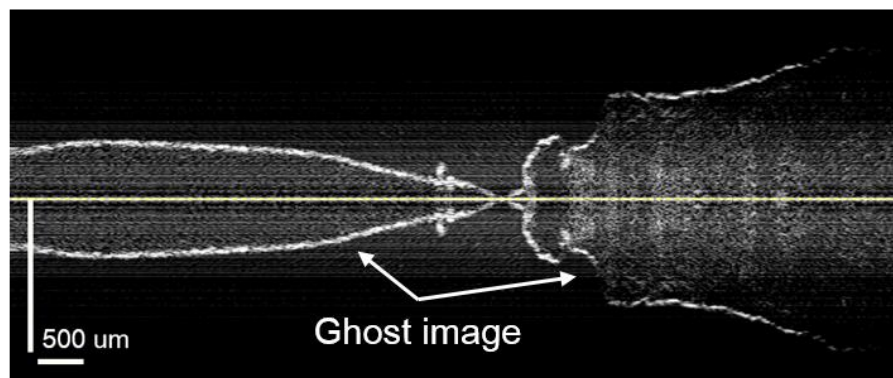


図 6.17 ヒトの指・爪部 OCT イメージ.

図 6.18 にハムスターの頬袋の断層像を示す.  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた超高分解能性によって, 組織中の薄い層構造を明瞭に分離することができた. また, フルレンジ OCT 化によって, 結合組織層や筋肉層といった組織深部の構造を観察することができた.

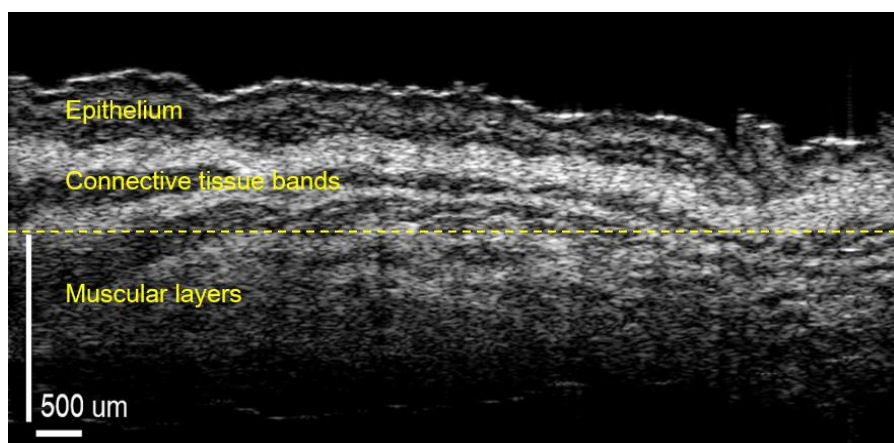


図 6.18 ハムスター頬袋のフルレンジ SD-OCT イメージ.

#### 6.5.2 マウス脳深部の高分解能な 3 次元 OCT イメージング

厚みのあるサンプルの全体イメージングができるかどうかを確認するために, ホルマリン固定したマウス脳の 3 次元イメージングを行った. 開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムは, 測定感度のロールオフにより 1 枚の OCT 断層像で観察できる深さが  $1\text{ mm}$  程度に制限されている. そこで今回は, 図 6.19 に示すように, (a) 表面から脳梁周辺の 3 次元測定を行った後, (b) マウス脳の高さを変更し海馬周辺の 3 次元計測を行い, 2 つの 3 次元データを繋ぎ合わせることで, マウス脳の表面から海馬まで (約  $2\text{ mm}$  深さ) を観察した. OCT イメージのコントラストを向上させるため, 表面および海馬周辺の 3 次元スキャンを 16 回ずつ行い平均化処理をした. 16 回の 3 次元スキャンに要した時間は約  $50\text{ s}$  で, 合計約 2 分 ( $\sim 50\text{ s} \times 2$ ) で,  $10 \times 3\text{ mm}^2$  (X-Y 水平面)  $\times 2\text{ mm}$  (深さ) の広範囲な 3 次元像を取得できた.

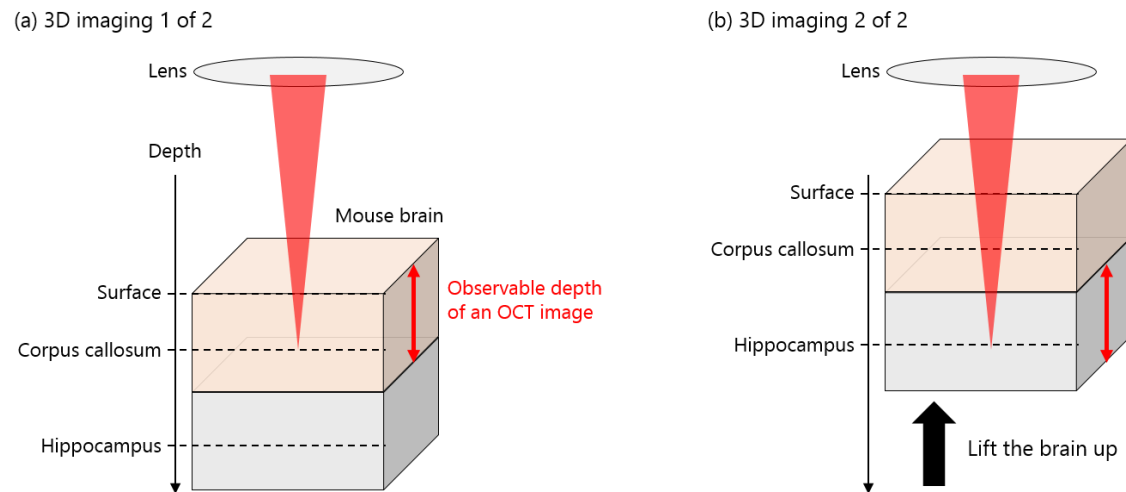


図 6.19 マウス脳の 3 次元イメージ取得法. 3 次元スキャンを 2 度行い, 表面から深部までを観察した.

図 6.20 に取得した 3 次元データから抜き出したマウス脳の OCT 断層像を示す. 図中の黄色点線は, マウス脳表面と海馬周辺の OCT 断層像を繋ぎ合わせた高さを示している.  $1.7\ \mu\text{m}$  帯光源の高侵達性とフルレンジ OCT システムの併用によって, マウス脳表面から約  $1.7\ \text{mm}$  深部までの侵達長を実現し, 脳梁や海馬を明瞭に可視化することができた. OCT 断層像の下部に現れている水平な線上の信号は, マウス脳深部の観察時にリファレンス光量を強くしたことで発生した, リファレンス光の自己相関成分 (アーチファクト) である. 3 次元データから抽出した *en-face* 像 (XY 平面スライス像) から, 脳梁や海馬の 3 次元構造を確認することができる (図 6.21).

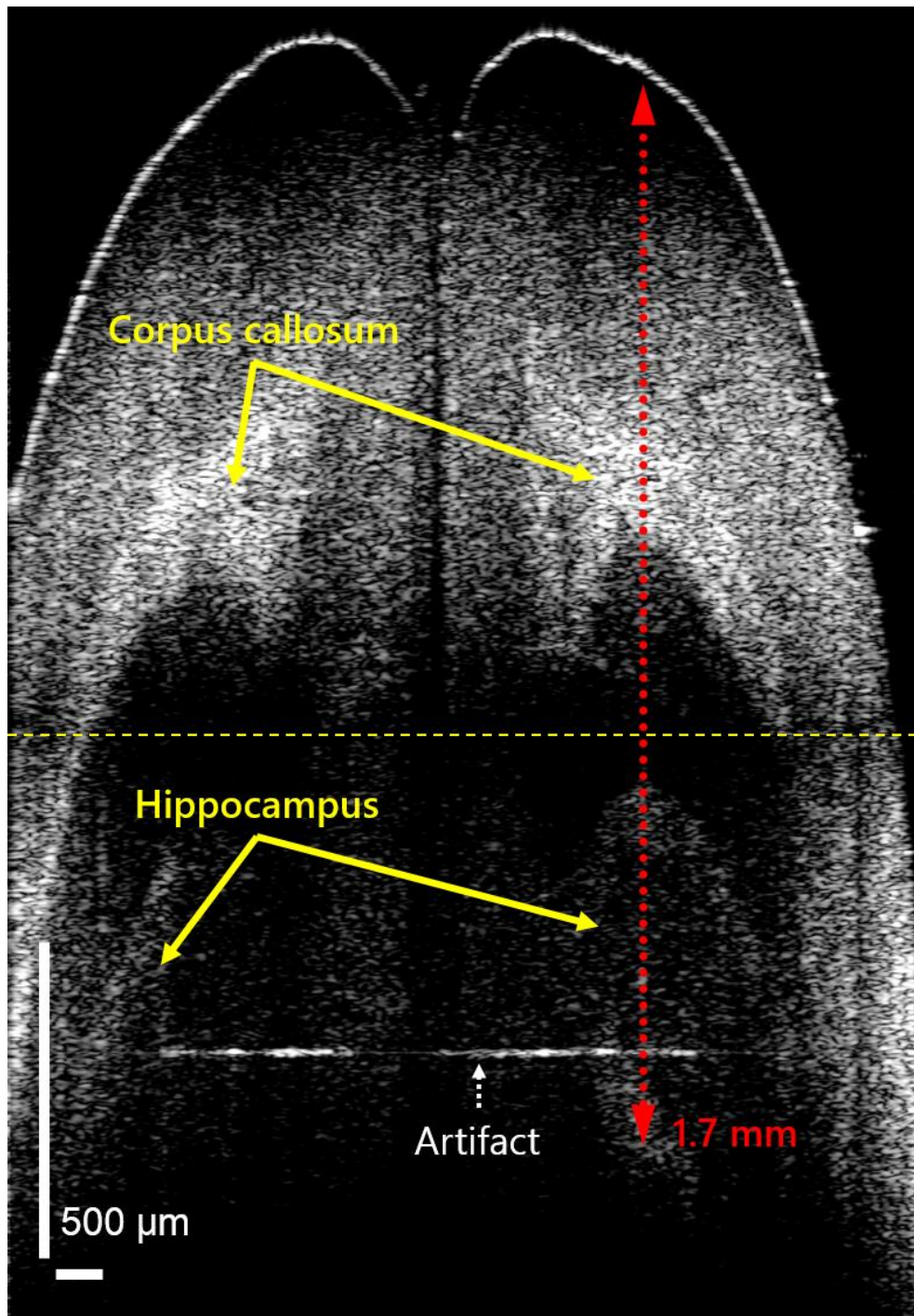


図 6.20 マウス脳の OCT イメージ. 脳表面から海馬まで 1.7 mm のイメージング深度を達成した.



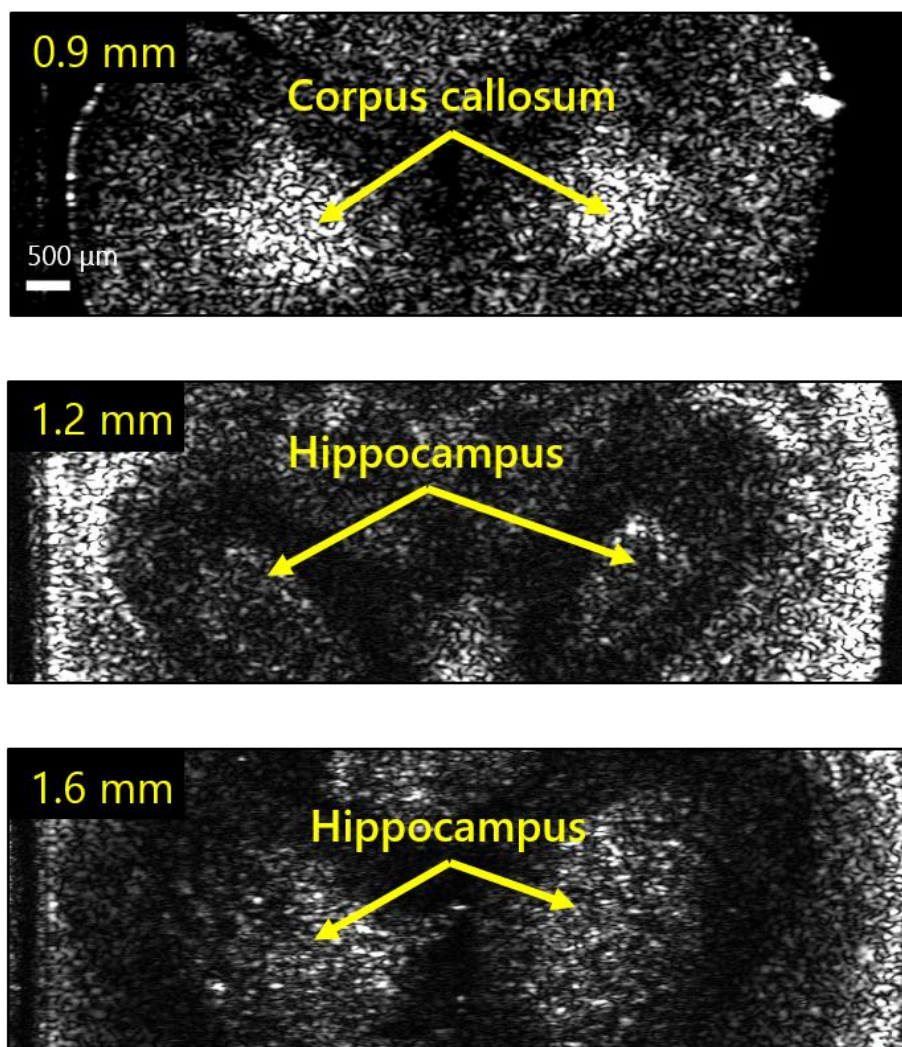


図 6.21 3 次元データから再構築したマウス脳の *en-face* 像. 画像左上の数値は表面からの深さ.

## 6.6 考察と結論

本研究では,  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた超高分解能 SD-OCT と位相シフト法に基づくフルレンジ OCT を融合することで, 高散乱体の深部を高速かつ高分解能で観察可能な OCT システムを開発した. スペクトル幅 (FWHM) 約  $300\ \text{nm}$  の SC 光を用いることで,  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SD-OCT において  $3.6\ \mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能 (生体中換算) を実現した. さらに, ガルバノミラーとビーム位置オフセットを利用した位相シフト法によりゴース

トイメーজの発生を抑制し、超高分解能性と高速性を保ったまま、組織深部の観察を可能にした。開発した SD-OCT の測定感度は最大~100 dB で、毎秒 83 枚の高速なフレームレート (OCT 断層像取得) を達成した。開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT を用いてマウス脳の 3 次元イメージングを行い、マウス脳表面から約 1.7 mm 深部までの脳梁や海馬を含む構造を明瞭に観察できた。これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT におけるマウス脳の観察では、空間分解能が制限されており、さらにゴーストイメーজによるオーバーラップを避けるため、海馬組織の表面までしかイメージングできていなかった[6]。本研究で提案した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT によるマウス脳の観察結果は、これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT の中で最も高分解能かつ高侵達なイメージング結果である。

1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いることで 3.6  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能を実現したが、横方向分解能は 56  $\mu\text{m}$  であった。横方向分解能は、より高い開口数 (NA) を持つ対物レンズを用いることで、波長程度まで向上することができる。集光ビームのスポットサイズを小さくして横方向分解能を向上させた場合、フルレンジ OCT イメージングを実現するためには、イメージング条件の調整が必要である。空間周波数域における OCT イメージ成分とゴーストイメー成分の信号幅  $\Delta f_d$  は、式(6.10)に示すように、スポットサイズ  $d$  に反比例する[9]。

$$\Delta f_d \propto \frac{\Delta x}{d} \quad (6.10)$$

式(6.10)中の  $\Delta x$  は、隣り合う A-line 間の距離 (イメージングのステップ間隔) である。したがって、横方向分解能を向上させフルレンジ OCT イメージングを行う場合、空間周波数領域で OCT イメージ成分とゴーストイメー成分が重ならないように、OCT イメージを構成する A-line 数を増やすか、イメージング範囲を狭くし、 $\Delta x$  を小さくする必要がある。例えば、今回開発した SD-OCT システムの集光レンズを高 NA の対物レンズに変更し、横方向分解能が約 5  $\mu\text{m}$  になった場合、A-line 間の距離が今回の約 1/11 になるようにイメージング条件を整えれば、ゴーストイメーフリーなフルレンジ OCT イメージングが行える。

今回開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SD-OCT の最高感度は 100 dB で、前章の TD-OCT システムよりも 5 dB 低感度となった[1]。しかし、本研究ではより高い深さ方向分解能を実現するために、より広いスペクトル幅を持つ低出力な  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光（前章における従来 SC 光（パルス繰り返し: 50 MHz））を用いており[2]、前章で開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光[1]を用いることで、今回より 10 dB 高感度な約 110 dB が実現できると予想される。さらに、今回開発した SD-OCT のイメージング速度は、前章の TD-OCT に対して 470 倍高速化しており、これは単位時間あたりに検出するサンプル光量が  $1/470$  に減衰していることに対応する。単位時間あたりのサンプル光量の減少および低出力な SC 光を用いたにもかかわらず、5 dB しか測定感度が減少しなかったのは、計測法として SD-OCT のほうが TD-OCT よりも高感度測定が行えることに由来している[5]。

今回提案した超高分解能 SD-OCT システムにフルレンジ法を組み合わせたイメージング手法では、超広帯域スペクトル検出に伴う測定感度のロールオフによって 1 枚の OCT イメージで観察できる深さが 1 mm 弱に制限されているため、厚みのあるサンプルの全深さ情報を取得するには、サンプル位置を移動させて複数回測定を行う必要がある（6.5.2 参照）。一方、観察したい深さ範囲（region of interest: ROI）が 1 mm 以下のときは、1 度の OCT イメージングで ROI の全範囲が観察できる。さらに、フルレンジ法を用いてゴーストイメージを抑制しているため、ROI がサンプルのどの深さ位置にあったとしても、正確にサンプルの構造を観察することができる。以上より、今回開発した  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT を用いることで、脳や皮膚といった高散乱組織の深部で起こる生命現象の高速かつ高分解能なイメージングの実現が期待できる。



## 第 6 章に関する参考文献

- [1] H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, and N. Nishizawa, “Development of a high power supercontinuum source in the 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for highly penetrative ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express* **5**(3), 932–943 (2014).
- [2] S. Ishida, N. Nishizawa, T. Ohta, and K. Itoh, “Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  Region with Fiber Laser Supercontinuum in Low-Water-Absorption Samples,” *Appl. Phys. Express* **4**, 052501 (2011).
- [3] S. H. Yun, G. J. Tearney, B. E. Bouma, B. H. Park, and J. F. de Boer, “High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 1.3  $\mu\text{m}$  wavelength,” *Opt. Express* **11**(26), 3598–3604 (2003).
- [4] T. C. Chen, B. Cense, M. C. Pierce, N. Nassif, B. H. Park, S. H. Yun, B. R. White, B. E. Bouma, G. J. Tearney, and J. F. de Boer, “Spectral Domain Optical Coherence Tomography, Ultra-high Speed, Ultra-high Resolution Ophthalmic Imaging,” *Arch. Ophthalmol.* **123**(12), 1715–1720 (2005).
- [5] R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, and A. F. Fercher, “Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography,” *Opt. Express* **11**(8), 889–894 (2003).
- [6] S. P. Chong, C. W. Merkle, D. F. Cooke, T. Zhang, H. Radhakrishnan, L. Krubitzer, and V. J. Srinivasan, “Noninvasive, in vivo imaging of subcortical mouse brain regions with 1.7  $\mu\text{m}$  optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **40**(21), 4911–4914 (2015).
- [7] M. Tanaka, M. Hirano, K. Murashima, H. Obi, R. Yamaguchi, and T. Hasegawa, “1.7- $\mu\text{m}$  spectroscopic spectral-domain optical coherence tomography for imaging lipid distribution within blood vessel,” *Opt. Express* **23**(5), 6645–6655 (2015).
- [8] Y. Yasuno, S. Makita, T. Endo, G. Aoki, M. Itoh, and T. Yatagai, “Simultaneous B–M-mode scanning method for real-time full-range Fourier domain optical coherence tomography,” *Appl. Opt.* **45**(8), 1861–1865 (2006).
- [9] S. Makita, T. Fabritius, and Y. Yasuno, “Full-range, high-speed, high-resolution 1- $\mu\text{m}$

- spectral-domain optical coherence tomography using BM-scan for volumetric imaging of the human posterior eye,” *Opt. Express* **16**(12), 8406–8420 (2008).
- [10] Y. Yasuno, V. D. Madjarova, S. Makita, M. Akiba, A. Morosawa, C. Chong, T. Sakai, KP Chan, M. Itoh and T. Yatagai, “Three-dimensional and high-speed swept-source optical coherence tomography for in vivo investigation of human anterior eye segments,” *Opt. Express* **13**(26), 10652–10664 (2005).
- [11] *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., Springer Reference (2015).
- [12] B. Baumann, M. Pircher, E. Götzinger, C. K. Hitzenberger, “Full range complex spectral domain optical coherence tomography without additional phase shifters,” *Opt. Express* **15**(20), 13375–13387 (2007).
- [13] L. An and R. K. Wang, “Use of a scanner to modulate spatial interferograms for in vivo full-range Fourier-domain optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **32**(23), 3423–3425 (2007).
- [14] M. Wojtkowski, A. Kowalczyk, R. Leitgeb, and A. F. Fercher, “Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging,” *Opt. Lett.* **27**(16), 1415–1417 (2002).
- [15] R. A. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, A. F. Fercher, and T. Bajraszewski, “Phase-shifting algorithm to achieve high-speed long-depth-range probing by frequency-domain optical coherence tomography,” *Opt. Lett.* **28**(22), 2201–2203 (2003).
- [16] P. Targowski, M. Wojtkowski, A. Kowalczyk, T. Bajraszewski, M. Szkulmowski, and I. Gorczynska, "Complex spectral OCT in human eye imaging in vivo," *Opt. Commun.* **229**, 79-84 (2004).
- [17] U. Sharma, E. W. Chang, and S. H. Yun, “Long-wavelength optical coherence tomography at 1.7  $\mu\text{m}$  for enhanced imaging depth,” *Opt. Express* **16**(24), 19712–19723 (2008).

## 第7章 1.7 $\mu\text{m}$ 帯超高分解能 OCT を用いた 生体深部イメージングにおける 空間分解能の定量的な評価

### 7.1 はじめに

本研究では、高散乱組織の高侵達かつ高分解能なイメージングの実現を目指し、超広帯域なスペクトルを持つ 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を利用した 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムの開発を行ってきた[1,2]。しかし、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムを用いて高侵達化を達成してきた一方で、水を多く含む高散乱な生体組織の内部観察時に、高い深さ方向分解能を維持できているかという点は不明瞭であった。

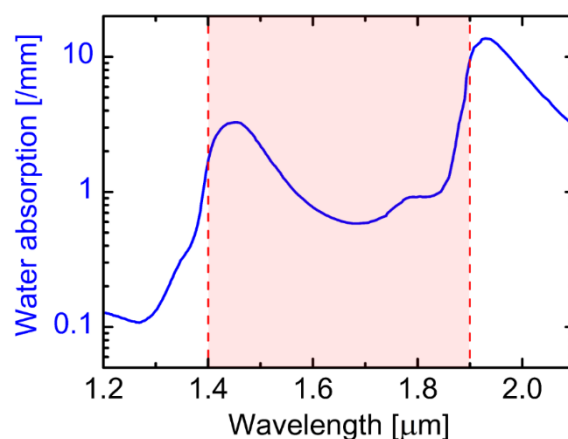


図 7.1 水の吸収スペクトルと 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル範囲(1.4–1.9  $\mu\text{m}$ )。

1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT では、波長 1.4–1.9  $\mu\text{m}$  帯にわたる超広帯域な SC 光源が用いられるため、生体中で生じるスペクトル変化や波長分散の影響で深さ方向分解能が劣化する可能性がある。図 7.1 に水の吸収スペクトルと 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル範囲を示す。1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトル範囲内に水の吸収ピークが存在するため、水分を

含有する試料を観察した場合、試料中で  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光のスペクトルが変化してしまうことが予想される。同様に、高散乱組織中で生じる光散乱による減衰量（散乱係数）も波長によって異なるため、散乱によってもスペクトル形状が変化することが予想される。さらに、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT には超広帯域なスペクトルを持つ光源を用いるため、試料中で生じる波長分散が深さ方向分解能に与える影響が従来の OCT より大きくなることも考えられる。例えば、生体中で  $5\text{ }\mu\text{m}$  の深さ方向分解能を実現するためには、 $0.8$ ,  $1.1\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT では、約  $40\text{ nm}$ ,  $70\text{ nm}$  のスペクトル幅（FWHM）で十分であるが、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT では、約  $190\text{ nm}$  のスペクトルが必要となる。生体中での OCT の深さ方向分解能に関しては、波長  $0.8$ ,  $1.1\text{ }\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による後眼部（網膜や脈絡膜）のイメージングでは多くの報告例がある[3–6]。波長  $0.8$ ,  $1.1\text{ }\mu\text{m}$  帯を用いた眼の超高分解能 OCT イメージングでは、光源のスペクトルが水の吸収ピークから十分に離れていれば、波長分散を補償することで高分解能な OCT イメージングが行えることが示されている[5,6]。しかし、脳や皮膚といった高散乱組織は、吸収や散乱の光学特性が眼と大きく異なるため、これまでの知見だけでは高分解能イメージングを実現することは困難である。 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT による高散乱組織の高侵達かつ高分解能な OCT イメージングの実現には、高散乱組織の特性と  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯超広帯域スペクトルを考慮した分解能変化の評価が必要不可欠である。

そこで本研究では、 $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた超高分解能 OCT システムと高散乱組織の特性を模した生体ファントム（生体模擬試料）を用いて、高散乱組織の深部観察時における  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 OCT の深さ方向分解能の変化を定量的に評価した。7.2 節で、高散乱組織中での深さ方向分解能の変化を定量的に評価するために構築した実験系について説明し、7.3 節において測定結果を示す。7.4 節で、考察と結論を述べる。

## 7.2 生体中における深さ方向分解能の評価系

### 7.2.1 高散乱組織を模した生体ファントムの作成

生体組織は複雑な構造を有し、光散乱・吸収や波長分散といった光学特性が組織ごと

に異なるため、実際の生体組織を用いて生体中での深さ方向分解能を定量的に評価することは困難である。したがって、本研究では高散乱組織を模した生体ファントムを使用し、高散乱組織中での深さ方向分解能の変化を定量的に評価した。1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT のメインターゲットである脳や皮膚といった高散乱かつ水を多く含む生体組織を模倣するため、第 4 章で用いたリピッド溶液をファントムとして再度準備した[7–11]。20% リピッド溶液、水 ( $\text{H}_2\text{O}$ )、重水 ( $\text{D}_2\text{O}$ ) の混合比率を調整し、リピッド濃度が 0, 2, 5, 10% の希釈液を作成し、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT の深さ方向分解能の劣化度合いの散乱係数依存性を評価した。波長 1.4–1.9  $\mu\text{m}$  帯において、重水の吸収係数は水と比べて 1 桁ほど小さく[12,13]、リピッドは 1.7  $\mu\text{m}$  帯に吸収ピークがあるがファントム中の体積比が水に比べて十分に小さいため、ファントムの吸収係数はファントム中に含まれる水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) の体積比でほぼ決定される。脳や皮膚の吸収係数も、生体中に含まれる水の体積比(約 70%)で決まるため[14–16]、ファントムに含まれる水の体積比が 70%となるように重水を加えることで、ファントムの吸収特性を実際の生体組織に近づけた。また、波長 1.7  $\mu\text{m}$  における重水の 2 次の波長分散も水に比べて十分に小さいため[17]、重水による分散の影響も無視できる。測定したファントム (リピッド濃度 0%) の吸収スペクトルは、体積比 70%の水の吸収スペクトルと良く一致している (図 7.2) [18]。波長 1.68  $\mu\text{m}$  付近に現れている小さな吸収ピークは、水と重水を混ぜたときに生成される HDO によるものであるが[12]、ピークの大きさが小さいため、後述する測定結果への影響は小さかった。

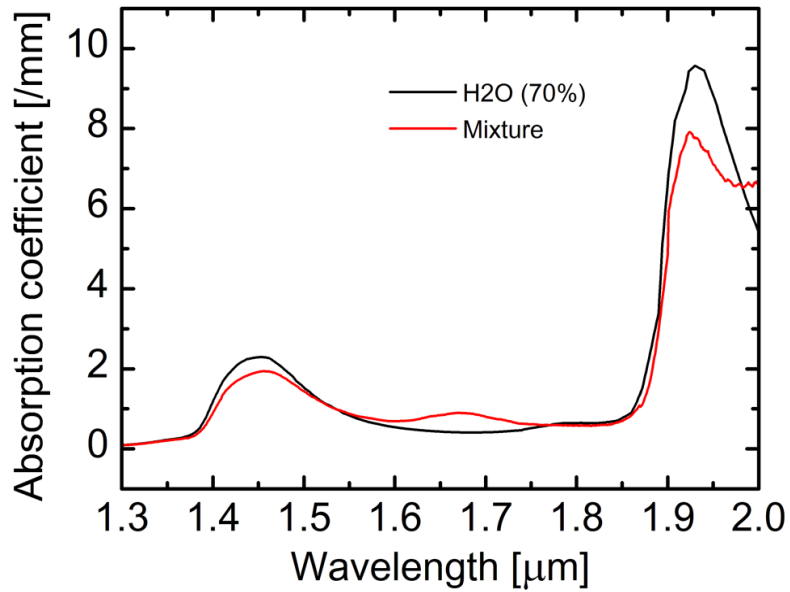


図 7.2 ファントム(リピッド濃度 0%)の吸収スペクトル(赤).  
文献 18 から求めた体積比 70%の水の吸収スペクトル(黒)とよく一致している.

#### 7.2.2 1.7 μm 帯超高分解能 OCT システム

1.7 μm 帯超高分解能 OCT の分解能評価には、第 4 章で使用した 1.7 μm 帯 TD-OCT システムを用いた(図 7.3). 干渉計に内在する分散ミスマッチを補償するため、サンプルアーム内に分散補償ガラス(BK7)を挿入し、サンプルアームとリファレンスアームで受ける分散量を等しくした. 干渉計内の分散ミスマッチを補正した後、ファントムで満たした石英キュベットを図 7.3 に示すようにサンプルミラーの上に配置し、ファントムを通過したサンプルミラーからの反射光とリファレンス光との干渉波形から、生体内での深さ方向分解能を評価した. 通常、1.7 μm 帯 OCT を用いた生体組織のイメージングでは侵達長が 1–2 mm であるため、ファントムの厚み(石英キュベットの光路長)は 1 mm と 2 mm に設定した.

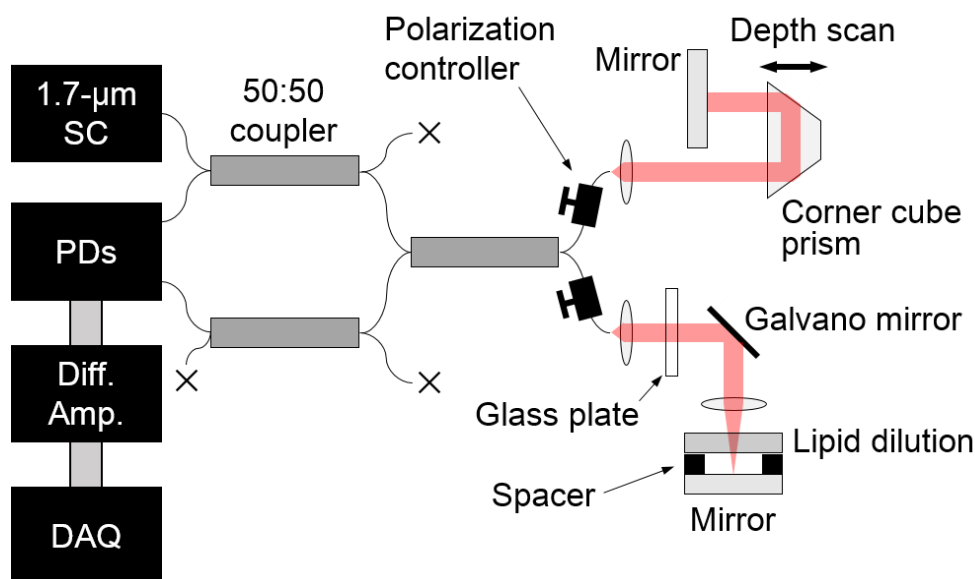
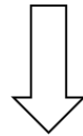
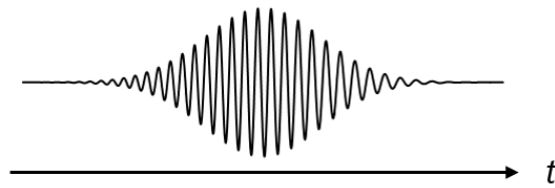


図 7.3 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システム.

### 7.2.3 スペクトル解析を用いた深さ方向分解能変化の評価法

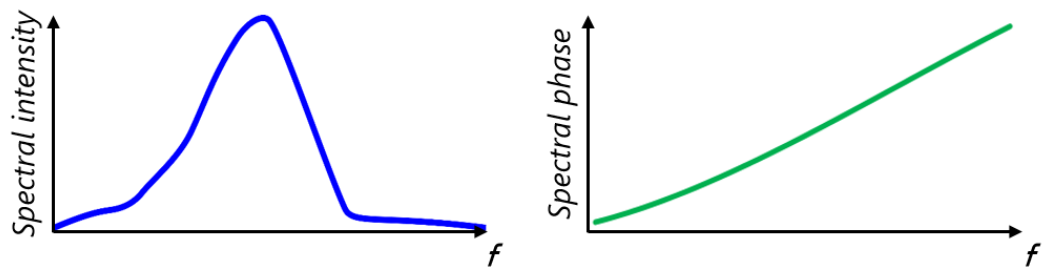
生体中での分解能の変化に、散乱・吸収によるスペクトル変化と高次の波長分散による分散ミスマッチがそれぞれどの程度影響しているかを考察するため、フーリエ変換を用いて干渉波形のスペクトル解析を行った[19]. 図 7.4 に本研究で行ったスペクトル解析の手法を示す. はじめに、測定した干渉波形に対して、ハニング窓をかけてから高速フーリエ変換 (FFT) を行い、干渉波形のスペクトル強度とスペクトル位相を算出した (図 7.4(b)). ファントム中で生じるスペクトル変化は、ファントム有り無しの場合で測定した干渉波形のスペクトル強度を比較することで確認した. また、ファントム中で受ける高次の波長分散の影響は、FFT で算出したスペクトル位相を微分しプロットしたグラフの傾きから見積もった (図 7.4(c)) [4,5]. 第 2 章で説明したように、サンプル光とリファレンス光が受ける高次の波長分散量が異なる場合、OCT の深さ方向分解能は劣化する[20]. 一方、サンプル光とリファレンス光が受ける高次の波長分散量が同じである場合は、位相スペクトルが周波数に対して線形になるため、位相の微分カーブの傾きは 0 になる. 本実験では、位相の微分カーブの傾きを算出するために、微分値に対して 5 次の多項式フィッティングを行った.

(a) Measured interference signal



FFT with Hanning window

(b) Spectral intensity and phase of the interference signal



Differentiate phase

(c) Derivative of phase

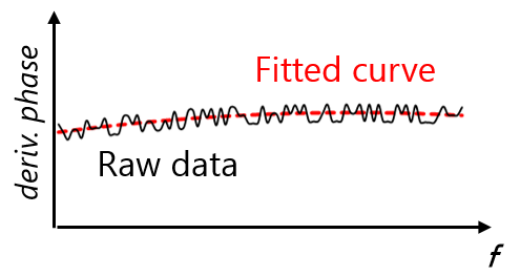


図 7.4 フーリエ変換を用いた干渉波形のスペクトル解析手順.



## 7.3 測定結果

### 7.3.1 ファントム無しの場合

図 7.5 にファントム無しで測定した OCT 信号と FFT によって算出したスペクトル強度およびスペクトル位相の微分カーブを示す. OCT 信号波形は, 取得した干渉波形の包絡線を 2 乗検波法により抜き出し, 対数表示している[20]. ファントム無しの場合の深さ方向分解能 (生体中換算) は,  $3.6\text{ }\mu\text{m}$  であった. また, 位相の微分カーブの傾きが 0 に近く, サンプル光とリファレンス光が受ける波長分散量がほぼ等しいことが確認できる. このことは, スペクトル波形から求めた深さ方向分解能の理論値  $3.3\text{ }\mu\text{m}$  に近い値が得られていることから確認できる.

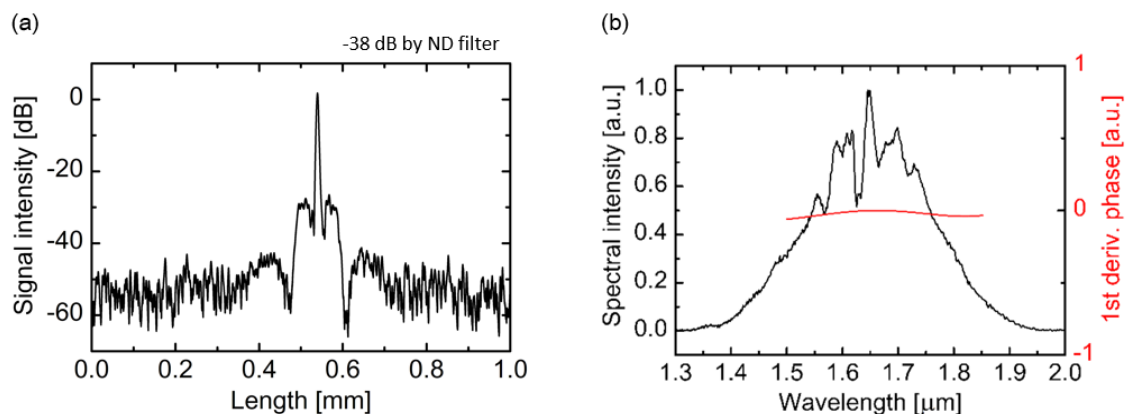
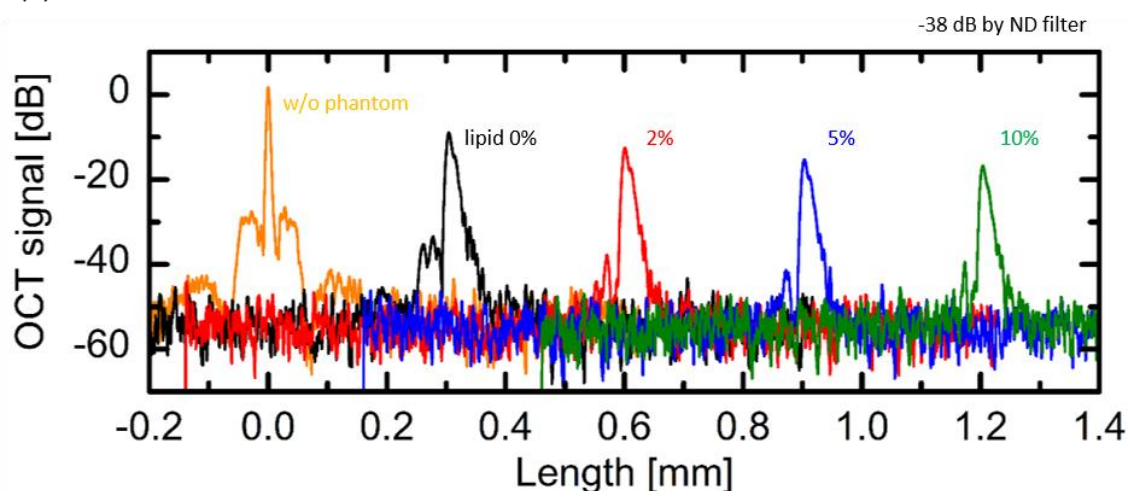


図 7.5 ファントム無しの場合の(a) OCT 信号と(b) スペクトル情報.

### 7.3.2 ファントム有りの場合

ファントム有りの場合の OCT 信号を図 7.6 に示す. (a)はファントムの厚みが  $1\text{ mm}$ , (b)は  $2\text{ mm}$  のときの結果を示している. ファントムを通過することで, OCT 信号のピーク幅が明らかに太くなり深さ方向分解能が劣化している.

(a) Phantom with 1 mm in thickness



(b) Phantom with 2 mm in thickness

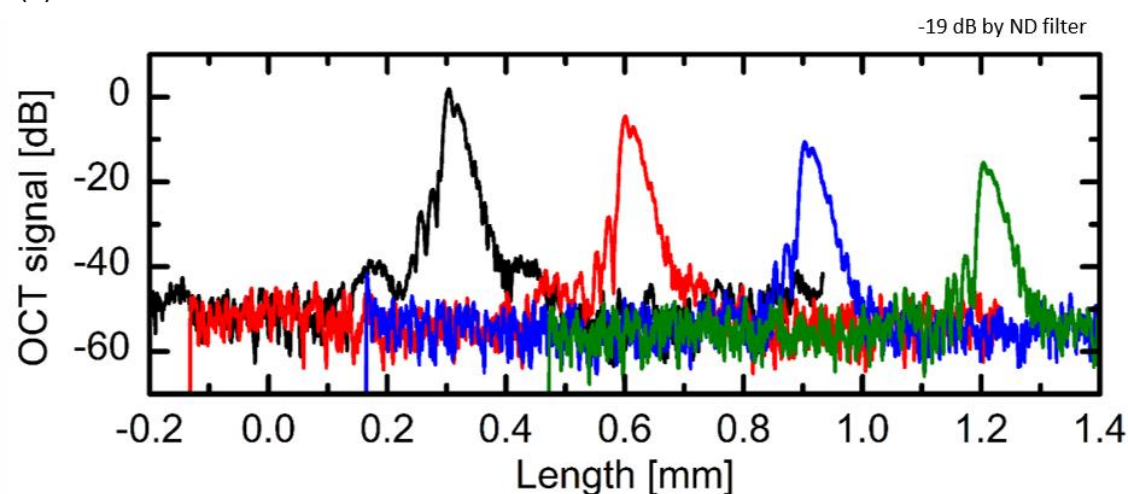


図 7.6 ファントム有りの場合の OCT 信号.

ファントム有りの場合の深さ方向分解能と、ファントム無しの場合を基準とした測定感度の減少率を、リピッド濃度に対してプロットした結果を図 7.7 に示す. 深さ方向分解能の劣化度合いは、ファントムのリピッド濃度には依存せず、ファントムの厚みにのみ依存していた. したがって、散乱が試料中の深さ方向分解能に与える影響は小さく、水の吸収や波長分散の影響が大きいと考えられる. ファントム通過後の深さ方向分解能は、 $\sim 12.0 \mu\text{m}$  (1 mm 厚),  $\sim 21.9 \mu\text{m}$  (2 mm 厚) で、ファントム無しの場合と比較すると、約 3.3, 6.1 倍に劣化していた. 一方、リピッド濃度の上昇に伴う散乱係数の上昇によって信号減衰量は増加するため、測定感度はリピッド濃度上昇に対して単調に減少し

た.

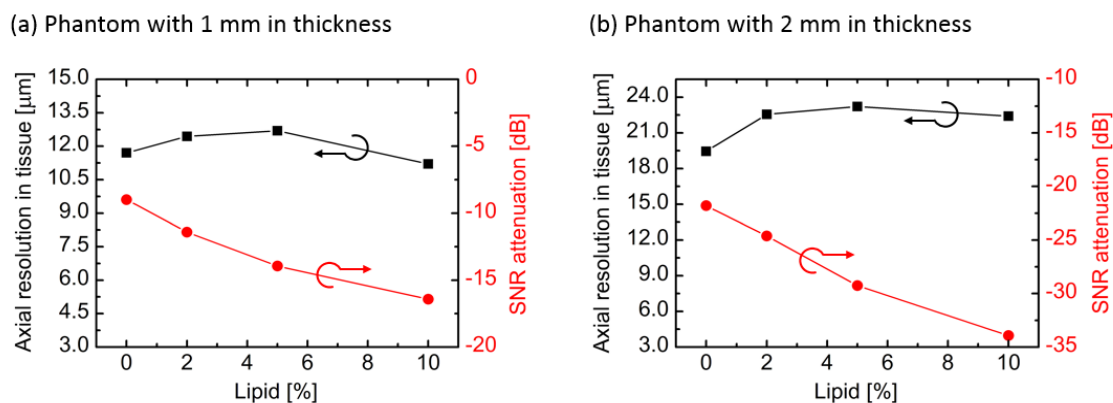
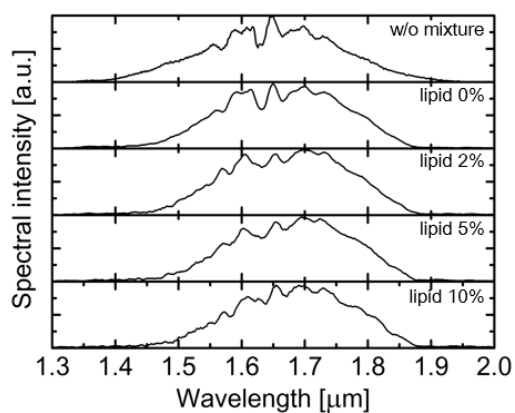


図 7.7 ファントム有りの場合の深さ方向分解能と測定感度の減少率. ファントム通過後の深さ方向分解能は, リピッド濃度に依存せず, ファントム厚にのみ依存している. したがって, 試料中の深さ方向分解能には, 水の吸収や波長分散の影響が大きく寄与していると考えられる.

### 7.3.3 試料中で得られる深さ方向分解能の理論値

7.2.3 で説明した干渉波形のスペクトル解析法を用いて, 試料中でどの程度の深さ方向分解能が得られるかを考察した. 図 7.8 に FFT によって算出した干渉波形のスペクトル強度を示し, 表 7.1 にスペクトル波形の中心波長, スペクトル幅 (FWHM) をまとめる. ファントム厚およびリピッド濃度によらず, ファントム通過後は波長 1.45, 1.9  $\mu\text{m}$  付近のスペクトル強度が低下している. スペクトル強度が減衰した波長帯が水の吸収スペクトルの吸収ピークと一致していることから, ファントムに含まれる水の吸収によるものである. また, 短波長帯ほど散乱による減衰が大きくなるため, リピッド濃度が高いファントムでは, 短波長帯ほどスペクトルの減衰が大きくなっている. この水の吸収と散乱によるスペクトルの減衰によって, ファントム通過後のスペクトルの中心波長は全体的に長波長帯へとシフトした. 水の吸収と散乱の影響でスペクトル波形は変化した, スペクトル幅 (FWHM) はファントム通過前より少し広がるということが分かった.

(a) Phantom with 1 mm in thickness



(b) Phantom with 2 mm in thickness

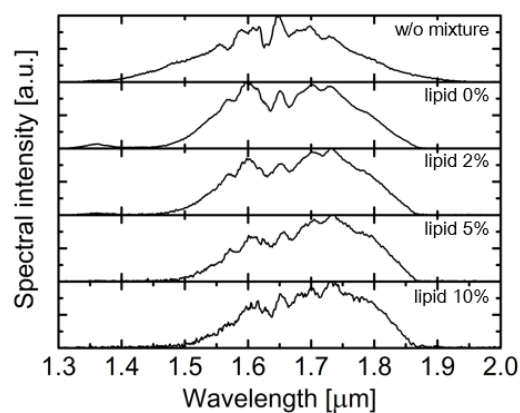


図 7.8 干渉波形の FFT で求めたスペクトル強度波形.

表 7.1 強度スペクトル波形の中心波長, スペクトル幅, および分散が無い場合に得られる深さ方向分解能

Phantom	Center wavelength [μm]	Spectral width (FWHM) [nm]	Achievable axial resolution [μm]
w/o mixtures	1.65	210	3.3
Lipid 0% 1mm	1.67	238	3.7
Lipid 2% 1mm	1.68	244	3.8
Lipid 5% 1mm	1.68	246	3.9
Lipid 10% 1mm	1.69	243	3.8
Lipid 0% 2mm	1.67	247	3.9
Lipid 2% 2mm	1.68	247	4.1
Lipid 5% 2mm	1.70	225	4.3
Lipid 10% 2mm	1.70	231	4.3

スペクトル変化が深さ方向分解能に与える影響をさらに詳しく調べるため, 得られたスペクトル強度波形をフーリエ変換し, 波長分散の影響がない場合に得られる干渉波形を計算し (第 2 章参照), その干渉波形における分解能を求めた (表 7.1. 4 列). ファントム無しの場合と比較すると, 1 mm, 2 mm のファントム通過後の場合, ファントム通過に伴うスペクトル形状が変化するため, 波長分散の影響が無い場合であっても深さ方向分解能は劣化する. しかしながら, 試料厚さ 2 mm の場合であっても, 4.3 μm 程度の

高い深さ方向分解能を達成できる可能性があることが分かった。

図 7.9 に FFT によって求めたスペクトル位相の微分カーブを示す。ファントムが無い場合と比べて、ファントム通過後は明らかに位相の微分カーブの傾きが大きくなっている。これはすなわち、サンプル光がファントム通過時に受ける高次の波長分散によって、ファントム通過後の干渉波形のスペクトル位相が線形から離れていることを示しており、リファレンス光との間で分散ミスマッチが生じていることを表している。この分散ミスマッチによって、図 7.6 に示すように OCT 信号のピーク幅が広がってしまい、深さ方向分解能が劣化していた。ここで、位相の微分カーブの傾きはリピッド濃度によらずファントムの厚みに依存していることが分かる。したがって、サンプル光に波長分散を与えているのは、全てのファントムに一定の割合で混合されている水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) であることが分かる ( $\text{D}_2\text{O}$  の波長分散の影響は  $\text{H}_2\text{O}$  より十分小さい[17])。

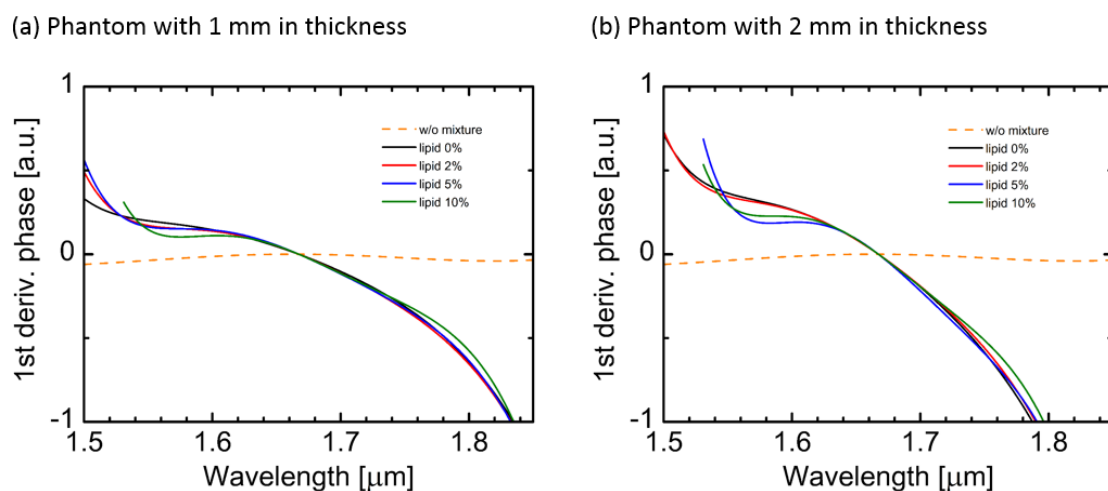


図 7.9 干渉波形を FFT して求めたスペクトル位相の微分カーブ。

以上の結果をまとめると、ファントム通過後も、スペクトル形状のみを考慮すると高い深さ方向分解能を達成できるポテンシャルはあるが、水から受ける高次の波長分散の影響でファントム通過後の深さ方向分解能は劣化していた。したがって、適切な分散補償を行うことで、ファントム通過後も高い深さ方向分解能を得ることができると考えられる。

### 7.3.4 分散補償による高分解能イメージングの実現

適切な分散補償を行うだけで、ファントム通過後も高い深さ方向分解能が得られることを確認するため、ファントム通過後の干渉波形を再度測定し、分散補償を行った。分散補償を行うために、波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯において水と同様に負の群速度分散を示す光学ガラス（BK7、熔融石英）をリファレンスアーム内に挿入した [17]。1 mm 厚のファントム測定時には、5 mm 厚の BK7 と 2 mm 厚の熔融石英を、2 mm 厚のファントム測定時には、15 mm 厚の BK7 をリファレンスアーム内に配置した。BK7 および熔融石英は、波長  $1.4\text{--}2.0\ \mu\text{m}$  において、フラットな透過率（80%以上）を示すため、光学ガラスの挿入によるリファレンス光のスペクトル波形変化および光学ロスは無視できるほど小さい。図 7.10 に分散補償後の干渉波形のスペクトル位相の微分カーブを示す。点線と実線はそれぞれ、分散補償前、分散補償後の位相の微分カーブである。ファントム厚 1 mm, 2 mm いずれの場合においても、分散補償を行うことで微分カーブの傾きが 0 に近づき、高次の分散ミスマッチが小さくなっていることが分かる。

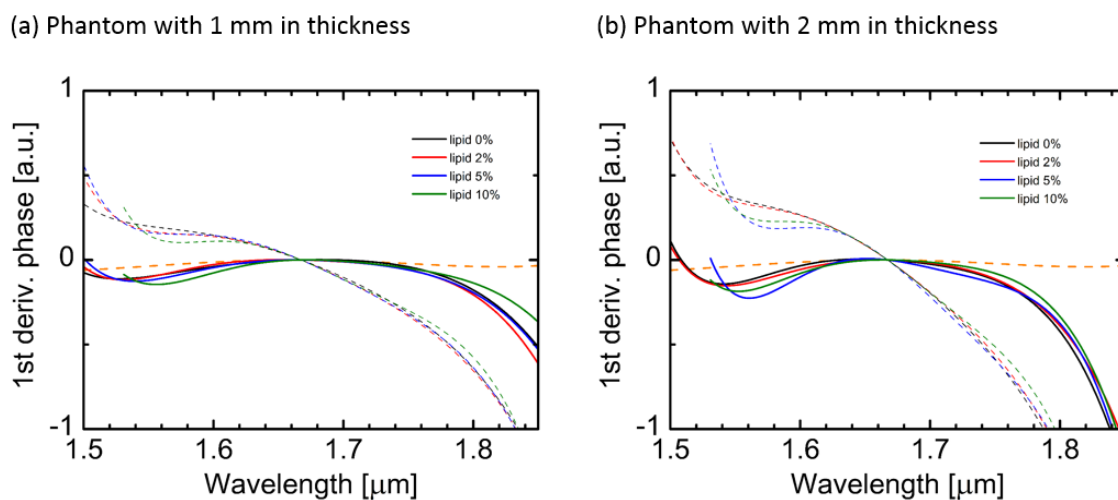


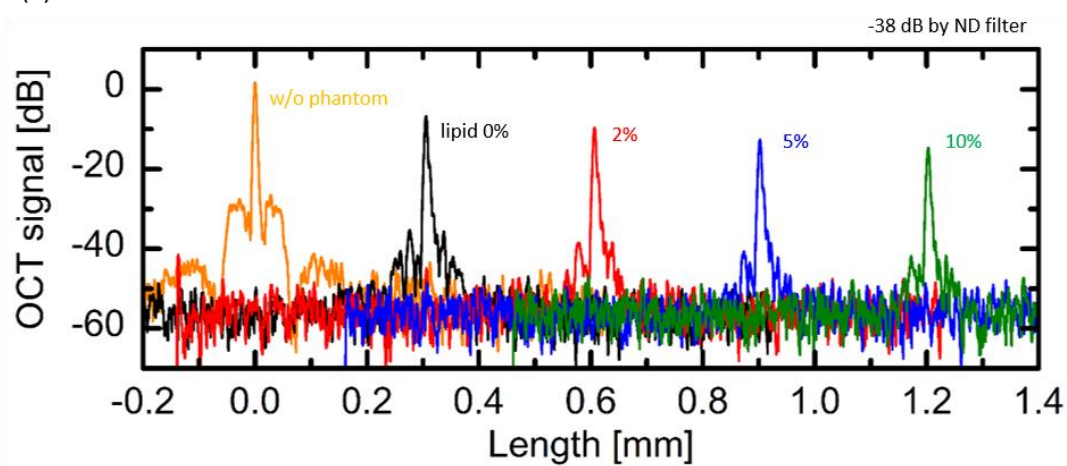
図 7.10 分散補償後のスペクトル位相の微分カーブ(実線).  
点線は分散補償前の微分カーブである。

分散補償後の OCT 信号波形を図 7.11 に示す。分散補償前と比較すると (図 7.6), OCT 信号ピークが明らかに細くなり深さ方向分解能が向上していることが確認できる。分散補償後の深さ方向分解能および測定感度の劣化率を図 7.12 に示す。分散補償によって、



ファントム通過後の深さ方向分解能が、 $\sim 4.3\ \mu\text{m}$  まで回復した。ファントム通過後のスペクトル波形から求めた、分散の影響が無い場合の深さ方向分解能に非常に近い値となり、光学ガラスの挿入によって高次の波長分散のミスマッチが補償されていることが分かる（表 7.1）。さらに、分散補償によって OCT 信号がシャープになったことで、測定感度は 5 dB 程度向上した。ファントム厚が 2 mm の場合の OCT 信号が左右非対称になっているのは、光学ガラスでは補償することができない 3 次以上の波長分散の効果によるものである[20]。

(a) Phantom with 1 mm in thickness



(b) Phantom with 2 mm in thickness

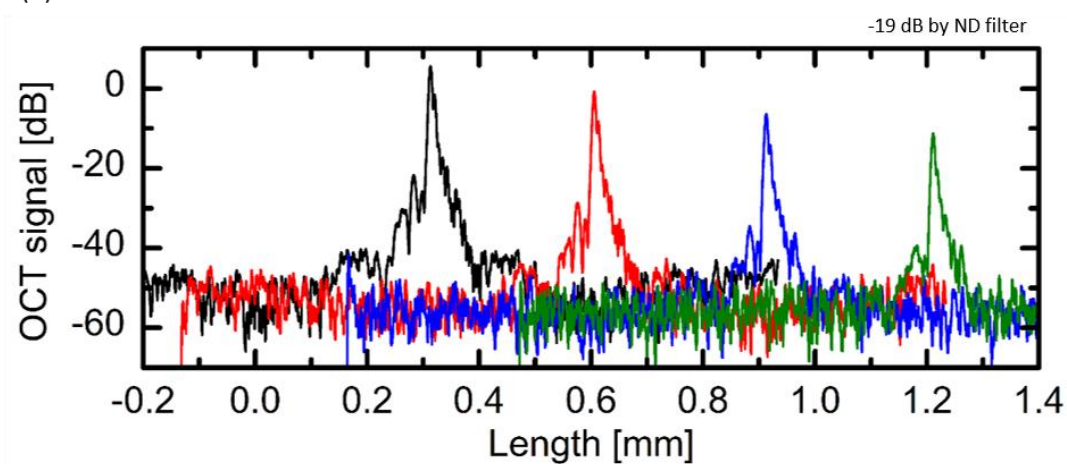
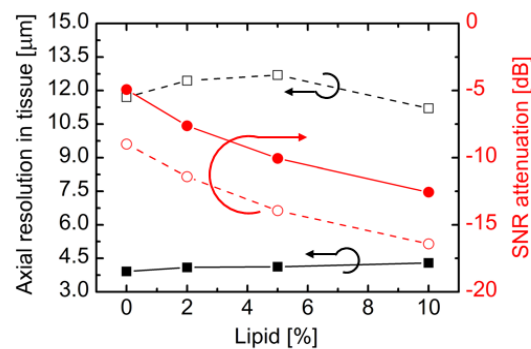


図 7.11 分散補償後の OCT 信号波形.

(a) Phantom with 1 mm in thickness



(b) Phantom with 2 mm in thickness

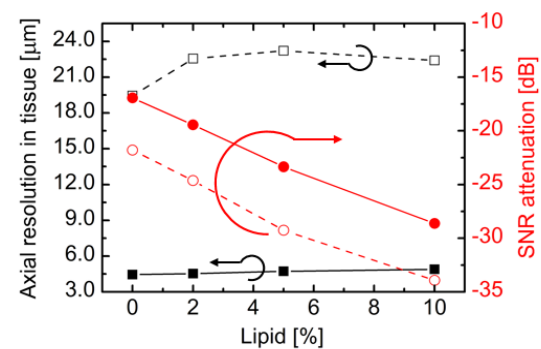


図 7.12 分散補償後の深さ方向分解能および測定感度の劣化率(実線).

点線は分散補償前の値である.

実際の高散乱組織の  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT イメージングにおいても、分散補償によって高い深さ方向分解能が得られるかを確認するため、ホルマリン固定したハムスターの頬袋の OCT イメージングを行った。ホルマリン固定によってサンプルから水分が抜けてしまっているため、実際の生体組織の状態に近づけて測定を行うために、サンプルをリン酸緩衝食塩水 (PBS) に浸し測定を行った。サンプル表面から PBS 表面までは約  $1\ \text{mm}$  であった。PBS の厚みが約  $1\ \text{mm}$  であるため、生体ファントムの測定と同様に、リファレンスアームに光学ガラス (BK7:  $5\ \text{mm}$  と熔融石英:  $2\ \text{mm}$ ) を挿入し分散補償を行った。図 7.13(a), (b) に分散補償ありと無しの場合の OCT 断層像を示す。OCT イメージの SNR を向上させるため、同じ位置で撮影した OCT イメージを 10 枚平均している。分散補償後の OCT 断層像では、結合組織層 (Conn) 中の薄い層構造が明瞭に観察されている (図 7.13(c))。また、分散補償による SNR の向上によって、高コントラストに観察できている。一方、分散補償前の OCT イメージ (図 7.13(b), (d)) では、層構造がボケて見え、また画像コントラストが低くなっている。結合組織中の薄い層構造の OCT 強度プロファイルを図 7.13(e) に示す。分散補償によって、OCT 信号のピーク幅 (ピークから  $-6\ \text{dB}$ ) が約 1.6 倍細くなった。以上の結果から、 $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT を用いた生体試料の深部観察では、適切な分散補償を行うだけで、高空間分解能な OCT イメージングが実現できることが分かった。



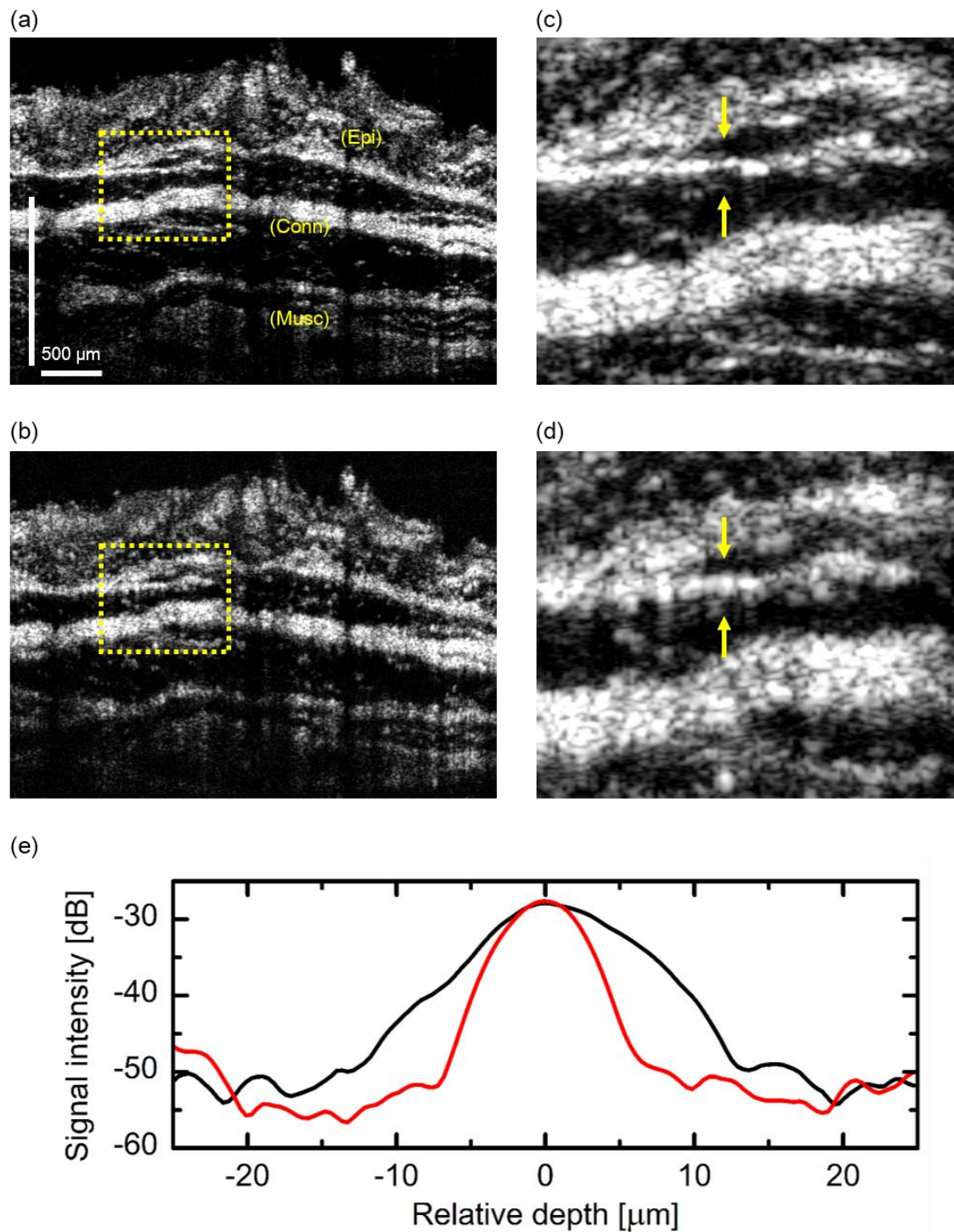


図 7.13 ハムスターの頬袋の OCT イメージ. (a) 分散補償後. (b) 分散補償前.

(Epi: 上皮層, Conn: 結合組織層, Musc: 筋肉層)

(c), (d)は(a), (b)中の点線で囲った範囲の拡大図.

(e) 矢印で示した範囲の深さ方向に沿った強度プロファイル.

## 7.4 考察と結論

本研究では、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT を用いた高散乱組織の深部観察時における深さ方向分解能の変化について、生体ファントムを用いて定量的に評価した。実験結果から、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による生体試料の深部観察時には、波長分散量が大きく、試料中に多く含まれる水から受ける高次の波長分散によって分解能が大きく劣化することが分かった。一方、水の吸収や散乱によるスペクトル変化に起因する分解能の劣化は波長分散の影響に比べて小さく、分散補償を行えば深部でも高空間分解能な測定が可能であることが分かった。測定試料に含まれる水から受ける波長分散量と同量の分散量を持つ光学ガラスをリファレンスアーム内に挿入し、サンプル光とリファレンス光が受ける波長分散量のミスマッチを補償することで、試料の深部においても約 4.3  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能が実現できた。さらに、分散補償を行うことで深さ方向分解能の向上だけでなく、OCT 信号のピーク強度、画像コントラストの向上についても確認した。

本研究では、光学ガラスをリファレンスアームに挿入することで分散補償を行った。光学ガラスによる分散補償法は、本章で行った測定のように、サンプル光が受ける波長分散量が一定であるときは有効である。一方、実際の生体組織の OCT イメージングでは、サンプル光が受ける波長分散量は、X-Y 平面内の位置、深さごとに異なるため、光学ガラスを用いた分散補償法では、全イメージング範囲に対して分散を補償することはできない。また、光学ガラスのみでは3次以上の分散を補償することができず、OCT 信号が左右非対称になってしまいアーチファクトを生成してしまう可能性がある。この問題は、干渉波形取得後に数値的にスペクトル位相を整形する分散補償法によって解決することができる[21]。取得した干渉波形のスペクトル位相に対して様々なパターンの補償項を追加し、反復法を用いて最も OCT イメージがシャープになるようなスペクトル位相を決定する方法などが報告されている[22,23]。これらの OCT イメージングにおける数値的な分散補償法は 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングにおいても実装可能で、高散乱な生体組織深部の高分解能イメージングの実現に役立てることができる。

また、今回の研究結果から、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT を用いた高散乱組織の深部イメージングでは、水の吸収および散乱によるスペクトル形状の変化から、深さ方向分解

能が約  $4\text{ }\mu\text{m}$  に制限されることが予想される．例えば，スペクトル幅（FWHM）が  $900\text{ nm}$  の  $1.7\text{ }\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた OCT では，水の吸収，散乱，波長分散の影響が無い条件下では，約  $1\text{ }\mu\text{m}$  の深さ方向分解能が達成できる．しかし，高散乱組織のイメージングでは水の吸収と散乱の影響で，サンプルから返ってくる散乱光のスペクトル成分が，波長  $1.45$ ,  $1.9\text{ }\mu\text{m}$  に存在する水の吸収ピーク間のスペクトル成分のみになってしまう．水の吸収ピーク間のスペクトル幅は  $450\text{ nm}$  であり，ガウシアンスペクトル形状をするとスペクトルの半値幅は約  $230\text{ nm}$  となる．スペクトル幅（FWHM）が  $230\text{ nm}$  まで減少してしまうため，深さ方向分解能が  $4\text{ }\mu\text{m}$  程度に制限されてしまうと予想される．

## 第7章に関する参考文献

- [1] H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, and N. Nishizawa, “Development of a high power supercontinuum source in the 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for highly penetrative ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express* **5**(3), 932–943 (2014).
- [2] H. Kawagoe, M. Yamanaka, S. Makita, Y. Yasuno, and N. Nishizawa, “Full-range ultrahigh-resolution spectral-domain optical coherence tomography in 1.7 $\mu\text{m}$  wavelength region for deep-penetration and high-resolution imaging of turbid tissues,” *Appl. Phys. Express* **9**, 127002 (2016).
- [3] C. K. Hitzenberger, A. Baumgartner, W. Drexler, and A. F. Fercher, “Dispersion Effects in Partial Coherence Interferometry: Implications for Intraocular Ranging,” *J. Biomed Opt.* **4**(1), 144–151 (1999).
- [4] B. Cense, N. A. Nassif, T. C. Chen, M. C. Pierce, SH Yun, B. H. Park, B. E. Bouma, G. J. Tearney, and J. F. de Boer, “Ultrahigh-resolution high-speed retinal imaging using spectral-domain optical coherence tomography,” *Opt. Express* **12**(11), 2435–2447 (2004).
- [5] T. R. Hillman and D. D. Sampson, “The effect of water dispersion and absorption on axial resolution in ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Opt. Express* **13**(6), 1860–1874 (2005).
- [6] S. Marschall, C. Pedersen, and P. E. Andersen, “Investigation of the impact of water absorption on retinal OCT imaging in the 1060nm range,” *Biomed. Opt. Express* **3**(7), 1620–1631 (2012).
- [7] B. W. Pogue and M. S. Patterson, “Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry,” *J. Biomed. Opt.* **11**(4), 041102 (2006).
- [8] H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marie, S. A. Prahl, and M. J. C. van Gemert. “Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm,” *Appl. Opt.* **30**(31), 4507–4514 (1991).
- [9] S. T. Flock, S. L. Jacques, B. C. Wilson, W. M. Star, and M. J.C. van Gemert, “Optical

- Properties of Intralipid: A Phantom Medium for Light Propagation Studies,” *Lasers Surg. Med.* **12**, 510–519 (1992).
- [10] A. Giusto, R. Saija, M. A. Iati, P. Denti, F. Borghese, and O. I. Sindoni, “Optical properties of high-density dispersions of particles: application to intralipid solutions,” *Appl. Opt.* **42**(21), 4375–4380 (2003).
- [11] V. M. Kodach, J. Kalkman, D. J. Faber, and T. G. van Leeuwen, “Quantitative comparison of the OCT imaging depth at 1300 nm and 1600 nm,” *Biomed. Opt. Express* **1**(1), 176–185 (2010).
- [12] J. G. Bayly, V. B. Kartha, and W. H. Stevens, “The Absorption Spectra of Liquid Phase H<sub>2</sub>O, HDO and D<sub>2</sub>O from 0.7  $\mu$ m to 10  $\mu$ m,” *Infrared Phys.* **3**, 211–223 (1963).
- [13] Y. Wang, W. Wen, K. Wang, P. Zhai, P. Qiu, and K. Wang, “Measurement of absorption spectrum of deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) and its application to signal enhancement in multiphoton microscopy at the 1700-nm window,” *Appl. Phys. Lett.* **108**, 021112 (2016).
- [14] H. Neeb, V. Ermer, T. Stocker, and N.J. Shaha, “Fast quantitative mapping of absolute water content with full brain coverage,” *Neuroimage* **42**, 1094–1109 (2008).
- [15] N. Nakagawa, M. Matsumoto, and S. Sakai, “In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy,” *Skin Res. Technol.* **16**, 137–141 (2010).
- [16] H. Arimoto and M. Egawa, “Imaging wavelength and light penetration depth for water content distribution measurement of skin,” *Skin Res. Technol.* **21**, 94–100 (2015).
- [17] N. G. Horton and C. Xu, “Dispersion compensation in three-photon fluorescence microscopy at 1,700 nm,” *Biomed. Opt. Express* **6**(4), 1392–1397 (2015).
- [18] L. Kou, D. Labrie, and P. Chylek, “Refractive indices of water and ice in the 0.65- to 2.5- $\mu$ m spectral range,” *Appl. Opt.* **32**(19), 3531–3540 (1993).
- [19] K. Naganuma, K. Mogi, and H. Yamada, “Group-delay measurement using the Fourier transform of an interferometric cross correlation generated by white light,” *Opt. Lett.* **15**(7), 393–395 (1990).
- [20] *Optical Coherence Tomography, Technology and Applications, Second Edition*, W. Drexler, J. G. Fujimoto, Eds., Springer Reference (2015).

- [21] A. F. Fercher, C. K. Hitzenberger, M. Sticker, R. Zawadzki, B. Karamata and T. Lasser, “Numerical dispersion compensation for Partial Coherence Interferometry and Optical Coherence Tomography,” *Opt. Express* **9**(12), 610–615 (2001).
- [22] M. Wojtkowski, V. J. Srinivasan, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, A. Kowalczyk, and J. S. Duker, “Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation,” *Opt. Express* **12**(11), 2404–2422 (2004).
- [23] Y. Yasuno, Y. Hong, S. Makita, M. Yamanari, M. Akiba, M. Miura, and T. Yatagai, “In vivo high-contrast imaging of deep posterior eye by 1- $\mu$ m swept source optical coherence tomography and scattering optical coherence angiography,” *Opt. Express* **15**(10), 6121–6139 (2007).

## 第 8 章 結論と今後の展望

### 8.1 結論

本論文では、高散乱組織の高侵達かつ高分解能なイメージングの実現に向けた、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT システムの開発および検討を行った。はじめに、高散乱組織の深部イメージングにおける 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT の優位性を示すために、同じ測定感度を持つ 4 波長帯 OCT システムを用いて、高散乱組織のイメージングにおける侵達長および画像コントラストの波長依存性を評価した。評価の結果、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングでは、高散乱組織の高侵達イメージングの現在の主流である波長 1.1, 1.3  $\mu\text{m}$  帯 OCT よりも、高散乱組織のより深部を高コントラストで観察可能であることが分かった。次に、1.7  $\mu\text{m}$  帯光源の高侵達性を活かした OCT イメージングを実現するために、高感度な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムの開発を行った。1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの高感度化・高侵達化を実現するために、1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力スーパーコンティニューム (SC) 光を開発し、高散乱組織における OCT イメージングの高侵達化を実現した。さらに、高速な生命現象の観察および生体のその場観察を実現するために、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能スペクトルドメイン OCT (SD-OCT) の開発を通して 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングの高速化を行った。開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT システムを用いて、高散乱組織の深部の高分解能イメージを高速に取得することができた。最後に、生体ファントムを用いて 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT イメージングにおける生体中での深さ方向分解能を定量的に評価した。適切な分散補償を行うだけで、生体中でも高い深さ方向分解能が達成できることを示し、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングが、高散乱組織の高侵達かつ高分解能なイメージングに適していることを実証した。

以下に各章の要約を示す。

第 1 章では、生物学・医学分野における高侵達かつ高分解能なイメージング技術の必要性および重要性を示し、光コヒーレンストモグラフィ (OCT) が有効なイメージング

手法の一つであることを述べた。

第2章では、OCT イメージングの基本的な原理について説明した。広帯域光源と干渉計から成る低コヒーレンス干渉に基づく OCT では、高感度・高侵達性に加え、高い深さ方向分解能が得られることを示した。また、細胞レベルの高空間分解能な3次元イメージングが行える、超広帯域スペクトル光源を用いた超高分解能 OCT についても紹介した。

第3章では、高散乱組織の高侵達イメージングを実現する波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯を用いた OCT イメージングについて述べた。これまでの生体イメージングで主流であった波長  $0.8\ \mu\text{m}$  帯や近年の高侵達な生体イメージングの実現に積極的に利用されている  $1.1$ ,  $1.3\ \mu\text{m}$  帯と比較して、 $1.7\ \mu\text{m}$  帯では高散乱組織中で生じる光散乱による信号減衰が小さく、水の吸収も吸収スペクトルが極小となることから、生体中で受ける信号減衰が最も小さい波長帯であることを述べた。信号減衰が小さい波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯光源を用いた OCT イメージングの高侵達化の歴史について説明し、超広帯域光 (SC 光) を用いた  $1.7\ \mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT の現状と課題についても述べた。

第4章では、高散乱組織の  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT イメージングにおける侵達長と画像コントラストを評価するために、イメージング条件を統一した波長  $0.8$ ,  $1.1$ ,  $1.3$ ,  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT を用いて高散乱組織の OCT イメージングにおける波長依存性の評価を行った。波長依存性の比較結果から、高散乱体の  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 OCT イメージングでは、信号減衰が小さいことから得られる高侵達性だけでなく、深部における画像コントラストも波長  $0.8$ – $1.3\ \mu\text{m}$  帯より高いことが分かった。したがって、高感度な  $1.7\ \mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムの開発、およびそれを用いた OCT イメージングが実現できれば、高散乱な組織の深部を明瞭に観察できることが分かった。

第5章では、 $1.7\ \mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT の測定感度を向上させ高散乱組織の高侵達かつ高分解能なイメージングを実現させるため、高繰り返し超短パルスファイバレーザに基づく高出力な  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SC 光源を開発した[1]。単層カーボンナノチューブ (SWNT) フィルムを用いた短尺な共振器長を持つ超短パルスファイバレーザを開発し、 $110\ \text{MHz}$  の高繰り返し周波数を達成した。高繰り返し超短パルスファイバレーザを用いて、平均出力  $60\ \text{mW}$  の高出力な  $1.7\ \mu\text{m}$  帯 SC 光を生成した。種光パルスの高繰り返し化によっ



て、従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光より 2 倍の高出力化を達成した。高出力な 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた OCT イメージングでは、測定感度 105 dB、深さ方向分解能 3.3  $\mu\text{m}$  と高感度性と超高分解能性を実現した。今回得られた測定感度 105 dB は、これまでに報告されている 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムの中で最高感度である。開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯高出力 SC 光を用いた超高分解能 OCT システムによって、高散乱体の OCT イメージングを行い、従来の 1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光、1.3  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた場合よりも、高侵達かつ高コントラストな OCT イメージングが実現できた。

第 6 章では、高速な 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングを達成するために、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能スペクトルドメイン OCT (SD-OCT) システムを開発した[2]。超高分解能性の達成に必要な超広帯域スペクトル検出に伴う、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SD-OCT における深さ方向分解能とイメージングレンジ（測定可能深度）の間にあるトレードオフを回避するために、位相シフト法に基づくフルレンジ OCT システムを採用した。開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT では、高空間分解能（生体中での深さ方向分解能 3.6  $\mu\text{m}$ ）かつ高侵達なイメージングを高速に（約 80 frame/s）取得できる。マウス脳の 3 次元計測では、1.7  $\mu\text{m}$  帯光源の高侵達性とフルレンジ法によるゴーストイメージの抑制によって、脳に特徴的な構造（脳梁、海馬）の 3 次元構造を、脳表面から 1.7 mm 深部まで、明瞭に観察することができた。本研究で提案した 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT によるマウス脳の観察結果は、これまでの 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT の中で最も高分解能かつ高侵達なイメージング結果であった。

第 7 章では、超広帯域スペクトルを持つ SC 光源を使用する 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT による、生体組織の深部イメージングにおける空間分解能の変化を定量的に評価した。脳や皮膚といった高散乱組織の光学特性を模した生体ファントムを用いた評価によって、1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCT による高散乱組織のイメージングでは、組織に含まれる水から受ける高次の波長分散の影響で、深部では分解能が数倍に劣化することが分かった。しかし、適切に分散補償を行うだけで、生体組織の深部でも約 4.3  $\mu\text{m}$  の高い深さ方向分解能が達成できることを示した。この評価結果から、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT イメージングによって、高散乱組織の高侵達かつ高分解能なイメージングが実現可能であることが実証された。

## 8.2 今後の展望

生体中で起こる生命現象のイメージングでは、3 次元的に高い空間分解能が必要である。本研究で扱った 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムでは、1.7  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いることで細胞レベルの深さ方向分解能 (3–4  $\mu\text{m}$ ) を達成した一方で、横方向分解能は数十  $\mu\text{m}$  に制限されていた[1,2]。OCT の横方向分解能は、高い開口数 (NA) を持つ対物レンズとピンホールを使用する共焦点検出を組み合わせることで光の波長程度まで向上させることができる[3,4]。筆者らは、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムに共焦点顕微鏡を組み合わせ、1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能光コヒーレンス顕微鏡 (Optical Coherence Microscopy: OCM) を開発し、3 次元的に高い空間分解能を有する高侵達なイメージングシステムを開発した[5]。開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCM では、波長幅 300 nm (FWHM) にわたる SC 光を用いた干渉計測で約 3  $\mu\text{m}$  の深さ方向分解能と、高 NA 対物レンズと光ファイバの微小コアを用いた共焦点検出によって 1.3  $\mu\text{m}$  の横方向分解能を実現している。そして、開発した 1.7  $\mu\text{m}$  帯 OCM システムを用いて、マウス脳の大脳皮質中に存在するミエリン鞘の高分解能かつ高侵達なイメージングを実現した。この OCM システムを本論文中で述べた 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能 SD-OCT システムと融合することで、高速、高侵達かつ 3 次元的に高分解能な生体イメージングの実現が期待できる。

また、生命現象の理解には、構造情報だけでなく化学的な情報を測定することも重要である。生体中の構造・屈折率分布に起因する散乱光強度を画像コントラストとする OCT イメージングでは、高空間分解能な 3 次元構造の観察が可能である。この OCT イメージングに化学的情報を取得できる光イメージング手法を融合させることで、構造情報と化学情報の同時取得が可能となり、詳細な生命現象の理解・解析が行える。生体組織の深部における化学情報を取得可能な光イメージング法には、近赤外域の超短パルス光源を用いた非線形顕微鏡[6–11]や、光音響顕微鏡[12–16]などが報告されている。非線形顕微鏡では、生体中で生じる光の非線形効果を利用した多光子励起蛍光イメージングや第 2、第 3 高調波発生によるイメージングが行える。多光子励起蛍光では、抗体をつけた蛍光プローブや蛍光タンパク質を用いて生体中の特定の分子だけを可視化することで、神経系における情報伝達プロセスの観察や生命現象に影響を与える分子種の同定

が行える．生体中の光吸収によって発生した超音波を検出し画像構築を行う光音響顕微鏡では，血管中の血液細胞の流動観察や，腫瘍組織の観察が可能である．また，生体中における超音波の散乱係数は光と比べて2-3桁低いいため，生体組織の深部(mm オーダ)まで観察が行える．近年，生命現象の詳細な理解のために，OCT イメージングと非線形顕微鏡や光音響イメージングを組み合わせたシステムによる構造情報と化学情報の同時取得システム（マルチモーダルシステム）が研究・開発されている[17-23]．本論文で扱った 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能 OCT システムを用いたマルチモーダルシステムが開発できれば，脳や皮膚といった高散乱組織の深部において，構造情報と化学情報を同時かつ高分解能に取得することができるため，生命現象のより深い理解・解明や，これまで明らかにされていなかった新たな生命現象を発見することができると期待される．

## 第 8 章に関する参考文献

- [1] H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, and N. Nishizawa, “Development of a high power supercontinuum source in the 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for highly penetrative ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express* **5**(3), 932–943 (2014).
- [2] H. Kawagoe, M. Yamanaka, S. Makita, Y. Yasuno, and N. Nishizawa, “Full-range ultrahigh-resolution spectral-domain optical coherence tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for deep-penetration and high-resolution imaging of turbid tissues,” *Appl. Phys. Express* **9**, 127002 (2016).
- [3] M. Gu, *Principles Of Three-Dimensional Imaging In Confocal Microscopes* (World Scientific, 1997).
- [4] T. Wilson and C. Sheppard, *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy* (Academic Press, 1984).
- [5] M. Yamanaka, T. Teranishi, H. Kawagoe, and N. Nishizawa, “Optical coherence microscopy in 1700 nm spectral band for high-resolution label-free deep-tissue imaging,” *Sci. Rep.* **6**, 31715 (2016).
- [6] P. TC So, “Two-photon Fluorescence Light Microscopy,” *Encyclopedia of Life Science* (2002).
- [7] F. Helmchen, and W. Denk, “Deep tissue two-photon microscopy,” *Nat. Methods* **2**(12), 932–940 (2005).
- [8] W. R. Zipfel, R. M. Williams, and W. W. Webb, “Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences,” *Nat. Biotechnol.* **21**(11), 1369–1377 (2003).
- [9] A. Ustione and D.W. Piston, “A simple introduction to multiphoton microscopy,” *J. Microsc.* **243**, 221–226 (2011).
- [10] E. E. Hoover and J. A. Squier, “Advances in multiphoton microscopy technology,” *Nat. Photon.* **7**, 93–101 (2013).
- [11] E. Yew, C. Rowlands, and P. T. C. So, “Application of multiphoton microscopy in

- dermatological studies: A mini-review,” *J. Innov. Opt. Health Sci.* **7**(5), 1330010 (2014).
- [12] J. Laufer, E. Zhang, G. Raivich, and P. Beard, “Three-dimensional noninvasive imaging of the vasculature in the mouse brain using a high resolution photoacoustic scanner,” *Appl. Opt.* **48**(10), D299–D306 (2009).
  - [13] E. W. Stein, K. Maslov, and L. V. Wang, “Noninvasive, in vivo imaging of the mouse brain using photoacoustic microscopy,” *J. Appl. Phys.* **105**, 102027 (2009).
  - [14] J. Jo, X. Yang, “Functional photoacoustic imaging to observe regional brain activation induced by cocaine hydrochloride,” *J. Biomed. Opt.* **16**(9), 090506 (2011).
  - [15] J. Xia and L. V. Wang, “Small-Animal Whole-Body Photoacoustic Tomography: A Review,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **61**(5), 1380–1389 (2014).
  - [16] J. Yao and L. V. Wang, “Photoacoustic brain imaging: from microscopic to macroscopic scales,” *Neurophotonics* **1**(1), 011003 (2014).
  - [17] E. Beaurepaire, L. Moreaux, F. Amblard, and J. Mertz, “Combined scanning optical coherence and two-photon-excited fluorescence microscopy,” *Opt. Lett.* **24**(14), 969–971 (1999).
  - [18] C. Vinegoni, T. Ralston, W. Tan, W. Luo, D. L. Marks, and S. A. Boppart, “Integrated structural and functional optical imaging combining spectral-domain optical coherence and multiphoton microscopy,” *Appl. Phys. Lett.* **88**, 053901 (2006).
  - [19] L. Li, K. Maslov, G. Ku, and L. V. Wang, “Three-dimensional combined photoacoustic and optical coherence microscopy for in vivo microcirculation studies,” *Opt. Express* **17**(19), 16450–16455 (2009).
  - [20] J. Park, J. A. Jo, S. Shrestha, P. Pande, Q. Wan, and B. E. Applegate, “A dual-modality optical coherence tomography and fluorescence lifetime imaging microscopy system for simultaneous morphological and biochemical tissue characterization,” *Biomed. Opt. Express* **1**(1), 186–200 (2010).
  - [21] G. Liu and Z. Chen, “Fiber-based combined optical coherence and multiphoton endomicroscopy,” *J. Biomed. Opt.* **16**(3), 036010 (2011).
  - [22] S. P. Chong, T. Lai, Y. Zhou, and S. Tang, “Tri-modal microscopy with multiphoton and

- optical coherence microscopy/tomography for multi-scale and multi-contrast imaging,”  
*Biomed. Opt. Express* **4**(9), 1584–1594 (2013).
- [23] T. Wang, A. McElroy, D. Halaney, D. Vela, E. Fung, S. Hossain, J. Phipps, B. Wang, B. Yin, M. D. Feldman, and T. E. Milner, “Dual-modality fiber-based OCT-TPL imaging system for simultaneous microstructural and molecular analysis of atherosclerotic plaques,”  
*Biomed. Opt. Express* **6**(5), 1665–1678 (2015).

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究全般にわたってご指導賜りました名古屋大学大学院工学研究科電子工学専攻教授 西澤典彦先生に深く感謝いたします。修士課程・博士課程の間、筆者が研究に集中できるように研究環境を整えてくださいました。心より重ねてお礼申し上げます。

名古屋大学大学院工学研究科電子工学専攻助教 山中真仁先生には、研究だけでなく研究生活に至るまで、貴重なご助言とご指導をして頂きました。厚くお礼申し上げます。

名古屋大学未来材料・システム研究所未来エレクトロニクス集積研究センター教授 大野雄高先生、名古屋大学大学院工学研究科応用物理学専攻教授 岸田英夫先生、名古屋大学大学院工学研究科量子工学専攻准教授 富田英生先生には本論文をまとめるにあたり、有益なご討論をさせていただき貴重なご助言を戴きました。深く感謝の意を表します。

本研究における波長  $1.7\ \mu\text{m}$  帯スペクトルドメイン OCT の開発に際して、筑波大学大学院数理物質科学研究科電子・物理工学専攻教授 安野嘉晃先生、巻田修一博士には貴重なご助言を戴きました。厚くお礼申し上げます。

公私ともに励まし、ご協力していただいた西澤研究室のみなさまには、心より感謝いたします。

最後に、今に至るまで、全ての面で支えとなってくれた両親に感謝いたします。

## 本研究に関する学術発表

### [学術論文]

- [1] H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, and N. Nishizawa, “Development of a high power supercontinuum source in the 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for highly penetrative ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express* **5**(3), 932–943 (2014).
- [2] H. Kawagoe, M. Yamanaka, S. Makita, Y. Yasuno, and N. Nishizawa, “Full-range ultrahigh-resolution spectral-domain optical coherence tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region for deep-penetration and high-resolution imaging of turbid tissues,” *Appl. Phys. Express* **9**, 127002 (2016).
- [3] H. Kawagoe, M. Yamanaka, and N. Nishizawa, “Axial resolution and signal-to-noise ratio in deep-tissue imaging with 1.7- $\mu\text{m}$  high-resolution optical coherence tomography with an ultrabroadband laser source,” *J. Biomed. Opt.* (in printing).

### [国際会議]

- [1] H. Kawagoe, S. Ishida, M. Aramaki, Y. Sakakibara, E. Omoda, H. Kataura, and N. Nishizawa, “Improvement of sensitivity and penetration depth in ultrahigh-resolution optical coherence tomography using high power supercontinuum source at 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength,” The 3rd Advanced Lasers and Photon Sources (ALPS’14), Yokohama, Japan (Apr. 2014).
- [2] H. Kawagoe, and N. Nishizawa, “Wavelength Dependence of Optical Coherence Tomography Imaging using Supercontinuum Source in Wavelengths of 0.8-1.9  $\mu\text{m}$ ,” The 4th Advanced Lasers and Photon Sources (ALPS’15), Yokohama, Japan (Apr. 2015).



- [3] H. Kawagoe, M. Yamanaka, and N. Nishizawa, “Development of ultrahigh-resolution spectral-domain OCT system using supercontinuum source in 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region,” Conference on Lasers and Electro-Optics – European Quantum Electronics Conference (CLEO/EUROPE-EQEC 2015), Munich, Germany (June 2015).
- [4] H. Kawagoe, M. Yamanaka, and N. Nishizawa, “Wavelength dependence of penetration depth of OCT imaging for water-rich and highly scattering samples in 0.8-1.9  $\mu\text{m}$  wavelength region,” SPIE BiOS 2016, San Francisco, USA (Feb. 2016).
- [5] H. Kawagoe, M. Yamanaka, S. Makita, Y. Yasuno, and N. Nishizawa, “Ultrahigh-resolution spectral domain optical coherence tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region,” Conference on Laser and Electro-Optics (CLEO 2016), San Jose, USA (June 2016).
- [6] H. Kawagoe, M. Yamanaka, S. Makita, Y. Yasuno, and N. Nishizawa, “High-resolution and deep-tissue imaging with full-range, ultrahigh-resolution spectral-domain optical coherence tomography in 1.7  $\mu\text{m}$  wavelength region,” SPIE BiOS 2017, San Francisco, USA (Jan. 2017).

## 【国内会議】

- [1] 川越 寛之, 山中 真仁, 西澤 典彦, “波長 0.8-1.9  $\mu\text{m}$  帯 SC 光を用いた OCT イメージングの波長依存性比較” OPJ2014, 東京, 2014 年 11 月.
- [2] 川越 寛之, 山中 真仁, 西澤 典彦, “波長 0.8-1.9  $\mu\text{m}$  帯における OCT イメージングの波長依存性の評価” 第 62 回応用物理学会春季学術講演会, 神奈川, 2015 年 3 月.
- [3] 川越 寛之, 山中 真仁, 西澤 典彦, “波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能スペクトルドメイン光コヒーレンストモグラフィ” OPJ2015, 東京, 2015 年 10 月.
- [4] 川越 寛之, 山中 真仁, 巻田 修一, 安野 嘉晃, 西澤 典彦, “波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯超高分解能フルレンジスペクトルドメイン OCT” 第 63 回応用物理学会春季学術講演

会，東京，2016 年 3 月．

- [5] 川越 寛之，山中 真仁，巻田 修一，安野 嘉晃，西澤 典彦，“波長 1.7  $\mu\text{m}$  帯フルレンジ超高分解能スペクトルドメイン OCT を用いた高侵達・高分解能イメージング” 第 77 回応用物理学会秋季学術講演会，新潟，2016 年 9 月．