

## 別紙 1 (博士論文の審査結果の要旨)

専攻名 システム創成科学専攻

氏名 能塚 雄介

本論文は、高い開口数 (Numerical aperture: NA) の対物レンズと低周波音響トランスデューサ (Ultrasound transducer: UT) を用いた光音響顕微鏡 (Photoacoustic microscopy: PAM) において、液晶分子を用いた透過型の補償光学 (Adaptive optics: AO) 素子を導入し、生体深部組織観察における空間分解能向上を示したものである。

光音響 (Photoacoustic: PA) イメージングは、光学イメージングと超音波イメージングの長所を兼ね備えたハイブリッドモダリティである。生体イメージングでは、非侵襲性・リアルタイム性・簡便性が求められ、光および超音波を用いたイメージングはこれらの条件を満たしており、医療および生物学の分野において応用されている。PA イメージングは、励起光が生体によって散乱されても観察深さまで到達することができれば、そこから発生する PA 波を超音波イメージングと同様の方法で検出して画像化することができる。PA イメージングの中で数ミリメートルの深さを観察することができる PAM において高空間分解能観察のためには、高 NA 対物レンズと高周波 UT の利用は有効である。しかしながら、高 NA 対物レンズにより発生する収差や、超音波の高周波成分の生体内減衰により、深部組織を高い空間分解能を維持して観察することが困難であった。本論文では、高 NA を用いた PAM に透過型液晶 AO 素子を融合することにより、深部組織における空間分解能の向上に成功した。加えて、低周波 UT を用いているにも関わらず、深さ識別力の向上にも成功した。光音響イメージング技術は次世代の医療技術として注目されており、今後も更なる研究展開が求められている分野である。

本論文は 4 章で構成されている。第 1 章では、本

研究の背景と研究目的について述べている。初めに、光音響イメージングの原理と生体イメージングにおける位置付け、光音響スペクトルを説明している。次に、一般的な 1 光子励起による PAM および 2 光子励起光音響顕微鏡 (Two-photon photoacoustic microscopy: TP-PAM) の概略を紹介している。問題点として、PAM の高空間分解能に伴う球面収差が PA 画像を劣化させることを示し、既に光学分野で利用される波面収差補正技術である透過型 AO 素子について紹介している。さらに、本研究で採用した透過型液晶セルによる位相変調の原理を説明している。

第 2 章では、構築した反射検出型 PAM システムへの透過型液晶 AO 素子の導入を示している。高 NA 対物レンズの使用時に発生する球面収差のみを補正する透過型液晶 AO 素子は、PAM システムの光学系を大幅に改造することなく容易に組み込むことが可能である。透過型液晶 AO 素子による深部ビーム径の縮小を、PA 信号を用いて実験的に確認している。反射検出型 AO-PAM による USAF 1951 テストターゲットおよび重ねた金線の PA 画像評価から、透過型液晶 AO 素子による横方向分解能および深さ識別力が向上を示した。さらに、*in vivo* マウス耳の血管走行 PA イメージングにおいても、透過型液晶 AO 素子により PA 画像の空間分解能、深さ識別能の向上に成功した。

第 3 章では、AO 素子の TP-PAM への有効性を検証している。通常の光吸収は、1 つの分子が 1 つの光子を吸収することで電子が基底状態から励起状態へと遷移するが、2 光子吸収では、1 つの分子が 2 つの光子を同時に吸収することで電子が励起状態へと遷移する。非線形光学現象であるため、光子密度が高い集光点のみで生じる。可視光領域の波長の約 2 倍の波長となる近赤外領域の励起光を使用することで、生体組織への光侵入距離が長くなり、1 光子 PAM と比較して、深部イメージングの高空間分解能化が可能になる。しかしながら、2 光子吸収が生じ

る確率は非常に低いため、光子密度を高くする必要がある。多細胞生物は多くの細胞種で構成されている。光子密度が高い集光点を生成するために、高 NA 対物レンズの使用は有効であるが、高 NA 対物レンズは波面収差を増大させ、2 光子 PA 信号の減少により 2 光子 PA 画像の劣化につながる。この問題を解決するため、透過型液晶 AO 素子による波面補正技術を TP-PAM に導入している。まず、2 光子吸収を有する試料から発生する PA 信号のパルスエネルギー依存性を測定し、2 光子 PA が 1 光子吸収によるものでないことを明らかにしている。2 光子吸収分子のみ、および 1 光子吸収分子と 2 光子吸収分子を溶かした混合溶液を作成し、ガラスセルおよびシリコン内の中空にそれぞれ溶液を満たした場合の 2 光子 PA 断面像の AO 補正がない場合とある場合の比較を行っている。結果として、AO 補正により PA 強度増強および深部側の試料形状把握に成功し、TP-PAM における透過型液晶 AO 素子の有効性を示している。

第 4 章では、これまでの研究成果を総括し、本研究の結論をまとめている。生体深部精緻観察に向けた 1 光子 PAM および 2 光子 PAM システムに透過型液晶 AO 素子の導入は有用であることを示している。球面収差のみの補正により劣化した PA 画像の空間分解能、深さ識別力、および PA 信号の向上に成功している。

以上、本論文は次世代の生物顕微鏡として期待されている光音響顕微鏡の空間分解能向上に関するものである。球面収差の補正が非常に薄い補償光学素子により可能であるために、既存の光音響顕微鏡に簡便に導入することができる。通常、生物学において分子イメージングのために使われる共焦点レーザー走査型顕微鏡では数百マイクロメートルぐらいの深さまでしか観察することができないが、本論文で対象としている光音響顕微鏡はミリメートルを超える深さまで観察可能である。本研究成果により、その光音響顕微鏡の空間分解能を向上することができ

るため、今まで生きてまま観察することができなかった生体深部での分子機能を解明するのに有効である。例えば、生きた状態での脳全体の機能解明に役立つことが期待される。医療の分野においても、皮膚の表皮、真皮や管空臓器の粘膜、粘膜下層の厚さは数百マイクロメートルから数ミリメートルであり、光音響顕微鏡の空間分解能の向上はがんの広がり診断等に役立つと考えられる。

令和 4 年 2 月 3 日に実施した博士論文公聴会においても種々の質問がなされ、いずれも著者の説明により質問者の理解が得られた。

また、本研究は、筆頭の審査付学術論文 1 編、共著の審査付学術論文 5 編、筆頭のプロシーディングス 1 編等で報告されており、著者は研究者としての十分な能力を有していると言える。

以上の審査結果に基づき、本論文は博士（工学）の学位を授与するに値すると判断され、審査員全員一致で合格と判定した。