

SHG(第2高調波発生光)イメージングを用いた 火傷診断に関する基礎研究

Fundamental study on burn diagnosis using second-harmonic-generation imaging

○佐々木邦彦¹⁾, 安井武史¹⁾, 東野義之²⁾, 荒木勉¹⁾

○Kunihiko Sasaki¹⁾, Takeshi Yasui¹⁾, Yoshiyuki Tohno²⁾, and Tsutomu Araki¹⁾

大阪大学大学院基礎工学研究科¹⁾, 奈良県立医科大学医学部第1解剖学教室²⁾

Graduate School of Engineering Science, Osaka University¹⁾

Department of 1st Anatomy, Nara medical University²⁾

E-mail: t-yasui@sml.me.es.osaka-u.ac.jp

<http://sml.me.es.osaka-u.ac.jp>

We propose an optical probe method for burn diagnosis using second-harmonic-generation (SHG) light induced by collagen. The specific sensitivity of collagen SHG light to thermal change of collagen structure is effectively used for monitoring of burn in dermis. The proposed method clearly visualizes burned area and depth in fresh chicken dermis as depth-resolved SHG image with high contrast.

1. はじめに

皮膚は表皮・真皮・皮下組織の3層構造を有しており、真皮は皮膚の張り・弾性・水分保有といった皮膚の重要な機能に深く関与している。したがって、真皮の構造異常や構造的変化を観察することは、皮膚性状を探るだけでなく皮膚疾患に関する情報を得る上でも重要と考えられる。例えば、代表的皮膚疾患である火傷は診断手法が未だに確立されていないが、表皮下の真皮における受傷面積や深度を非接触リモートで客観的に評価できれば、その治療方法に関して重要な指針を得ることができる。

このような真皮には生体構造タンパク質であるコラーゲン分子が豊富に含まれており、様々なサイズの構造集合体を形成している。コラーゲン分子はポリペプチド鎖3重らせん構造を有しており、その光波長オーダーでの非中心対称構造ゆえに、超短パルス光照射時に第2高調波発生光(SHG光)を特異的に発生することが知られている¹⁾。この生体SHG光を用いると、生体組織中のコラーゲン分布情報のみを非接触リモートで可視化できることから、新しいプローブ法として注目されている^{2,4)}。一方、火傷という観点で考えた場合、コラーゲン分子を構成するポリペプチド鎖の3重らせんは加熱と共にほどけ始め、熱変性温度である約60°Cで各々のポリペプチド鎖が糸まり状となったゼラチンに変性する。このようなコラーゲン分子の熱的構造変化は生体SHG光に敏感に反映され、生体SHG光強度の減少及び消失として観測される⁵⁾。したがって、このような生体SHG光の特性を用いると火傷診断用プローブとして有用であると考えられる。本講演では、生体SHG光を用いた光学的火傷診断法に関する基礎研究を報告する。

2. 実験装置

図1に実験装置を示す。レーザー光源にはモード同期チタン・サファイアレーザー(パルス幅=100fs、平均パワー800mW、繰り返し周波数80MHz、中心波長800nm)を用いる。レーザーから出射された超短パルス光は、電気光学変調器(AOM)で強度変調された後、対物レンズ(OL、×50、NA=0.42)によりサンプルに照射される。後方散乱した生体SHG光(波長400nm)は、ハーモニックセパレーター(HS)、青色透過フィルター(BPF)、分光器(Monochromator)によって基本波光から分離され、光電子増倍管(PMT)でロックイン検出される。サンプルを、3次元機械ステージで走査することにより、イメージング測定を行う。さらに深さ分解能向上のため、ピンホール(PH、直径50μm)を用いた共焦点配置を導入している。本システムの面内分解能は約1.5μm、深さ分解能は約15μmである。

3. 実験結果

測定に用いたサンプルは、生の若鶏手羽先の皮を用いた。カッターによってスライスされたサンプル(2mm厚)の半分の領域に対して、80度に加熱されたアルミ板を約1秒間押し当てて火傷部位を作成した。火傷部位は、熱により軽く赤みを帯び、変色していることが肉眼で確認された。このようにして作成されたサンプルは、表面をフラットにするために2枚のスライドガラスに挟み込まれた。0μm(サンプル表面)、40μm、80μm、100μm、120μmの各深さにおいて、SHG光の深さ分解2次元イメージング測定を行った。図2は、得られたSHGイメージを示しており、測定領域は6mm×6mmである。測定イメージの左側が正常部位、右側が火傷部位を示している。サンプル表面では、正常部位からは強いSHG光が観測されている

のに対し、火傷部位からは SHG 光は観測されていない。また、火傷の有無が、高いコントラストではっきりと示されている。さらに測定深度を 40 μm 、80 μm と深くしていても、高いコントラストが保たれていることから、これらの深さまで火傷が到達していることが推測される。一方、測定深度 100 μm 、120 μm では左右両部位のイメージコントラストの差異が若干小さいことから、この深さでは若干緩和されていると考えられる。

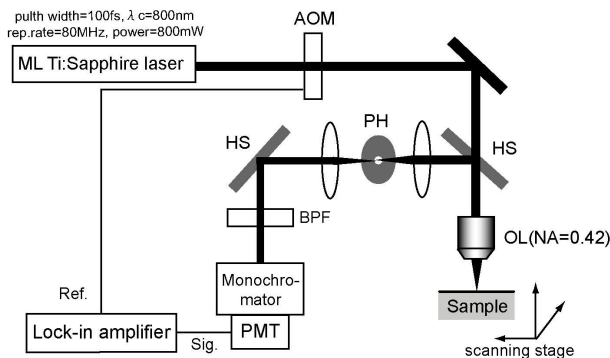


Fig.1 Experimental setup. AOM: acousto-optic modulator, OL: objective lens, PH: pinhole (ϕ 50 μm), HS: harmonic separator, PMT: photomultiplier tube, BPF: blue pass filter.

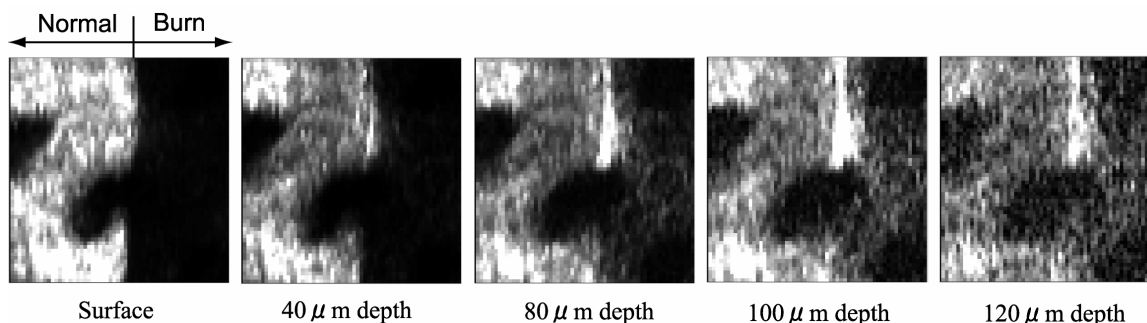


Fig.2 Confocal SHG images of fresh chicken at five different depths.

4. おわりに

コラーゲンの熱変性に伴う生体 SHG 光の強度減少を利用した非接触リモート火傷診断に関する基礎研究を行った。火傷深度の評価に関しては、深さ分解 SHG イメージングが有効であることを確認した。今後は、共焦点反射イメージと SHG イメージの同時取得により、組織構造と火傷部位の同時測定を行う予定である。本研究は文部科学省科学技術研究費補助金 16300155 及び 17200032 より援助を受けた。

文献

- 1) S. Roth and I. Freund, "Second harmonic generation in collagen", J. Chem. Phys., **70**, pp. 1637-1643 (1979).
- 2) T. Yasui, Y. Tohno, and T. Araki, "Determination of collagen fiber orientation in human tissue by polarization measurement of molecular second-harmonic-generation light", Appl. Opt., **43**, pp. 2861-2867 (2004).
- 3) T. Yasui, Y. Tohno, and T. Araki, "Characterization of collagen orientation in human dermis by two-dimensional second-harmonic-generation polarimetry", J. Biomed. Opt., **9**, pp. 259-264 (2004).
- 4) T. Yasui, K. Sasaki, Y. Tohno, and T. Araki, "Tomographic imaging of collagen fiber orientation in human tissue using depth-resolved polarimetry of second-harmonic-generation light", Opt. Quantum Electron., (in revision).
- 5) T. Theodossiou, G. S. Rapti, V. Hovhannisyann, E. Georgiou, K. Politopoulos, and D. Yova, "Thermally induced irreversible conformational changes in collagen protein probed by optical second harmonic generation and laser-induced fluorescence" Lasers Med. Sci., **17**, pp. 34-41 (2002)