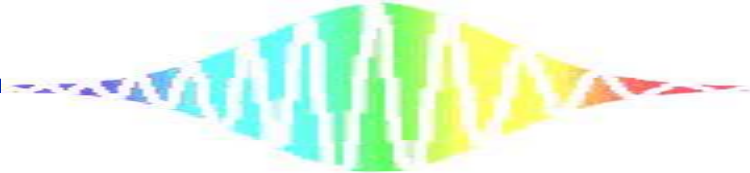


# 波長可変フェムト秒レーザー を用いた非線形光学顕微鏡の開発

安井研究室 小谷 洸平



# コラーゲンとエラスチン

## コラーゲンの役割

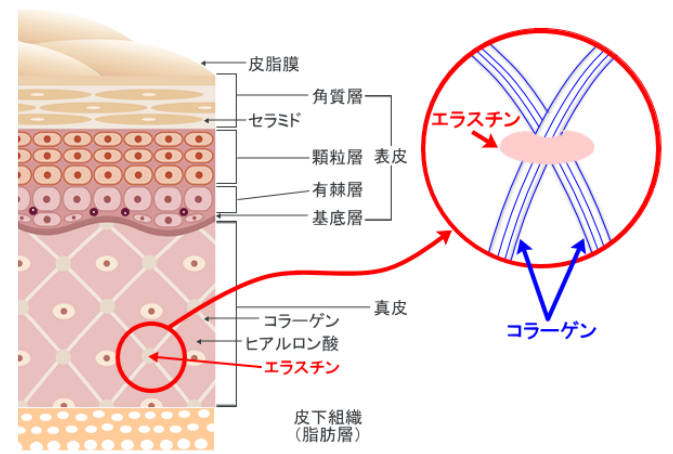
- ①体全体および臓器その他を形作り、それらを支え、結合したり境界を作ったりする。
- ②細胞の足場として働く。この足場によって細胞は分裂し増殖する



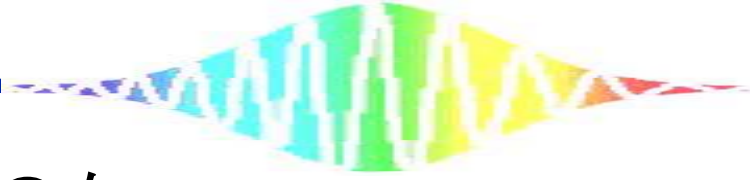
<http://www.hopec.biz-web.jp/collagen/collagentoha/>より抜粋

## エラスチンの役割

→弾力性が強く、コイル状にコラーゲンに巻き付いて形成を補助する

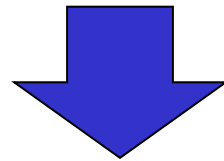


<http://collagen-laboratory.com/collagen/>より抜粋

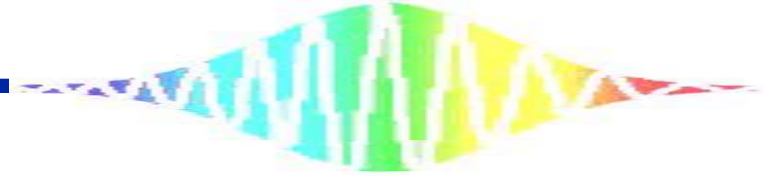


## なぜ同時に観察する必要があるのか

- コラーゲンの比率が高いと  
→組織が硬くなる
- エラスチンの比率が低いと  
→しわやたるみの原因、  
動脈硬化などになりやすい

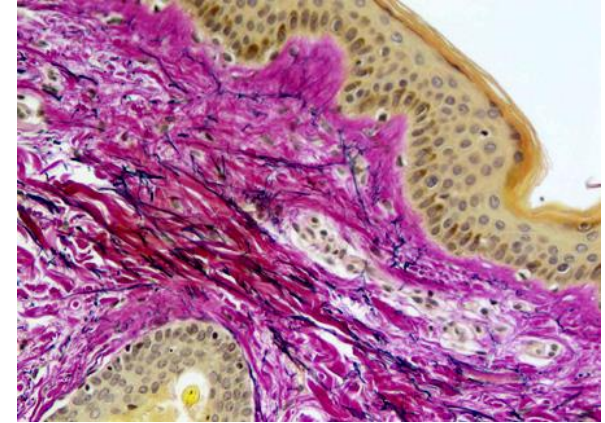


**美容や臨床応用の分野において  
同時に可視化する技術が求められる**



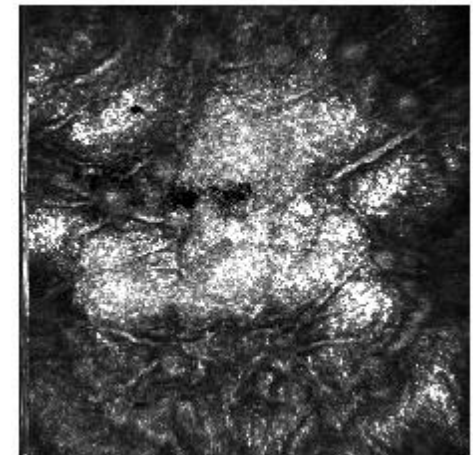
# 従来研究

- 組織染色法  
⇒ 侵襲的、*in vivo*計測不可

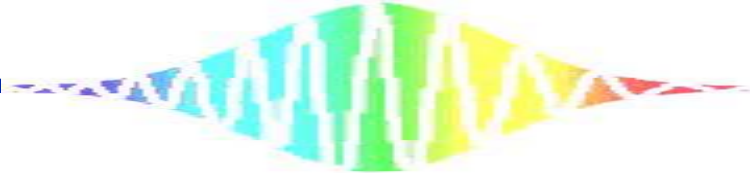


安井研HPより抜粋

- レーザー走査型反射共焦点顕微鏡  
⇒ 分子選択性に難点

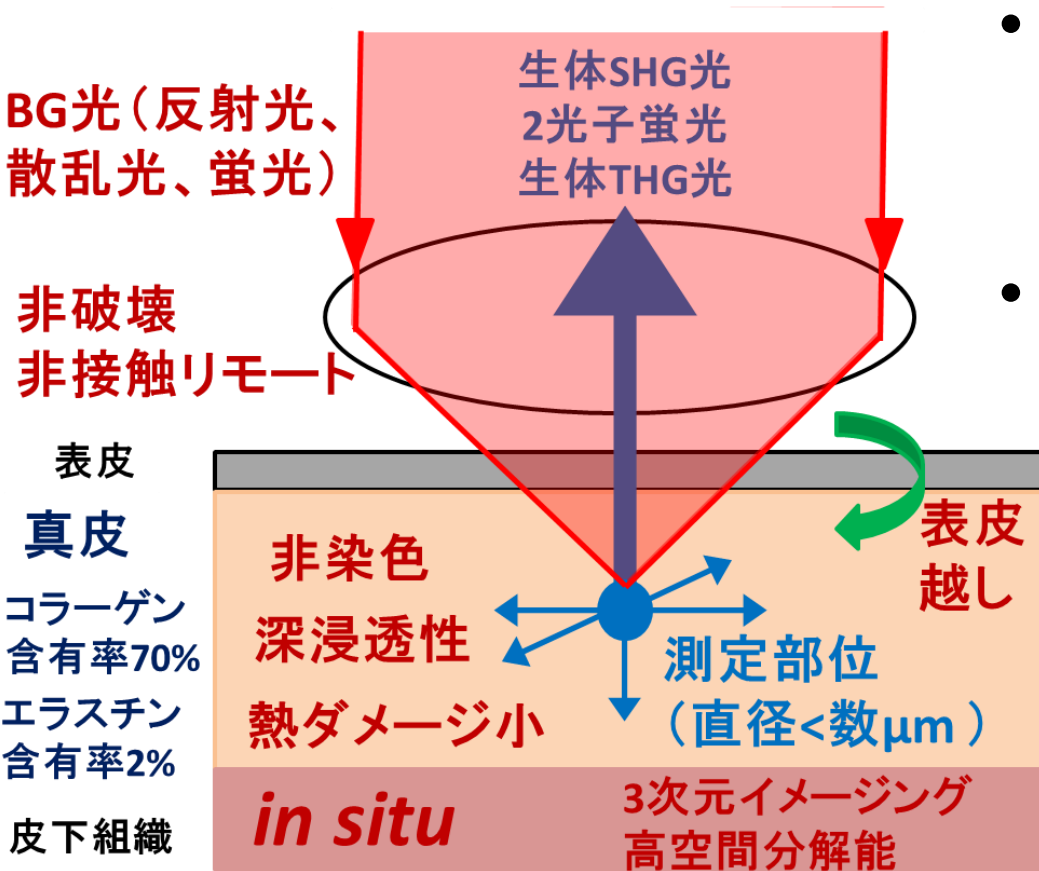


安井研HPより抜粋



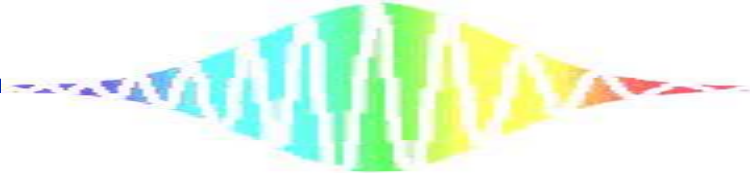
# 非線形光学顕微鏡

フェムト秒パルスレーザー光

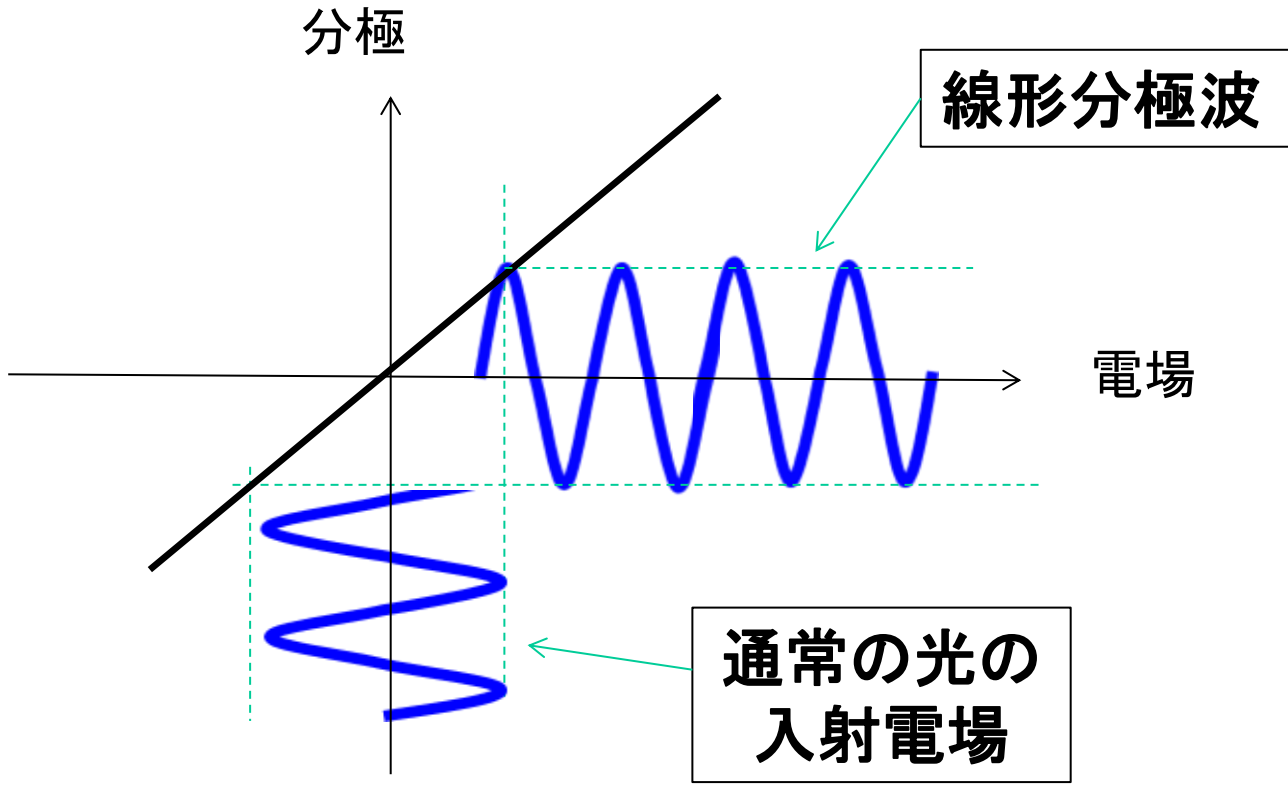


- SHG光はコラーゲン (非中心対称性物質) からのみ発生
- THG光を検出することでエラスチンを観測

コラーゲンとエラスチンを *in vivo* で可視化



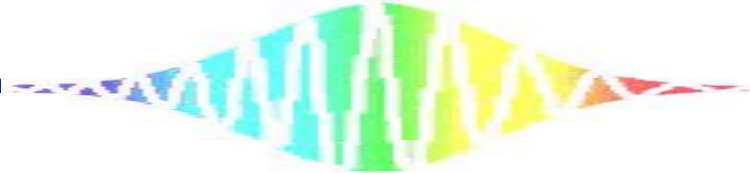
# 線形分極波



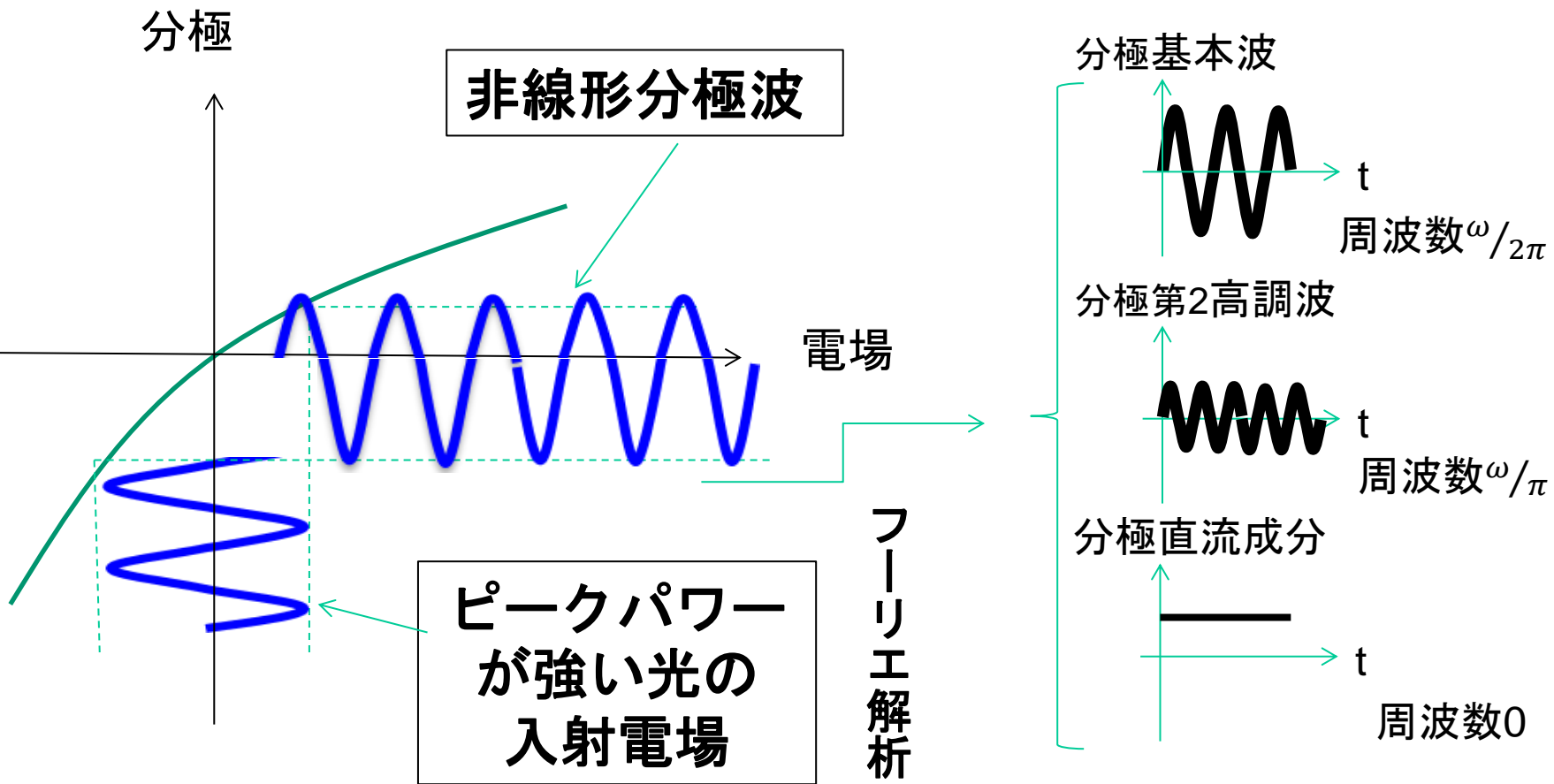
$$P_L = \chi^{(1)} E$$

P:線形分極  
 $\chi^{(1)}$ :線形感受率  
 E:入射電場強度

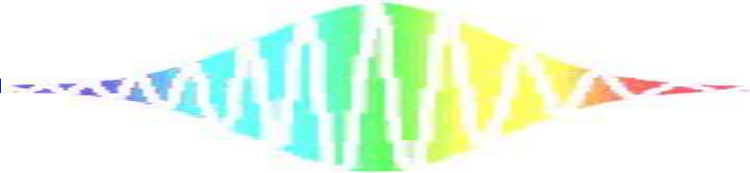
線形分極に由来する屈折等では  
 その前後において波長が変化しない



# 非線形分極波

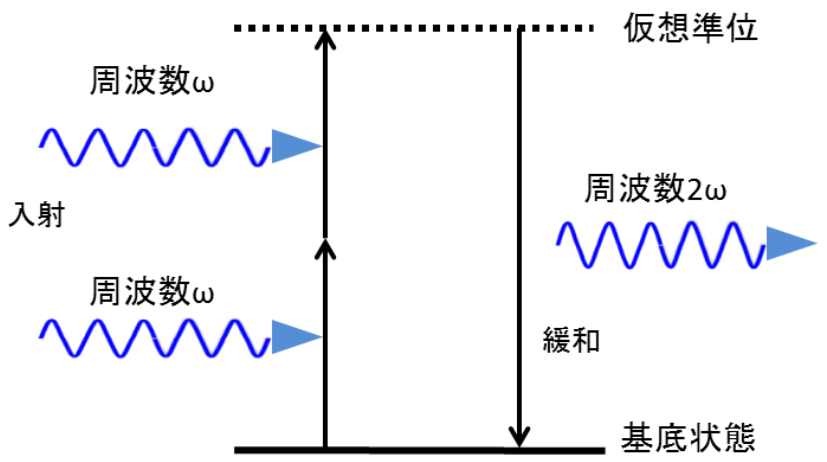


$$P_{NL} = \chi^{(1)} E + \chi^{(2)} EE + \chi^{(3)} EEE + \dots$$

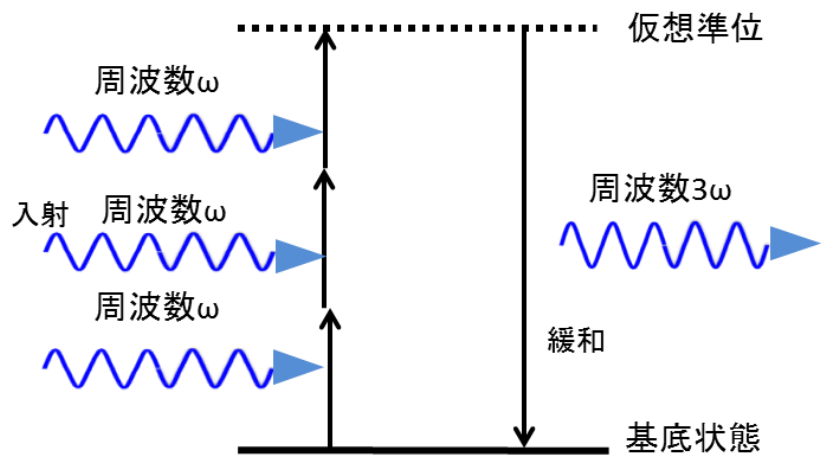


# SHG, THGの原理

## • SHGの原理



## • THGの原理



- 非中心対称性物質からのみ発生  
(例) コラーゲン
- 2次の非線形感受率によって発生効率が決まる

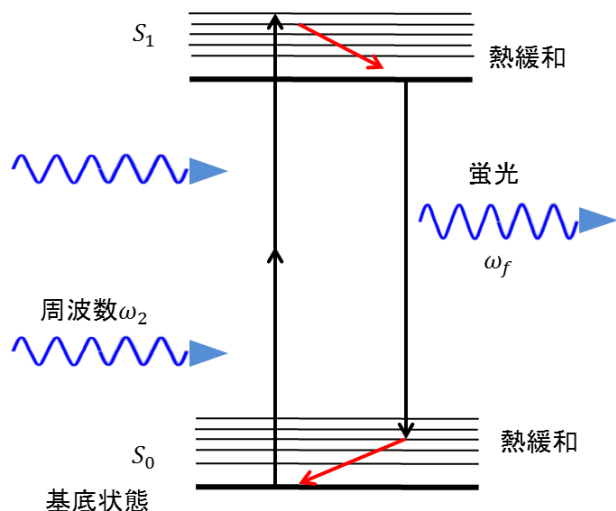
- すべての物質の境界面で発生
- 異なる物質の境界で強いTHG信号が発生するのでコントラストが高い

$$P_{NL} = \chi^{(1)}E + \chi^{(2)}EE + \chi^{(3)}EEE + \dots$$

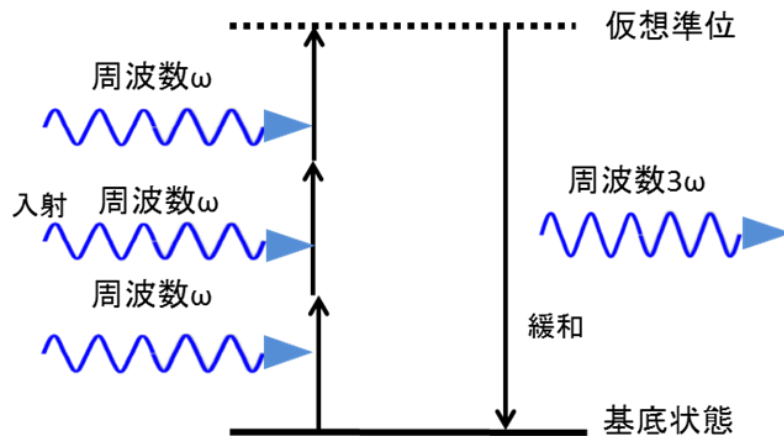


# TPEFの代わりにTHGを用いる理由

TPEFの原理



THGの原理



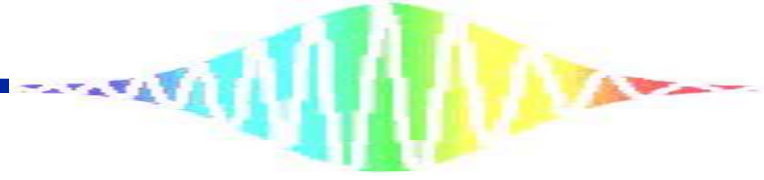
## 先行研究

### 入射波長800nmでTPEF

生体組織内で受ける吸収と散乱により強く減衰する  
→生体深部を高コントラストで可視化は困難

長波長側波長(1100~1300nm)でTHG  
物質の境界で強いTHG信号が発生  
→生体深部を高コントラストで可視化

より長い波長を使うことで生体深部を観察する



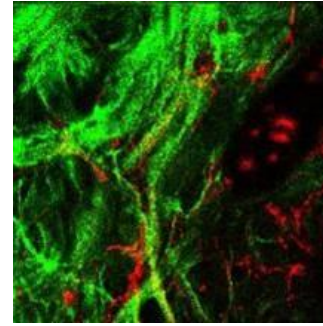
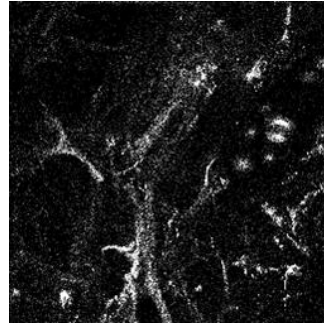
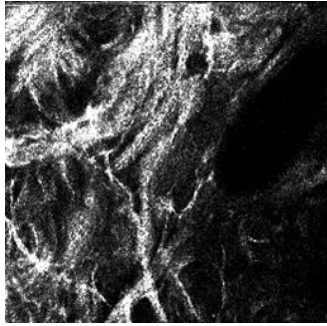
# 前回の実験結果

SHG  
(コラーゲン)

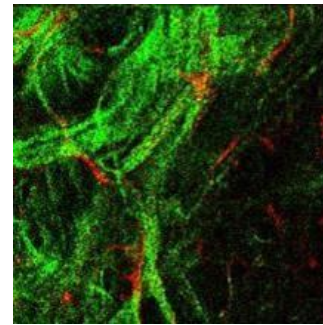
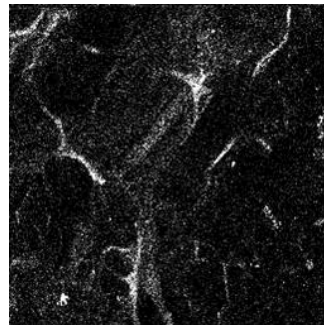
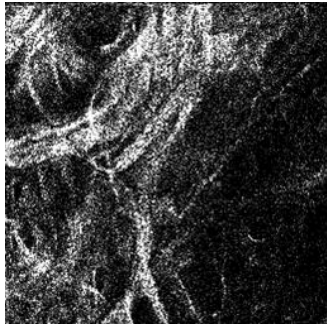
THG  
(エラスチン)

マージ画像

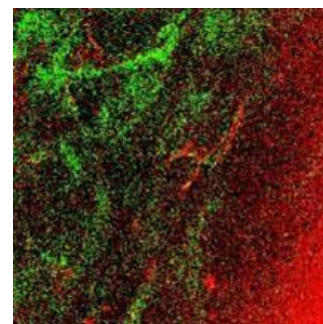
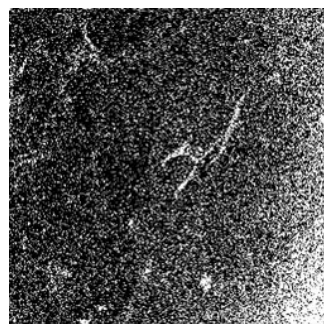
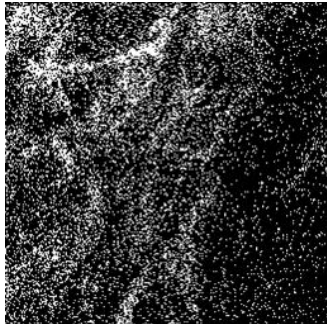
1100nm

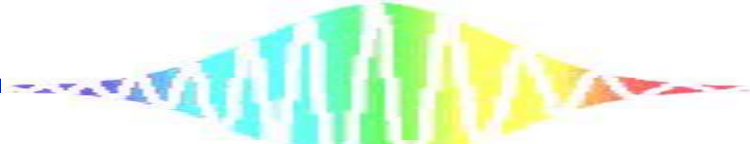


1200nm



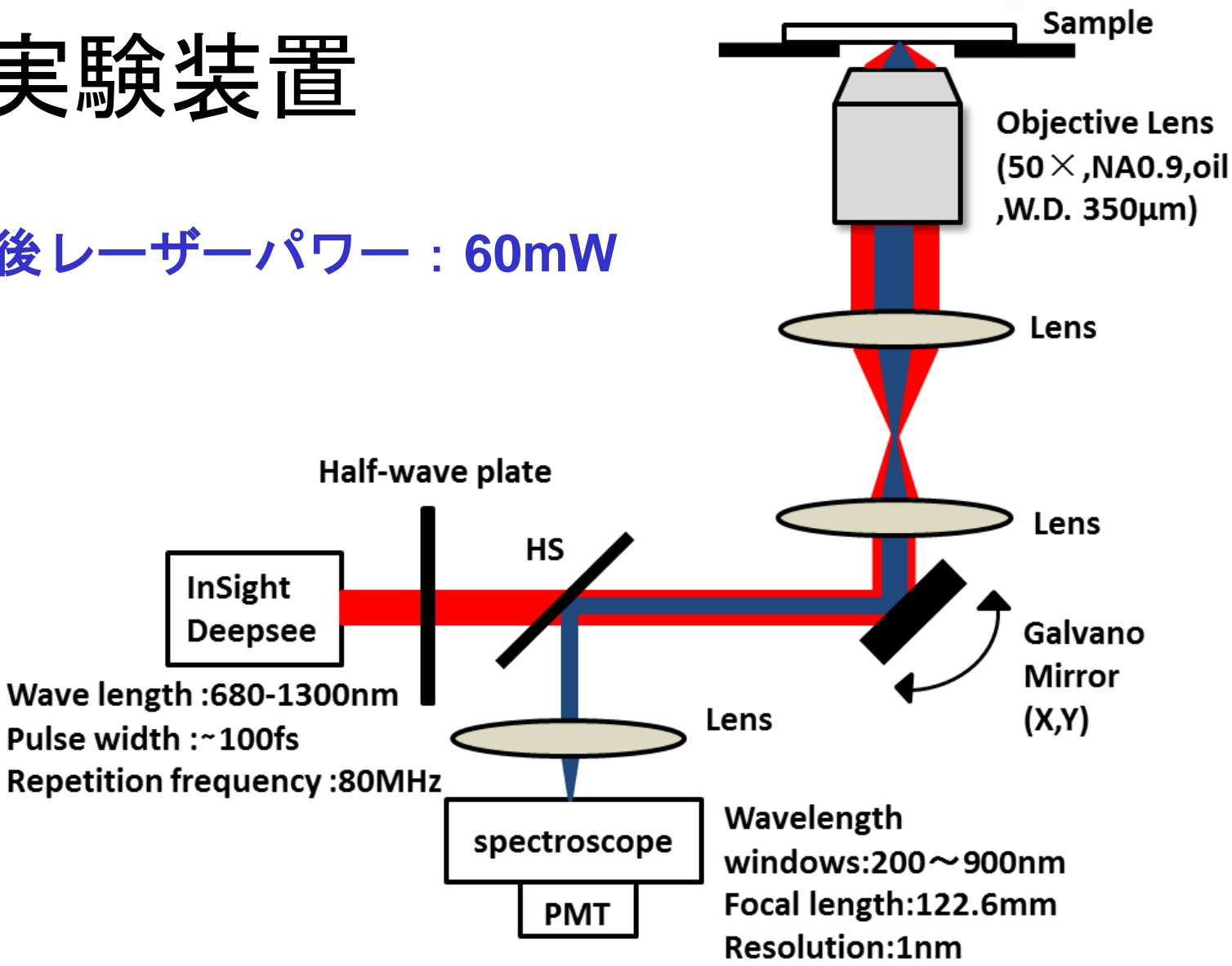
1300nm





# 実験装置

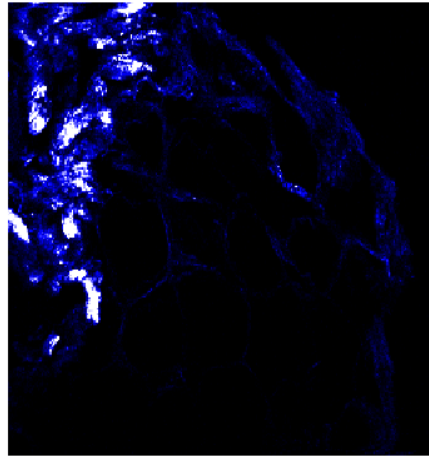
対物後レーザーパワー : 60mW



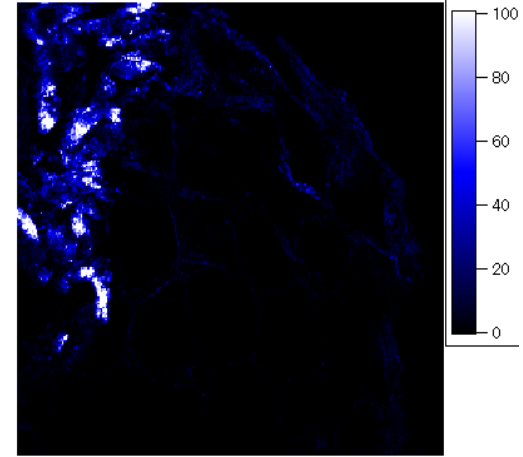
# SHGイメージの波長ごとの比較

コラーゲン

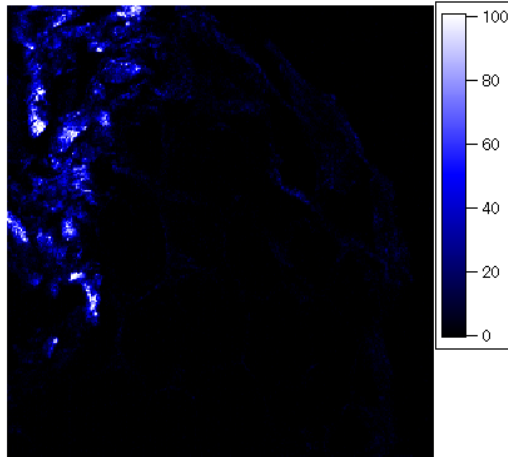
サンプル：  
光老化皮膚



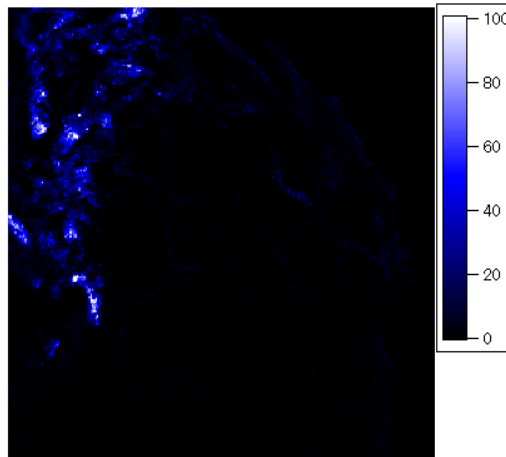
1100nm



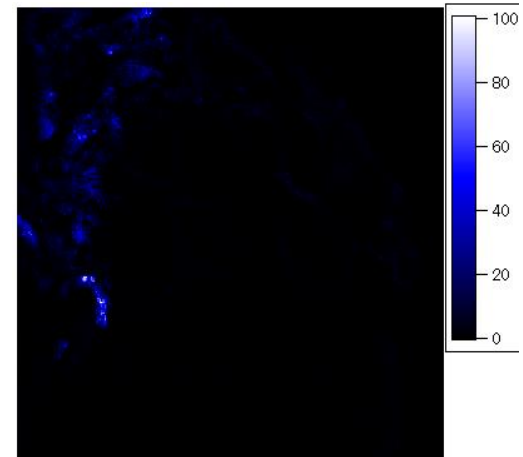
1150nm



1200nm



1250nm



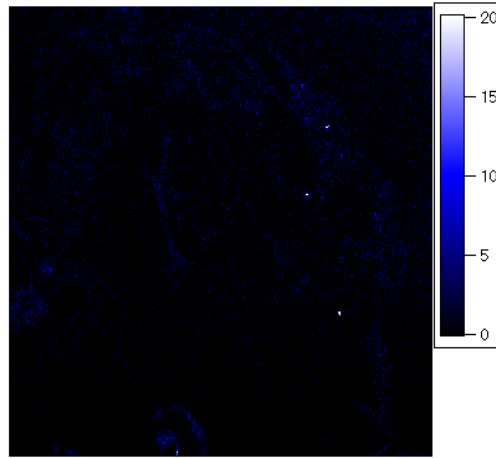
1300nm

- 長波長側では1100nmで信号が一番多く発生した
- 長波長になるほどSHG信号が小さくなった

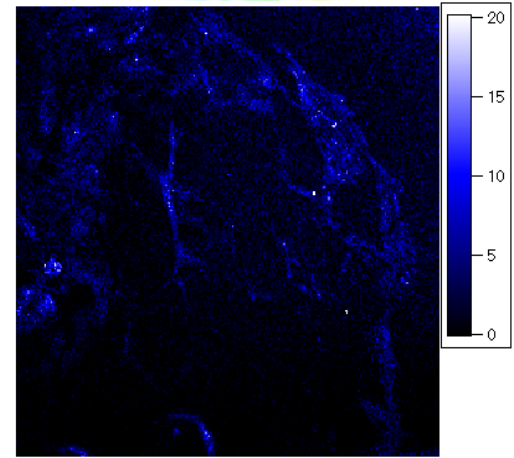
# THGイメージの波長ごとの比較

**エラスチン**

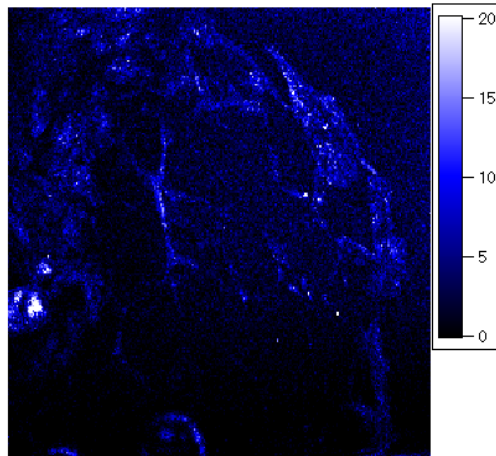
サンプル：  
光老化皮膚



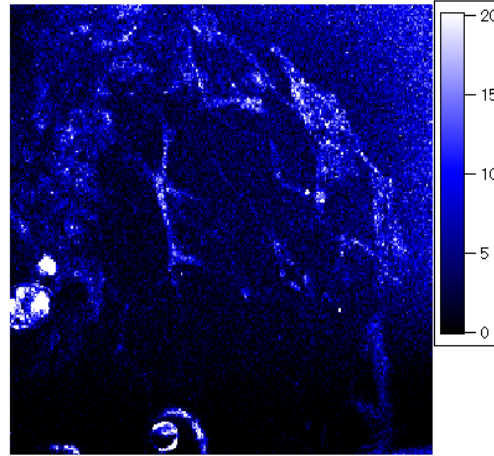
1100nm



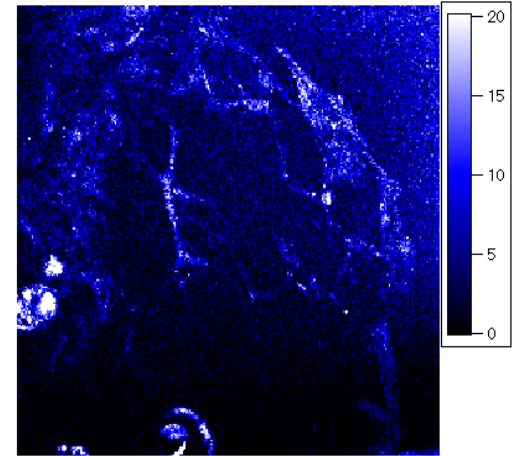
1150nm



1200nm

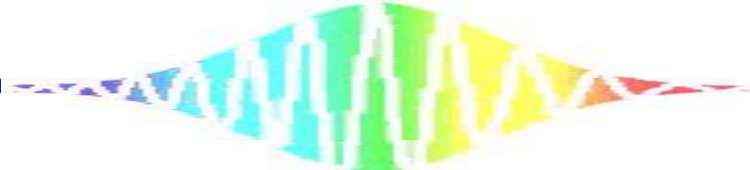


1250nm



1300nm

長波長側では1300nmが一番コントラストがいい



# まとめ

- コラーゲンとエラスチンの同時計測を目的とした非線形光学顕微鏡を構築
- 長波長側において
  - 1100nmがコラーゲン観測に適している
  - 1300nmがエラスチン観測に適している

# 今後の予定

- 散乱の影響を受けやすい厚みのあるサンプルを用いて、THG計測に有効な入射レーザー波長を検討