

電気光学的偏光分解 SHG 顕微鏡を用いた ヒト真皮コラーゲン配向の *in vivo* 計測

In vivo imaging of human dermal collagen fiber orientation using rapid
polarization-resolved SHG microscopy with electro-optic polarization modulation

○田中佑治¹, 長谷栄治², 福島修一郎¹, 安井武史^{1,2}, 荒木勉¹

○Y. Tanaka¹, E. Hase², R. Tanaka¹, S. Fukushima¹, T. Yasui^{1,3}, and T. Araki¹

阪大基礎工¹, 徳島大工²

Grad. Sc. Engg. Sci., Osaka Univ.¹ and Dpt. Engg., Univ. Tokushima²

E-mail: yasui.takeshi@tokushima-u.ac.jp

http://femto.me.tokushima-u.ac.jp

フェムト秒(10^{-15} 秒)オーダーの超短パルスレーザー光を生体組織に照射すると、光電場とコラーゲン分子の非線形相互作用によって入射レーザー光の一部が波長変換され、入射レーザー光の半波長(あるいは 2 倍の周波数)の光が第 2 高調波発生光 (SHG; second-harmonic-generation)として発生する。我々は、コラーゲン分子特有の非線形光学特性によって発生する生体 SHG 光(第 2 高調波発生光)を利用すれば、生体組織におけるコラーゲン線維のみを『生きたありのままの状態』で可視化できることに着目し、これに基づいた『生体コラーゲン SHG 顕微鏡』の研究を行っている[1-4]。さらに生体 SHG 光の発生効率がコラーゲン線維配向と入射レーザー偏光に強く依存する特徴を利用すると、偏光解析からコラーゲン線維の配向分布も可視化することが出来る(偏光分解 SHG 顕微鏡)。この偏光分解 SHG 顕微鏡を *in vivo* 計測に拡張できれば、その有用性はさらに増大するであろう。しかし、従来の偏光分解 SHG 顕微鏡では、波長板を機械的に回転させることにより偏光分解 SHG イメージを取得していたため、トータルのイメージ測定時間が長くなり、これが *in vivo* 計測の妨げとなっていた。本研究では、電気光学変調器(EOM)を用いた高速偏光変調方式の導入とデータ取得方法の改善により、モーション・アーチファクトの影響を受け難い偏光分解 SHG 顕微鏡を開発した。さらに、開発した顕微鏡をヒト皮膚の *in vivo* 計測に適用し、その有用性を確認した。

光源には、生体透過性の優れたフェムト秒モード同期 Cr:Forsterite レーザー(中心波長 1250nm)を用いる。これにより、生体ダメージを回避しながら、良好な測定可能深度を達成することが可能になる。EOM に対して、半波長電圧(160V@1250nm)のパルス信号を電圧印加することにより、直交した 2 つの直線偏光を高速スイッチングする。レーザー光は、油浸対物レンズ(N.A.=0.9, W.D.=350 μ m)を通過してサンプル上に集光される。ここで、ガ

ルバノミラーを階段状ノコギリ波でそれぞれ駆動し、1 ピクセル毎に垂直および水平偏光の SHG データを両方取得しながらレーザースポットを走査することで、拍動・振動などのサンプル・アーチファクトの影響を受けることなく、ピクセル間の対応が取れた偏光分解 SHG イメージを取得することが出来る。コラーゲン配向解析に必要な 2 枚の偏光分解 SHG イメージを得るのに要する時間は 2 秒であり、機械式偏光回転に基づいた従来装置と比較すると、5 倍の高速化が実現できている。

図 1 はヒト顔皮膚における *in vivo* 偏光分解 SHG イメージングを連続的行った結果である。ここで、ある配向をもったコラーゲン線維に垂直偏光と水平偏光のレーザー光を入射した際に発生する SHG 強度をそれぞれ I_V , I_H とした時、SHG 偏光異方性 $\alpha = (I_V - I_H) / (I_V + I_H)$ を定義する。この α 値は、コラーゲン線維配向を反映しており、この値が正符号(青色)であると垂直方向の配向が優位であり、負符号(赤色)では水平方向の配向が優位ということになる。計測中は測定部の静止が困難なため、従来法では α イメージが刻々と変化し、正確に α イメージが取得出来ていないが、本手法では各々のイメージングで正確な α イメージが得られている。

我々の開発した顕微鏡は皮膚科学の分野において、コラーゲン線維配向を *in vivo* でモニタリングするのに有用といえる。

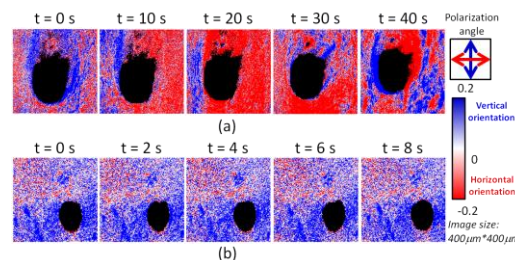


Fig.1 Results. (a) previous method (b) present method
1) T. Yasui *et al.*, Appl. Opt. **43**, 2861-2867 (2004).
2) T. Yasui *et al.*, J. Biomed. Opt. **9**, 259-264 (2004).
3) T. Yasui *et al.*, Appl. Opt. **48**, D88-D95 (2009).
4) T. Yasui *et al.*, Opt. Express **17**, 912-923(2009).