

高速連続偏光分解 SHG イメージングにおける測定深さ依存性の影響

Effect of depth dependency in fast, continuously, polarization-resolved SHG imaging

徳島大学ポストLEDフォトンクス研究所 (pLED)

○前田 耕佑, 長谷 栄治, 水野 孝彦, 南川 丈夫, 安井 武史

Institute of Post-LED Photonics, Tokushima University

○Kosuke Maeda, Eiji Hase, Takahiko Mizuno, Takeo Minamikawa, Takeshi Yasui

E-mail: maeda@femto.me.tokushima-u.ac.jp

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

生体組織におけるコラーゲン配向を生きたありのままの状態でも可視化できる連続偏光分解 SHG (SHG: second harmonic generation, 第2高調波発生) 顕微鏡では, コラーゲンから発生する SHG 光の発生強度が入射レーザー偏光状態に対して敏感に変化することを用いることで, 直径数 μm オーダーの焦点スポット内における局所的なコラーゲン配向角度とその構造異方性 (配向度) を測定することが可能である[1]. 我々はこれまでに, 電気光学変調器を用いた電氣的な偏光回転法の利用と画像取り込みシーケンスの工夫により, *in situ* 計測の際にモーション・アーチファクトの影響を受けない高速連続偏光分解 SHG 顕微鏡を構築し, ヒト皮膚の *in situ* コラーゲン配向イメージングに適用可能とした[2]. しかしながら, このような偏光分解 SHG 顕微鏡において, 皮膚組織のような厚いサンプルを計測する場合, 複屈折, 二色性や散乱の影響による偏光スクランブルなど, 光がサンプルを伝播中に受ける偏光変化の影響を考慮しなければ, 配向度や配向角の解析結果にエラーを含む可能性がある. 今回は, 開発した高速連続偏光分解 SHG 顕微鏡により, コラーゲンが一軸性の配向を示し, 伝播中に偏光の変化を受けやすいと考えられる腱サンプルを用いて上記影響の有無を確認したので報告する.

図1に実験装置の概略図を示す. 光源には中心波長を 1250 nm に設定したフェムト秒光パラメトリック発振器 (繰り返し周波数: 80 MHz, パルス幅: 100

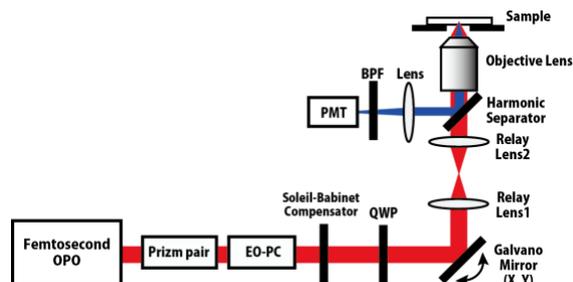


Fig. 1. Experimental setup of fast, continuously, polarization-resolved SHG microscopy.

fs) を用いた. ガルバノミラー等のレーザー走査光学系からなる自作の SHG 顕微鏡の直前で, 電気光学変調器 (EO-PC) とバビネソレイユ補償板および 1/4 波長板により直線偏光を 15° 刻みで回転させながら 12 枚の偏光分解 SHG 画像を取得する. 各ピクセルにおける SHG 強度を理論式にフィッティングした際のフィッティングパラメーターとして配向角度と配向度を抽出する. また, レーザー出射直後には, 電気光学変調器で発生するパルス拡がりを補償するためプリズムペアを挿入している.

図2に異なる深さで測定した腱の配向角, 配向度画像を示す (動物実験倫理委員会承認番号: 徳動物 12133). 図2の配向角度においては, どちらの深さにおいても線維の配向とよく一致した配向角度測定結果が得られている一方で, 配向度画像においては, 両者において異なる値が得られている. 腱の構造は, 深さに依存は無いと考えられるが, コラーゲンの一軸性配向による複屈折の影響により, 計測結果にエラーが出ていると考えられる. 発表では, 本手法の測定対象としている皮膚サンプルでの測定結果についても報告する.

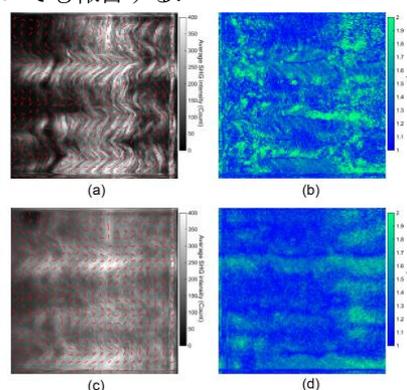


Fig. 2. Orientation analysis of collagen fiber in rabbit tendon. (a, b) Orientation angle, and orientation degree at 0 μm from the sample surface. (c, d) Orientation angle, and orientation degree at 120 μm from the sample surface. The image size is 300 μm * 300 μm (120 pixel * 120 pixel).

[1] I. Gusachenko *et al.*, *Biophys. J.* **102**, 2220 (2012).

[2] 長谷他, 第 66 回応用物理学会春季学術講演会, 9p-W641-1 (2019).