Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-19

散乱場における強度輸送方程式を用いた3次元蛍光イメージングと照明技術に関する研究

松田，汐利

(Degree)
博士（工学）

(Date of Degree)
2025-03-25

(Date of Publication)
2027-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第9221号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100496502

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（別紙様式 3）

論文内容の要旨

氏　　名　松田　汐利

専　　攻　システム情報学専攻

論文題目（外国語の場合は，その和訳を併記すること。）

散乱場における強度輸送方程式を用いた 3 次元蛍光イメージングと照明技術に関する研究

指導教員　的場　修

（注）2，000 字～4，000 字でまとめること。

本論文は，動物・植物細胞の表面近傍や培養細胞の生命活動を，蛍光を介して観察する 3 次元蛍光散乱透視イメージング技術および照明技術を確立することを目的としている．散乱により劣化した生体からの蛍光画像を改善する方法として，散乱透視イメージング技術に関して 3 つの試作システムを提案，検討した．観察時の光毒性の影響を回避する方法として，微弱光イメージング技術に関して 3 つの試作システムを提案，検討した．散乱により減少する生体への照明強度を増加する方法として，照明技術に関して 2 つの試作システムを提案，検討した．本論文は，これらの実験およびシミュレーションによる研究の成果をまとめたものであり，緒論，本論 7 章，総括から構成されている．

緒論では，本研究の背景と目的，およびその意義について述べている．

第 1 章では，本研究の軸である強度輸送方程式 (transport of intensity equation; TIE) について述べている．さらに，3 次元イメージングに必要な伝搬計算手法，散乱透視イメージング手法，照明手法について概説している．

第 2 章では，微弱光下における 3 次元蛍光イメージング手法の確立を目的として，TIE に基づく 3 次元蛍光イメージングにフォトンカウンティング検出を導入することを提案し，実験結果について述べている．タバコ培養細胞のフォトンカウンティング画像を用いて実験的に検証している．また，提案手法が有効な光子数について，実験およびシミュレーションから明らかにしている．

第 3 章では，3 次元散乱透視蛍光イメージング手法の確立を目的として，TIE に基づく 3 次元蛍光イメージングとフーリエ反復位相回復法による反復位相回復法を組み合わせた TIE に基づく 3 次元散乱透視蛍光イメージング手法を提案し，実験結果について述べている．提案手法の有効性は，蛍光ビーズとタバコ培養細胞からの蛍光を，拡散板を介して計測することで実験的に検証している．散乱場におけるタバコ培養細胞について，10 分おきに 1 回を計 50 分間観察している．提案手法を用いることで，散乱の影響を取り除き，3 次元的に細胞分裂の様子を観察している．さらに，TIE に基づく 3 次元散乱透視蛍光イメージング手法の高速化を目的として　反復位相回復法を組み合わせた TIE に基づく 3 次元散乱透視蛍光イメージングのために必要な撮影画像の枚数を減らすことを検討している．この手法を用いて，RRCaMP と eTsChR を発現している PC12h 細胞のカルシウム応答を約 5 Hz で計測し，計測結果についてまとめている．また，シミュレーションにより，提案手法が有効な散乱体の位相変調範囲について考察している．

第 4 章では，3 次元散乱透視蛍光イメージング手法の確立を目的として，TIE に基づく 3 次元蛍光イメージングとフレネルピンポンアルゴリズムによる反復位相回復法を組み合わせた TIE に基づく 3 次元散乱透視蛍光イメージングを提案し，実験結果について述べている．提案手法の有効性は，蛍光ビーズとタバコ培養細胞からの蛍光を，拡散板を介して計測することで実験的に検証している．散乱場におけるタバコ培養細胞について，10 分おき

に 1 回を計 50 分間観察している．提案手法を用いることで，散乱の影響を取り除き，3 次元的に細胞分裂の様子を観察している．また，シミュレーションにより，提案手法が有効な散乱体の位相変調範囲について考察している．さらに，これらの結果について，第 2 章の結果と比較し，それぞれの手法の特徴についてまとめている．

第 5 章では，微弱光下における 3 次元蛍光散乱透視イメージング手法の確立を目的として，第 3 章の手法にフォトンカウンティング検出を導入することを提案し，実験結果について述べている．提案手法の有効性は，マウス脳切片のアストロサイトからの蛍光を，拡散板を介して計測することで実験的に検証している．

第 6 章では，微弱光下における 3 次元蛍光散乱透視イメージング手法の確立を目的として，第 4 章の手法にフォトンカウンティング検出を導入することを提案し，実験結果について述べている．提案手法の有効性は，マウス脳切片のアストロサイトからの蛍光を，拡散板を介して計測することで実験的に検証している．

第 7 章では，TIE を用いた散乱媒質下における照明手法の確立を目的として，TIE を用いて計測した散乱体越しの蛍光ビーズの複素振幅分布から位相共役波を生成することを提案し，実験結果について述べている．また，計測した複素振幅分布に対して，線形シフトをかけることにより，位相共役波をシフトさせることを提案し，実験結果について述べている．提案手法の有効性は，蛍光ビーズと拡散板を用いることで実験的に検証している．さらに，シミュレーションにて，原理検証を行い，提案手法が散乱体越しの蛍光ビーズへの集光性能を向上させることを示している．散乱体なしの条件においても同様に，実験およびシミュレーションにて，提案手法が蛍光ビーズへの集光性能を向上させることを示している．

総括では，本研究を総括し，今後の展望について述べている．

（別紙１）　　論文審査の結果の要旨

氏名	松田　汐利		
論文題目	散乱場における強度輸送方程式を用いた３次元蛍光イメージングと照明技術に関する研究		
審査委員	区　分	職　名	氏　　名
	主　査	教授	的場　修
	副　査	教授	臼井　英之
	副　査	教授	太田　能
	副　査	教授	仁田　功一
	副　査		

要　　旨

生命科学やバイオ分野では，種々の蛍光タンパク質や光応答性タンパク質によって，生きたまま非破壊かつ低侵襲で生体内部の構造や機能情報を蛍光で観察できるようになっている。生体組織は強い散乱体であるため，散乱場における３次元蛍光イメージングの開発はより深い場所での生命現象を観察するのに役立つ。さらに散乱により蛍光を励起する光は全体に拡散するため，観察対象でない細胞にも照明することになり，光毒性と呼ばれている細胞がダメージを受ける，あるいは退色により生命活動を観察できなくする課題がある。このため，散乱場における所望の細胞のみを照明する技術の開発も有用である。

本論文は，強度分布計測から蛍光の複素振幅分布（振幅分布と位相分布）を求めることができる強度輸送方程式(TIE; Transport of Intensity Equation)に着目し，散乱場における３次元生体構造の計測技術，所望の細胞のみを照明する選択的照明技術，高速３次元蛍光イメージングによる機能情報取得技術の３項目を開発したものである。これらを組み合わせることで，事前に３次元細胞構造を取得し，観察対象の細胞のみを照明し，時間軸を含めた細胞活動を観察できるシステム構築が可能になる。博士論文は緒論，第１章から第７章までの本論，総括から構成されている。以下に各章の内容を要約する。

緒論では，本論文の背景と目的，およびその意義について述べている。

第１章では，本論文で用いた３次元蛍光イメージングの手法として TIE 及び伝搬計算方法，散乱透視イメージング手法，照明手法について概説している。

第２章では，微弱光を用いて光毒性を回避し，生体の３次元構造を蛍光イメージングから計測するフォトンカウンティグ検出を用いた TIE に基づく３次元蛍光イメージング技術を提案し，植物細胞を用いた実験結果を示している。

第３章では，薄い散乱体において３次元蛍光イメージングを実現する手法として，TIE に基づく３次元蛍光イメージングとフーリエ面反復型位相回復法を組み合わせた手法を提案し，植物細胞及び動物細胞でタイムラプス計測が可能であることを実験で実証している。シミュレーションにより提案手法が有効な位相変調範囲を明らかにしている。

第４章では，TIE に基づく３次元蛍光イメージングとフレネル領域反復型位相回復法を組み合わせた手法を提案している。第３章の方法と比較して，散乱体面まで情報を回復し，薄い散乱体である仮定のもと，散乱体直前の蛍光の振幅分布が得られることを利用する。これにより散乱体面における位相分布をフレネル伝搬計算を用いた位相回復法により求めている。蛍光ビーズと植物細胞の実験結果より，散乱場において劣化した蛍光画像の回復が可能であること，奥行き情報が再生されることを確認している。

第５章では，第２章のフォトンカウンティグ検出技術と第３章のフーリエ反復型位相回復法を用いた３次元散乱透視イメージング技術を組み合わせた手法を提案している。マウス脳切片を用いた実証実験を行っている。さらに定量的評価から必要なフォトン数を見積もっている。

第６章では，第２章のフォトンカウンティグ検出技術と第４章のフレネル領域反復型位相回復法を用いた３次元散乱透視イメージング技術を組み合わせた手法を提案している。マウス脳切片を用いた実証実験を行い，さらに定量的評価から必要なフォトン数を見積もっている。

第７章では，散乱体により散乱した蛍光の複素振幅分布計測により選択的に照明する光波生成技術として，TIE に基づく位相計測とそれを用いた位相共役波生成を行う方法を提案し，蛍光ビーズと拡散板を用いた実験により集光性能が向上できることを示している。また，位相共役波に線形位相を加算することで周辺細胞への選択的照明が可能であることを実証している。

総括では，本論文で得られた成果をまとめている。また，今後の研究課題も述べている。

氏名	松田　汐利

本論文は，TIE と光波伝搬計算を組み合わせた 3 次元蛍光イメージングを散乱場に適用可能な手法に拡張し，生体内部の 3 次元構造と機能情報取得に向けた技術を提案し，その有用性を実証している。第 5 章と第 6 章の成果により微弱光で 3 次元細胞構造を計測できる技術が確立されている。第 7 章により散乱場における選択的照明技術が確立されている。第 3 章と第 4 章の成果により，散乱場での高速 3 次元蛍光イメージング技術が確立されている。これらを組み合わせることで，散乱場においても細胞群の 3 次元構造を非破壊で計測し，それらを元に観察したい対象を選択することで光毒性を起こすことなく，選択した細胞の時間応答を調べることが可能になる。これらの成果は，計測光学分野のみならず生命科学，バイオ分野において有用な計測ツールを提供するものとして価値がある。提出された論文はシステム情報学研究科学位論文評価基準を満たしており，学位申請者の松田汐利は，博士（工学）の学位を得る資格があると認める。