



| | |
|------------------|---|
| Title | 光を用いた生体機能計測 |
| Author(s) | 田村, 守 |
| Citation | 電子科学研究, 2, 16-22 |
| Issue Date | 1995-01 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/24301 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 2_P16-22.pdf |



光を用いた生体機能計測

Optical Monitoring for Tissue Functions

超分子分光研究分野 田村 守

1. はじめに

生体組織の内部の構造や代謝情報を外部から傷をつけないで（無侵襲、非観血的）計測する技術は生物学や医学、特に臨床医学の分野で必要不可欠なものであり X 線 CT はその代表例である。この種々の無侵襲計測技術の中で光、広い意味の電磁波は古くから利用され、もっとも短波長での X 線 CT と長波長（ラジオ波）の NMR-CT (MRI) はすでに実用化されている。ところが紫外-可視-赤外領域の応用は顕微鏡を除いて比較的限られてきた。これはこの領域の光が生体に対しほとんど透過性を持たないと考えられてきたことによる。最近になり近赤外光 (700~1,500 nm) は生体組織に対し高い透過性を有することが確認され、この領域の光を用いることにより、生体組織中の酸素濃度が計測される事実から、新しい非観血的計測技術として注目を集めつつある。この近赤外生体計測法の臨床応用への期待が高まるにつれ、生体組織に代表される不均一散乱系での分光分析の定量性の欠如が重大な欠陥として浮かび上がってきた。

近年、散乱系における光子の飛行時間測定 (time of flight) がこの問題の解決に有力な方法であることが確認され、ピコ秒-フェムト秒時間分解計測法と近赤外計測法が結びついて、新たに時間分解診断学とも呼ぶべき分野が生まれようとしている。本稿ではこの時間分解診断学の二つの主要な分野、光 CT と定量的生体分光学について我々が直面している問題点と今後の展望を述べたい。

2.

1) 近赤外生体酸素計測法-分光学的酸素指示物質

近赤外分光法が医学分野で注目される最大の理由は

この領域の光を用いると 30 cm 程度の厚さの生体組織（たとえば人頭部）を透過した光を検出し得ることと、生体組織が本来持っている“酸素濃度指示物質”であるヘモグロビン、ミオグロビンおよびチトクローム酸化酵素が近赤外領域に特徴的な吸収帯を持つことによる (Fig.1)。

Fig.2 にこうして近赤外分光法で測定される酸素濃度指示物質の酸素濃度依存性を示してある。ここでヘモグロビンの測定からは主に静脈の酸素濃度が、ミオグロビンからは心筋や骨格筋の細胞内の酸素濃度が、そしてチトクローム酸化酵素からミトコンドリアの酸素濃度がそれぞれ求められる。

2) 散乱系での吸光度の定量化-一定常光の場合

透明試料で成立するベールランバート則は多成分系で

$$\log I_0(\lambda)/I(\lambda) = \sum \epsilon_i(\lambda) C_i \cdot D \quad (1)$$

となる。ここで照射光量（正しくは溶媒のみの透過光量）を $I_0(\lambda)$ 、透過光量を $I(\lambda)$ とすると、 $\epsilon_i(\lambda) C_i$ 、 D は各成分 (i) の波長における吸光係数、濃度、物理的光路長である。すなわち、全体の吸光度は各成分の吸光度の和で与えられる。

さて透明試量でのベールランバート則は、①吸収 (ϵ で決まる) と光路長は独立であり、②各成分の吸収強度 (ϵ と C) はお互いに独立である。したがって③光路長 D は光の入射点と出射点の物理的距離 (厚さ) のみで決まり、各成分の吸収に対し同一 (1 式で D は D_i ではない。また、 D は波長に依存しない)。この自明なことが散乱系では重大な問題となる。

散乱系に光が照射されると、検出器にはいる透過した光はそこに存在する吸収物質による光の減衰と散乱

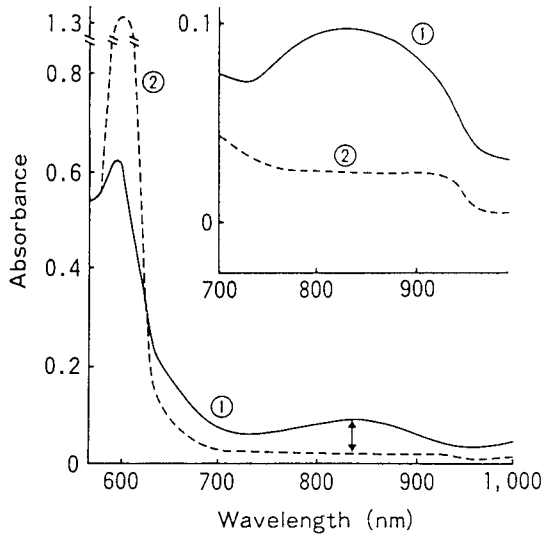
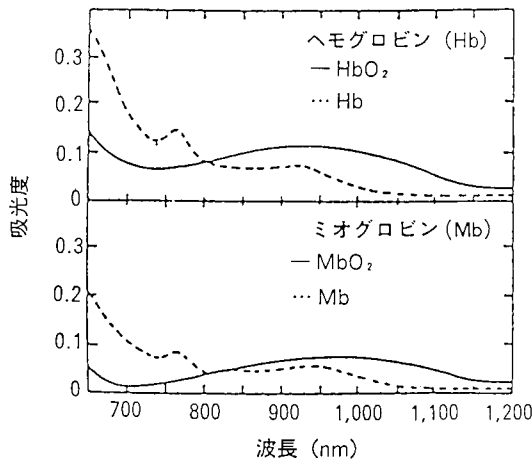


図1 近赤外領域における酸素濃度指示物質の吸収スペクトル。(A)ヘモグロビン, (B)ミオグロビン, (C)チトクロームオキシダーゼ。

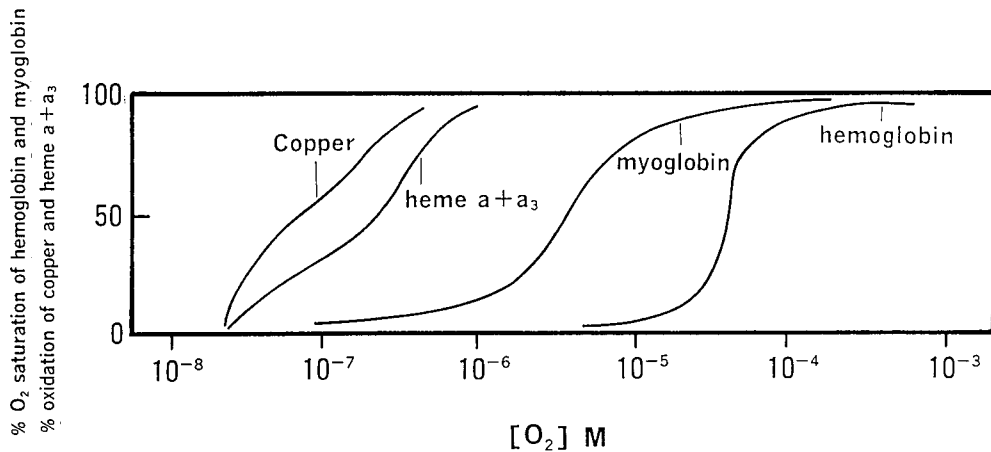


図2 酸素濃度依存性。

による光の減衰の両方を含む。従って、透明試量で成立するベールランバート則を散乱系に拡張すると

$$\log I_0(\lambda)/I(\lambda) = \sum \epsilon_i(\lambda) \cdot C_i \cdot \beta(\lambda) \cdot D \quad (2)$$

ここで $\beta(\lambda)$ は散乱によるみかけの光路長の補正係数,したがって $\beta(\lambda) \cdot D$ は波長 λ での光子の真の光路長(pathlength)である。すなわち(1)一式と異なり,光路長は波長で異なる。しかしながらこの場合も”散乱と吸収は独立”の関係が仮定されている。

Fig.3 に実際の生体組織でのベールランバート則を示す。ラットの頭部を最初血液を含まない人工血液で灌流し,その透過光量を $I_0(\lambda)$ とし,次に種々の濃度の血液(ヘマトクリット)を流し,透過光量を測定する。横軸にヘマトクリット,縦軸にこの時の $\log I_0(\lambda)/I(\lambda)$ をプロットすると,おのおのの波長で直線を与え,(2)一式における1成分の場合が実際の生体組織で成り立つ。すなわちベールランバート則が成立する。したがって,生体組織では吸収と散乱が独立に振る舞うと考えてよい。この事実が(2)一式に基づいた連立方程式から血液の酸素飽和度を求める種々の試みを保証している。さて,散乱項である $\beta(\lambda) \cdot D$ を吸収とは別に求めるのは不可能なので,より一般的には多成分系を

$$\log I_0(\lambda)/I(\lambda) = \sum k_i(\lambda) \cdot C_i \quad (3)$$

と書き, k_i に吸光係数と散乱による光路長の補正項を含ませ,実験的に実際の生体組織で求める方法が行なわれている。言い換えると,生体(in vivo)での吸光係数をどう決めるかがこの手法の最大の問題となる。我々は Fig.3 の傾きから各波長でのヘモグロビンの吸

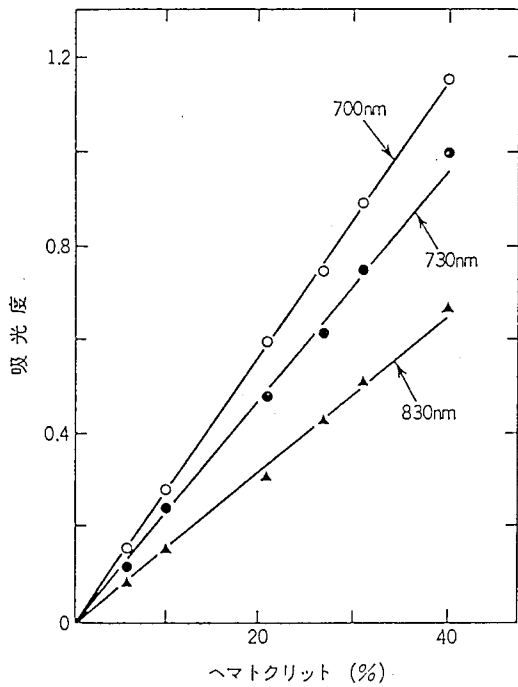


図3 脳灌流系におけるベールランバート則。

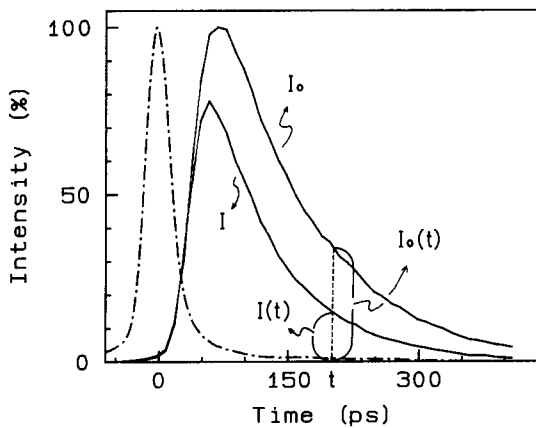


図4 散乱系における時間分解ベールランバート則。

光係数の比を求め、連立方程式を解く方法を採用した。

3) 散乱系での定量化 (パルス光の場合) —

時間分解計測法の利用

散乱系において(2)式あるいは(3)式からわかるように濃度 C_i の絶対値を求めるには散乱項を求めなければならない。照射された光子は粒子によって散乱を受け光路が曲げられる。この過程が実際の生体組織では多数回繰り返され(多重散乱), その結果, 光路長は物理的な光路長より長くなる。まず, 散乱による光の

減衰項はすべて実効光路長と物理的光路長との差に起因するという基本原理を調べてみよう。この場合散乱系での光子の実効光路長は光子の飛行時間 (time of flight) 測定から求められる。Fig.4 に我々のパルス光を用いる解析のすべての出発点である“時間分解ベールランバート則”を模式的に示してある。ここで I_0 は吸収物質が存在しない時, I は吸収物質が存在する時の透過光強度である。今光路長は時間と光速の積であるから, 時間 t における吸光度は,

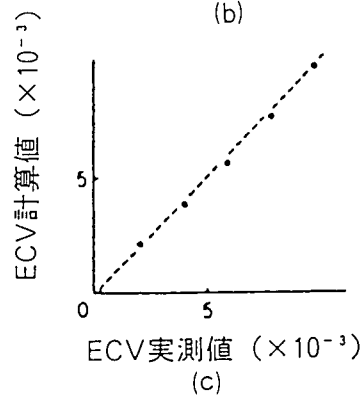
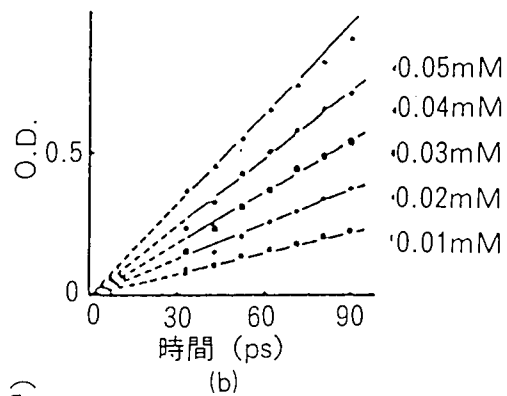
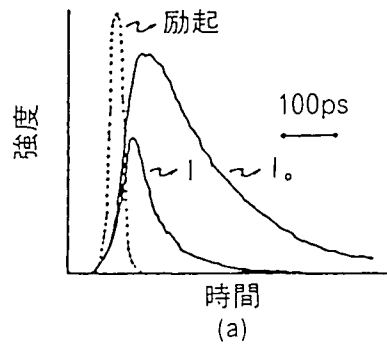


図5 牛乳サスペンション系における式(4)のプロット。実験データと $V=0.23 \text{ mm/ps}$ を用いた計算値。

$$A(t) = \log I_0(t)/I(t) \\ = \epsilon \cdot C \cdot D(t) = \epsilon \cdot C \cdot V \cdot t \quad (4)$$

と書ける。A(t)；吸光度、D(t)；光路長、 ϵ ；吸光係数、V；系における光速度である。Fig.6 (a)に生体組織のモデル系として牛乳溶液に吸収体であるヘモグロビンを加えた時の各ヘモグロビン濃度と $\log I_0(t)/I(t)$ の実測値を時間 t に対しプロットしたものである。(4)一式で予想される直線関係が得られる。直線の傾きは単位の時間あたりの吸光度であるから、水中の光速度を 0.23 mm/ps とすれば、単位の距離あたりの吸光度に換算される。この傾きは加えたヘモグロビン濃度に比例する。したがってヘモグロビン濃度で割ると吸光係数が散乱系で求まる。Fig.5 (c)は実測した ϵ と透明溶液で求めた結果を比較したもので両者は一致する。したがって次の重要な結果を導くことができる。

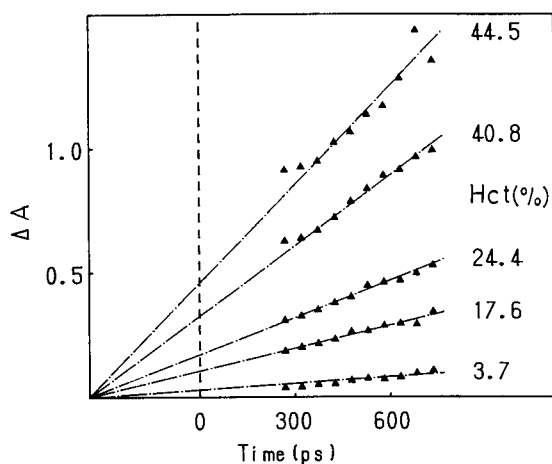
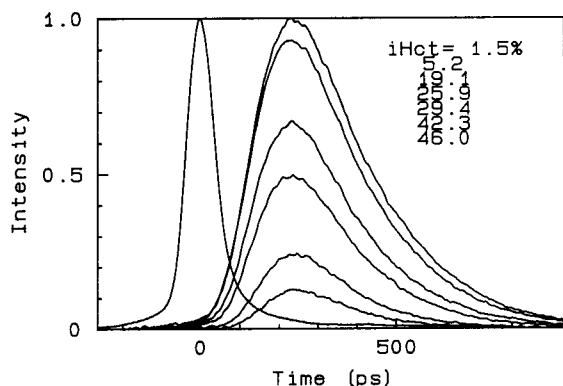


図6 ラット頭部における Time of flight 測定。(A) ラット血液を人工血液 (FC-43) で置換。(B)式(5)のプロット。

“散乱系で透過した光の光路長分布は吸収に依存せず、各光子が通る直線的、あるいは非直線的な光路に沿ってその強度が指数関数的に減衰する。このとき散乱による見かけの吸光係数の透明試量との差はすべて光路長の差に帰属し、吸光係数そのものは散乱の影響を受けない”。

この結論が実際の生体組織で成立し得ることを確かめたのが Fig.6 の実験である。麻酔ラットの頭部に 40 ps のパルス幅を持つ 1,064 nm のパルス光を照射し、透過光を時間分解する。ラットの全身の血液を人工血液に置換した際の透過光プロファイルを図7 (a)に、(4)一式のプロットを(b)に示す。ここで $I_0(t)$ (血液のないラット) は得られないので 1.5%ヘマトクリットのカーブを基準にして $\Delta \text{Abs}(t)$ をプロットした。したがって、

$$\Delta \text{Abs}(t) = \log I_{\text{ref}}(t)/I(t) \\ = \epsilon' \cdot \Delta \text{Hb} \cdot V \cdot T \quad (5)$$

となる。(b)図からわかるように $\Delta \text{Abs}(t)$ は時間に対し直線を与え、その傾き、 $\Delta \text{Abs}(t)/t$ は単位の時間あたり (言い換えると 0.23 mm あたり) の絶対吸光度変化となる。吸光係数、 ϵ' は酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの透明溶液での値と、実際のラットでの動脈血、静脈血の割合から決まる。したがって ΔCHb の絶対値が求まる。すなわちパルス光を用い時間分解することにより、単位時間 (距離) あたりの絶対吸光度変化が求められる。この原理も散乱と吸収は独立であるという事実由来する。

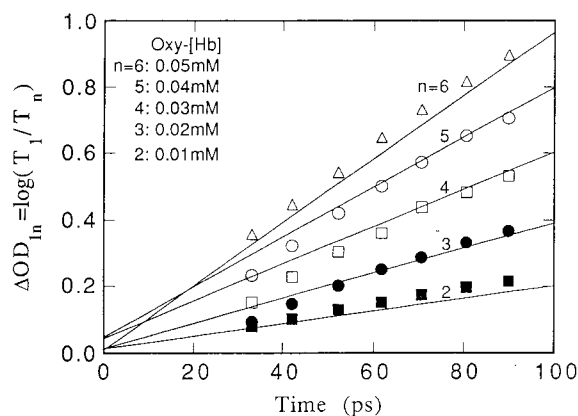


図7 図5の実験のモンテカルロ法によるシミュレーション。

3. 散乱系での光子の振舞い

定常光を用いた巨視的なベールランバート則(式3)は、微視的なベールランバート則(式4)から各光路の吸収による強度変化を時間で(光路で)積分することにより容易に導かれる。したがって実験的に得られた(4)式を理論的に証明できれば我々は生体分光学的もっとも基本的である定量性を確信し得る。散乱による光路の変化は散乱粒子と溶媒の屈折率の比で決まり、光子と粒子との衝突はランダム過程とすると、モンテカルロ法でシミュレーションが可能である。今照射された光子は散乱系を進む際、ある距離ごとに散乱体(吸収体を含む)に衝突し、任意の方向に散乱される。この散乱によって強度は $\mu_s/(\mu_s + \mu_a)$ で減衰する。ここで μ_s と μ_a は散乱および吸収係数である。生体組織の持つ強い前方散乱を考慮して実際にシミュレーションを行なうと Fig.7 となり, Fig.5 に対応したベールランバート則が再現できる。このことから、実験的・理論的にも(4)式は妥当であろう。

ここでモンテカルロ法から次の結果も導かれる。すなわち、生体組織のような強い前方散乱を含む多重散乱系では直進光はほとんどない—10 cmの厚さでは入射光量の $10^{-10} \sim 10^{-12}$ 以下である。したがって以下に述べる光CTの実験には直進光の選び出しと、それによるCTの実験には実用上はほぼ不可能である。実際の頭部の散乱による光路長の大幅な増加を Fig.8 に示す。~50 ps の630 nm のパルス光をライトガイドを介して照射し、もう一方の受光用ライトガイドで受光、TACに導く。照射-受光のライトガイドを10 cm離れた時、照射後2 nsから立ち上がり、最大値が3 nsでその後指数関数で減少する。今光子が10 cmの距離を直進すれば~440 psで光子が検出されるはずである。このことから人頭部では散乱によって、物理的な距離の~5倍程度光路長が長くなっている(人頭部を30 cmとすれば数回程度光は頭の中を走り回っている)。1,064 nmの近赤外光の結果を(b),(c)に示す。手のひら、腕で透過した光の半値幅は入射光の約4倍であった。このことから、我々の生体組織では波長に依存するが、近赤外領域で4~5倍光路長が長くなっている。

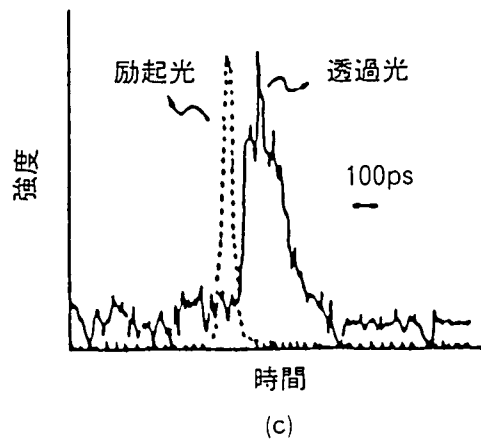
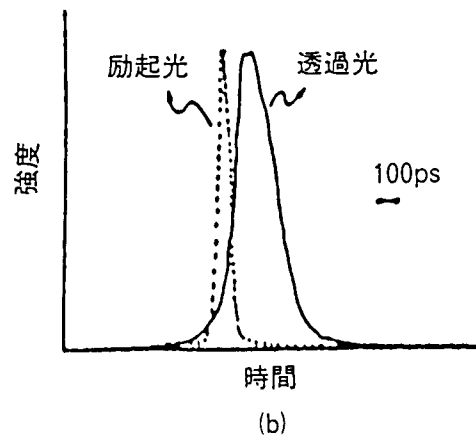
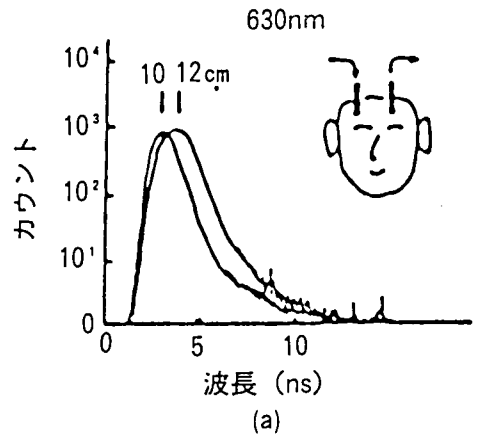


図8 (A)人頭部, (B)手掌, (c)人の腕の Time of Flight 測定。

4. 時間分解法を利用した光CTの可能性—現況

現在の光CT法は大別すると何らかの手法を用いて直進光を選びだし、その後X線CTと同様なアルゴリ



図9 モンテカルロ法による散乱光の光路。

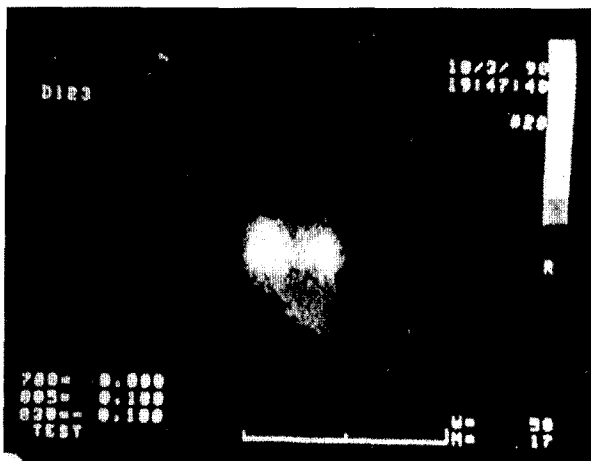


図10 ラット頭部の光CT像。

ズムを用いて画像再構成を行う方法と、散乱された光をも取り入れて再構成する方法に分かれる。現在まで前者の試みが大部分である。ところでモンテカルロ法は生体組織での光の挙動を比較的よく再現でき、用いたパラメーターも合理的なので、シミュレーションからかなりいろいろな事実が予測できる。Fig.9は中井らによって得られた散乱光の軌跡を示したもので光の入射点に対し180°向い合わせで出射点にたどりつく光は、光軸の付近をまわりつくような光-近軸散乱光-が大部分である。これは前方散乱が比較強いのので一度散乱された光が元に戻る確率が低いことによる。したがって出射光に強くコリメートをかけると、検出された光は“直進光”に近くなる。Fig.10はこの原理に基づいて空間的に直進光を選びだして(X線CTのアルゴリズム)ラット頭部を画像化したものである。左右の脳が明瞭に見られる。ピコ秒分光法によるCT画像を得るには時間ゲートをかけて、散乱体

を透過した光の名kde最短時間で検出されるものを選びだしてこれを直進光としてその後はX線CTと同じアルゴリズムを使う方法^[5]と時間分解されたすべての散乱光を用いる方法とがある。この方法は、散乱光の時間分解計測から微視的なベールランバート則を用いて、直進光の吸光度を推定するもので、直進光が生体組織ではほとんど存在しない事実を考えると有力な方法であろう。

他に keer シャッターを用いて散乱光の中から直進成分(時間で分割)を抜き出す方法や、コヒーレンスを利用して時間ゲートをかける手法^[2]も提案されている。

5. 終わりに—基本原理の確立を

ピコ秒、フェムト秒分光やコヒーレンス分光などレーザーの出現と光通信の進歩によって、従来の生体分光学の技術的ネックは確実に取り除かれようとしている。我々は(3)、(4)-式から吸収と散乱が独立して扱う立場を取っているが、世界の趨勢は“光路長は変化する”と主張している。もしそうであれば光CTの画像再構成において散乱系で吸収変化の画像は作れるか問題であろう。また(3)-式に基づくすべての酸素モニターはその根拠を失う。

繰り返すが、散乱系での直進光は 10^{-10} ~ 10^{-12} まで低下する。したがってどのような手法を用いても直進光のみで画像を得ることは人を対象とした時、実用的に不可能である(検出器の感度が 10^4 程度よくなれば話は別だが)。このため散乱光を利用した新しいアルゴリズムが必須である。

散乱系におけるコヒーレンスの問題はきちんとは理解されていない。散乱された光もコヒーレンスを持つのは、コヒーレント光のみを散乱系から選びだしても、それは必ずしも直進成分とは断定できない。時間的に制限するか(散乱されても最短時間で検出される)、空間的にコリメートする必要がある。我々はもう一度散乱系における光の振舞いの基本に戻って、原理を確立すべきである。ここを曖昧にしてはどんなに“技術”進歩しても砂上の楼閣である。

ピコ秒フェムト秒領域の時間分解計測法が病院で用いられる日もそう遠くはないであろう。(4)-式の原理にしたがってFig.3で用いた酸素モニターの光源と検出器を時間分解計測システムに置きかえれば(たとえ

ば近赤外ピコ秒レーザーと TAC かストリークカメラ), 頭部表面からいろいろな深さ(脳の領域)の酸素濃度を知ることができる。丁度, 音速を利用した超音波断層法と同様に, 光速を利用した光断層法は目の前にあり, 我々は, “time slicing” による人体の酸素濃度分布の輪切り像を夢見ている。CCD カメラなどの 2

次元検出器を用いた生体計測の反射光で(2)-式あるいは Fig.3 が証明できたならば, ファイバースコープなどを併用することにより体内の光画像化も大きく進む。必要なことは光の散乱系での振る舞いを基本から確立することである。

【文 献】

O plus E, 1987 年 5 月~1988 年 4 月に“光を使った生体計測—光 CT への道”, さらに, O plus E, 1990 年 5 月~1991 年 9 月までその続編として連載した。これら以外は
[1] Hasegawa Y. et al: Appl. Opt. 30(31): 4515-4520, 1991.
[2] Leith E. et al: Appl. Opt. 30(29): 4204-4210, 1991.

[3] Shinohara Y. et al: J. Cerebral Blood-Flow and Metabolism 11, suppl. 2, s-459, 1991.
[4] Abumi R. et al: J. Clin. Biochem. Nutr. 11: 211-222, 1991.
[5] 田村 守, 星 詳子: 応用物理 63: 232-239, 1994.
[6] 片山 薫, 西村吾朗, 田村 守: 光学 23: 297-303, 1994.