

生体光計測の現状と将来

春名正光

臨床現場ではより無侵襲な生体診断法の開発が切望されており、光計測への期待は大きい。この生体光計測の研究はすでに30年を超え、この間、種々の光計測技術の医療分野への応用が試みられてきた。しかしながら、生体中においては光散乱がきわめて顕著であるために、実用化された生体光計測／診断機器は比較的少ない。光散乱については、微弱光検出による直進光成分の抽出や超短光パルスによる実効光路長測定など、問題解決に向けての基礎研究が精力的に続けられている。このように、生体光計測の分野は未だ発展途上にあり、かつ多岐にわたるので、これを系統的に論ずるのは甚だ難しい状況にある。

さて、体重の60～70%を水が占めるので、生体光計測には水の吸収が少ない光波長域すなわち波長 $1\text{ }\mu\text{m}$ 以下の光を用いる。後述のように、生体における分光・蛍光計測等の波長域は近赤外から可視およびUV光である。これは光メモリーの波長域とほぼ一致しており、GaAs系半導体レーザー(LD)、Nd:YAGの高調波発生やTiサファイア等の固体レーザー、Siフォトダイオード(PD)や光電子増倍管、石英系ファイバーなど、基本的な光部品／素子は整っている。

本稿では、分光、蛍光および干渉計測なる要素技術に分類して生体光計測の現状を紹介するとともに、この分野の重点項目のひとつである光CTの進展について述べる。とくに、生体内構造検出の有力な手段となり得る低コヒーレンス光干渉法について、筆者らの最近の研究成果を中心に述べる。

大阪大学医学部保健学科(〒565 吹田市山田丘 1-7)
E-mail: haruna@sahs.med.osaka-u.ac.jp

1. 医療分野における光計測の現状

1.1 近赤外・可視分光計測

生体の分光計測をもとにした実用装置としてパルスオキシメーターがあり、これは動脈血の酸素飽和度(酸素と結合しているヘモグロビンの割合)を測定するもので、手術室／集中治療室における患者の呼吸状態モニターなどに利用される^{1,2)}。血液中には酸素飽和度100%の酸化ヘモグロビン(HbO_2)と酸素と全く結合していない脱酸素化(還元)ヘモグロビン(Hb)があり、両者の吸光度は波長803 nm(等吸点)で一致し、その短波長側ではHbの吸収が、一方長波長側では逆に HbO_2 の吸収が大である。したがって、動脈血においてもLambert-Beerの法則(透明な光吸収物質の吸光度はその濃度に比例する)が成り立つとすれば、2波長 λ_1 (=650 nm), λ_2 (=900 nm)における動脈血の吸光度を測定することによって、 HbO_2 とHbの濃度が求められる。この濃度の比から酸素飽和度 SaO_2 を得る。市販のパルスオキシメーターの構成は簡単で、指先に近赤外LED光を照射して透過光強度を検出す。透過光強度の中で、心拍動に呼応して脈動する変動部分は動脈血による光吸収であり、変動しない部分は静脈および他の生体組織による光吸収に相当する。

脳内酸素モニターにおいては、患者の前頭部にレーザー光導入と受光用の2本の光ガイドを密着・固定する³⁾。ガイド径は約1 mmであり、測定対象領域はおよそ2本のガイド間の距離を直径とする半球状となる。このとき、三波長の半導体レーザー(LD)を光源として、前記の HbO_2 とHb濃度以外に、細胞内のミトコンドリア中の酸化型チトクローム(CytO_2)と還元型チトクローム(Cyt)の差が測定される。さらに、Hbトポグラ

フィー作成による脳機能計測が行われている^{4,5)}。

以上のようなCWのLEDやLDを用いた血中酸素濃度測定においては、生体内の散乱による光の実効光路長測定ができないので、吸光度やSaO₂の測定値はあくまで相対的であり、個体差があるのはもちろん測定部位によっても異なる。これに対して、生体にピコ秒オーダーの光パルスを照射し、透過フォトンの飛行時間（time of flight）から散乱による光の実効光路長を求め、これをもとに生体散乱系における吸光度の絶対値が得られる⁶⁾。このような超短光パルスによる時間分解測定法は確かに有力な手法であるが、光学系が大規模であり、これを臨床現場に持ち込むのは容易ではない。

分光計測に関連して、黄疸計や体脂肪計が考案されている⁷⁾。黄疸は皮下組織の脂肪がビリルビンによって黄染されることによって起こる。このビリルビンの光吸収は波長500 nm以下の可視光域で顕著である。したがって、この波長域内の異なる2波長の光を表皮から照射して、その反射光強度を比較し、皮下組織中のビリルビン濃度を測定する。一方、近赤外波長域における水と脂肪の吸光度が異なることを利用して、皮下脂肪量が測定できる。

1.2 蛍光計測

蛍光診断は1980年代前半に細胞のCaイオン濃度測定のための蛍光試薬が開発されたのが契機となっている。一例として、Fura-2という試薬では、その吸収光波長ピークは360 nmであるが、Caイオンと結合すると吸収光波長ピークが短波長側にシフトする。したがって、340～380 nmの波長域で2波長で励起し、ある特定波長（550 nm）における蛍光強度を測定してその比を計算すればCaイオン濃度が求められる⁸⁾。

臨床例としては、癌の光線力学的治療法（PDT）に用いる蛍光診断が知られている⁹⁾。まず、光増感色素であるヘマトポリフィリン誘導体（HpD）を静脈注射によって患者に投与する。48～72時間経過すると、正常細胞内のHpDは代謝されて消滅し、新陳代謝が緩慢な腫瘍部にのみHpDが残存する。次に、HpDの吸収ピーク付近のKrレーザー光（410 nm）を患部に照射すると、癌細胞から赤色の蛍光が発生し腫瘍部位を特定できる。HpDは吸収ピークが短波長側にあることが欠点であるが、赤色LDで励起できる光増感色素として、BPD（励起光波長650 nm）、NPe 6（664）、ZnPc（670）、SnFT（659）などがある¹⁰⁾。とくに、体内からの排泄時間が短いNPe 6を対象として、664 nmで出力0.5 Wの赤色LDが開発されている¹¹⁾。また、血管壁に

458 nm Arレーザーを照射すると、石灰化した部位の蛍光強度は正常部位の2～3倍になるので、これを利用してアテローム（動脈硬化部位）の診断が可能である¹²⁾。

対象部位にナノ秒あるいはサブナノ秒の励起光パルスを照射し、時間分解測光により蛍光のダイナミクス（2次元像や蛍光スペクトルの時間変化）を分析できる。前述のHpDが残存する部位の2次元像検出¹³⁾、および330 nm紫外（UV）光パルス照射による歯牙の蛍光寿命測定からその老朽化の度合が推定されている¹⁴⁾。

上述の蛍光診断を中心としてラマン分光等も含めて、光を照射して生体組織検査（生検）を行う手法を総称して光バイオプシー（optical biopsy）と呼ぶ¹⁵⁾。とくに、300 nm UV光を照射して、340と440 nmの蛍光強度比を測定することによって、悪性腫瘍と正常組織を識別できるという報告があり注目された¹⁶⁾。基本的にはUV励起光源と分光器および光ファイバーカーテールを駆使し、画像処理・表示装置を組み合わせて光生体検査システムを構成しようとするものである。

1.3 干渉計測と光ファイバー／導波路の利用

血流速度、血圧などの物理量は光の位相変化として干渉法を用いて検出する。例えば、レーザードップラー血流速度計（LDV）はマッハツエンダー干渉計に光ファイバーカーテールを装着したもので、実時間測定が可能で測定範囲1 cm/s～10 m/s、精度±5%である¹⁷⁾。このLDVシステム全体の小型・安定化を図るために光集積LDVが提案・実現されている¹⁷⁾。このLDVは動脈内の血流速度測定を目的としているが、これに対して、レーザースペックルの周波数分析をもとに皮膚血流の平均値を測定できる¹⁸⁾。

血圧については、心拍動に応じて変化する指の容積変化を近赤外LED光で検出してカフ圧を調整するタイプの容積脈波型血圧計がある⁷⁾。さらに、高精度の血圧計としては、光ファイバーカーテール先端にSiダイヤフラムをもつ微小光共振器を取り付けたセンサー等が提案されている¹⁹⁾。

光ファイバーや導波路を用いた種々のバイオ・化学センサーが報告されているが、中でもファイバー先端部の径が光波長より小さい（～100 nm）細胞レベルのpHセンサーが報告されている²⁰⁾。これはエバネッセント波に基づく近接場光学を利用したものであり、今後の進展が期待される。

2. 光CTの進展

光CTは無侵襲な生体断層像検出の有力な手段であ

り、分光吸収測定などをもとに生体の機能的・生理的情報を画像化することを特徴とする。ここで、光CTの画像再構成の基本は既存のX線CTと同じであり、まず生体内を通過する光の中で、光路が明らかな光の吸収量（投影データ）を測定することが条件である。したがって、光CT実現のキーポイントは、生体内における光散乱の影響をいかに回避して吸収情報のみをもつ透過光（散乱の影響を受けない直進光、または散乱の影響の少ない準直進光）を検出するか、あるいは生体内における散乱光の光路をシミュレートし、これをもとに透過光の散乱係数と吸収係数をいかに分離測定するかである。具体的な手法として、(1)ピコ秒・フェムト秒超短光パルスを用いた透過光の時間分解測定^{6,21)}、(2)光干渉法²²⁾、(3)偏光検出法²³⁾がある。

時間分解測定では、一定の遅延時間の範囲内にある透過光を検出する方法があるが、検出光の中に直進光の数倍以上の実効光路長をもつ散乱光が多く含まれており²¹⁾、鮮明な断層像を得るのは難しい。これに対して、時間分解測定は本来透過散乱光から投影データを得るのに有効である。この場合には、前もって対象とする生体中の光散乱がシミュレートされていることが条件である。そこで、実験によってある特定の散乱光の実効光路長と吸収量を測定すれば、この結果をシミュレーションと対比して画像再構成に必要な投影データが得られる。なお、生体中の光散乱解析については拡散理論とモンテカルロシミュレーションが用いられている⁶⁾。いずれにしても、時間分解測定は光CT実現への重要なアプローチであるが、実用上は大規模なレーザーと検出系を要することが欠点である。

これに対して、直進／準直進光は入射光の波面および偏光を保持しているので、生体透過光と入射光を干渉すれば直進／準直進光を容易に選択検出できる。これについては、コヒーレンス可視／近赤外レーザーを光源とするマッハツェンダー干渉計を用いた光ヘテロダイイン検出法(CDI)が検討されている。この光検出系のダイナミックレンジは120 dB以上であり、ごく最近ではヒト手指や歯牙の鮮明な断層像が得られている²⁴⁾。ここで、光源の波長によって血管の光吸収量が増減するので像パターンが変化する。さらに、偏光検出法では、検光子を介して入射光の偏光を保持する成分のみを選択検出して投影データを収集し、CT像を再構成する²³⁾。これらの光干渉・偏光検出法は、ともに光学系が簡便で、しかもCWのLDを使用できるのが利点である。

すでに述べたように、上記のいずれの手法において

も、被検体を回転してあらゆる方向から光を照射して投影データを収集、これをもとにフーリエ変換・逆投影法で画像再構成する。これに対して、低コヒーレンス光干渉を利用すれば²⁵⁾、生体内で光が反射される位置を特定でき、かつその反射直進光強度を測定できるので、いかなる画像再構成も必要とせずに、生体内的断層像が検出できる。これは超音波診断との関連で光エコー法と呼ぶこともある。最近、生体計測においてこの低コヒーレンス光干渉法が注目されており、網膜化組織の検出・可視化²⁶⁾や眼径／眼底測定²⁷⁾、血管壁の診断²⁸⁾が試みられている。しかし、実際の診断に適用する上で、本手法の検出分解能の定量的評価が未だ十分に行われていない。筆者らは低コヒーレンス光干渉をベースとする光CTについて検討を進め²⁹⁾、この過程で新たな生体組織の屈折率と厚さ同時測定法を提案した^{30,31)}。これに関する最近の成果を次章で述べる。

3. 低コヒーレンス光干渉による生体内構造検出

実験には、スーパーレミネセントダイオード(SLD)を光源とするマイケルソン干渉計を用いた。SLDの中心波長は834 nm、出力3 mWで可干渉距離は $\Delta l_c = 12 \mu\text{m}$ である。この光学系を用いて、×20対物レンズでSLD光を擬似生体を介して微細パターンに集光し、パターン検出における空間分解能を評価した²⁹⁾。ここで、10～30 μm幅のアルミ膜ストライプをガラス基板上に設けたものをテストパターンとして使用した。粉乳懸濁液のように粒径1 μm以下の均一な散乱媒質の場合には、濃度の増加によって検出分解能は極端に劣化することはなく、深さ方向および断面内において10 μm以下の分解能が得られる。一方、鶏肉の場合には、厚さがわずか1.4 mmで検出信号レベルは濃度30 g/lの粉乳懸濁液より約10 dB高いにもかかわらず、微細パターンは全く識別できない。これは鶏肉内における不均一な光散乱による反射光の波面の乱れが原因である。この波面の乱れは干渉光を单一モードファイバーで空間フィルタリングすることによって矯正でき、鶏肉においても10 μm以下の分解能で微細パターン検出できることを確認した。

上記の干渉計で、対象となる生体組織の屈折率をn、厚さをtとすると、この組織からの反射／透過光の位相は $n \times t$ で決まる。すなわち、光CTにおいて正確な幾何学的構造を把握するには、生体組織のnとtを分離測定する必要がある。また、これまでの生体光計測の研究の中で、各種生体組織の屈折率の測定データはほと

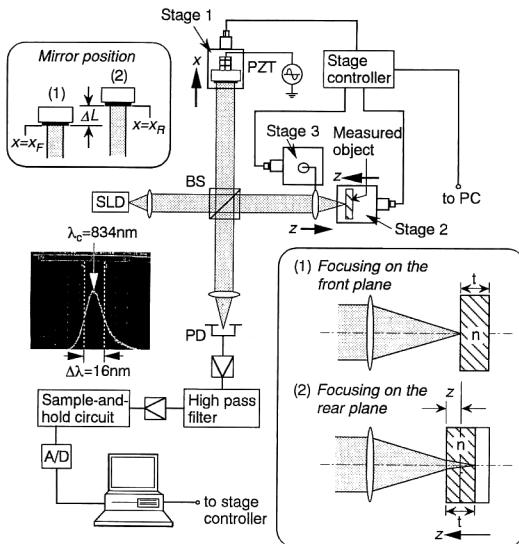


図1 生体組織の屈折率と厚さ同時測定システムの基本構成と測定原理。

んどなく、この測定法を確立してデータを蓄積することが急務である。

筆者らが提案した n , t 同時測定システムを図1に示す³⁰⁾。測定サンプル（または集光レンズ）および参照光ミラーを微動ステージ上に搭載し、ステージの動きに連動して干渉信号をヘテロダイン検波・処理する。サンプルの前面と後面に焦点合わせするのに要する微動ステージ2の移動距離 z 、およびこれに対応する干渉計の光路長差 ΔL を測定する。前もって集光レンズのNAを較正しておけば、これら2つの実測量 z と ΔL から、簡単な計算により、サンプルの n と t を算出できる。測定サンプル走査法では、測定精度は主にサンプルの厚さ t と使用するステージの分解能で決まる。1 μm/ステップのステージを用いれば $t \geq 1$ mm で精度 $\leq 0.1\%$ が得られ、また 0.1 μm/ステップであれば $t \sim 100$ μm で 0.1% 精度である。なお、同種の提案がMITと理研から報告されており^{32,33)}、低コヒーレンス光干渉に対する関心の高さがうかがえる。

実験例として、鶏肉の屈折率の *in vitro* 測定結果を図2に示す³¹⁾。サンプルの前面および後面における干渉信号強度パターン群から最大ピークをもつパターンを抽出して z と ΔL を測定し、これをもとに鶏肉で $n=1.441$ を得た。さらに、本測定法は層状構造の生体組織にも適用できる。一例として2層構造のカニの殻の測定を行っている。

生体表皮下構造の断層像を高分解能で検出するには、

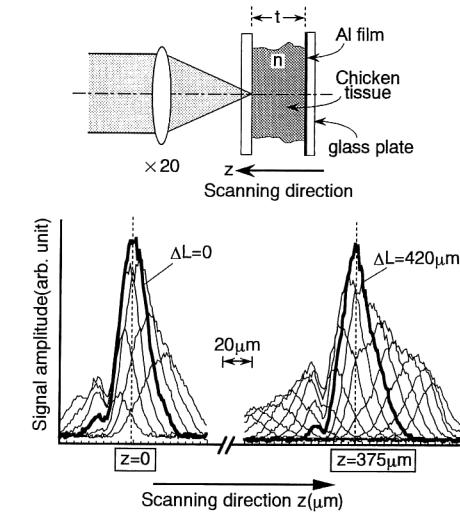


図2 鶏肉における z と ΔL の測定。

n , t 同時測定と先に示した微細パターン検出の2つの手法を統合して、検出信号処理系を整備する必要があり、現在検討を進めている。

4. 展望

医療分野への応用を中心とする生体光計測の現状について述べた。臨床診断における光計測の利点のひとつは、分光により血中酸素濃度測定が可能なことにある。当面はこれを基本とする生体機能計測・可視化の技術開発が継続して行われるであろう。蛍光計測については、ファイバカテーテルを用いた実用的な臨床診断技術の開発が重要であり、さらにUV光励起を含む統合的な生体検査（光バイオプシー）システムの進展が注目される。

光CTについては、CWレーザーを用いたヘテロダイン干渉法（CDI）や偏光検出法によるCT像再構成が具体化され、投影データ収集時間の短縮を含めた技術の改善が望まれる。さらに、低コヒーレンス干渉を用いた光エコー法は表皮下数mmの範囲内の生体構造の高分解能検出が可能であり、眼科領域などの臨床応用が期待できる。また、低コヒーレンス干渉をベースとする新たな n , t 同時測定法が提案され、これを用いて各種生体組織の屈折率測定データを蓄積する必要がある。

一方、直進光が検出できない生体散乱系では、超短光パルスを用いた散乱光の実効光路長測定が必要であり、CT像再構成理論・アルゴリズムの確立が課題である。

このように、生体光計測は、分光・蛍光・干渉計測

に加えて、光波のコヒーレンスや偏光そして超短光パルス技術やナノ・ピコ秒分光、近接場光学など、幅広い光波制御技術を包含して進展しており、大変興味ある学際的研究分野である。しかし、単に先端光計測技術を医療分野に適用するだけでは、実用的な光診断機器にまで発展するのは難しい。別の見方をすれば、生体と光の作用機序に基づいて、光計測／診断で何ができるかを明らかにすることが大切である。今後、生体物理光学に立脚した光計測技術の展開が望まれる。

文 献

- 1) 青柳卓雄、鵜川貞二：“パルスオキシメータの原理と構造”，*Clin. Eng.*, **7**(2) (1995) 102-110.
- 2) 浜岡隆文、岩根久夫：“近赤外光を用いた運動中の筋組織の酸素動態”，日本ME学会誌, **8**(11) (1994) 22-29.
- 3) 高木真一：“近赤外線による脳内酸素モニター”，新医療 (1993.10) 138-140.
- 4) 田村 守：“光による脳機能計測”，*光学*, **24** (1995) 25-26.
- 5) A. Maki, Y. Yamashita and Y. Ito: “Spatial and temporal analysis of human motor activity using noninvasive NIR topography,” *Med. Phys.*, **22** (1995) 1997-2005.
- 6) 田村 守：“統・光を使った生体計測—光CTへの道— 第1～13回”, O plus E, 1990. 5～1991.9.
- 7) 小西雄一郎、坂井隆夫：“1.5無侵襲光計測機器”，福祉・医療分野におけるオプトメカトロニクス機械に関する調査研究報告書，(社)日本オプトメカトロニクス協会編（機械振興協会・経済研究所, 1991) pp. 109-117.
- 8) 藤正 嶽：“医用オプトエレクトロニクスの未来技術”，日本ME学会誌, **BME 8**(5) (1994) 1-9.
- 9) 稲場文男、佐藤俊一：“4.1癌細胞分析のための光センシングの動向”，「光波利用センシング」成果報告書, 田中俊一編 (オーム社, 1990) pp. 323-326.
- 10) 渥美和彦：“レーザー技術による未来医学への挑戦”，日本レーザー医学会誌, **13**(2) (1992) 39-46.
- 11) 前田博史、猪吉 輝、金田 明、遊津隆義、南谷晴之、會沢勝夫：“光感受性物質 Mono-L-aspartyl Chlorin e6 による実験腫瘍の蛍光画像解析”，第14回日本レーザー医学会大会論文集 (1991.10) pp. 325-327.
- 12) M. Sartori, R. Sauerbrey, S. Kubodera, F. K. Titel, R. Roberts, P. D. Henry: “Autofluorescence maps of atherosclerotic human arteries—A new technique in medical imaging,” *IEEE J. Quantum Electron.*, **QE-23** (1987) 1794-1797.
- 13) R. Cubeddu, P. Taroni and G. Valentini: “Time-gated imaging system for tumor diagnosis,” *Opt. Eng.*, **32** (1993) 320-325.
- 14) 荒木 勉：“ナノ秒顕微蛍光観測によるヒト歯牙組織の診断”，第10回光波センシング技術研究会講演論文集, JASPA: AP 923130 (1992.12) pp. 21-26.
- 15) A. Katz and R. R. Alfano: “Optical biopsy—Detecting cancer with light,” *LEOS Newsletter* (1996. 2) 6-7.
- 16) G. C. Tang, A. Pradhan and R. R. Alfano: “Spectroscopic differences between human cancer and normal lung and breast tissues,” *Lasers Surg. Med.*, **9** (1989) 290-295.
- 17) 春名正光、西原 浩：“14.1血流速のレーザー計測”，先端レーザーテクノロジー, レーザー学会編 (日経技術図書, 1992) pp. 598-601.
- 18) 藤居 仁：“レーザースペックル法による末梢循環の画像化”，*光学*, **18** (1989) 256-257.
- 19) R. Wolthuis, G. L. Mitchell, E. Saaski, J. C. Hartl and M. A. Alfromowitz: “Development of medical pressure and temperature sensors employing optical spectrum modulation,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **38** (1991) 974-981.
- 20) W. Tan, Z. Y. Shi, S. Smith, D. Birnbaum and R. Kopelman: “Submicron intracellular chemical optical fiber sensors,” *Science*, **258** (1992) 778-781.
- 21) S. A. Engels, R. Berg, S. Svanberg and O. Jarlman: “Time-resolved transilluminations for medical diagnostics,” *Opt. Lett.*, **15** (1990) 1179-1181.
- 22) 戸井田昌宏、稻場文男：“レーザーを用いたコヒーレント検出画像計測方式—生体光CTの実現—”，レーザー研究, **19** (1991) 76-93.
- 23) H. Horinaka, K. Hashimoto, K. Wada, Y. Cho and M. Osawa: “Extraction of quasi-straightforward-propagating photons from diffused light transmitting through a scattering medium by polarization modulation,” *Opt. Lett.*, **20** (1995) 1501-1503.
- 24) B. Cevaraji, M. Takeda, M. Kobayashi, M. Usa, K. P. Chan, Y. Watanabe, T. Yuasa, T. Akatsuka, M. Yamada and H. Inaba: “*In vivo* laser computer tomographic imaging of human fingers by coherent detection imaging method using different wavelengths in near infrared region,” *Appl. Phys. Lett.*, **69** (1996) 3671-3673.
- 25) K. Takada, I. Yokohama, K. Chida and J. Noda: “New measurement system for fault location in optical waveguide devices based on an interferometric technique,” *Appl. Opt.*, **26** (1987) 1603-1606.
- 26) D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito and J. G. Fujimoto: “Optical coherence tomography,” *Science*, **254** (1991) 1178-1181.
- 27) W. Drexler, C. K. Hitzenberger, H. Sattmann and A. F. Fercher: “Measurement of the thickness of fundus layers by partial coherence tomography,” *Opt. Eng.*, **34** (1995) 701-710.
- 28) G. J. Tearney, S. A. Boppart, B. E. Bouma, M. E. Brezinski, N. J. Weissmann, J. F. Southern and J. G. Fujimoto: “Scanning single-mode fiber optic catheter-endoscope for optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, **21** (1996) 543-545.
- 29) 白石偉久、近江雅人、春名正光：“低コヒーレンス光干渉による生体内構造の高精度検出一分解能評価の基礎的検討—”，電子情報通信学会研究会資料, MBE 95-116 (1995) 41-48.
- 30) M. Ohmi, T. Shiraishi, H. Tajiri and M. Haruna: “Simultaneous measurement of refractive index and thickness of transparent plates by low coherence interferometry: Proposal and demonstration,” *Proc. Int. Conf. Opt. Fiber Sens.*, We 3-40 (1996) pp. 322-325.
- 31) 田尻秀幸、白石偉久、近江雅人、春名正光：“サンプル/レンズ走査低コヒーレンス光干渉を用いた生体組織の屈折率と厚さ同時測定—測定原理の提案と基礎実験—”，第35回日本ME学会講演36, JJME, 34 Suppl. (1996) p. 200.
- 32) G. J. Tearney, M. E. Brezinski, J. F. Southern, B. E. Bouman, M. R. Hee and J. G. Fujimoto: “Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, **20** (1995) 2258-2260.
- 33) T. Fukano and I. Yamaguchi: “Simultaneous measurement of thickness and refractive indices of multiple layers by a low-coherence confocal interference microscope,” *Opt. Lett.*, **21** (1996) 1942-1944.

(1997年5月9日受理)