

無侵襲血糖値測定法の現状と課題

田 村 守

Non-Invasive Blood Glucose Measurement: Summary and Future

Mamoru TAMURA

The various non-invasive optical techniques for the monitoring of blood glucose are summarized. These techniques include the direct measurements of the human skin spectra in the wavelength range from 700–1100 and 1200–1700 nm of near-infrared region. The optical techniques detecting the changes of reflection index, polarization, and light scattering due to the changes of glucose concentration are also described. The near-infrared spectrophotometric glucose measurements are given in detail, where the combined use of multicomponent analysis is employed. The observed results are in the acceptable range of accuracy for the clinical use.

Key words: near-infrared spectrophotometry, multicomponent analysis, optical blood glucose measurement, diabetes

ヒトを対象とした血糖値の計測法は、侵襲型（観血型）と無侵襲型（非観血型）に大別され、現在広く一般的に実用化されているのは前者である。この場合、指尖から極小な針などを用いて～1滴程度の血液を毛細管現象を利用して採取、そのグルコース濃度を測る。この際、グルコース酸化酵素を用いた酵素法（生じた H_2O_2 を電気的に測る）が一般的であるが、直接電極でグルコースを測る方法もある。このパンチ式の測定精度は臨床的には問題ないが、日に3～4回の計測が必要な患者にとって、通常の生活時ににおける採血のわずらわしさ、あるいはまだ痛みが少しは伴うため、小児や新生児などでの使用、特に就寝時の使用で課題が残っている。また、血糖値変動が大きい重症時、あるいは手術下などで、連続計測が要求されるときに対応が難しい。しかし、計測法としてはすでに確立しており、現在は痛みの軽減、あるいはコンパクト化などの改良が続けられている。今後のひとつの方向として、体内埋め込み型の装置が試みられている。これは、最終的にインシュリン注入のためのマイクロポンプと連動させ、完全埋め込み型人工臍臓のセンサーとして用いるものである。実用化に近

いものとして、Medical Research Group 社の装置 (http://www.minimed.com/corpinfo/rpt_00/files/pgl8.htm) があり、中心静脈にセンサーを留置、連続的（1分ごとに1～2年の連続使用）な計測を行う試みがある。一方、グルコース濃度を電極で測る原理は同じであるが、血液のかわりに細胞間液（interstitial fluid; ISF）を測る手法がある。これは皮膚などの細胞間の浸出液（ISF）が血中グルコースとほぼ平衡になっている生理的事実を利用するもので、皮膚にプローブを装着し、このISFを減圧吸引して数 μl 程度集め、酵素電極などで測るものである。このタイプで腹部の皮下に埋め込む MiniMed 社¹⁾ のものは、米国 FDA の承認を得て、数日間の血糖値連続モニターとして使われようとしている。無侵襲型として、この細胞間液のグルコース濃度を測る究極に近い血糖計測装置が、Cygnas 社からグルコウォッチ²⁾ の名で発売されている。これはその名の通り、腕時計の大きさで手首に装着し、12時間の連続測定が可能である。この装置の出現は世界に大きなインパクトを与える、多くの医療従事者や企業が飛びついたが、細胞間液を電気的な浸透圧差で集めるため、応答速度が遅く1

つの計測に 20 分程度かかり、急激な血糖変動に追いつかない危険性が指摘され、臨床現象では必ずしも広く受け入れられていないようである。この意味で、多くの糖尿病患者が強く望んでいるようなコンパクトで無侵襲な計測装置の開発は、再び振り出しに戻った感がある。しかし、最終的な血糖値モニターとして現実的なあるべき姿を示した点で、今後どのような改良発展がなされるか興味深い。

無侵襲血糖計測装置は、多くの企業（おもにベンチャー）から、現れては消え現れては消え、の繰り返しである。この 1 年、世界の耳目を集めているのはインピーダンス変化を利用した手法で³⁾、種々の異なった周波数を用いて人腕などの組織のインピーダンス変化と採血で得られた血糖値との相関から血中グルコース濃度を測定するもので、すでに臨床テストが行われている。今のところ、測定原理、その他の内容はブラックボックスなのでよくわからないが、生体では、多くのイオン類その他があり、どうして選択的にグルコース変動と関連づけられるのか筆者には不思議ではある。おそらく、今後もいろいろなユニークな手法が生まれてくる可能性があるが、次に述べる血糖値の無侵襲計測法の開発でしばしばされる“天使の誘惑”には注意が必要である。

1. 光学的計測法による血糖値計測

“光学的手法による血糖値の無侵襲計測”は、過去 50 年にわたって医療機器開発の歴史の中で見果てぬ夢であった。この間、GE や Siemens、また Beckman や Perkin-Elmer などの世界の代表的医用機器、分光器メーカーや 50 を超える大学、研究室、そして 30 以上のベンチャー企業が実用化を追い求めたが、現時点までこれらの試みはほぼ失敗に終わったといわざるを得ない。分光学の原理的立場からいえば、筆者らが論文⁴⁾を投稿した際のレフリーの次のコメントに尽きる。「グルコースの吸収極大である～1600 nm 付近の吸光係数と、～2 mm 程度のセルの厚さ（光路長）を考えると、臨床医学で求められる ±10 mg/dl の精度で測るには～10 μA ($A \approx 0.00001$) が測れなければならない。このような分光光度計は世の中にはない！」

この事実に基づく限り、光学的血糖値計測は“不可能”である。しかし、なぜ“原理的に不可能”なのに繰り返し多くの論文が発表され、また企業や、研究者がその実用化を試みてきたのだろうか。筆者はもともとこの“不可能”的立場をとっており、約 10 年ほど前に光学的血糖計測の第一次ブームで（今はおそらく第二次ブーム）欧米のベンチャーが示していたいかにも測れそうなデータを見て、どう考へてもおかしい、測れるはずがない、と相談にこられ

た多くの企業の方に答えていたのを憶えている。

ところで、無侵襲血糖計測に関して、筆者が密かに“天使の誘惑”とよんでいる奇妙な事実がある。例えば、ヒトから血液を採取して、その血中グルコース濃度を変え、このときの横軸にグルコース濃度、縦軸に 700～2000 nm の領域を適当に選び、各濃度における吸収スペクトルや特定波長の吸光度変化を求め、多変量解析のプログラムに放りこむと、不思議なことに相関係数が 0.7 程度で直線が引ける。さらに一步進んで、糖負荷などで被験者の血糖値を変動させながら、直接ヒトの皮膚の反射スペクトル、あるいは指などの透過スペクトルを測定し、同時に血中グルコース濃度を求め、両者を多変量解析に基づいて回帰直線を求めるとき、意外に直線が得られる場合がしばしばある。これらの結果をみれば誰もが、これならば光で血糖値を測れそうだと説得されてしまうだろう。しかし、それからが泥沼である。この再現性のない泥沼にはまるのはいくつかの理由がある。ひとつは、測定対象はグルコース以外に脂肪やタンパク質、あるいは多くの電解質など数十種類のものが混在し、この量は日によって大きく変わるからである。特に、水が最大の光吸収物質であり、生体の水分量は日々変動している。また、700～1100 nm では血液のヘモグロビンが強い吸収をもち、ほとんどの物質の光吸収をマスクする。注意していただきたいのは、一般的に検量線をつくるとき、グルコースのみを変化させ、あるいは測定して、同時に測定された分光学的パラメーターとの間で重回帰などを用いるので、実際のヒトにおける計測ではこれらのバックグラウンドは一定ではなく、得られた結果に対し大きなばらつきを与える。あるいは個々のヒトの解剖学的、例えば皮膚の厚さあるいは生理学的ばらつきは、しばしば装置のもつ計測誤差の範囲を超える。

これらの問題点を参考にしながら、以下に、現行の種々の“光学的血糖計測”をながめてみる。

2. 光学的手法による血糖計測の現状

図 1 に、代表的な光学パラメーターを用いる血糖計測法をまとめてある。この中で、グルコースの直接的な分光情報、すなわち吸収スペクトルを利用する手法が最も単純であり、また研究も多い。この中で、700～950 nm, 1000～1500 nm, 1400～1900 nm の 3 つの波長領域が使われている。まず、最もオーソドックスな手法を図 2 に示す。この分野のパイオニアの一人でもある Heise らの結果で⁵⁾、比較的信号が大きい（血管分布が大きい）口の中の皮膚の反射スペクトルを求めている。彼らは同時に、直接血液から求めた血糖値との間に図 3 のような直線関係を得、相関係

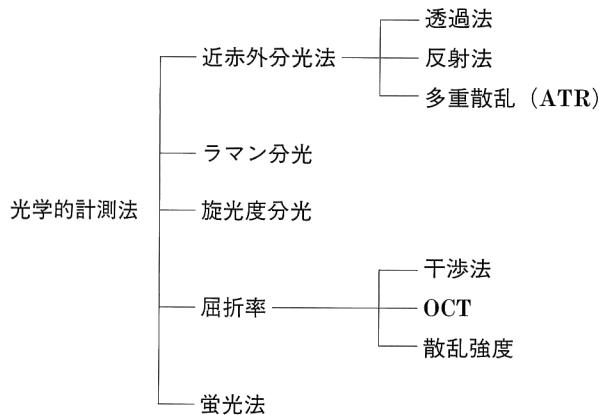


図1 光学的手法を利用した血糖計測法。

数は0.95であった。

次に、1000 nm付近の測定例を示す⁶⁾(図3)。この場合、感度を上げるために光路長を長くする目的で、多重反射プリズム(ATR)を唇に当てて測定している。この場合も、実測血糖値と良好な直線関係となる。次に、より短い波長を用いた計測例を図4⁷⁾に示す。ここでは、指の透過光を利用している。864, 874, 884 nmでの予測値とよい直線が得られている。この波長領域は1000 nm以上の領域よりも光の透過性も高く、したがって光路長が長くとれ、また光源も含め検出系も高感度であり、分光光度計として手のひらに乗るような小型のものが市販され、これを使った血糖計測の報告もみられるようになってきた。図2～4の計測は基本的に組織中の血液のグルコース濃度を測定しているが、細胞間液あるいは細胞内グルコース濃度も同時に検出される可能性がある。そこで、血液の信号のみを取り出すため、動脈の拍動成分のみを取り出すパルスオキシ

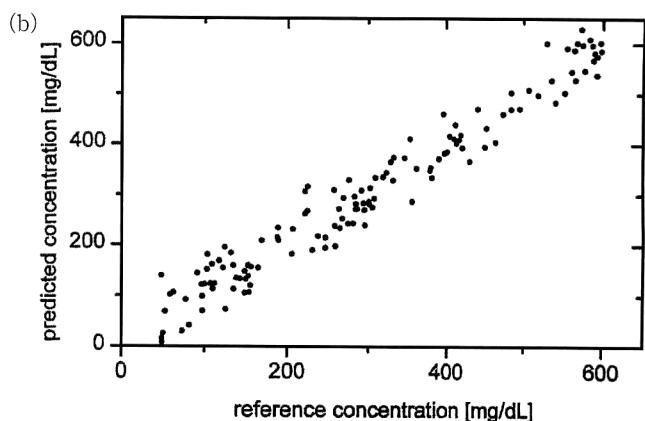
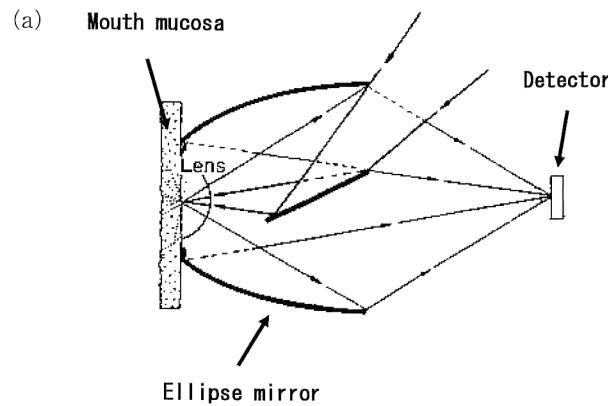


図2 (a) Heise⁵⁾による口腔粘膜の反射光測定によるグルコース計測例。反射光量をかせぐため楕円鏡を用いた。(b) 実測値(血中グルコース濃度)と予測値の相関。

メーターの原理を応用する試みもなされている。

次に、必ずしもグルコースに特有な分光パラメーターを用いない手法を紹介する。図5は、グルコースの旋光度(α_D)を利用するもので、眼の涙(前眼房水)に光を通し

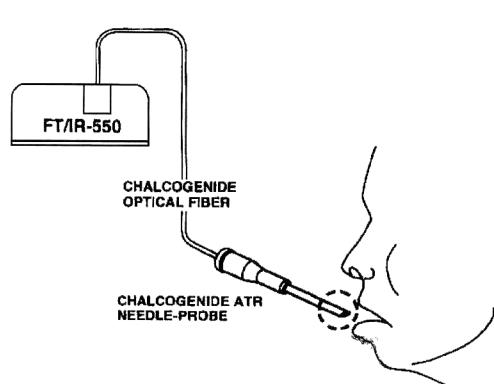
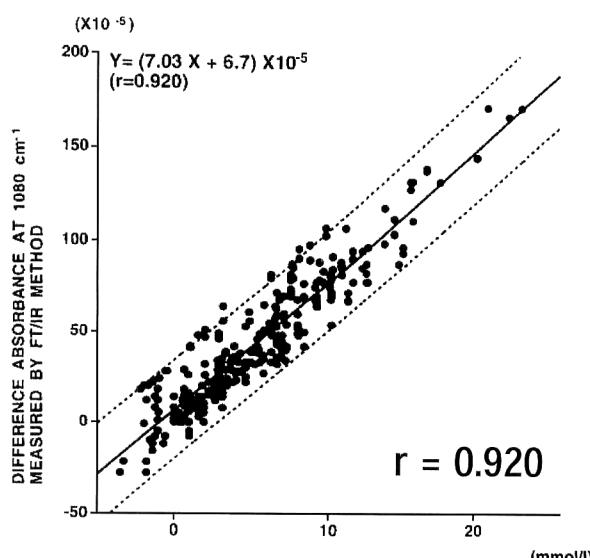


図3 1000 cm⁻¹付近でのATRプリズムを用いた血糖値と吸収強度との相関。



旋光度を求め、その値と検量線からグルコース濃度を算出する⁸⁾。グルコース濃度と直線関係が得られているのがわかる。涙は透明なので、後で述べる血液や皮膚などの光散乱によるアーティファクトがないのが利点である。溶媒である水の屈折率も、グルコース濃度が変われば変化する。したがって、この屈折率変化を検出すればよい。この手法の中で、光の干渉を利用すれば精度よく測れる。そこで、直接光の屈折率をマイケルソン型の干渉計で測定する試みもある。この中で、図6にOCT(optical coherence tomography)を利用した結果を示す⁹⁾。本来のOCTは、散乱により反射されて戻ってきた光はさまざまな距離(光路長)を通過したもののが混じったものなので、その中から参照光と同じ距離を飛んだ光のみをコヒーレント長の短い光の干渉で取り出すものである。したがって、参照光の距離を一定にしておくと、測定光が通った媒質の屈折率が変われば光の速度が変わるので、干渉光強度が変化する。これを検出するもので、明らかに血中グルコースと直線関係がみられる。このほかに、屈折率の変化は光散乱の強度変化を引き起こすので、この散乱強度変化を反射光強度で求める方法もある。しかしながら、生体組織液で屈折率を変える物質はほかにいくらでもある。例えば、血中の脂肪などは、食事により数倍以上簡単に変わる。どうやってグルコースを区別できるのだろうか。

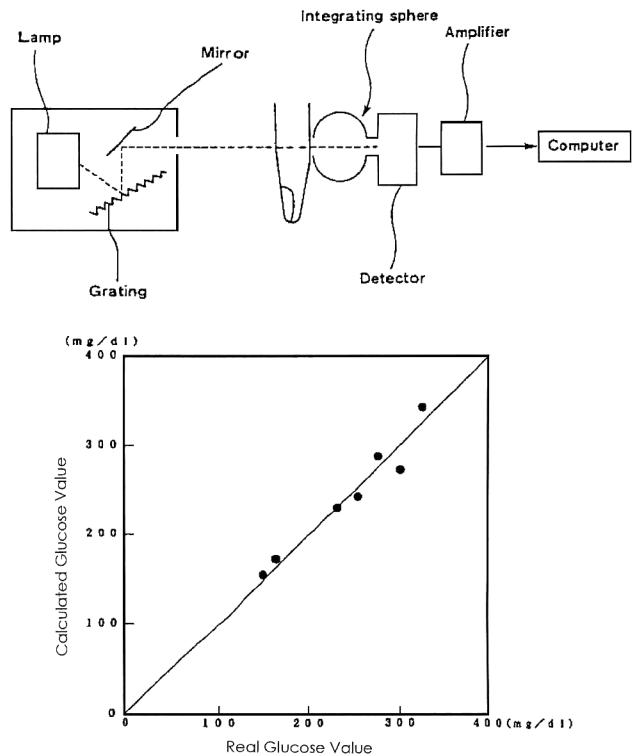


図4 800～900 nm領域での指の透過光を用いた血糖値測定。

In vitro の予備実験ではあるが、ラマン分光で求めた結果も報告されている¹⁰⁾。実用的なエラー評価に用いられるエラーグリッド法では、Aゾーン(10%以下の精度)に

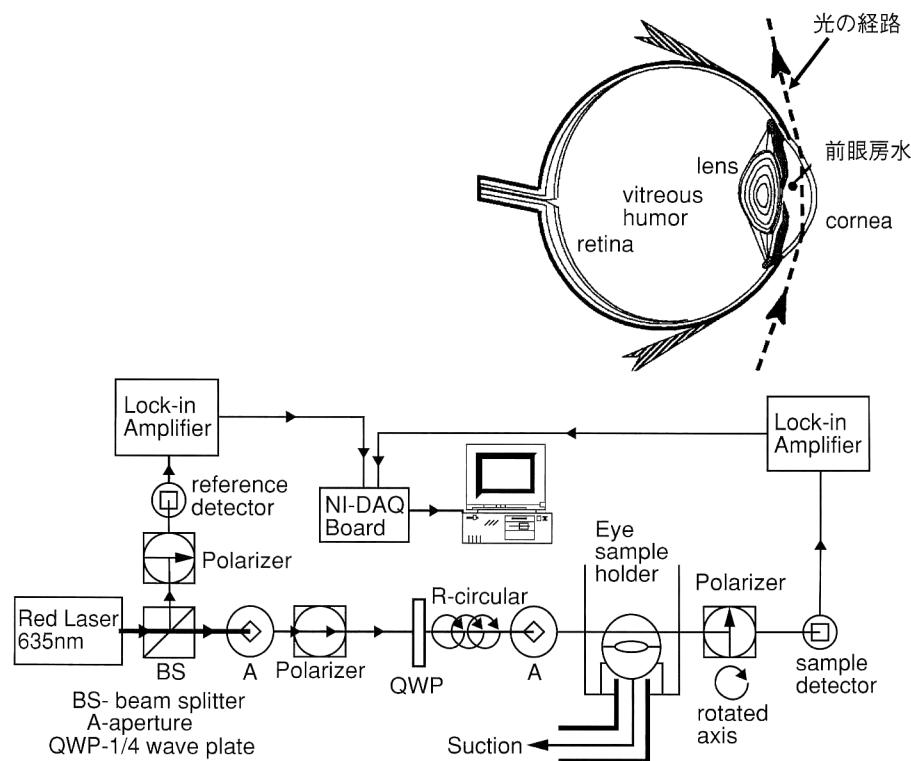


図5 旋光度を利用した前眼房水のグルコース計測法。実験にウサギを用いた。

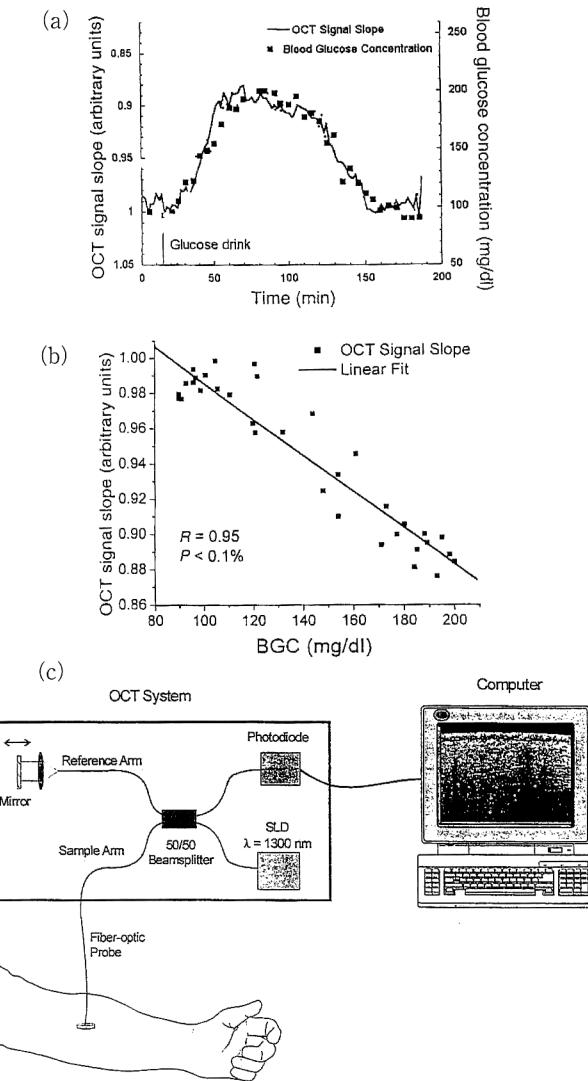


図6 OCTによる皮膚組織のグルコース計測。(a) 糖負荷後のOCT信号と実測された血糖値との相関、(b) 直線プロット、(c) OCTシステム。

入っている(図7)。

少し変わった方法として、グルコースと結合すると蛍光強度が変わる色素を膜に閉じ込め、皮膚に埋め込み、この蛍光変化を外部から測る方法、あるいは光音響法なども報告されている。

3. 近赤外反射分光法による血糖計測

現在、光学的血糖計測装置として、実用化一歩手前の松下電工グループの報告を中心に問題点を整理する。なお、測定原理、装置、データの集積など、ほとんど同じと考えられるSensys Medical社¹¹⁾のそれは、ホームページなどをみていただきたい。

血糖値の測定において、近赤外領域の光計測では、以下のような点が問題とされている。①微少なグルコース信

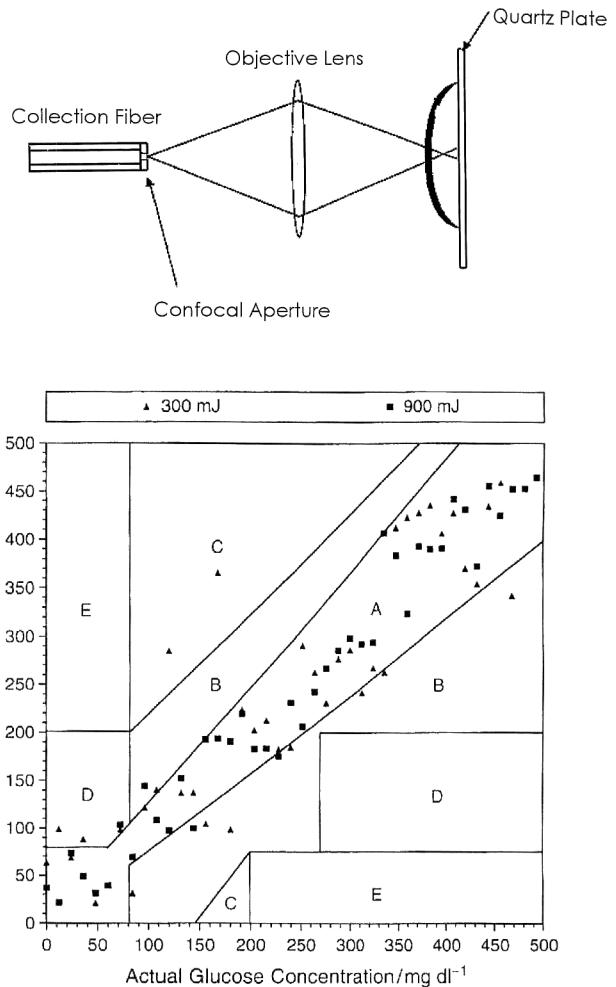


図7 ラマン分光によるグルコース計測(*in vitro*)。

号をいかに選択的にとらえるか、このときの分光光度計のハードの性能はどれだけ必要か、次に生体は他の多くの物質、すなわちタンパク質、脂肪、糖類、アミノ酸類その他を含み、これらは日常生活で大きく変わる。これらの変化とどのように区別するか。②生体組織のどの部位のグルコースを測るか。いいかえると、血清をあくまでも測定対象とするか。奇妙に思われるかもしれないが、直接血液中のグルコース濃度を測るのはうまくいかないようである。むしろ、血液は邪魔である。細胞内あるいは細胞間液(ISF)のグルコースを測るほうが再現性がよい。この理由は、前にも述べたように、食事などで血糖値が動くとき、同時に血中の脂肪やアミノ酸、その他が大きく変わる。これらはすべて近赤外領域に吸収をもち、グルコース信号の検出を妨害する。特に、脂肪は数倍程度簡単に変わる。これに対し、ISFや細胞内のグルコースは血液とほぼ並行して速やかに変わると、脂肪などの変動に対し、ほとんど動かない。これが、検量線をつくるときも含め、グルコースに対する比較的よい再現性の理由である。ここで、

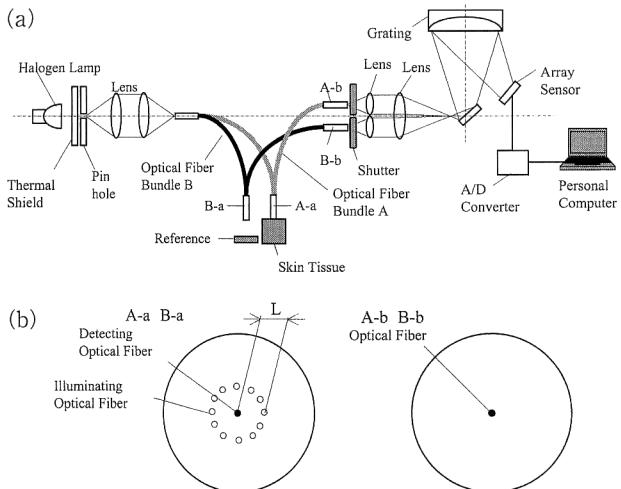


図8 松下電工製血糖値計測装置. (a) ブロックダイアグラム.
(b) 光ファイバーの配置図.

ISFのグルコース濃度を測ると、血液中のグルコース濃度にずれがないことが条件となる。今のところ、採血して得た実際の血糖値とISFのグルコース濃度とのずれは10分以内であり、実用上問題はない。では、組織の部位としてどこを測るのがよいか。③多変量解析は要注意である。すなわち、このやり方は、先に答え（直線）を与えておいてコンピューターに“合うように”探させる。この場合、しばしばグルコース以外の他の成分のスペクトルも“勝手”に使っている。したがって、たまたま直線が引けたとしても、その中身をきちんと吟味すべきである。④生体組織由来の散乱変化あるいは温度変化による見かけの吸光度変化は、われわれが必要としているグルコースの濃度変化をマスクする。

では、これらを除去する方法はあるのか。

図8に実験機の概略を示す。ポイントは、ダブルビーム方式であることで、光学プローブは外側が入射光、中に受光用ファイバーがあり、ファイバー間隔は0.65 mmと非常にせまい。この分光光度計は、今のところ~100 μA の測定精度をもつ。このファイバー間隔の決定は、光散乱分布をモンテカルロ法で行った。すなわち、光が図9に示すように皮膚に照射され、反射光を検出するとき、われわれは、表皮を避けて真皮のみを通る光がほしい。あまり深く入って皮下組織に到達すると、脂肪その他の皮膚組織に由来する吸収スペクトルが重なり、これは光学的ノイズとして計測の大きな邪魔となる。さらに、毛細血管を避けるようとする。こうして、実際にヒトの上腕部で測定したスペクトルを図10に示す。この実験で、被験者に糖負荷を行い、1回の計測で約4時間にわたって50組の反射スペクトルおよび血糖値のデータを得る。図のスペクトルの中に

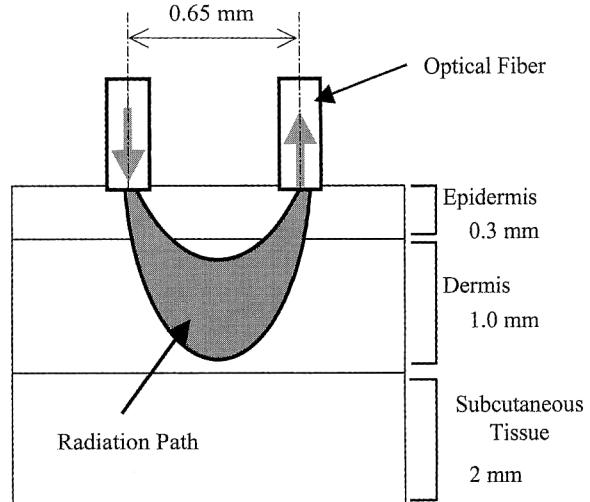


図9 皮膚表面の光の広がりに関するモンテカルロシミュレーション.

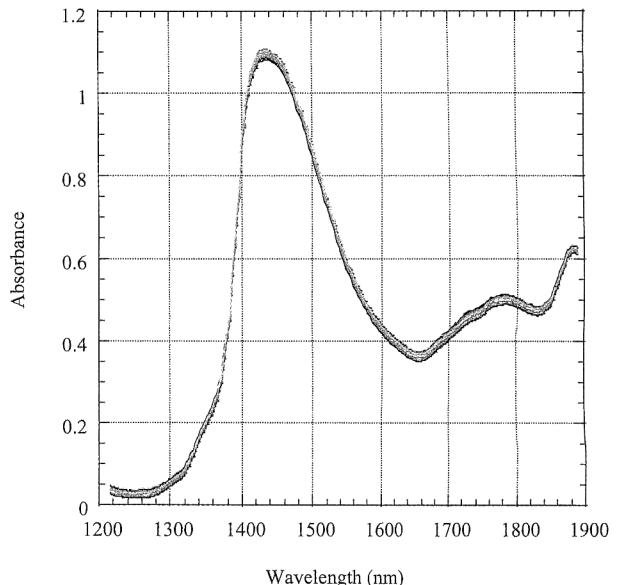


図10 糖負荷テスト後でのヒト上腕部の反射スペクトル.

100~400 mg/dlの血糖値変動が含まれ、この一つひとつスペクトルから±10 mg/dlの精度で血糖値を求めなければならない。まず、検量式を多変量解析で重回帰を求め、これを用いて実際に糖尿病患者で予測した計測例を示す（図11）。ここで、最初の点だけは実測値と合うように校正してある。このデータをクラークのエラーグリッド法で示したのが図12である。相関係数は0.928、平均誤差32 mg/dl、Aゾーンが87.5、Bゾーン8.3、両者で95%近くとなり、臨床水準に到達している。さらに被験者を増やした結果は、文献をみていただきたい。

光学的血糖値計測は、現在まで見果てぬ夢である。筆者

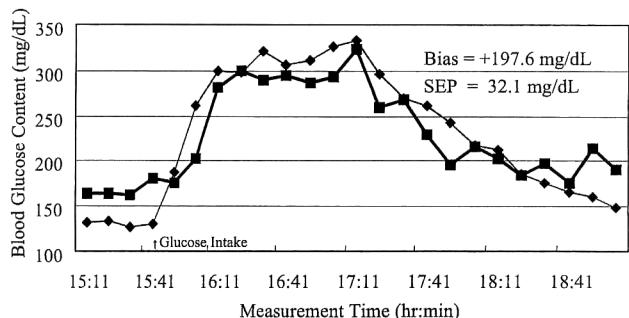


図11 近赤外反射スペクトルから得られたグルコース濃度と実測血糖値。

らは，“原理的”に測れないものがなぜ測れるのか徹底的に追求した。実測された吸光度変化は、光路長を考慮に入れても、グルコース濃度から予測される吸光度変化よりも大きかった。これを解くために、筆者らは、各波長での吸収をパラメーターとして光散乱のシミュレーションを行った。その結果は、思いもかけないものだった。すなわち、グルコース濃度の変化による光吸収の変化をわれわれは直接みているのではなく、むしろ吸収による散乱強度の変化を同時に観測し、両者が足し合わされて実測されていることがわかった。これは不均一散乱系に特有の現象であり、反射光計測においての変化は、両者が同じ方向に足し合わされることによる。さらに、シミュレーション¹²⁾から、温度が1°Cの変化はグルコース濃度で約500 mg/dlに相当し、散乱が1%の散乱変化に対しグルコース濃度変化は300 mg/dlに相当する。これらは、実際の計測で制御不可能に近い（皮膚表面を0.1°Cに一定にするのは病院などでも不可能）。

これらのアーチファクトをどう除くのか。ひとつは、多変量解析アルゴリズムに、何らかの散乱や温度変化を考慮した式をつくることである¹²⁾。この試みは始まったばかりである。また、全体としての吸光度変化を考慮すると、装置として最低50 μAの測定が必須となる。この実現も決してやさしくはない。いかに難しい計測に挑んでいるかおわかりいただけたと思う。われわれは光CTで培われた生体散乱の知識と、各ステップにおける一つひとつの問題を確実に解決しながら前に進めたことが、一応の成果が出つある最大の理由である。しかし、まだまだ道は遠い。

最後に、筆者が“不可能”的立場から“もしかしたら”と態度を変えたのは、すべて松下電工グループの努力の結果である。過去10年、十指にあまる大企業が安易にベンチャーに飛びつき、多額な資金と労力を使い、しかし徒勞に終わっている。“天使の誘惑”は、よほど覚悟で挑戦しないと、直ちに“悪魔のささやき”に変わる。

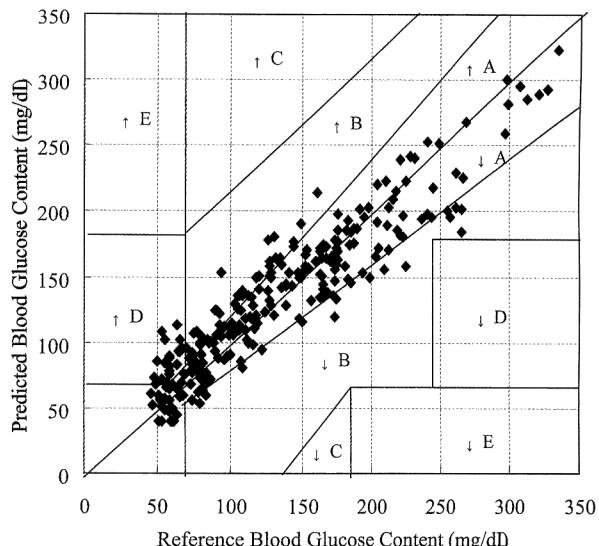


図12 エラーグリッド分析を用いたグルコース濃度の予測値と実測値。

本稿の執筆にあたり、松下電工、丸尾勝彦氏の多大な協力を得ました。特に、同氏が平成15年秋に行われたシンポジウム「光とバイオ、光と医療」で発表されたスライドなどを使わせていただきました。お礼申し上げます。

文 献

- E. Renard, R. Shah, M. Mille, M. Kolopp, G. Costalat and J. Bringer: *Diabetes*, **52**, Suppl. 1 (2003) A36.
- T. M. Gross, B. W. Bode, D. Einhorn, D. M. Kayne, J. H. Reed and N. H. White: *Diabetes Technol. Ther.*, **2** (2000) 49–56.
- A. Caduff and L. Heineman: *Diabetes*, **51**, Suppl. 2 (2002) A119.
- K. Maruo, M. Turugi, M. Tamura and Y. Ozaki: *Appl. Spectrosc.*, **57** (2003) 1236–1244.
- H. M. Heise, A. Bitlner and R. Marbach: *J. Near-Infrared Spectrosc. B*, **6** (1998) 349.
- T. Uemura, K. Nishida, M. Sakakida, K. Ichinose, S. Shimoda and M. Shichiri: *Front. Med. Biol. Eng.*, **9** (1999) 137–153.
- M. Noda, N. Taniguchi, M. Tamura, A. Kinoshita, F. Kubo, N. Kuzuya and Y. Kanazawa: *Pathogenesis and Treatment of NIDDM and Its Related Problems*, ed. N. Sakamoto, K. G. M. M. Alberti and N. Hotta (Elsevier Science, 1994).
- J. S. Baba, B. D. Cameron, S. Theru and G. L. Cote: *J. Biomed. Opt.*, **7** (2002) 321–328.
- K. V. Laurin, M. Motamed, M. S. Fledrist and R. O. Esenaliev: *Diabetes Care*, **25** (2002) 2263–2267.
- J. L. Lambert, J. M. Morookian, S. J. Sirk and M. S. Borchert: *J. Raman Spectrosc.*, **33** (2002) 524–529.
- Sensys Medical: *The Second Ann. Meeting Diabetes Technology* (2002, Suppl.).
- M. Tarumi, M. Shimada, T. Murakami, M. Tamura, M. Shimada, H. Arimoto and Y. Yamada: *Phys. Med. Biol.*, **48** (2003) 2373–2390.

(2004年4月7日受理)