研究論文

# 赤血球による後方多重散乱光の偏光特性の解析

山成 正宏・安野 嘉晃・谷田貝豊彦・伊藤 雅英

筑波大学物理工学系 〒305-8573 つくば市天王台 1-1-1

# Analysis of the Polarization Dependence of Multiple Backscattering Light from Red Blood Cell Suspensions

Masahiro YAMANARI, Yoshiaki YASUNO, Toyohiko YATAGAI and Masahide ITOH

Institute of Applied Physics, University of Tsukuba, Tennodai 1-1-1, Tsukuba 305-8573

The polarization dependence of multiply backscattered light from suspensions of red blood cells diluted with saline and one with additional salt are analyzed. To investigate the polarization dependence, backscattering Mueller matrices of suspensions are obtained from 36 spatially distributed images of backscattered light intensity with different combinations of incident polarizations and detection analyzers. The spatial dependence of the degree of polarization of backscattering for linearly and circularly polarized incident light are analyzed with the Mueller matrices. To compare the degree of polarization numerically, the relationship between the degree of polarization and the normalized positions on the suspensions by reduced mean scattering free paths are investigated. The results show that the decay of degree of polarization along the distance from the incident point are almost same with or without additional salt when linearly polarized incident light.

Key words: multiple scattering, Mueller matrix, degree of polarization, red blood cell suspension

# 1. はじめに

生体細胞の偏光特性や,多重散乱で偏光がランダムにな る過程については,医療分野においてその応用への関心が 高まっている.偏光を生体細胞のような高散乱媒質に入射 すると,媒質中においてランダムで複雑な経路を経て多重 散乱された光の偏光はやがて解消される.生体表面で正反 射された光は偏光を保っているが,一般に長い距離を伝播 するほど,生体内部を伝播した光は多重散乱され,その重 ね合わせによって偏光がランダムになる.

生体からの散乱計測の際,入射する光の偏光方向と検出 する偏光方向をオープンニコルの関係にすれば,表面反射 と生体内部からの多重散乱光が検出されるが,両者をクロ スニコルにすれば生体内部からの多重散乱光のみが検出さ れる.これを利用することで,生体表面からの反射光と内 部からの多重散乱光を容易に分離することができる<sup>1)</sup>.一 方で,生体表面付近で少数回散乱した後方散乱光も,偏光 を保ったまま検出されることが知られている<sup>2)</sup>.また,細 胞の大きさによって異なる後方散乱スペクトルを利用する と,正常細胞と癌細胞を区別できることも報告されてい る<sup>3,4)</sup>.これらの方法は多重散乱光をバックグラウンドとし て少数回の散乱についてのみ扱っているが,その一方で, 多重散乱光から積極的に散乱媒質についての情報を引き出 す試みが行われている.

多重散乱光の偏光がランダムとなって解消される現象 は、入射光の偏光状態によって異なることが知られてい る<sup>5)</sup>.また、散乱体によってもその性質が異なる。Bicout ら<sup>6)</sup>は、散乱体の大きさがレイリー散乱領域またはミー散 乱領域である散乱媒質に、直線偏光または円偏光が入射し たとき、それぞれの場合で偏光解消の性質が逆転すること を示した。Sankaran ら<sup>7,8)</sup>は、希薄な懸濁液では散乱体の 密度が増加するに従い短い距離で偏光解消するが、散乱体 を高密度にすると密度が増加しても逆に偏光が解消しにく くなることや、細胞の種類によって偏光解消の性質が異な ることを実験的に示した。Ghosh ら<sup>9)</sup>は、レイリー散乱領

E-mail: yamanari@optlab2.bk.tsukuba.ac.jp

域の散乱体とミー散乱領域の散乱体を混合した場合,レイ リー散乱領域の性質のほうがよく現れることを実験的に示 した.これらの実験は透過光に注目して行ったものである が,特に生体計測においては,後方散乱光に興味がある. なぜなら,可視光領域では透過光は測定が難しいからであ る.例えば内視鏡の場合,測定できるのは後方散乱光のみ である.

興味深い散乱光の偏光特性のひとつとして、懸濁液によ る後方散乱光は、入射側と検出側の直線偏光板をクロスニ コルに配置すると、その出射平面において、入射点を中心 とした十字型のパターンを描くことが知られている10.こ のような後方散乱パターンは, 散乱体の大きさや濃度の影 響11)や、正常細胞と癌細胞の違い12)を反映することが知 られている. 懸濁液による後方散乱光の偏光特性を完全に 記述するために、Hielscher ら<sup>13)</sup>はミュラー行列を用い、 その行列要素にも空間的に対称性のあるパターンが現れる ことを示した. ミュラー行列は, 偏光状態をストークスベ クトルで表すときに、散乱前後の光のストークスベクトル の変化を記述することができる14). つまり、ミュラー行列 は散乱の偏光特性を表すということである。 懸濁液による 多重散乱光について偏光を考慮した理論解析としては、ス トークスベクトルを直接追跡し、おのおのの散乱がインコ ヒーレントであると仮定して、モンテカルロ法によってス トークスベクトルの統計をとることによりミュラー行列を 求めるシミュレーション法が行われている<sup>15,16)</sup>.

希薄な懸濁液中の細胞による散乱は細胞核による影響が 大きいことが、細胞による一回散乱の空間的な角度依存性 についての研究によって明らかになっている<sup>17,18)</sup>.しかし、 細胞内小器官ではなく、細胞膜の表面形状が変化したとき の影響については研究がなされていない。

今回筆者らは、懸濁液の後方散乱ミュラー行列を求める ことができる測定装置を開発し、ヒト赤血球懸濁液につい て測定した.赤血球は細胞核をもたず、細胞核による散乱 への影響がない.そのため、細胞全体の大きさと細胞の表 面形状が散乱に影響を与えると考えられ、これらの影響に ついて調べるのに適した試料である.特に表面形状の変化 が散乱に与える影響を調べるため、生理食塩水で希釈した 赤血球懸濁液と、それに対し食塩を加えて懸濁液を高張液 として、浸透圧を変化させることにより赤血球を変形させ

$$M = \frac{1}{4} \begin{pmatrix} HH + HV + VH + VV & HH + HV - VH - VV \\ HH - HV + VH - VV & HH - HV - VH + VV \\ HP - HQ + VP - VQ & HP + VQ - VP - HQ \\ HR - HL + VR - VL & VL + HR - HL - VR \end{pmatrix}$$

た懸濁液による後方散乱光についてミュラー行列を求めた。また、ミュラー行列から直線偏光または円偏光を入射したときの偏光度を求め、表面形状の異なる赤血球懸濁液の偏光度減衰の違いを調べた。

第2章では,後方散乱光の偏光依存性を記述するための ミュラー行列の測定法の原理と,実験で用いた光学系を説 明する.また、ミュラー行列を用いて散乱光の偏光度を求 める方法について説明する.第3章では、赤血球懸濁液に よる後方散乱光の偏光依存性についての実験的な調査結果 を述べる.

#### 2. 後方散乱光の偏光依存性の測定方法

#### 2.1 実験によるミュラー行列の測定

完全偏光した光がランダム媒質中で多重散乱されると, 一般にその偏光はランダムとなり,部分偏光や非偏光とな る.ストークスベクトルを用いると,光の偏光状態を完全 偏光だけでなく,部分偏光や非偏光についても記述するこ とができる<sup>14)</sup>.入射偏光のストークスベクトル を *S*<sub>in</sub>,多 重散乱光のストークスベクトル を *S*<sub>out</sub> とすると,これら の関係は4行4列のミュラー行列 *M* によって次のように 表される.

$$S_{out} = MS_{in} \tag{1}$$

M はある系での散乱媒質による散乱光の偏光依存性を示 しており, M がわかれば, 任意の偏光状態の光を散乱媒質 に入射したときの多重散乱光のストークスベクトルが求め られる.すなわち,ミュラー行列によって散乱媒質の偏光 特性を完全に記述することができる.

ミュラー行列を求めるためには, 試料からの散乱光につ いて複数の偏光計測を行う必要がある.異なる偏光状態の 光を散乱媒質に入射し, 検光子によってその散乱光のある 偏光成分を測定した光強度は,ミュラー行列の複数の要素 を含んでいる.そのため実験的には,異なる入射偏光・検 光子の組み合わせによって測定した散乱光の光強度を単純 に足し引きすることで,ミュラー行列の各要素を求めるこ とができる<sup>19)</sup>.4行4列であるミュラー行列の各要素を計 測するために必要な測定は最小で16種類<sup>20)</sup>であるが,測 定種類が少ないと,ミュラー行列の一部の要素の計測精度 が悪くなることが知られている<sup>21)</sup>.今回の実験では,36種類 の測定から,以下の式を用いてミュラー行列を求めた<sup>21)</sup>.

 $PH + PV - QH - QV \qquad RH + RV - LH - LV$   $PH + QV - QH - PV \qquad RH + LV - LH - RV$   $PP + QQ - QP - PQ \qquad RP + LQ - LP - RQ$   $QL + PR - PL - QR \qquad LL + RR - RL - LR$  (2)



Fig. 1 The schematic of an optical setup for Mueller matrix detection. LP: linear polarizer, HWP: half wave plate, QWP: quarter wave plate.

ここで, H は水平直線偏光, V は垂直直線偏光, P は 45° 直線偏光, Q は-45° 直線偏光, R は右円偏光, L は左円偏 光を表し, 2 つづきの文字のうち,前の文字は入射光の偏 光状態,後の文字は検出する散乱光の偏光成分を表してい る.例えば HV は,水平直線偏光を入射したとき,その散 乱光の垂直直線偏光成分を検出するという意味である.

### 2.2 実験装置

試料の後方散乱ミュラー行列を計測するための実験装置 を Fig.1 に示す. ここでは, 光源に He-Ne レーザー (波長 632.8 nm)を用いている。光源はほぼ直線偏光であるが、 直線偏光の振動面を正確に調整するため、光源の直後には 角度を固定した直線偏光板を配置する. 試料に入射する光 の偏光を制御するために、 $\lambda/2$ 波長板と $\lambda/4$ 波長板を用 いる. 偏光を制御された光は第1のミラーで反射され、つ づいて穴空きミラーの穴を通過して試料に入射される. 試 料中で多重散乱されて試料表面に後方散乱された光は穴空 きミラーで反射され、検光子を通過する。検光子はFig.1 に示すように,直線偏光を検出するときは直線偏光板の み,円偏光を検出するときは直線偏光板の前にλ/4波長 板を加えて構成される。検光子を通過した散乱光は CCD で検出される. CCD 面と試料表面は結像レンズによって 結像関係になっている。CCD はピクセルサイズ 8.4×9.8 μm, 画素数 640×480 pixels であり, 結像レンズは焦点距 離 25 mm の C マウントレンズを用いている。このため今 回の実験では、試料表面上約77×58mmの範囲の実像、 つまり二次元画像が撮影されている。そのため、測定した 画像から求めたミュラー行列の各要素も、散乱光射出面上 の位置に対応した二次元強度マップで表される。

今回の実験では,光の電場を表す座標系には入射光と散 乱光ともに右手座標系を用いた。Fig.2に,入射光・散乱 光の電場の局所座標系と空間的な大域座標系のとり方を示 す.まず,入射光の局所座標系を(a)のようにとる.もし



Fig. 2 The definition of local and global coordinates.

透過散乱光を測定するのであれば,その局所座標系も(a) と同様にとればよいが,後方散乱光の場合, z 軸の向きが 入射光と逆になるため,右手座標系のままであれば x 軸ま たは y 軸の向きが逆になる.今回は,後方散乱光の局所座 標系を(b)のようにとった.試料上の大域座標系は,(b) の局所座標系にならって(c)のようにとった.本論文で は,すべてこれらの座標系の定義に基づいて実験を行って いる.

試料への入射前後の2枚のミラーは、光軸に対して45°の角度がついているため、それぞれのミラー反射による偏 光状態の変化を考慮する必要がある.試料に入射前のミラ ーについては、光がミラーで反射された後の偏光状態が正 しく H, V, P, Q, R, L となるように、ミラーの前の $\lambda$ / 2 波長板と $\lambda$ /4 波長板を制御する.ミラーで反射された後 に生じる偏光によって異なる強度差はあらかじめ測定して おき、その影響を散乱光の測定値に対して補正する.散乱 光が反射されるミラーについては、あらかじめそのミラー 自体のミュラー行列を測定しておき、試料のミュラー行列 に対してその逆行列を掛けて補正する.

入射側の $\lambda/2$  波長板, $\lambda/4$  波長板,検出側の直線偏光板 の回転は自動回転ホルダーで制御し,検出側の $\lambda/4$  波長 板の出し入れはモーター駆動フリッパーによって制御し た。今回の実験はすべて,1種類の偏光測定につき10枚の 画像を平均して,スペックルの低減とS/N比の向上を図 った。36 種類の画像を取得するための測定時間は約90秒 であった。

#### 2.3 **偏光度の計算**

散乱媒質のミュラー行列がわかっていれば,任意の偏光 を散乱媒質に入射したときの散乱光の偏光度を求めること ができる.

散乱光のストークスベクトルを

$$S = (S_0, S_1, S_2, S_3)^t$$
 (3)

とすると、その偏光度 (DOP: degree of polarization) は、

**92** (32)

$$DOP = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}{S_2} \tag{4}$$

で計算できる<sup>14)</sup>. 偏光度は,光が完全偏光のとき 1, 非偏光 のとき 0, 部分偏光のとき 0<*DOP* <1 の値をとる.

ある偏光状態の光を注目する散乱媒質に入射したときの 散乱光の偏光度を求めるには、まず入射偏光状態をストー クスベクトルによって表す.次に、2章1節の測定により 求めた注目する散乱媒質のミュラー行列を入射光のストー クスベクトルに作用させ、散乱光のストークスベクトルを 求める.そして、散乱光のストークスベクトル各要素を式 (4)に代入すれば、散乱光の偏光度が求められる.

例えば,水平直線偏光を入射したときの散乱光の偏光度 を求める場合は次のようになる.散乱媒質のミュラー行列 を

$$\boldsymbol{M} = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix}$$
(5)

とすると,水平直線偏光のストークスベクトルは (1,1,0,0)<sup>t</sup> であるから,散乱光のストークスベクトルは

$$S_{out} = \begin{bmatrix} m_{00} + m_{01} \\ m_{10} + m_{11} \\ m_{20} + m_{21} \\ m_{30} + m_{31} \end{bmatrix}$$
(6)

である.その偏光度は,

$$DOP = \frac{\sqrt{(m_{10} + m_{11})^2 + (m_{20} + m_{21})^2 + (m_{30} + m_{31})^2}}{m_{00} + m_{01}}$$
(77)

と求められる。同様に右円偏光を入射したときの散乱光の 偏光度は,



Fig. 3 DIC images of red blod cells. The scale bars are  $10 \ \mu$ m.

$$DOP = \frac{\sqrt{(m_{10} + m_{13})^2 + (m_{20} + m_{23})^2 + (m_{30} + m_{33})^2}}{m_{00} + m_{03}}$$
(8)

となる。

# 3. 赤血球懸濁液の散乱測定

ヒト赤血球懸濁液を生理食塩水で約8.0 cells/mlの濃度 に希釈した懸濁液30 mlを用意し,直径43 mmのビーカ ーに懸濁液を入れ,Fig.1の装置を用いて後方散乱光の測 定を行った.さらに,その懸濁液に食塩1gを加え,浸透圧 の変化によって赤血球を変形させた懸濁液についても,食 塩を加えてから約5分後に同様の測定を行った。生理食塩 水で希釈した変形前の赤血球と,食塩を加えて変形させた 赤血球について,微分干渉顕微鏡によって観察した画像を Fig.3 に示す。生理食塩水で希釈した赤血球の形状は扁平 で,直径約6µmである。一方,食塩を加えて変形させた赤 血球の表面形状は個体によりかなり差があるが,細胞表面 に凹凸が現れ有棘赤血球となっているのがわかる。

(a)

赤血球懸濁液による後方散乱光のミュラー行列を Fig. 4

Fig. 4 Backscattering Mueller matrices of the suspensions of red blood cells. The images are of the suspension diluted with saline (a), and of additional salt (b).



Fig. 5 Degree of polarization (DOP) of the suspensions of red blood cells. (a) is DOP of red blood cell suspension diluted with saline for linearly polarized incident light. (b) is DOP of red blood cell suspension diluted with saline for right-circularly polarized incident light. (c) is DOP of red blood cell suspension with additional salt for linearly polarized incident light. (d) is DOP of red blood cell suspension with additional salt for right-circularly polarized incident light.

に示す. ミュラー行列各要素は懸濁液水面上の位置を表 し,視野は約36×36mmである.また,ミュラー行列各要 素は、それぞれのミュラー行列の moo の最大値で規格化さ れている。各要素中央の入射点付近は、ミラーの穴と CCD の飽和による影響で、正確に測定されていないことに注意 する必要がある.変形前後の赤血球懸濁液のミュラー行列 各要素を比較すると、その強度マップのパターン形状には 大きな差はみられない。パターンの広がり方は変化してい るが、ミュラー行列のパターン形状や異なる入射偏光に対 する偏光度減衰については他の文献<sup>5-9,13,15,22)</sup>で報告があ るものの、ミュラー行列のパターンの広がり方については 詳細な報告がないため、今回の実験結果の比較による議論 が難しい。ミュラー行列各要素のパターンの広がり方は偏 光度の広がり方と式(7)・(8)のように直接的に結びつい ており, ミュラー行列各要素のパターンの広がり方のかわ りに偏光度について後述する。

また,積分球と逆モンテカルロ法による方法<sup>23)</sup>により, 赤血球懸濁液の等価散乱係数 μ's と吸収係数 μa を求めた. 異方性散乱パラメーターについては測定していないため, 逆モンテカルロ法において位相関数を等方散乱として等価 散乱係数を求めた.結果は,生理食塩水で希釈した赤血球



Fig. 6 Degree of polarization (DOP) along the vertical center line in Fig. 5. (a) is DOP for linearly polarized incident light, and (b) is DOP for right-circularly polarized incident light. Solid line: of the suspension of red blood cells diluted with saline, dotted line: of the suspension with salt added. The shadowed areas must be neglected because of a hole of a mirror and saturation of a CCD camera.



Fig. 7 Degree of polarization with horizontal axes normalized to mfp'. Other parameters are the same as Fig. 6.

懸濁液が $\mu'_s=0.1 \text{ mm}^{-1}$ ,等価平均散乱自由行程 $mfr'=1/\mu'_s=10 \text{ mm}$ ,吸収係数 $\mu_a=0.1 \text{ mm}^{-1}$ ,食塩を加えて赤血球を変形させた懸濁液は、 $\mu'_s=0.2 \text{ mm}^{-1}$ ,等価平均散乱自由行程mfr'=5 mm,吸収係数 $\mu_a=0.1 \text{ mm}^{-1}$ であった.

μ'sの値は変形後に 1/2 となっている.赤血球懸濁液に 食塩を加える前後で血球数が一定であり,散乱体の濃度は 一定である.そのためμsは一定で,μ'sの変化は異方性散 乱パラメーターgが変形後に減少し,前方散乱が弱まって いるためだと考えられる.Fig.4 は規格化してあるためこ こでは示していないが,後方散乱光強度はどの偏光状態の 光を入射しても赤血球変形後のほうが変形前よりも大きい 結果となっており,このことからもgの減少が予測され る.

ここで、多重散乱による偏光の解消について考えよう. 一般に、直線偏光が偏光解消するのは、散乱媒質中におけ る多数の道筋の重ね合わせにより散乱光の振動面がランダ ムとなるためと考えられる.また、円偏光は直線偏光と異 なり右回りと左回りの違いがあるため、円偏光の回転方向 が保たれた散乱光と入れ替わった散乱光の重ね合わせによ る影響と、円偏光が直線偏光に変化し、以後直線偏光と同様な過程により偏光がランダムになる影響が考えられる<sup>5,6)</sup>. すなわち、直線偏光と円偏光では、偏光が解消する 過程が異なる.そこで、入射偏光を水平直線偏光または右 円偏光としたときの、赤血球懸濁液による後方散乱光の偏 光度を求めたのが Fig.5 である.

円偏光を入射したときの偏光度を  $DOP_c$ , 直線偏光が入 射したときの偏光度を  $DOP_L$  とすると,入射点から離れる に従って減衰する偏光度の値は赤血球変形前後ともに  $DOP_c < DOP_L$  であることがわかる.この性質はすでに報 告されている文献と一致し<sup>8</sup>,ミー散乱領域の散乱体と同 様な性質を示している<sup>6</sup>.また,Fig.5 から,入射点から離 れるに従って変形前に比べ,変形後のほうが早く偏光度が 減少していることがわかる.

次に、より詳しくこの偏光解消の効果を分析する、Fig.5 を詳細に比較するために, Fig.5の入射点を通る縦線上の 値を表示した図をFig.6に示す.さらに、Fig.6の横軸 (懸濁液水面上の位置)を mfp' で規格化した図を Fig.7 に 示す. 懸濁液水面上の各位置に戻ってきた後方散乱光は, mfp' と µa に依存する<sup>24)</sup>. µa は赤血球懸濁液に食塩を加え る前後で変化していない。一方, mfp' については, 赤血球 懸濁液に食塩を加える前後で変化している. 実際の単一散 乱は非等方に散乱されるが、高密度な散乱媒質による多重 散乱によって近似的に等方散乱とみなせるまでの平均距離 が mfp' である. この平均距離 mfp' が変化すれば, 散乱媒 質中での三次元的な多重散乱光強度分布は単純にそれに比 例すると考えられる。それゆえ,mf/と懸濁液水面上の各 位置は比例関係にあると考えられる。ただし、この議論や mf/を求めるための逆モンテカルロ法は、散乱の偏光依 存性を考慮していない。さらに、今回計測している懸濁液 水面上の位置はおよそ mfp'=±2の範囲であり,近似的に 等方散乱とみなせるまでの平均距離よりも細かい距離分解 能で測定している。そのため、異なる偏光を入射したとき の散乱光の偏光度に対して、横軸の位置を mfp' で割って も必ずしも厳密に規格化されるとは限らないが、上述のよ うにまったく意味がないわけではない。変形前の赤血球懸 濁液による後方散乱光の偏光度について,水平直線偏光ま たは右円偏光を入射したときの偏光度をそれぞれ DOPL, DOP<sub>c1</sub>とし、変形後の赤血球懸濁液についても同様に  $DOP_{L2}$ ,  $DOP_{c2}$  とする。 $mfp' = \pm 1$ における |  $DOP_{L1}$ - $DOP_{L_2}$ の平均値と  $|DOP_{c_1} - DOP_{c_2}|$ の平均値はともに 0.01であるのに対し,  $mfp'=\pm 2$ における |  $DOP_{L1}$ - $DOP_{L_2}$ の平均値は0.07,  $|DOP_{c_1} - DOP_{c_2}|$ の平均値は 0.17であった.入射点から離れるに従ってDOP<sub>c1</sub>と

DOP<sub>c2</sub>の差が開いており、赤血球変形前後では円偏光を入射したときの偏光度減衰に違いが現れることがわかる.

前述のように、表面形状の異なる赤血球では単一散乱の 非等方性は異なると考えられ、その結果、多重散乱の振舞 いに影響を与えると予測される。しかし、単一散乱の非等 方性の違いが多重散乱において偏光解消に与える影響につ いてはまだ明らかになっておらず、今後の調査が必要であ る.

散乱に影響を与える原因は、細胞の形状のほかに収縮に よる屈折率変化も考えられ、屈折率変化に対する偏光度減 衰の性質は入射偏光によって異なることが報告されてい る<sup>22)</sup>.また、高密度な媒質では偏光度が減衰しにくくなり、 逆に濃度が大きくなるに従って偏光度が増大する現象が報 告されており<sup>7)</sup>、散乱体どうしのコヒーレントな相互作用 の影響が指摘されている<sup>8)</sup>. Fig.7の結果については、以上 のような影響が原因として考えられる.

#### 4. ま と め

本論文では、赤血球懸濁液による後方散乱光の偏光依存 性について測定を行った。赤血球懸濁液を生理食塩水で希 釈した懸濁液と、それに食塩を加えて赤血球を変形させた 懸濁液について 36 種類の測定からミュラー行列を求めた。 ミュラー行列の強度マップのパターン形状は、両者で大き な違いはみられなかった。赤血球懸濁液の後方散乱ミュラ ー行列を用いて求めた水平直線偏光または右円偏光を入射 したときの散乱光の偏光度の減衰に、赤血球変形前後の散 乱の性質の違いが現れた。これまで、多重散乱の偏光度減 衰について, 散乱体の形状に関してはレイリー散乱領域と ミー散乱領域での違いがあることがわかっていたのみであ り、今回の結果により、散乱体の大きさだけでなく表面形 状が影響を与えることがわかった.この結果は,生体細胞 による多重散乱の偏光特性の解析において、散乱体を単純 に球形として考えるだけでは不十分であり、凹凸がある表 面形状をもった散乱体も含めた理論的解析が必要であるこ とを示している。逆にいうと、表面形状が異なる生体細胞 による散乱を比較したい場合には, 散乱の偏光特性まで計 測すべきである. さらに詳細な研究のためには, 生体細胞 の表面形状について何らかの方法で多数の赤血球について 測定し、統計をとる必要があるであろう.ただし、光学顕 微鏡では,細胞の表面形状を測定するために十分な解像度 が得られない。高倍率で試料の表面形状を計測できる SEM もあるが、SEM では、試料を固定する際に細胞の形 状が変形する恐れがある.そして,複雑な形状を実際に多 数の赤血球について調べるのは大変な困難が予想される.

そのため本論文では、食塩を加えた懸濁液の赤血球が有棘 赤血球となっていることを確認するにとどめた。ほかに、 血球の体積や屈折率の変化も散乱に影響を与えていると推 測されるため、これらについても解析が必要である。

実験機材を提供していただいた産業総合技術研究所の有本英伸氏,試料を提供していただいた茨城県赤十字血液センター,助言をいただいた国立がんセンター東病院の武藤 学氏,堅田親利氏,高橋真理氏に深く感謝申しあげます.

## 文 献

- R. R. Anderson: "Polarized light examination and photography of the skin," Arch. Dermatol., 127 (1991) 1000-1005.
- S. L. Jacques, J. C. Ramella-Roman and K. Lee: "Imaging skin pathology with polarized light," J. Biomed. Opt., 7 (2002) 329–340.
- K. Sokolov, R. Drezek, K. Gossage and R. Richards-Kortum: "Reflectance spectroscopy with polarized light: Is it sensitive to cellular and nuclear morphology," Opt. Exp., 5 (1999) 302-317 (http://www.opticsexpress.org).
- R. S. Gurjar, V. Backman, L. T. Perelman, I. Georgakoudi, K. Badizadegan, I. Itzkan, R. R. Dasari and M. S. Feld: "Imaging human epithelial properties with polarized lightscattering spectroscopy," Nat. Med., 7 (2001) 1245-1248.
- F. C. MacKintosh, J. X. Zhu, D. J. Pine and D. A. Weitz: "Polarization memory of multiply scattered light," Phys. Rev. B, 40 (1989) 9342-9345.
- 6) D. Bicout, C. Brosseau, A. S. Martinez and J. M. Schmitt: "Depolarization of multiply scattered waves by spherical diffusers: Influence of the size parameter," Phys. Rev. E, 49 (1994) 1767–1770.
- V. Sankaran, J. T. Walsh, Jr. and D. J. Maitland: "Polarized light propagation through tissue phantoms containing densely packed scatterers," Opt. Lett., 25 (2000) 239–241.
- V. Sankaran, J. T. Walsh, Jr. and D. J. Maitland: "Comparative study of polarized light propagation in biologic tissues," J. Biomed. Opt., 7 (2002) 300–306.
- N. Ghosh, H. S. Patel and P. K. Gupta: "Depolarization of light in tissue phantoms-Effect of a distribution in the size of scatterers," Opt. Exp., 11 (2003) 2198-2205 (http://www. opticsexpress.org).
- M. Dogariu and T. Asakura: "Polarization dependent backscattering patterns from weakly scattering media," J. Opt. (Paris), 24 (1993) 271-278.
- A. H. Hielscher, J. R. Mourant and I. J. Bisio: "Influence of particle size and concentration on the diffuse backscattering of polarized light from tissue phantoms and biological

cell suspensions," Appl. Opt., 36 (1997) 125-135.

- 12) J. R. Mourant, A. H. Hielscher, A. A. Eick, T. M. Johnson and J. P. Freyer: "Evidence of intrinsic differences in the light scattering properties of tumorigenic and nontumorigenic cells," Cancer, 84 (1998) 366–374.
- 13) A. H. Hielscher, A. A. Eick, J. R. Mourant, D. Shen, J. P. Freyer and I. J. Bisio: "Diffuse backscattering Mueller matrices of highly scattering media," Opt. Exp., 1 (1997) 441-453 (http://www.opticsexpress.org).
- 14) C. F. Bohren and D. R. Huffman: Absorption and Scattering of Light by Small Particles (John Wiley & Sons, New York, 1983) Sec. 2.11.
- 15) S. Bartel and A. H. Hielscher: "Monte Carlo simulations of the diffuse backscattering Mueller matrices for highly scattering media," Appl. Opt., **39** (2000) 1580–1588.
- 16) X. Wang, L. V. Wang, C. Sun and C. Yang: "Polarized light propagation through scattering media: Time-resolved Monte Carlo simulations and experiments," J. Biomed. Opt., 8 (2003) 608-617.
- 17) J. R. Mourant, T. M. Johnson, S. Carpenter, A. Guerra, T. Aida and J. P. Freyer: "Polarized angular dependent spectroscopy of epithelial cells and epithelial cell nuclei to determine the size scale of scattering structures," J. Biomed. Opt., 7 (2002) 378-387.
- 18) R. Drezek, M. Guillaud, T. Collier, I. Boiko, A. Malpica, C. Macaulay, M. Follen and R. Richards-Kortum: "Light scattering from cervical cells throughout neoplastic progression: Influence of nuclear morphology, DNA content, and chromatin texture," J. Biomed. Opt., 8 (2003) 7-16.
- W. S. Bickel and W. M. Bailey: "Stokes vectors, Mueller matrices, and polarized light scattering," Am. J. Phys., 53 (1985) 468-478.
- 20) G. Yao and L. V. Wang: "Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix characterization of biological tissue by optical coherence tomography," Opt. Lett., 24 (1999) 537– 539.
- 21) J. S. Baba, J.-R. Chung, A. H. DeLaughter, B. D. Cameron and G. L. Coté: "Development and calibration of an automated Mueller matrix polarization imaging system," J. Biomed. Opt., 7 (2002) 341–349.
- 22) A. D. Kim and M. Moscoso: "Influence of the relative refractive index on the depolarization on multiply scattered waves," Phys. Rev. E, 64 (2001) 026612.
- 23)島田美帆,畑寿太郎,山田幸生,伊藤雅英,内田彰子,谷田貝 豊彦:"皮膚下における色素の見え方の変化",光学,29 (2000) 392-398.
- 24) B. C. Wilson: "Measurement of tissue optical properties: Methods and theories," *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, eds. A. J. Welch and M. J. C. van Gemert (Plenum Press, New York, 1995) pp. 233–274.