

生体組織の光学特性値計測・算出

粟津 邦男^{*, **, ***}

Measurement and Calculation of Optical Properties for Biological Tissues

Kunio AWAZU^{*, **, ***}

Optical properties for biological tissues are important to realize advanced light diagnosis and therapy because the light propagation in a biological tissue is understood by the optical properties. However, it is difficult to determine the optical properties of biological tissues because of their high scattering. In this review, the optical property measurement and calculation system, which is combined with a spectroscopic device based on a double integrating sphere optical setup and an analysis program of an inverse Monte Carlo method, was summarized. Highlight data of optical properties about biological tissues are also introduced.

Key words: optical property, double integrating sphere optical setup, inverse Monte Carlo method, absorption coefficient, scattering coefficient

生体組織に対する非侵襲・低侵襲性が魅力である光診断・治療技術において、生体組織内の光伝搬（すなわちエネルギー分布）を理解することは、診断や治療している領域を定量的に把握し、正確かつ安全な診断・治療を実現するうえで、非常に重要な情報である。生体組織内の光伝搬は、生体組織の吸収係数（absorption coefficient: μ_a （単位： mm^{-1} ））、散乱係数（scattering coefficient: μ_s （単位： mm^{-1} ））、屈折率 n 、異方性因子 g 等の光学特性値（本解説において英語 optical property の和訳として表現している）により決まる。

しかしながら、これらの光学特性値は簡便に計測することが困難とされている。角膜などの透明組織を除いたほとんどの生体組織は強い散乱体であるため、入射光は多重散乱の影響を大きく受け、透過光や反射光の光量変化などから μ_a や μ_s を簡便かつ直接的に計測することは困難である。そのため、生体組織の光学特性値を決定するには、生体組織試料内で多重散乱し拡散的に放射される透過光や反射光を計測し、その計測の結果と光学特性値を予測パラメーターとした光伝搬の理論計算や統計解析の結果が一致することで、予測した光学特性値を真の光学特性値として

決定するという間接的な手法が必要である。

光学特性値決定における拡散光計測手法としては、積分球や光ファイバーなどの光回収光学系を用いた分光計測、光ファイバーなどのプローブを用いて拡散反射光強度を検出する空間分解計測や時間分解計測などがある。積分球による計測は、光学系の構造上、生きたままの生体組織を測定すること（*in-vivo* 測定）は非常に困難であることが短所であるが、不均一性の強い生体組織のある一点の情報を計測できることが他の方法と比べて優位である。空間分解計測や時間分解計測は、測定原理上は積分球に比べて *in-vivo* 測定しやすい長所をもつが、入射および検出用のプローブの配置にある程度の空間領域が必要であり、光学特性値が平均化されるという短所をもつ。このように測定手法には一長一短があるため、測定対象の特性によって最適な測定手法を選ぶことが肝要である。

生体組織の光学特性値、特に μ_a と μ_s のデータベース化（同じシステムで多種類の試料の光学特性値を決定し比較する）という観点では、拡散光計測手法として積分球光学系を用いることが多い。積分球を試料の両壁に設置する双積分球光学系は、試料中の同一点の拡散反射率 R_d と総透過

*大阪大学大学院工学研究科（〒565-0871 吹田市山田丘 2-1） E-mail: awazu@see.eng.osaka-u.ac.jp

**大阪大学大学院生命機能研究科（〒565-0871 吹田市山田丘 1-3）

***大阪大学臨床医工学融合研究教育センター（〒565-0871 吹田市山田丘 2-1）

率 T_t を同時に計測できることや、単一の積分球を用いた場合よりも測定時間を短くできることが長所として挙げられる。生体光学の分野では、例えば Roggan ら¹⁻³⁾ や Pickering ら^{4,5)} による報告など、双積分球光学系を用いて R_d と T_t を測定し、解析法としてモンテカルロ法^{6,7)} による逆問題解法 (逆モンテカルロ法) や inverse adding doubling 法⁸⁾ を組み合わせた手法により光学特性値を算出する例が報告されている。双積分球光学系による計測結果の解析法として用いられることの多い逆モンテカルロ法は、統計的な手法であり、生体組織へ入射させた光子の散乱方向を任意の関数に基づいて設定し、吸収による減衰を加味しながら、統計的に安定するまで光子入射を行い計算を繰り返す手法である。計算コストがかかるが、光拡散方程式が成立しない条件でも光の伝搬を正確にシミュレーション可能である。

生体組織の光学特性値は、これまでに欧米を中心とした研究グループらにより、いくつかの方法で測定・算出された可視・近赤外波長域におけるものが公開されている⁹⁻¹²⁾。しかし、同一の組織であっても、異なるグループからの報告の場合に光学特性値が一致しないことが散見される。この原因として、光学特性値を算出するシステムの種類およびその測定精度の違い、組織内の光の伝搬をシミュレーションする解析モデルの違い、試料の状態や試料の調整方法の違いなどが考えられる。また、報告されている光学特性値は単一波長や狭帯域波長に関する報告が多い。さらには、治療などによる生体組織の変性に伴う光学特性値の変化といった、光学特性値のダイナミクス (動的光学特性値の知見) に関する報告が少ない¹³⁻¹⁶⁾ などの問題もある。そのため、可視・近赤外波長の広帯域における生体組織の正確な光学特性値を算出可能なシステムの開発を行い、仕様の明確な装置により網羅的に生体組織の光学特性値を決定し、データベース化することが重要であると考えられる。

本解説では、双積分球光学系を基本とした分光分析装置と逆モンテカルロ法による解析手法を組み合わせた光学特性値算出システムについて、また、開発装置を利用し得られる生体組織の光学特性値の一例について紹介を行う。

1. 拡散光計測部：双積分球光学系

双積分球光学系の構築例を図1に示す¹⁷⁾。

2つの積分球の間に計測用試料を設置する。生体組織はスライドガラスなど厚みと屈折率が既知な透明材料で挟み、計測用試料とする。このとき、生体組織の厚みが重要である。生体組織の圧縮による光学特性値の変化を避けるために、できるだけ計測したい厚さで切り出し、スライドガラス間に厚みが既知のスペーサーを挟み、厚みが一定と

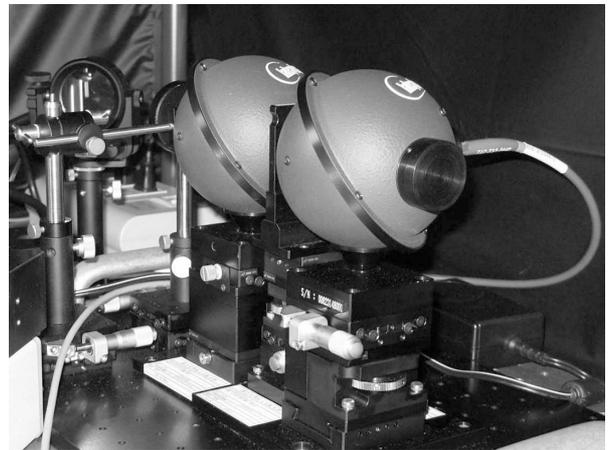


図1 双積分球光学系。

なるように調整する。計測用試料の積分球への設置の際は、双積分球が試料を圧迫しないように注意しながら、積分球と試料を密着させる。

光源からの光を積分球の入射・出射ポートにぶつからない幅で疑似平行化し、試料に照射する。広帯域の波長における光学特性値を得る場合、基本的には白色光源を利用しなければならないため、この疑似平行化が工夫のしどころである。分光計測に使用可能な安定性をもち、白色で指向性が高く、高出力な光源ということで、スーパーコンティニューム光源の利用が有望である。単波長でよい場合は光源にレーザーを使用すればよいので、平行化はほぼ問題とされない。

試料での拡散反射光と総透過光を双積分球で回収する。検出方式は2パターン考えられる。一つは白色光を入射し分光器でスペクトルを取得し R_d と T_t を得る手法で、簡便かつ高速であるため多積算・多数回の計測に向いている。もう一つは単色光 (モノクロメーター等で分光した波長帯域の限局された光) を入射し、ロックインアンプなどで増幅しフォトダイオードで光検出し R_d と T_t を得る手法で、これは狭い波長域や離散的な波長など少ない波長分の情報を正確に得る計測に向いており、広帯域スペクトルを高波長分解能で多数回を得たい場合は不向きである。

なお、後述する実験結果は、白色光を入射し分光器でスペクトルを取得する光学系を用いて得られた。積分球は外径 100 mm、内径 84 mm、試料ポート径は入射側・出射側ともに直径 10 mm、内部表面に BaSO_4 が塗布されているものを使用した。光源にはキセノンランプとハロゲンランプを用い、試料表面でビーム直径 1 mm とし試料に照射した。積分球で回収した光は検出ポートに接続したコア直径 1000 μm のマルチモードファイバーを経由して分散分光器でスペクトル計測を行い、波長 350~2000 nm における

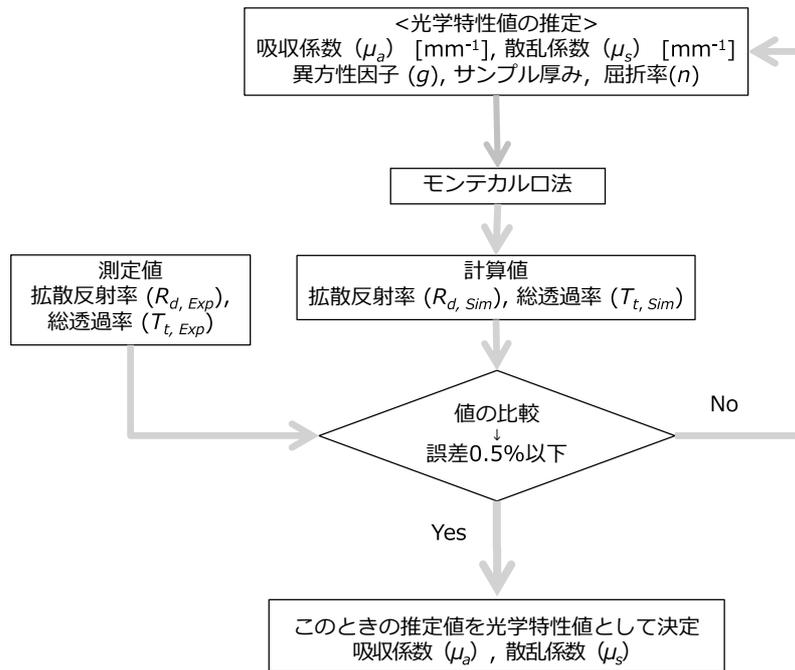


図2 逆モンテカルロ法のアルゴリズム.

R_d および T_t を得た。波長分解能は、波長 350~1000 nm で 0.42~0.47 nm, 波長 1000~2000 nm で 6.77~7.82 nm であった。また、波長 1000~2000 nm における測定では、検出器の暗電流由来ノイズを低減させるため、検出器にペルティエ冷却装置を組み込み、検出器の温度を -27°C まで冷却制御した。検出器の結露を防ぐため、検出器およびペルティエ素子は窒素ガスが充填可能なガスセル内に設置した。外部光によるノイズを低減するために、双積分球光学系は暗室内に設置した。

2. 光学特性値算出部：逆モンテカルロ法

計測した R_d と T_t から逆モンテカルロ法を用いて光学特性値 μ_a と μ_s を算出した。逆モンテカルロ法は、Jacques, Wang らにより開発され現在 Oregon Medical Laser Center at Providence St. Vincent Medical Center で公開されているモンテカルロ法⁷⁾を参照して、世界中で研究グループごとに独自に開発されている。逆モンテカルロ法のアルゴリズムを図2に示す¹⁷⁾。後述する実験結果に関しては、以下に示すアルゴリズムの逆モンテカルロ法を使用した。

① 生体組織の μ_a および μ_s を推定する。例えば、ある波長での測定試料の μ_a が $0\sim 10\text{ mm}^{-1}$, μ_s が $0\sim 200\text{ mm}^{-1}$ の範囲にあると仮定し、 μ_a は 1 mm^{-1} 間隔 ($\Delta\mu_a$) で、 μ_s は 10 mm^{-1} 間隔 ($\Delta\mu_s$) で数値を取り、それぞれの μ_a, μ_s ペアを入力値とする。また、 n, g , 生体組織の厚みも入力パラメーターであり、これらは固定値とする。② 試料

の n (後述の実験結果に関しては 1.33), g (後述の実験結果に関しては 0.9), 生体組織の厚み, 推定した μ_a および μ_s からモンテカルロ法を用いて計算値 $R_{d, sim}$ および $T_{t, sim}$ を算出する。このとき、計算したことのある μ_a および μ_s ペアに対応する $R_{d, sim}$ と $T_{t, sim}$ ペアは、表データ (ルックアップテーブル) として保存してあり、ルックアップテーブルより参照することができる。ルックアップテーブルを用いることでモンテカルロ法に要する計算コストが削減できるようになっている。③ R_d と T_t の計算値 ($R_{d, sim}$ および $T_{t, sim}$) と実測値 ($R_{d, Exp}$ および $T_{t, Exp}$) との差 ΔR_d および ΔT_t を計算する。④ 過程③で計算した ΔR_d および ΔT_t が 0.5% 以下になった場合、過程①で推定した μ_a と μ_s を測定試料の光学特性値とする。もし ΔR_d および ΔT_t が 0.5% よりも大きい場合、過程①~④を繰り返す。このとき、過程①において、 $\Delta\mu_a$ と $\Delta\mu_s$ の間隔は、過程①~④を繰り返すごとに小さくしていく (例えば、 $\Delta\mu_a$ と $\Delta\mu_s$ の初期値がそれぞれ 0.2 mm^{-1} と 2 mm^{-1} だった場合、次の変更の際は $\Delta\mu_a$ と $\Delta\mu_s$ をそれぞれ 0.1 mm^{-1} と 1 mm^{-1} にする)。このように $\Delta\mu_a$ と $\Delta\mu_s$ を細かくしていくことで、 ΔR_d と ΔT_t を小さくする。光学特性値決定のイメージを図3に示す。算出した μ_s から下式を用いて換算散乱係数 (reduced scattering coefficient: μ_s' (単位: mm^{-1})) を計算した。

$$\mu_s' = \mu_s(1-g)$$

なお、双積分球光学系による分光計測と逆モンテカルロ法による解析手法を組み合わせた光学特性値算出システム

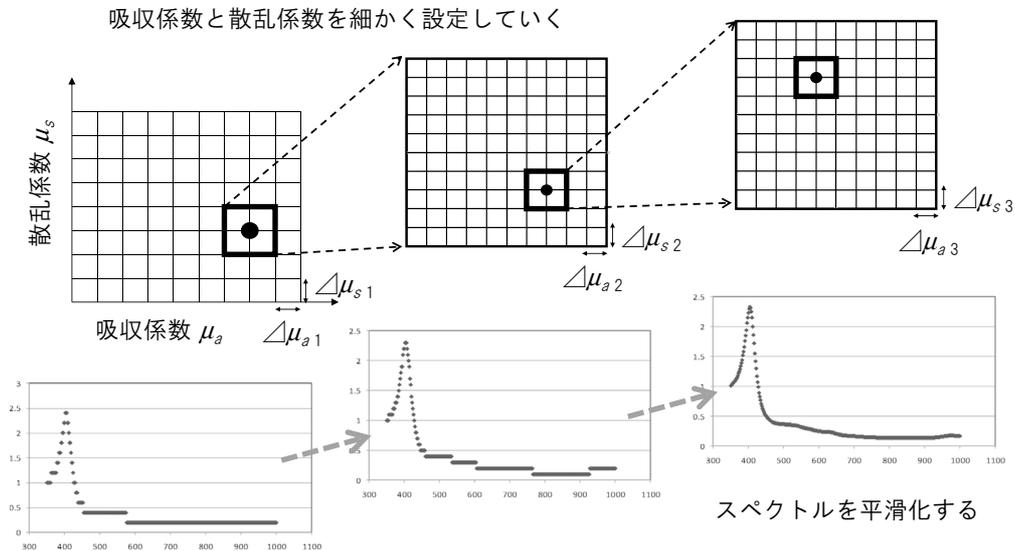


図3 逆モンテカルロ法における光学特性値決定のイメージ。

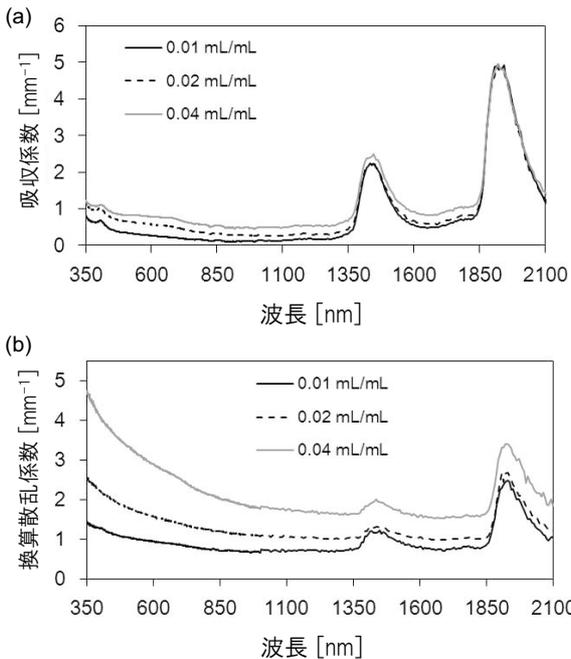


図4 光学的生体模擬試料の吸収係数スペクトル (a) と換算散乱係数スペクトル (b) ¹⁷⁾。

の妥当性検証として、算出された μ_a の定量性(市販の分光分析装置との検量精度の比較)と、 μ_s' のスペクトルパターンのミー散乱・レイリー散乱との比較対応に関して検討を行い、良好な結果が得られており、本システムの分析装置としての有用性は証明されていると考えている¹⁷⁾。

3. 広帯域波長における生体組織の光学特性値算出の例

3.1 光学的生体模擬試料

図4に、吸収成分としてヘモグロビン精製粉末 1 mg/mL、散乱成分としてイントラリピッド¹⁸⁾ 20%溶液 0.01~0.04

mL/mLを混合した、0.1 g/mLに調整したゼラチン水溶液を固化させた試料(光学的生体模擬試料)の μ_a スペクトル(図4 (a))と μ_s' スペクトル(図4 (b))を示す¹⁷⁾。散乱成分の濃度を増加させたとき、 μ_a スペクトルはほとんど変化しないのに対して、 μ_s' スペクトルが波長全域で増加していることが観測された。ヘモグロビンとイントラリピッドは生体光学分野の標準的試料として認知されている。混合物とその濃度が既知な光学的生体模擬試料を標準試料(校正試料)として用い、どのような光学特性値を示すかを定量的に比較することで計測・算出システム間の比較を客観的に行うことができるため、組成の明確な光学的生体模擬試料の光学特性値データは重要である。

3.2 椎間板ヘルニア髄核組織

光治療を行う場合、対象となる病変組織の光学特性値の事前理解が重要であることはいうまでもない。しかしながら、病変組織の光学特性値が正確に理解・考慮されずに、科学的根拠に乏しい波長のレーザーが臨床で使用されているという例が少なからずある。例えば、椎間板ヘルニアのレーザー治療法には、波長 800 nm や波長 980 nm の半導体レーザー、波長 1064 nm の Nd:YAG レーザー、波長 2.1 μm の Ho:YAG レーザーなど数種類のレーザーが利用されている。最適な波長を考える場合は、病変組織である椎間板ヘルニアを発症している髄核組織の光学特性値が必要である。図5に波長 350~1000 nm ヒト椎間板ヘルニア髄核組織の μ_a スペクトル(図5 (a))と μ_s' スペクトル(図5 (b))を示す¹⁹⁾。椎間板ヘルニアのレーザー治療の場合、髄核組織中にレーザー照射効果を局限させたいため、レーザーは強く吸収かつ強く散乱されるのが好ましいと考えられる。そうすると、例えば波長 350~1000 nm においては、

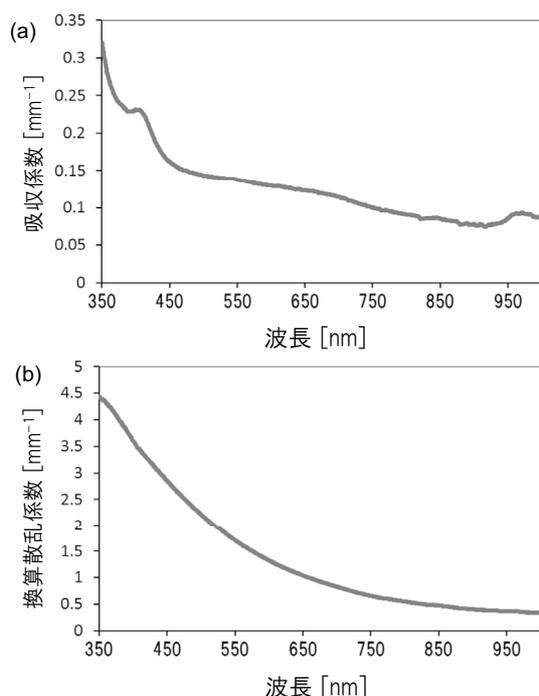


図5 ヒト椎間板ヘルニア髄核組織の吸収係数スペクトル (a) と換算散乱係数スペクトル (b) ²⁰⁾.

吸収係数も散乱係数も大きい短波長側 (波長 400 nm 帯) の利用が適していると考えられる。このように、病変髄核組織の光学特性値が決定されることにより、治療機器の最適波長を検討するのに役立つほか、エネルギー分布を考慮し治療範囲を決定することでより安全な治療計画を立てることができるなど、より高度な光治療の実現に貢献することができる。

4. 生体組織の光学特性計測・算出における今後の課題

逆モンテカルロ法だけでなく光学特性値の間接的な算出において注意しなければならない点は、算出された数値が正しいかどうかである (ただし、実際には数値の正当性を検証することは困難であり、妥当性の検証にとどまる)。可視・近赤外波長域の生体組織の光学特性値算出において、血液中の主成分であるヘモグロビンの吸収波長 400 nm 帯や 500 nm 帯や、生体組織の主成分である水の吸収波長 1450 nm 帯や 2000 nm 帯で、高吸収係数が原因の散乱係数誤算出が発生するからである。具体的には、散乱係数スペクトルはミー散乱やレイリー散乱のスペクトルパターンに倣い、散乱係数は波長が短くなるにつれて増加し単調な曲線を示すはずが、高吸収波長帯で不規則な極大が観測される現象である。この誤算出現象は生体組織の光学特性値関連の研究論文で非常に多くみられ、生体光学でいまだ解決されていない根深い課題である。

この散乱係数誤算出の原因のひとつとして、屈折率の取り扱いが挙げられている。吸収が弱い波長域では生体組織の屈折率は実部のみで定義され、波長依存性も小さいため、光学特性値算出への影響は小さい。一方、吸収が強い波長域では、屈折率は実部だけでなく虚部 (消衰係数) を考慮する必要がある。すなわち、逆モンテカルロ法に複素屈折率を考慮した正確な屈折率スペクトルをパラメータとして導入する必要があるということである。しかしながら、生体組織の屈折率スペクトルの報告例は非常に少なくデータベースは存在しないことから、正確な屈折率を考慮した散乱係数算出の検討は現状では簡単には行えない状況にある。散乱係数誤算出の改善に関しては、ミー散乱やレイリー散乱を基礎とした物理式を用いて散乱係数を補正することが現実的であるともされており、補正モデルとその妥当性が検討されている²⁰⁾。

将来目指していくべき高度な光診断・治療の開発のためには、正確な生体組織の光学特性値が必要である。光学特性値から見積もられる生体組織内の光伝搬に関する知見を医師が理解する、もしくは光診断・治療装置側に光学特性値に基づく定量的な測定・制御機構をもたせることで、高度な光診断・治療が実現可能であると考えられる。また、最近の国内医療機器開発の動きでは、光診断・治療装置の承認審査の際に技術の科学的根拠として光学特性値に基づいた基礎データを求められることもあるようである。本解説の技術や考え方が普及し、光診断・治療の進展へ貢献することを期待する。

本解説に掲載のデータは、独立行政法人科学技術振興機構研究成果展開事業 (先端計測分析技術・機器開発プログラム) の「高度光診断治療に向けた生体組織の光学定数計測技術開発」による成果である。本解説をまとめるにあたり協力いただいた当研究室の石井克典助教および本多典広氏に感謝申し上げる。

文 献

- 1) J.-P. Ritz, A. Roggan, C. Isbert, G. Müller, H. J. Buhr and C. T. Germer: "Optical properties of native and coagulated porcine liver tissue between 400 and 2400 nm," *Lasers Surg. Med.*, **29** (2001) 205-212.
- 2) A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn and G. Müller: "Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm," *J. Biomed. Opt.*, **4** (1999) 36-46.
- 3) M. Hammer, A. Roggan, D. Schweitzer and G. Müller: "Optical properties of ocular fundus tissues-an *in vitro* study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte Carlo simulation," *Phys. Med. Biol.*, **40** (1995) 963-978.
- 4) J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, H. J. C. M. Sterenborg and M. J. C. van Gemert: "Double-integrating-

- sphere system for measuring the optical properties of tissue,” *Appl. Opt.*, **32** (1993) 399-410.
- 5) J. F. Beek, P. Blokland, P. Posthumus, M. Aalders, J. W. Pickering, H. J. C. M. Sterenborg and M. J. van Gemert: “*In vitro* double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm,” *Phys. Med. Biol.*, **42** (1997) 2255-2261.
 - 6) S. A. Prahl, M. Keijzer, S. L. Jacques and A. J. Welch: “A Monte Carlo model of light propagation in tissue,” *SPIE Institute Series: Dosimetry of Laser Radiation in Medicine and Biology* (SPIE Press, Washington, 1989) pp. 102-111.
 - 7) L. Wang, S. L. Jacques and L. Zheng: “MCML: Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues,” *Comput. Methods Programs Biomed.*, **47** (1995) 131-146.
 - 8) S. A. Prahl, M. J. C. v. Gemert and A. J. Welch: “Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method,” *Appl. Opt.*, **32** (1993) 559-568.
 - 9) P. Parsa, S. L. Jacques and N. S. Nishioka: “Optical properties of rat liver between 350 and 2200 nm,” *Appl. Opt.*, **28** (1989) 2325-2330.
 - 10) W. F. Cheong, S. A. Prahl and A. J. Welch: “A review of the optical properties of biological tissues,” *IEEE J. Quantum Electron.*, **26** (1990) 2166-2185.
 - 11) T. L. Troy and S. N. Thennadil: “Optical properties of human skin in the near infrared wavelength range of 1000 to 2200 nm,” *J. Biomed. Opt.*, **6** (2001) 167-176.
 - 12) V. V. Tuchin: *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*, 2nd ed. (SPIE Press, Washington, 2007) pp. 143-192.
 - 13) R. van Hillegersberg, J. W. Pickering, M. Aalders and J. F. Beek: “Optical properties of rat liver and tumor at 633 nm and 1064 nm: Photofrin enhances scattering,” *Lasers Surg. Med.*, **13** (1993) 31-39.
 - 14) T. C. Zhu, J. C. Finlay and S. M. Hahn: “Determination of the distribution of light, optical properties, drug concentration, and tissue oxygenation in-vivo in human prostate during motexafin lutetium-mediated photodynamic therapy,” *J. Photochem. Photobiol., B*, **79** (2005) 231-241.
 - 15) N. Honda, K. Ishii, T. Terada, T. Nanjo and K. Awazu: “Determination of the tumor tissue optical properties during and after photodynamic therapy using inverse Monte Carlo method and double integrating sphere between 350 and 1000 nm,” *J. Biomed. Opt.*, **16** (2011) 058003.
 - 16) A. N. Yaroslavsky, P. C. Schulze, I. V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich and H. J. Schwarzaiaer: “Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues *in vitro* in the visible and near infrared spectral range,” *Phys. Med. Biol.*, **47** (2012) 2059-2073.
 - 17) 本多典広, 石井克典, 南條卓也, 粟津邦男: “双積分球光学系と逆モンテカルロ法を用いた組織の可視・近赤外域光学特性値算出システムの開発とその評価”, *日本レーザー医学会誌*, **32** (2012) 421-428.
 - 18) S. T. Flock, S. L. Jacques, B. C. Wilson, W. M. Star and M. J. van Gemert: “Optical properties of Intralipid: A phantom medium for light propagation studies,” *Lasers Surg. Med.*, **12** (1992) 510-519.
 - 19) 石井克典, 伊東信久, 井上 惇, 本多典広, 寺田隆哉, 粟津邦男: “椎間板ヘルニア髄核組織の光学特性の算出と経皮的レーザー椎間板減圧術の最適波長に関する一考察”, *日本レーザー医学会誌*, **31** (2010) 152-157.
 - 20) 南條卓也, 石井克典, 本多典広, 粟津邦男: “生体組織の散乱係数誤算出における Mie 散乱及び Rayleigh 散乱を用いた補正”, *日本レーザー医学会誌*, **32** (2012) 429-436.

(2012年7月13日受理)