

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了時報告書

Coherent Anti-Stokes Raman Scattering による 無侵襲血糖値モニターの研究

研究代表者 戸井田 昌宏（保健医療学部 医用生体工学科）

1. はじめに

生体を対象とした非侵襲的計測では、各種の物理エネルギーの中で光は適応性が高い。一方で生体を生きたままの状態 (in vivo) で光計測しようとする、生体固有の困難な問題が存在する。

第一に散乱現象である。散乱透過、散乱反射した光は、伝播履歴情報と位置情報はほとんど保持されないため、定量化と画像化は著しく困難である。

第二は生体内在物質による妨害の問題である。生体内の特定分子を識別するには分光計測（蛍光、振動吸収）が有力であるが、生体内在物質には紫外～可視吸収をもつ蛍光物質が多種存在しアーティファクトの原因となる。このため目的物質固有の信号の弁別が困難である。

さらに第三は波長のミスマッチの問題である。生体分子はC-C、C-H、C-O等のband吸収で特定可能であるが、これら振動吸収の波長帯は赤外域である。生体は約70%が水であり、水の吸収は赤外域では大きく生体深部の振動分光計測を妨げる。一方で生体は0.7 μm ～ 1.2 μm の波長域は透過性が良く生体の光学的窓とも呼ばれている。このように生体を生きたままの状態で光計測する際、計測対象物の光特性とプローブ波長のミスマッチが生体内部の情報取得を困難にしている。これらが生体光計測の隘路となっている。

2. 研究の目的

本研究は上記生体光計測の隘路打破を目的とする。

目的物質からの信号を種々雑多な妨害信号から弁別するには、目的物質固有の信号が得られる赤外振動分光法が有力であるが、これでは生体内部情報を取得できない。生体内部の情報取得には生体透過性に優れた近赤外光をプローブとしたい。この生体の分光情報の取得における生体の光特性とプローブ波長の不整合の解決には、プローブ光として近赤外光を

使い赤外振動モードの情報を近赤外光で捉えられるCARS (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering) が有望と考えている。これまでのOCT研究から生体組織2～3 mm程度の深部画像計測が可能なが実証できている^{1,2)}。このことは、生体組織深度3 mm程度からの散乱反射光にはコヒーレンシーが残存していることの傍証でもある。このことから、散乱を伴う生体組織を対象として、励起光・プローブ光に近赤外波長を用いたCARSが適応可能との着想に至った。

一方医療ニーズをみると、血糖計測の非侵襲連続モニタリングが周術期の血糖管理、糖尿病患者管理から強く望まれている。しかし非侵襲血糖計測はこの30年来世界中で試みられているが、未だ実用に至っていない³⁾。ニーズとシーズの間に大きなギャップがあるのが非侵襲血糖計測分野である。

上記生体光計測の隘路を打破する全体構想の中で、本研究グラント期間では、非侵襲血糖計測を出口として、CARS技術の可能性検証を進めるための基本実験系を構築する。

3. 研究の方法

(1) 近赤外光励起ラマン分光分析装置の開発

近赤外光励起によるグルコース水溶液からのストークスラマン信号およびアンチストークスラマン信号を検出するための励起光学系および回転楕円体集光器から構成されるラマン励起測定部を設計・試作した。

設計・試作したラマン励起測定部の概要を図1に示す。また回転楕円体集光鏡を図2に示す。

回転楕円体集光器の第1焦点にグルコース水溶液を満たした石英球セルを配置し、石英球セル中心にQ-SW Nd:YAGレーザー光を集光レンズによる集束する。集束点から発生するラマン散乱光は回転楕円体集光器の第2焦点に集められる。第2焦点に集光されたラマン散乱光は第2焦点を焦点にしたアクロマティックコンデンサレンズペアで集束され、ビーム径

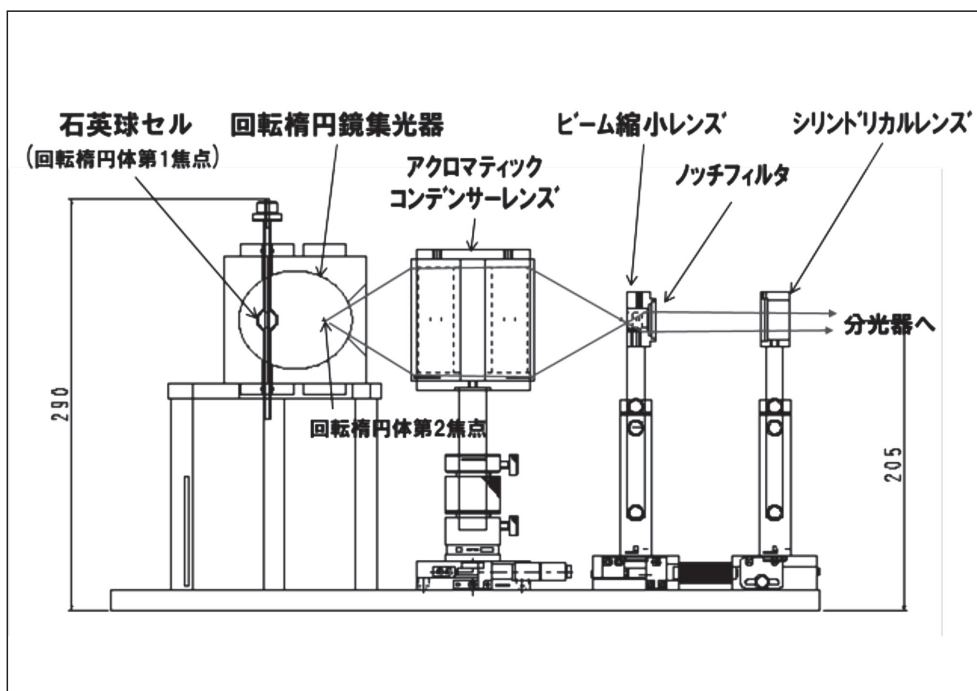


図 1. ラマン励起測定部の概要.

縮小レンズへ導光され、細径平行ビームに変換され、シリンドリカルレンズにより、後段の分光器へ導光される。

分光器はダブルモノクロメーターを用い、分光器出射スリット部に光ファイバー導光部を設け、光ファイバーを介して光検出器へラマン散乱光を導光する。光検出器からの出力はロックインアンプへ入力される。またQ-SWモニター信号(TTL)をロックインアンプの参照信号とした。ロックインアンプおよび分光器のモーターはPCで制御した。

試作したラマン励起測定部および分光解析部を用いて、グルコース水溶液からのラマン散乱光を分光解析した。またグルコース水溶液の濃度変化に対する、グルコース分子のC-O伸縮振動モードに対応したスペクトル成分の変化を評価した。

(2)CARS実験システムの開発

既設のn秒Q-SW Nd:YAGレーザーとそのTHGを励起光としたOPO (Optical Parametric Oscillator) を用いたCARS実験系を構築した。図3にその実験概要図を示す。

Q-SW Nd:YAG/THGレーザーから基本波1064 nm光を取り出しCARS励起のポンプ光とした。またNd:YAG/THG励起のOPOからアイドラー光として1210 nm光を取り出しストークス光とした。ポンプ光は光遅延器を通してダイクロイックミラー上でストークス光と重畳される。ポンプ光とストークス光は光遅延器の調整によりタイミングを合わせる。タイミングの揃ったポンプ光とストークス光はCARS励起・検出系へプリズムミラーにより導入され、ダイクロイック

ミラーと近赤外用対物レンズ(×20)により、グルコース粉末試料に照射される。位相整合条件を満たす方向に放射されるアンチストークス光はグルコース粉末試料により散乱され、再び対物レンズにより集光されダイクロイックミラーを透過し、ポンプ光およびストークス光などの迷光をカットしアンチストークス光を透過するバンドパスフィルターを介して光検出器

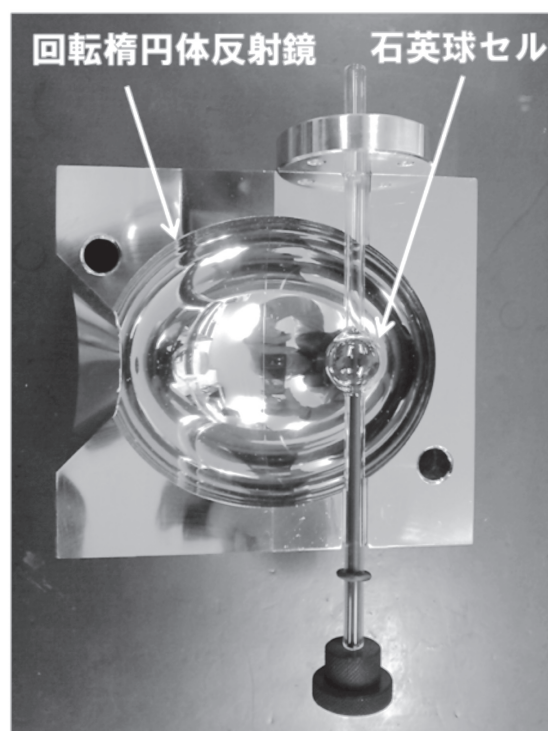


図 2. 試作した回転楕円反射鏡 (1/2)

により検出される。なおCARS励起・検出系内の切り替えミラーおよびCCDによりポンプ光とストークス光と試料とのフォカス調整がモニターを通して確認できる構成となっている。

このCARS実験システムにおいて、ポンプ光パルスのエネルギーを変化させた時のCARS信号強度を測定した。

4. 研究成果

(1) 近赤外光励起グルコース水溶液ラマン散乱分光

試作・開発したラマン励起測定部および分光解析部を用いて、グルコース水溶液からのラマン散乱光を分光解析した。励起はQ-SW Nd:YAGレーザーの基本

波 1064 nm 光を用い、石英球セル中の1 molグルコース水溶液に励起レーザー集光レンズ $f = 75$ mmで集光した。レーザーエネルギーは50 mJ/P, 繰り返しは10 ppsとした。またロックインアンプの時定数は1 secとした。その結果を図4に示す。

波長 920 nm ~ 1100 nm のアンチストークス側の結果を示している。図中に矢印し示したスペクトルは1064 nmは励起レーザー, 1009 nm (493 cm^{-1}) ~ 1016 nm (444 cm^{-1}) を含むスペクトル帯はグルコースの骨格振動モードに対応したスペクトルである。また940 nm (1200 cm^{-1}) ~ 950 nm (1100 cm^{-1}) 帯はC-O伸縮振動モードに対応したスペクトルである。

雑音スペクトルはあるものの、グルコースの指紋

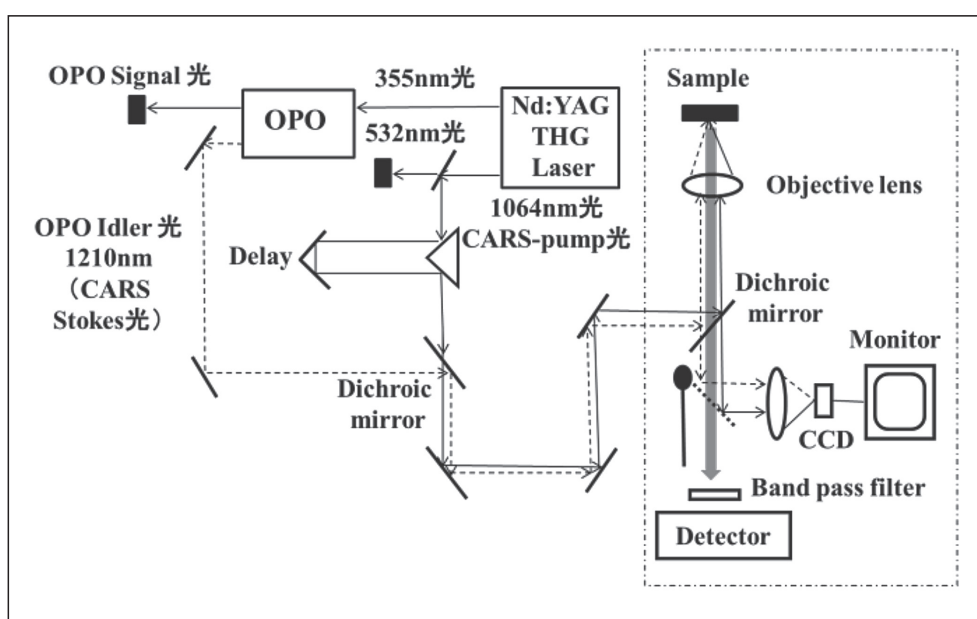


図 3. CARS実験システム概要図。

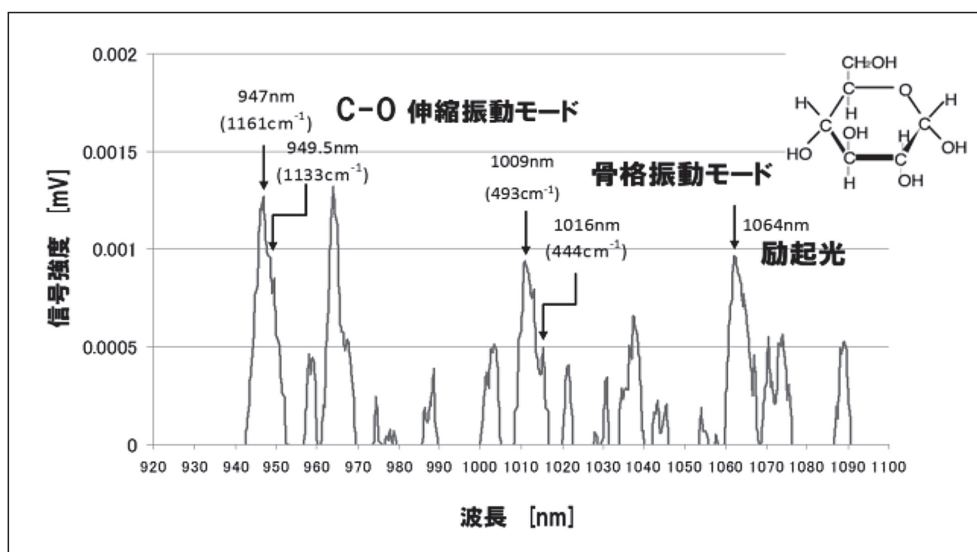


図 4. 1064 nm励起による1 molグルコース水溶液からのアンチストークスラマン光の分光スペクトル。励起光エネルギー：50 mJ/P × 10PPS, 時定数：1 sec。

スペクトルである、骨格振動モードならびにC-O伸縮振動モードに対応したスペクトルが確認できる。

次にラマン励起測定部のノッチフィルターを950 nm 中心波長、FWHM 10 ± 2 nmのバンドパスフィルターに替え、バンドパスフィルター直後の光検出器を配置し、グルコース水溶液の濃度を変化(50 ~ 1800 mg/dl)させて、950 nm 帯のアンチストークスラマン光の強度を測定した。結果を図5に示す。

グルコース濃度変化に対しアンチストークス光強度が直線性を保持していることが確認できる。

(2)CARS信号測定

図3に示したCARS実験系により、グルコース粉末を試料として、励起レーザーエネルギーに対するCARS信号の特性を評価した。図6にその結果を示す。

励起レーザーエネルギーの変化(10 ~ 50 mJ/P)に対しコヒーレントアンチストークス光強度が2乗特性を示していることが確認できる。

コヒーレントアンチストークス光強度は励起レーザーパルス光とストークスパルス光のタイミングに非常に鋭敏であるのは当然であるが、S/Nがパルスタイミングに対しても信号強度以上に鋭敏である

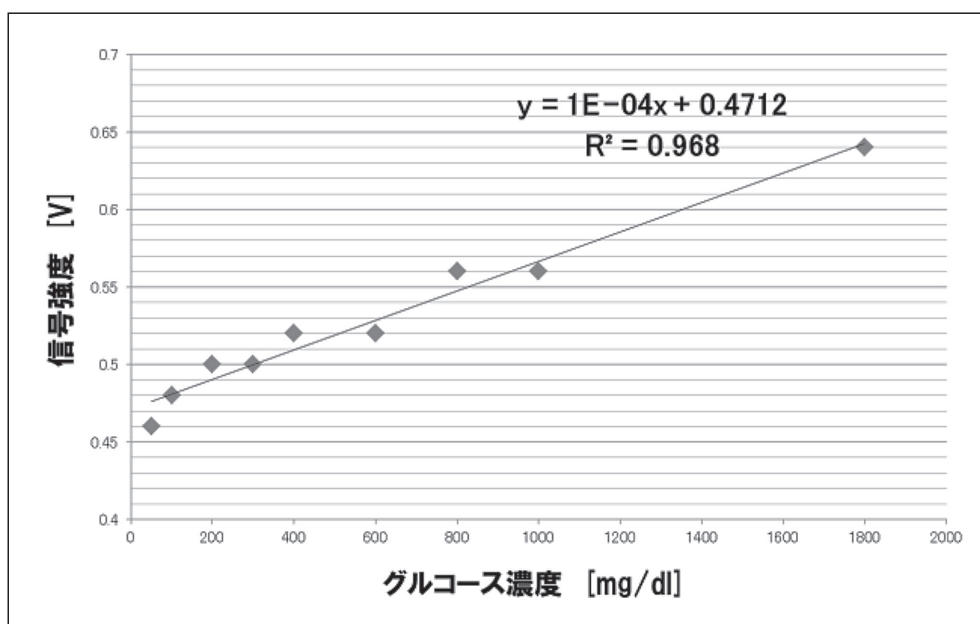


図5. グルコース濃度変化に対する950 nm帯アンチストークス光の強度特性。

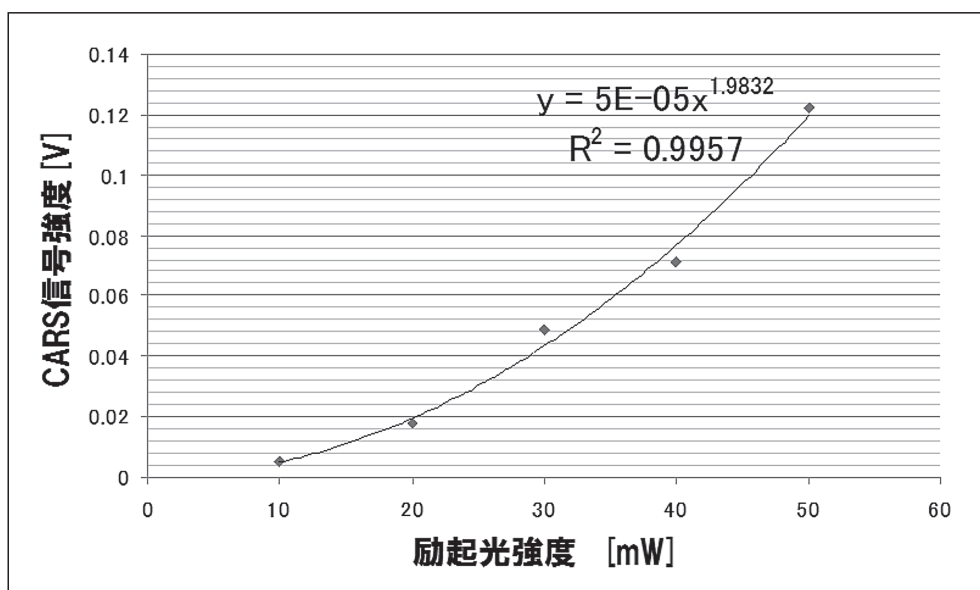


図6. 励起レーザーエネルギーに対するコヒーレントアンチストークス光強度特性。ポンプ光(1064 nm)エネルギー：10 ~ 50 mJ/P × 10 PPS, ストークス光(1210 nm)エネルギー：10 mJ/P × 10 PPS, 時定数：1 sec.

ことが確認できた。この現象はCARS信号のS/Nが非共鳴過程に律速されることを考えると、新たなCARS信号の高S/N計測の可能性を示唆するものとして興味深い。

(3) まとめ

- ① 既設設備(レーザ, OPO, 分光器)を活用し, ラマン分光の基本的計測・解析系を開発・整備した。
- ② これによりグルコース水溶液のアンチストークスラマンを分光計測した。
- ③ グルコース水溶液の濃度変化に対し, C-O伸縮振動モードに対応した950 nm帯アンチストークス光強度が比例することを確認した。
- ④ グルコース粉末試料からのコヒーレントアンチストークス光を計測し, コヒーレントアンチストークス信号が励起光強度に対し2乗特性を示すことを確認した。

5. 主な発表論文等

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1件)

名 称 : 計測装置及び計測方法
発明者 : 戸井田昌宏
権利者 : 学校法人埼玉医科大学
種 類 : 特許
番 号 : 特願2012-39854
出願年月日: 2012/02/27
国内外の別: 国内

参考文献

- 1) 戸井田昌宏. 日本特許 3999437 光断層画像化装置, 富士フイルム 2007/8/17
- 2) Toida M, Kawahara K. USP 7,542,145 Optical tomography method and optical tomography system. FUJIFILM Corporation (Tokyo, JP) 2009/6/2
- 3) O Khalil. Review non-invasive glucose, measurement technologies: An update from 1999 to the dawn of the new millennium. Diabetes Technology & Therapeutics 2004;6(5)660-97.