

平成 21 年 6 月 4 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19560040

研究課題名(和文) 拡散光を用いた皮膚組織の近赤外分光

研究課題名(英文) Near infrared spectroscopy using diffused lights in subcutaneous tissues

研究代表者

雑賀 憲昭 (SAIGA NORIAKI)

(米子工業高等専門学校・電子制御工学科・教授)

研究者番号：10112012

研究成果の概要：近赤外光を照射して皮膚下細胞内外の液中の健康指標のグルコース、アルブミンなどの測定のための光ビームの侵入深さ、伝搬長、偏光の変化、ビーム広がり等をモンテカルロ計算で明らかにした。次に水に溶解したグルコースの測定を行い、低濃度グルコース量の測定は難しいことを明らかにした。その過程で超音波的発生したバブルにより、重い水の水素結合を切断することを試みた。この実験結果からグルコースそのものではなくグルコースの安定状態に移行する過程により濃度が測定できることを利用した測定法を提案した。更に拡散光を用いた生体測定においてイオンフォレンジスができるよう、電圧を加えながら分光測定ができる透明電極を開発した。また活性酸素計測のための表面波プラズモンセンサを開発した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎・応用光学(量子光工学)

キーワード：光

1. 研究開始当初の背景

生体分野で近赤外分光を用いて測定できる化合物はイオン性化合物、有機性のものなどがあり、最初は生体内のグルコース量を測ることに主眼をおいて光学システム構築を考えた。その他の興味として生体の寿命に関係するアルブミン測定も予定した。測定は非侵襲で行うため、表皮の影響をどの程度受けるかまた、それを最小限にする入射光の侵入角、偏光などについて調べることにした。その手段としてモンテカルロプログラムを作成して測定光の散乱、特に生体内の偏光の

変化を調べるため、散乱に Rayleigh-Debye 散乱を用いる方法を採用した。

2. 研究の目的

近赤外光によって生体内をランダム伝播して吸収され細胞液内に溶解する生命に関する情報を探ることが主目的である。最初は真皮層内の細胞間液に内包された溶解グルコースの検出を超音波的に発生させたバブルを用いて試みる。更に、皮膚に弱い電界を加えて細胞液内のイオンを移動させながら分光測定するための透明電極を試作する。ま

た活性酸素の発生を検知するための表面プラズモンセンサの開発も試みる。

3. 研究の方法

以下研究目的に即して実施したシミュレーション、実験について説明する。

(1)皮膚組織内拡散光のモンテカルロ計算

散乱の異方性を考慮し、擬似ランダムに決与えられる伝搬方向の波数ベクトルとそれに付随する電場を電磁気方程式を満足するよう横方向に擬似ランダムに決める。

(2)皮膚拡散光深さの入射角依存性

皮膚表面法線に対する伝搬角を初期条件で与え、伝搬の軌跡や伝搬長さを計測するプログラムを付与する。これにより光が皮膚下の組織をどのように通過して情報が出力されてくるか知ることができる。

(3)超音波キャビテーションと近赤外吸収を用いたグルコース濃度測定

まず水に溶解するグルコース量を変えて計測できるかどうかを試みる。近赤外分光では、吸収量が吸収体の濃度に比例するランバート・ベールの法則を仮定するが、グルコースの場合どうなるかを調べる。水分子は水素結合によってクラスターを形成し、水単体に近い吸収スペクトルを表す水を軽い水、巨大なクラスターとなった水分子を表す水を重い水と称する。クラスターは容器の厚さ、境界条件、温度などに影響される。このため微量のグルコースの検知精度は著しく阻害される。このため、水分子の切断を行った後に測定する。そのため超音波バブルを照射を用いてグルコース濃度を測定する。

次にグルコース分子は血液または細胞液中に遊離して存在している。グルコースの吸収帯には、重い水分子の吸収が存在しこの影響を受け易い。したがって水分子のネットワークを切り離して再構築するため超音波で発生するバブルを照射する。切断された水分子の時間に対する再構築過程を測定する。

(4)イオントフォレシス用透明電極の開発

皮膚内を電気力線が貫くよう電界を掛けると、細胞液内のイオンが移動し細胞液内が攪拌されることになる。特にグルコースやアルブミンなどの大きい分子を移動したり濃度を高めたりすることができ、この状態で分光を実施すると感度が高くなることが期待される。この環境で、近赤外分光を実施することを目的とする透明電極を試作する。生体用であるから、接触しても皮膚に影響を及ぼさず、電極表面が絶縁されかつ生体に損失なし電界を印加できる透明電極が望まれる。この目的では ZnO は薄膜は最も良好な材料で

ある。Ag/Zn+O/ZnO 電極膜の透明性の発現を探る。

(5)活性酸素の作用を観察するための表面プラズモンセンサ

生体測定を人体に有害な活性酸素の検知を目的として表面プラズモンセンサを取り扱う。活性酸素は反応性が強く、また電子を奪うので電子の授受で検知する構造を採用する。体内の酸素分子は容易に電子を奪いイオン化して水となる。電子を奪う性質を利用して生体内活性酸素センサを考えた。原理は表面プラズモンを用いたセンサで表面材料として ZnO を用いる。

4. 研究成果

(1)光の皮膚組織内拡散モンテカルロ計算

皮膚に侵入し多重散乱して表面より放出される光について計算した。垂直入射で皮膚組織で散乱に関する光の平均自由行程 (MFP) に対する平均深さ (D)、平均拡散長 (L) を図 1 に示す。通常の MFP=40~50 μm に対して D=0.5mm L=2~3mm となった。

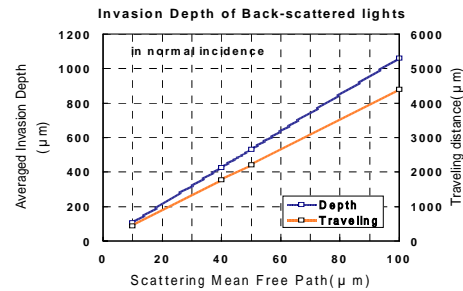


図 1. 光平均自由行程に対する皮膚拡散深さ

次に散乱時の位相変化が Rayleigh 散乱ポテンシャルに従うとして垂直入射における

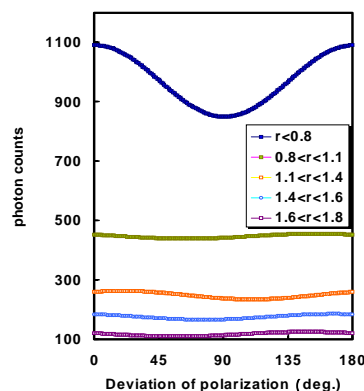


図 2. 拡散光の入射点からの等面積ゾーンにおける光強度と位相変化分布
多重散乱における後方散乱光の位相変化を入射点から等面積である距離に分割して拡

散光の数とその位相変化を求めた〔図2〕。入射点近くでは散乱回数が少ないため元の光を保存し、遠ざかると偏光変化は少なくなることが分かる。

(2) 皮膚拡散光深さの入射角依存性

細胞液中のイオン、グルコース、アルブミンなどを測定するためには、表皮0.2mmを通過して真皮まで侵入しそこから拡散する光が重要あり、入射平面波が斜入射して屈折し散乱するとしてモンテカルロ計算した

(図3)。MPF=50 μ m、横軸は皮膚内最初の伝搬面法線に対する伝搬角で、縦軸は侵入深さ後方散乱される光の平均侵入長、平均伝搬長である。伝搬角30度位までは、侵入の深さ、伝搬距離とも垂直入射とあまり変化しない。皮膚の屈折率n=1.37とするとこの伝搬角に対する入射角は43度となる。一方ブリュース角は入射角53度(伝搬角36.1度)となりこの辺りの入射角は避けなければならない。更に斜入射となると伝搬長が現象し内部の情報は得難くなる。

次に図4のような透過・反射照明光学系で水溶液サンプルの透過、手の反射吸収スペク透過で測ったものである。ゼラチン粉末の吸

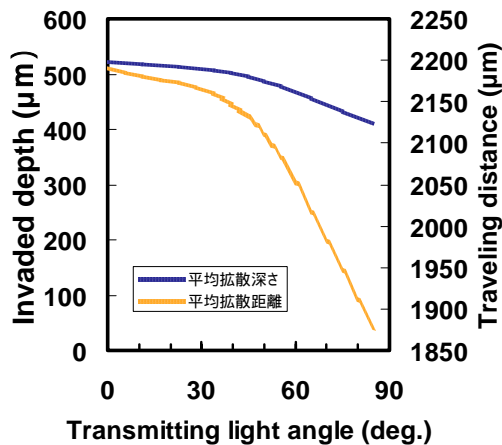


図3. 斜入射による侵入長と伝搬長

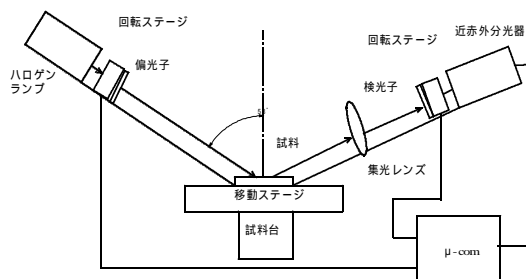


図4. 試作した透過・反射照明光学系

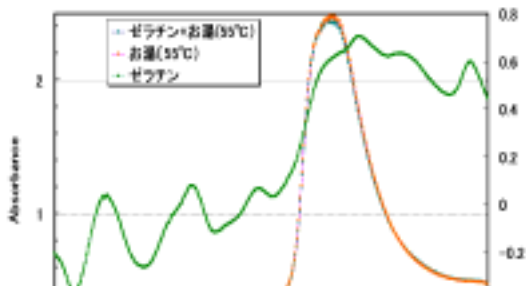


図5. ゼラチン水溶液(55度)と湯(55度)、ゼラチン粉末の吸収

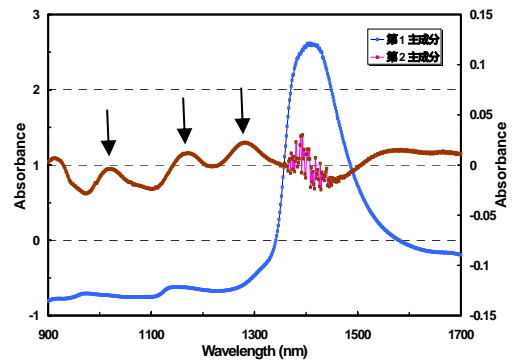


図6. 図5ゼラチン水溶液、水の主成分分析

収と対応させると波長1637nm, 1278nm, 1156nm, 998nmのピークでは水溶液には水を僅かに上回る吸収が観測される。この違いを統計的に主成分分析を用いて解析する(図6)。第二主成分では、ゼラチン粉末の情報を示し、粉末の吸収ピークが夫々、1278nm → 1283nm, 1156nm → 1167nm, 998nm → 1020nmとなり、幾分長波長側にシフトしている。粉末では1350nmから1400nmまで吸収上昇するが水の吸収にかき消されている。しかし1570nm~1700nmでゼラチンの吸収を認めることができる。一般に人体表皮の反射においてもこの波長帯に吸収が見られる。

次に測定系を反射型にして手皮膚の拡散後方散乱光について入射角をパラメータに測定した〔図7〕。入射角60度ではゼラチンのように1550nm以上における帯状吸収と1300nm, 1100nm, 980nmにおけるゼラチンと反転したピークが見られる。この入射角では図3で示された如く光の侵入長、伝搬長が小さくなりより表皮の情報をもたらすと考えられる。

入射角がそれ以下では、これらのピークが明確ではなく表皮の内部の情報をもたらされ、また1400nm辺りの水の吸収が明らかで真皮内の吸収情報が取り出されていること

を感じる事ができる。

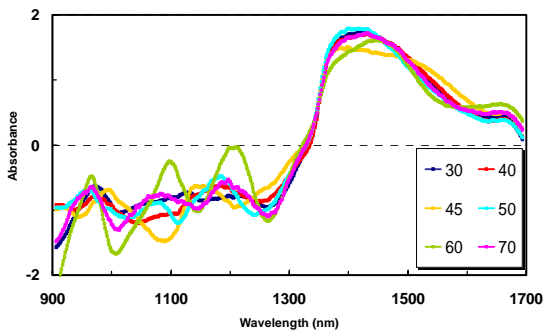


図 7. 入射角によって変化する手皮膚の後方散乱光の光吸収

(3) 超音波キャビテーションと近赤外吸収を用いたグルコース濃度測定

血糖値測定に重要な 50mg/dl~300mg/dl の低グルコース濃度の要求がある。図 5 のゼラチン以上に測定精度がないと検出できない。しかし水分子は水素結合を介してクラスターを形成し吸収スペクトルは微小的にかなり変動し吸収に関するランバートベールの法則に従わないという実験結果を得た。ところで水素結合のエネルギーは 2~Kcal/mol から、アボガドロ数をもちいて 1 粒子当りの結合エネルギーに直し、他方ボルツマン定数 K_B を用いて 1 粒子の熱による振動エネルギー $=3K_B T/2$ と比較すると 2.4~6.2 倍となり一部分室温程度で切断可能である。

このため超音波キャビテーションにより水の水素結合を切断し、同時に発生した OH 基がまた水クラスターを作って定常状態到達する時間変化からグルコース濃度を測定する方法を考案した。切断されても固体のレーザアブレーションによる切断と同じく荷電粒子が nSec オーダーで再び結合するが実験で超音波バブリングのあと、暫く水粒子が動いていることが観察された。これはクラスターのような巨大分子列が移動し連続の式に従って記述されるような非定常の現象によって引き起こされていると考えられた。

図 8 はランジュバン振動子により発生した超音波 (4.6 KHz) で生じたキャビテーションにより水分子切断 1 分後の吸収スペクトルから水スペクトルを引いて得た水のキャビテーションの変化を示したものである。超音波の駆動電流を上げてゆくと 2 個のピークの生成が観測される。1360nm 付近のピークは水分子が切断されて発生した OH 基や軽い水分子によって生じた吸収である。一方 1500nm 付近のマイナス側のピークと 1700nm までの緩やかな吸収は水クラスターなどの重い水分子による結合が切れて吸収しなくなることによる。

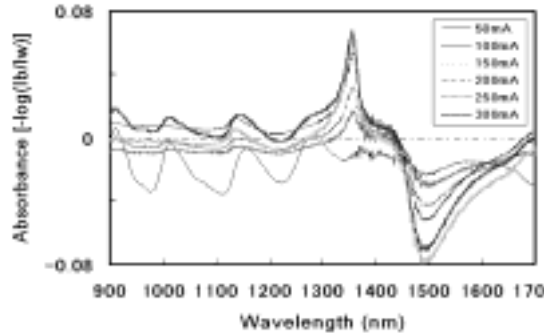


図 8. 超音波キャビテーションの強度による水分子切断の吸収スペクトルの変分

図 9 は各濃度グルコース溶液がキャビテーションを受けて定常状態に至る吸光度の主成分分析の第二主成分の時間変化を示したものである。明らかに水分子より大きいグルコース分子のバリアを受けて定常状態に至る時間が早くなっている。

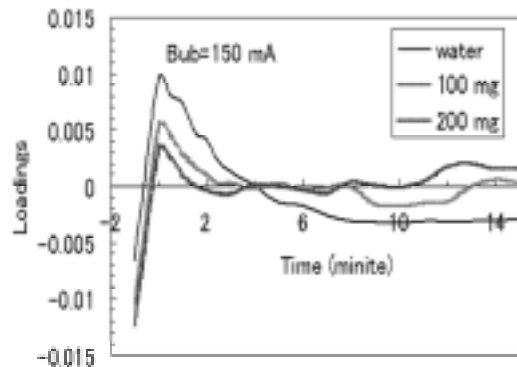


図 9. 超音波キャビテーションを受けた各グルコース溶液の主成分負荷係数の時間変化

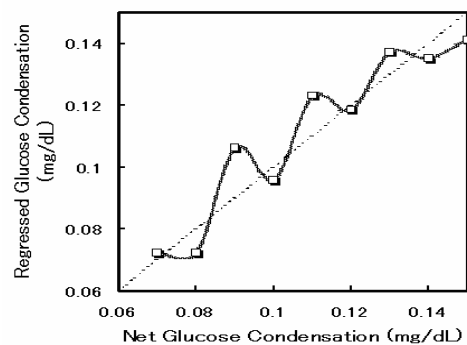


図 10. キャビテーション処理されたグルコース溶液の PLS 解析による濃度回帰

図 10 はキャビテーション処理されたグルコース溶液の定常状態に向かう過程を 1 個の

データを未知、他のデータを教師用として PLS 解析によってグルコース濃度を推定した結果である。いままで測定できなかった低濃度のグルコースを $\pm 1.6 \text{ mg/dl}$ で推定された。

(4) イオントフォレシス用透明電極の開発

生体の分光特性のため皮膚に印加して細胞液中の電解質を移動し、これにより測定物を移動して近赤外分光する技術がある。(イオントフォレシス)。この技術は微量な分子をかき集めて測定するのに用いられる。このための透明電極を製作した。ガラス基盤に Ag 薄膜を真空蒸着で 7 nm つけ、その上に酸素の供給を抑えた Zn リッチ ZnO を 20 nm そのうから ZnO 薄膜をつけると Ag 膜が透明化する。図 11 は ZnO の膜厚と透過率を示した。ものである。条件によって 90% を超える透過率が実現された。

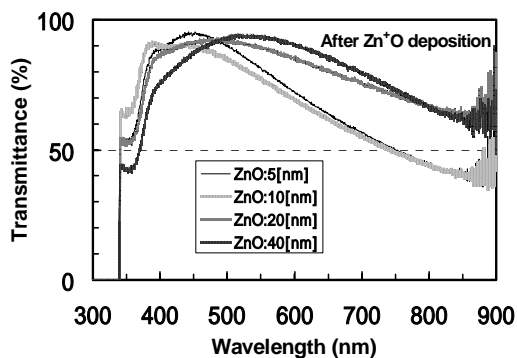


図 11. Ag 薄膜と ZnO 薄膜を用いた透明電極

図 12 は試作した透明電極を通して本文を撮影したものである。この場合表面の ZnO は 20 nm で透過率は 86.5% である。



図 12. 試作透明電極 (透過率 86.5%) による本文透過像 (中央)

(5) 活性酸素の作用を観察するための表面プラズモンセンサ

活性酸素は化合物の電子を奪う作用が強い。適当な量だけ自由電子を持って、その減少で活性酸素を測ることを考えて、表面プラズモン (SPR) センサを作った。図 13 は Ag 薄膜の上に ZnO を堆積してプラズモンの吸収入射角の変化を測定したものである。表面に ZnO 層があるため Ag の電荷の変位量は減少しプラズマ周波数は高くなる。これにより吸収波長は短くなり ZnO の膜厚増加とともに入射角は大きくなる。通常表面に誘電体を設ける場合こうなる。しかし、ZnO にその禁制帯幅よりエネルギーの大きい紫外線を当ててやると自由電子を生成する。照射光に対して、ZnO と Ag 膜内の自由電子が協動的に動けば、プラズマ振動の変位量は大きくなりプラズマ周波数は上がることが期待される。図 14 は紫外線照射された Ag/ZnO 膜の光吸収を測定したもので入射角が小さくなり、プラズマ周波数が上がってキャリアが増えたことが分かる。

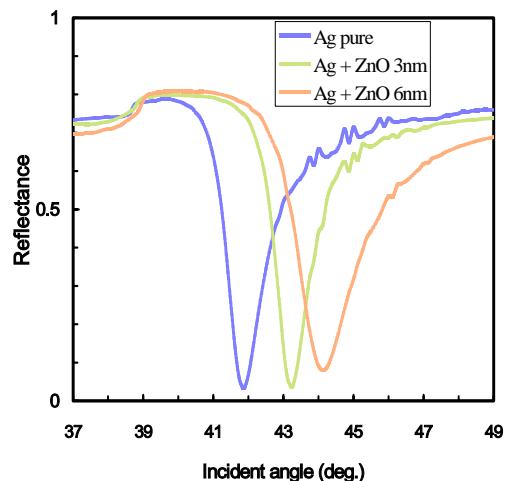


図 13. Ag 膜の上に ZnO を堆積したときの SPR 吸収角の変化

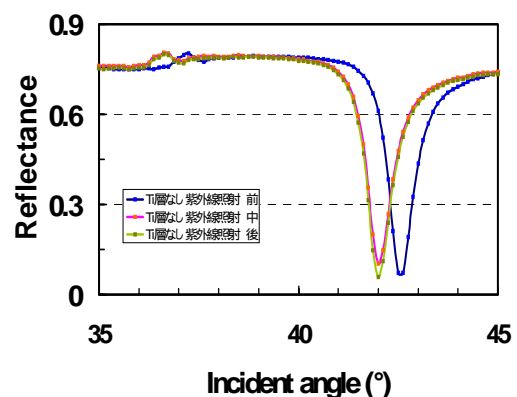


図 14. Ag/ZnO 薄膜に対する紫外線照射による SPR 吸収角の変化

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Noriaki Saiga, Kenji Matsuda:
“Spectroscopic measurement of glucose
content in a solution involving the water
molecule clusters downsized by ultrasonic
cavitations”, *Optical Review* vol.16 (2009)
To be accepted and published.

[学会発表] (計 10 件)

{国際会議}

- ① N. Saiga, K. Matsuda, H. Hamada and
M. Kinoshita: “NIR measurement on a
glucose solution in a quasi-steady
state of rearranging H₂O clusters
downsized by ultrasonic cavitation”
Internat. Symposium on sonochemistry
and sonoprocessing (ISSS 2007,
Kyoto), digest (2007) p. 81.
- ② N. Saiga and K. Matsuda:
” Spectroscopic measurement of glucose
content in a solution involving the
water molecule clusters downsized by
ultrasonic cavitations” 6th interna.
Conf. on Optics-Photonics Design &
Fabrication(ODF’ 8, Taipei) Tech. dig.
(2008)p. 427-428.
- ③ N. Saiga, R. Nakao and S. Adachi:
” Wavelength shift of surface plasmon
resonance dependind on the carrier
density of the layer piled on an Ag thin
film” Internat. Topical Meeting on
Information Photonics 2008 in Hyogo,
Tech. dig. (2008)p. 106-107.
- ④ N. Saiga, K. Yamamichi and Y. Atarashi:
“Realization of transparency in
ZnO/ZnO/Ag thin films for
electrode”, IEEE 8th CLEO/Pacific Rim
Conf. On laser and electro-optics in
Shanghai, China (2009Au.) To be accepted

{国内学会}

- ① 岩本誠、雑賀憲昭、濱田長生、木下雅登:
「生体中のレーザー光誘起反応の測定」日
本物理学会、応用物理学会中四国支部学
術講演会、2007、p 65.
- ② 雑賀憲昭、松田謙治、濱田長生、木下雅登:
「超音波キャビテーション後の準安
定状態を用いたグルコース溶液の近赤
外分光測定」日本物理学会、応用物理学
会中四国支部学術講演会、2007、p 62.
- ③ 岩本誠、呉龍錫、濱田長生、木下雅登、
雑賀憲昭:「レーザー照射による生体中の熱
的効果の測定」OPTICS & PHOTONICS JAPAN
2007 IN OSAKA, 講演予稿集 (2007)
p. 316-317.

- ④ 松田謙治、長澤真実、濱田長生、木下雅登、雑賀憲昭:「超音波バブルによる分子
切断を用いたグルコース水溶液の近赤外
分光」OPTICS & PHOTONICS JAPAN 2007 IN
OSAKA, 講演予稿集 (2007)p. 316-317.
- ⑤ 新祐介、大島由也、入江知也、雑賀憲昭
「トンネル効果を利用した ZnO/ZnO/Ag
構造透明電極膜の試作」第 55 回応用物理
学関係連合会講演予稿集、No. 3
(2008)p. 1034.
- ⑥ 雑賀憲昭、三成将平、松田謙治:「キャビ
テーション処理されたグルコース水溶液
の近赤外分光測定からの濃度測定」第
17 回ソノケミストリー討論会講演論文集、
(2008)p. 112~113.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

雑賀 憲昭 (SAIGA NORIAKI)

(米子工業高等専門学校・電子制御工学科
・教授)

研究者番号: 1 0 1 1 2 0 1 2

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者