

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26390092

研究課題名(和文) 散乱光の偏光解析を用いた生体組織の構造および形態の解析についての研究

研究課題名(英文) Research on the structures and morphologies of biological organizations based on polarimetry of scattered light

研究代表者

大槻 荘一(Otsuki, Soichi)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・研究主幹

研究者番号：20356653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：生体組織を模擬するために、媒体中に微粒子を分散させた試料を選定した。細い光を試料に照射した際に、試料表面から放出される散乱光の偏光状態を調べた。散乱を表す行列の対称性は、単一微粒子の散乱の対称性を忠実に反映することを理論的に解明した。球形の試料では、光の散乱する角度が 180° に近いほど、二減衰度と移相度が大きくなることをシミュレーションにより明らかにした。平板状の試料でも同様の現象を確認し、さらに、媒体が光学活性であるとき、旋光度は中心からの距離に比例して増加することを発見した。次いで、複屈折媒体中では、偏光特性が方位角に依存することを認めた。これらの数値解析による結果は実験により確認した。

研究成果の概要(英文)：Samples that consisted of suspensions of micro particles in media were selected as a model of biological organization. When the sample was illuminated by a thin light beam, the polarization state of scattered light exiting from the sample surface was investigated. It was proved theoretically that the symmetry of multiple scattering in media reflects that for scattering by single particles. Numerical simulations revealed the followings: for spherical samples, the diattenuation and the retardance become greater as the scattering angle is closer to 180 deg. ; for slab samples, similar behaviors are observed with respect to the distance from the illumination point; the optical rotation increases in proportion to the distance for chiral media; the polarization properties are dependent on the azimuth in birefringent media. These numerical results were verified by experiments.

研究分野：計測光学

キーワード：光散乱 多重散乱 偏光特性 シミュレーション モンテカルロ法 偏光解析

1. 研究開始当初の背景

組織ががん化しているかどうかの判断は、表面近くの細胞または組織の断片を用いて、細胞や組織が正常な場合と比べ、どの程度変形しているかで決められる。これらの検査は極めて高度な専門的知識や経験が必要であり、コストと時間を必要とするため、より簡便にがん化の度合いを判断する手法が求められている。また、外科手術において切除すべき部位を決定するため、手術中に病理検査が行われるが、通常の場合に比べて標本の質に問題があるために、診断が必ずしも正確とはいえない。手術中に組織を採取することなく、がん化の識別ができれば、迅速な手術が可能となる。造影剤となる色素を血管に注入し、血管やリンパ管を可視化する手法が提案されているが、患者への身体的な負担が無視できない。そのため、病理検査に代わる診断法として、組織や細胞から散乱した光の偏光解析が注目される。

2. 研究の目的

生体組織からの散乱光の偏光解析を行い、生体組織の構造や形態を解析することにより、病理検査に代替する手法を開発する。従来、散乱角が 180°に近い後方散乱光の測定が行われてきたが、本研究では、90°前後の散乱角で測定・解析を行う。この条件では生体組織の構造や形態の違いによる偏光二色性および複屈折の差ははるかに顕著となると予想される。90°前後の散乱角での測定を行うため、プリズムを生体組織表面に密着させ、プリズムを通して光を斜入射する。プリズムを用いて生体組織表面を平坦化することにより、表面での反射および屈折の寄与を見積もることができ、正確な偏光解析が可能となる。さらに、がん組織と正常組織を識別する指標を選択し、手術中に正常組織とがん組織とを見分けることができる、患者に負担の少ない手法を開発する。

3. 研究の方法

微粒子の懸濁液を試料とし、微粒子(散乱体)の濃度が十分小さく、フォトンが複数の散乱を起こす確率が無視できる条件で、90°前後の散乱角において、散乱体の屈折率、吸光係数、サイズなどの性質に対する試料のミューラー行列の依存性を調べる。次いで、散乱体の濃度を大きくし、フォトンの散乱回数が多くなるとともに、この依存性がどのように変化するかを調べる。一方、生体組織のモデルとして、親水性高分子ゲル中に散乱体を分散させた試料を用い、プリズムを介して90°前後の散乱角で照射および測定を行うことにより、ミューラー行列を求め、散乱体の性質に対する依存性を調べる。

実際のがん組織は正常な領域とがん化した領域が混在しており、がん化した領域を識別するためには、二次元検出器を用いた散乱

光のイメージングが必要である。そのため、散乱体のサイズ、濃度などに違いを有する領域が混在したモデル試料を作製し、異なる場所におけるミューラー行列をイメージングにより測定し、散乱体のサイズ、濃度などとの関係を調べる。

4. 研究成果

(1) 還元実効散乱行列とその対称性

1種類の非対称性粒子による光散乱は、可逆性を満たすことが知られており、ミューラー行列を用いて次式で表される。

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{01} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ -m_{02} & -m_{12} & m_{22} & m_{23} \\ m_{03} & m_{13} & -m_{23} & m_{33} \end{bmatrix} \quad (1)$$

さらに、球状粒子による散乱は面对称性を満たし、次式で表される。

$$\mathbf{M} = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & 0 & 0 \\ m_{01} & m_{11} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & m_{22} & m_{23} \\ 0 & 0 & -m_{23} & m_{33} \end{bmatrix} \quad (2)$$

一方、等方的でかつ均質な平板状試料を細い光で照射したとき、照射点の周りから散乱光が放出される。この後方散乱に対応する行列は次式で表されるという理論が1999年に発表された。

$$\mathbf{M}(r, \phi) = \mathbf{R}(-\phi) \mathbf{M}^r(r) \mathbf{R}(-\phi) \quad (3)$$

ここで、 r および ϕ は照射点からの距離および照射点の周りでの方位角であり、 $\mathbf{M}^r(r)$ は試料本来の散乱に対応する還元実効散乱行列であり、 \mathbf{R} は次式のとおりの座標軸の回転に対応する行列である。

$$\mathbf{R}(\phi) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2\phi & \sin 2\phi & 0 \\ 0 & -\sin 2\phi & \cos 2\phi & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (4)$$

さらに、微粒子による散乱が可逆性と面对称性を満たすとき、平板による後方散乱もまた可逆性と面对称性を満たすことが併せて発表された。

(2) 球形試料の光散乱

本研究課題では、試料が球形であるとき、式(3)は次式のように変形されることを理論的に明らかにした。

$$\mathbf{M}(\theta, \phi) = \mathbf{M}^r(\theta) \mathbf{R}(-\phi) \quad (5)$$

ここで、 θ および ϕ は照射点の周りでの極角および方位角である。微粒子による散乱が可逆性と面对称性を満たすとき、球体による散乱もまた可逆性と面对称性を満たすことを理論的に証明した。さらに、モンテカルロ法に基づくシミュレーションにより数値的に実

証した。

次いで、数値的に求めた還元実効散乱行列の分解を試みた。還元実効散乱行列は対称分解法を用いて次式の通り近似的に分解できた。

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_D \mathbf{M}_R \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R^T \mathbf{M}_D \quad (6)$$

ここで、 \mathbf{M}_D および \mathbf{M}_R はそれぞれ直線偏光に対する二減衰子行列および移相子行列であり、 \mathbf{M}_Δ は純粋な脱偏光子行列である。これらの行列から、水平 - 垂直偏光、45°直線偏光および円偏光についての脱偏光係数 (α_1 、 α_2 および α_3)、水平偏光に対する二減衰度 (D_H) および移相度 (δ) を求めた。

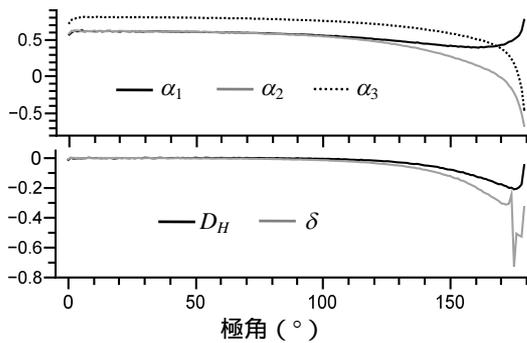


図1 . 球形試料の偏光特性

対称分解法に基づいて計算した偏光特性の極角依存性を図1に示す。3種類の脱偏光係数はいずれも極角が約60°以下では一定だが、 α_2 および α_3 は極角が大きくなるとともに減少し、90°近くで負となる。一方、 α_1 は90°近くで急激に増加する。また、 D_H および δ は極角が約70°以下では0であるが、極角が大きくなるとともに負の方向に増加する。これらの変化は大きな極角の範囲で単一粒子による散乱の影響が大きくなることを示す。このように、散乱の偏光特性を極角の関数として求め、極角が大きいほど移相性二減衰子としての性質がより強くなることを見いだした。

なお、前記還元実効散乱行列はルー・チップマン極分解法を用いても分解できるが、詳細は雑誌論文を参照されたい。

(3) 平板試料からの後方散乱

モンテカルル口法に基づくシミュレーションにより、平板試料からの後方散乱を表す行列を計算し、散乱光の偏光状態が式(3)によって表されることを示した。また、単一粒子による散乱が可逆性または面对称性を満たすとき、後方散乱の還元実効散乱行列は可逆性または面对称性を満たすことを示した。このようにして、前記の1999年に提案された理論を初めて数値的に実証した。さらに、対称分解法およびルー・チップマン極分解法により、還元行列が純粋な脱偏光子および垂直に配向した移相性二減衰子の行列に近似的に分解でき、光照射点からの距離が短いほ

ど移相性二減衰子としての性質はより強くなることを示した。

一方、媒体が光学活性であるとき、還元実効散乱行列は可逆性を満たすことを明らかにした。ルー・チップマン極分解法を用いて、還元実効散乱行列を分解し、偏光特性を照射点からの距離の関数として求めた。その結果、平板試料は垂直に配向した移相性二減衰子として作用し、その性質に旋光性が付加されることがわかった。なお、旋光性は照射点からの距離に比例して増加することが確認された。

(4) 複屈折を有する平板状試料の後方散乱

媒体が複屈折を有する平板状試料からの後方散乱の偏光特性を数値的に解析した。複屈折の方向が平面に対し垂直な場合、還元実効散乱行列は照射点からの距離だけに依存する。移相度は照射点近くにおける負の値から、距離とともに直線的に増加する。

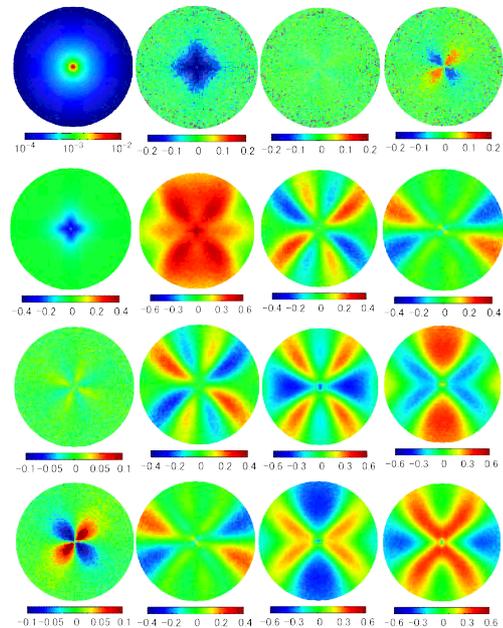


図2 . y軸に平行な複屈折を有する平板試料の還元実効散乱行列

一方、複屈折の方向が平面に平行、具体的にはy軸に平行な場合、還元実効散乱行列は図2に示すように、照射点の周りで距離と方位角の両方に依存し、照射点について2回または4回対称性を示す。ルー・チップマン極分解法を用いて、還元実効散乱行列を二次元的に分解し、偏光特性を試料表面上における位置の関数として求めた。図3に示すように、移相度の絶対値 $|\delta|$ は複屈折に垂直および水平な方向で極大を示し、その中間でほぼ0となる。 δ の符号は明らかにその中間点で変わり、複屈折に垂直な方向で負、水平な方向で正となる。一方、極大値は複屈折に垂直な方向の方が大きいことから、 $|\delta|$ の方位角依存性は、2つの主要な依存性から成り立っていることが示唆される。光子の進行方向による

複屈折の効果を検討すると、これらの依存性は平板内を平面に対し垂直に進む光子および平行に進む光子によるそれぞれの寄与と考えられる。

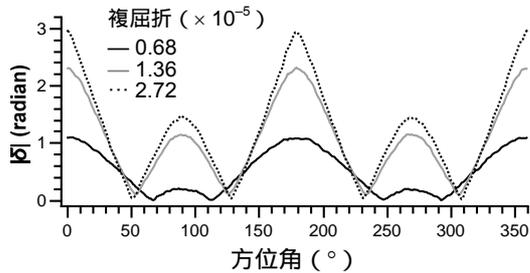


図3 . y 軸に平行な複屈折を有する平板試料の光散乱における移相度の方位角依存性

次に、複屈折が平面に対し斜め、具体的には y 軸に沿って斜めである場合、還元実効散乱行列は図4に示すように、y-z 平面について対称または反対称、x-z 平面について非対称となる。前記のとおり、散乱行列に寄与する光子の進行方向は、平面に対し垂直である場合と、平面に平行である場合が考えられたが、後者は実際には平面に対し小さな角度を有していると考えられる。この平行からのずれは、複屈折が平面に対し斜めであるために、x-z 平面についての非対称性として現れたと想定される。

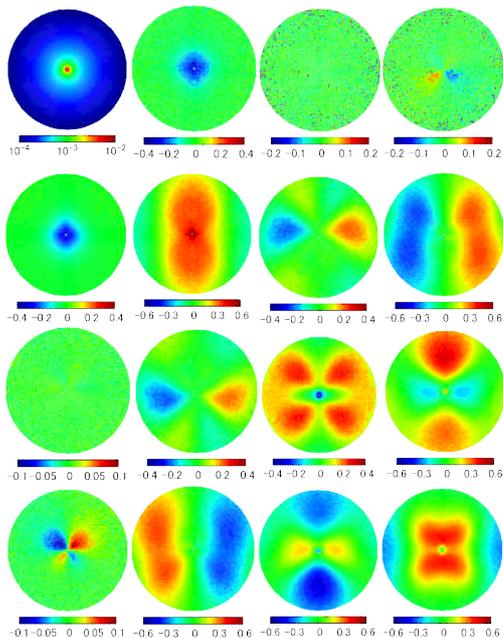


図4 . 平面に対して斜めの複屈折を有する平板試料の還元実効散乱行列

(5) 理論および数値的予測の実証

細い光を試料に照射し、照射点の周囲から放射される散乱光の偏光状態を二次元で測定できる装置を設計・製作した。光源からの光を偏光子と2つの液晶可変移相子を通して試料に照射し、回転移相子および偏光子を

介して冷却型 CCD に導き、光強度の分布を測定する。

2枚の厚さ 1 mm のガラス板とスペーサをシールを介して圧着し、縦 60 mm、横 60 mm、厚さ 10 mm の測定セルを構成し、この中に半径 0.7 μm 屈折率 1.59 のポリスチレン球状粒子を分散した水を入れた。測定セルの前面に約 21°の角度で径 1 mm 以下の測定光を照射し、後方散乱光の偏光状態を測定した。図5に測定によって得られた実効散乱行列を示す。行列は可逆性を示しており、式(3)により計算した還元実効散乱行列は明らかに可逆性および面対称性を満たす。したがって、前記理論および数値解析は実験結果と合致している。可逆性に関連する行列要素の値は若干相違しているが、測定の系統誤差に起因するものであり、結果の正しさを否定するものではない。また、y-z 平面についての非対称性は測定光を斜めに照射したことに起因している。

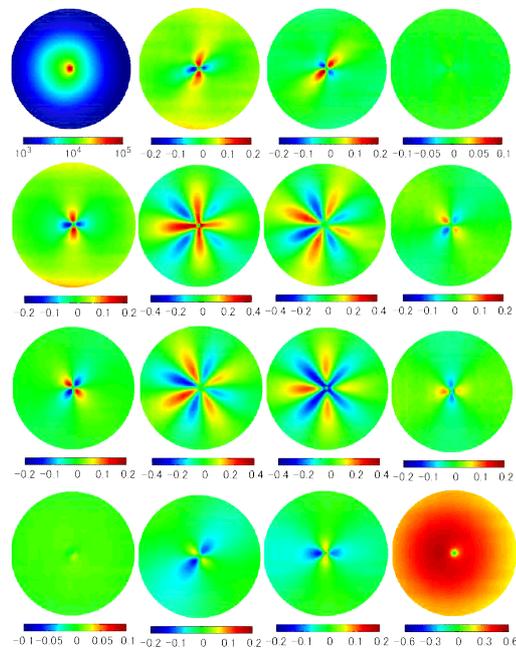


図5 . 測定した平板試料の実効散乱行列

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

大槻 莊一、Multiple scattering of polarized light in uniaxial turbid media with arbitrarily oriented linear birefringence、Proceeding of SPIE、査読なし、Vol. 10062、2017、1006212
DOI: 10.1117/12.2249590

大槻 莊一、Multiple scattering of polarized light in uniaxial turbid media with arbitrarily oriented linear birefringence、J. Biomed. Opt.、査読有、Vol. 22、No. 1、2017、015001
DOI: 10.1117/1.JBO.22.1.015001

大槻 莊一、Multiple scattering in turbid media containing chiral components: a Monte Carlo simulation、Opt. Commun.、査読有、Vol. 382、2016、pp. 157–161
DOI: [10.1016/j.optcom.2016.07.079](https://doi.org/10.1016/j.optcom.2016.07.079)

大槻 莊一、Forward scattering of polarized light from a turbid slab: theory and Monte Carlo simulations、Appl. Opt.、査読有、Vol. 55、No. 36、2016、pp. 10276–10282
DOI: [10.1364/AO.55.010276](https://doi.org/10.1364/AO.55.010276)

大槻 莊一、Multiple scattering of polarized light in turbid birefringent media: a Monte Carlo simulation、Appl. Opt.、査読有、Vol. 55、No. 21、2016、pp. 5652–5664
DOI: [10.1364/AO.55.005652](https://doi.org/10.1364/AO.55.005652)

大槻 莊一、Multiple scattering of polarized light in turbid infinite planes: Monte Carlo simulations、J. Opt. Soc. Am. A、査読有、Vol. 33、No. 5、2016、pp. 988–996
DOI: [10.1364/JOSAA.33.000988](https://doi.org/10.1364/JOSAA.33.000988)

大槻 莊一、Symmetry relationships for multiple scattering of polarized light in turbid spherical samples: theory and a Monte Carlo simulation、J. Opt. Soc. Am. A、査読有、Vol. 33、No. 2、2016、pp. 258–269
DOI: [10.1364/JOSAA.33.000258](https://doi.org/10.1364/JOSAA.33.000258)

〔学会発表〕(計 7 件)

大槻 莊一、ペンシル光照射による後方散乱に基づく不均一平板の偏光イメージング、第 64 回応用物理学会春季学術講演会、2017 年 3 月 17 日、横浜市 (神奈川県)

大槻 莊一、平板試料における偏光の多重散乱に対する測定条件の影響: モンテカルロシミュレーション、第 64 回応用物理学会春季学術講演会、2017 年 3 月 16 日、横浜市 (神奈川県)

大槻 莊一、Multiple scattering of polarized light in uniaxial turbid media with arbitrarily oriented linear birefringence、Photonics West 2017、2017 年 1 月 30 日、サンフランシスコ (アメリカ)

大槻 莊一、Multiple scattering in turbid media containing chiral components: a Monte Carlo simulation、7th International Conference on Spectroscopic Ellipsometry (ICSE-7)、

2016 年 6 月 9 日、ベルリン (ドイツ)

大槻 莊一、Monte Carlo simulation for multiple scattering of polarized light in turbid semi-infinite plane media、7th International Conference on Spectroscopic Ellipsometry (ICSE-7)、2016 年 6 月 9 日、ベルリン (ドイツ)

大槻 莊一、半無限平面体からの偏光の後方散乱: モンテカルロ・シミュレーション、第 62 回応用物理学会春季学術講演会、2016 年 3 月 21 日、大田区 (東京都)

大槻 莊一、光散乱偏光解析による非侵襲診断法: モンテカルロ・シミュレーションによる検証、第 15 回 LS-BT 合同研究発表会、2016 年 2 月 2 日、つくば市 (茨城県)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 散乱試料の偏光特性の測定方法
発明者: 大槻 莊一
権利者: 産業技術総合研究所
種類: 特許
番号: 特許願 2016-084461 号
出願年月日: 平成 28 年 4 月 20 日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大槻 莊一 (OTSUKI, Soichi)
産業技術総合研究所・健康工学研究部門・
研究主幹
研究者番号: 20356653