

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H01452

研究課題名(和文)非侵襲血糖値センサーの実現を目指した超音波アシスト中赤外分光イメージング

研究課題名(英文)Ultrasonic-assisted mid-infrared spectroscopic imaging for non-invasive blood glucose sensor

研究代表者

石丸 伊知郎 (Ichiro, ISHIMARU)

香川大学・創造工学部・教授

研究者番号：70325322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの耳の下に超音波振動子(周波数：800kHz、印加電圧：10V)を設置してパラメトリック定在波を生成した。音響インピーダンスマッチングとして、耳と振動子の間に寒天を挟み込んでい。超音波を加えていない状態での耳内部からの反射光と超音波パラメトリック定在波を生成した状態での耳内部からの反射光の中赤外分光計測を比較した。グルコース起因の吸収ピーク(@9.25マイクロメートル、9.65マイクロメートル)は、超音波OFFの状態では観察されなかった。しかし、超音波パラメトリック定在波を生成した場合は、吸収ピークを安定的に観察することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究課題の核心をなす学術的「問い」とは、超音波定在波により試料内部の計測深さを任意設定することで、中赤外反射光を皮膚内部から検出できるか？ということである。本研究の目的および学術的独自性と創造性は、日常生活空間での病態疾患モニタリングとして、非侵襲で血糖値を計測する基礎技術の確立である。従来、成分分析能力の高い中赤外分光法は、水分を多く含む皮膚などへの適用は困難であると考えられてきた。しかし、超音波定在波により計測試料表面近傍にアクティブに反射面を創生することにより、バイオテクノロジーをはじめとする様々な分析化学分野への中赤外分光法の適用を拡大することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：An ultrasonic transducer (frequency: 800 kHz, applied voltage: 10 V) was placed under the mouse ear to generate parametric standing waves. Agar was placed between the ear and the transducer as acoustic impedance matching. Mid-infrared spectroscopic measurements of reflected light from inside the ear without ultrasound applied and with ultrasonic parametric standing waves generated were compared. The glucose-induced absorption peaks (@9.25 and 9.65 micrometers) were not observed in the ultrasound-off condition. However, when ultrasonic parametric standing waves were generated, the absorption peaks were successfully and stably observed.

研究分野：光計測

キーワード：中赤外分光法 フーリエ分光法 超音波 定在波 非侵襲血糖値センサー スマートトイレ

1. 研究開始当初の背景

食後のみに血糖値が上昇する血糖値スパイクを見つけるなど、糖尿病患者のみならず日常的な非侵襲血糖値計測の必要性は高まっている。図1に示すように、分光計測による血糖値センサー研究のアプローチは、大別すると2種類に分類することができる。近赤外光による多変量解析との併用と、中赤外光によるATR法(全反射測定法: Attenuated Total Reflectance)である。中赤外光(例えば、波長: 6~15 μm = 波数: 1,500~650 cm^{-1})の帯域は指紋領域と呼ばれ、物質特有の分光吸光度を示す。中赤外光の帯域は、多様な分子構造の基本周波数を含むため、成分毎の吸収スペクトルの独立性が高く成分分析に適した波長帯である。しかし、水による光の吸収も顕著に生じることから、液体や生体膜などは薄膜試料(厚さ: 100 μm)にしなくては、光が透過せず計測はできない。そこで、例えば東北大学の松浦らは、水分を多く含む生体膜に適用するにはATR法と呼ばれる全反射プリズム表面に生じる厚さが数 μm の光の薄い膜(エバネセント光)を用いていた。しかし、皮膚最表面には血液を含まない角質層が厚み20 μm 程度あり、エバネセント光は表皮層や真皮層には到達しなかった。一方、分子固有周波数の倍音成分による吸収に基づく近赤外分光吸光法は皮膚の透過性は比較的高いが、水の吸収スペクトル(中心波長: 1,450 nm)の肩にグルコースの吸収ピーク(1,600 nm)が乗っている。そのため、多変量解析技術を駆使しても水分量変化に伴うグルコース濃度の計測精度劣化が避けられなかった。

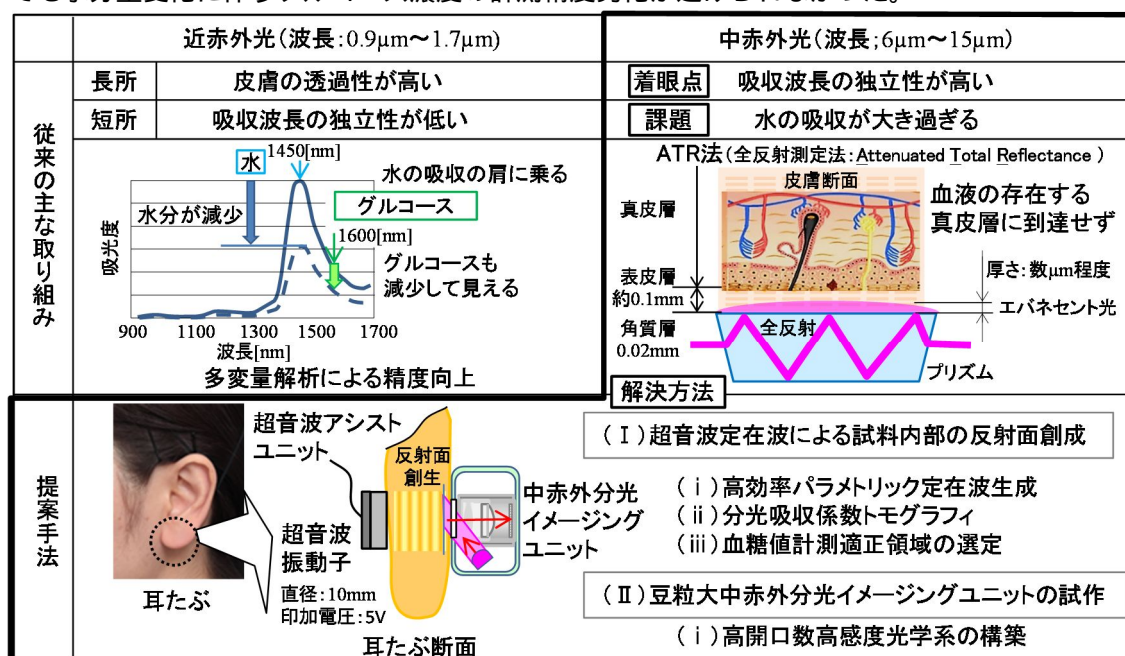


図1 非侵襲血糖値センサーの実現を目指した超音波アシスト中赤外分光イメージング

2. 研究の目的

本研究の目的は、日常生活空間での病態疾患モニタリングとして、非侵襲で血糖値を計測する基礎技術の確立である。従来、成分分析能力の高い中赤外分光法は、水分を多く含む皮膚などへの適用は困難であると考えられてきた。しかし、超音波定在波により計測試料表面近傍にアクティブに反射面を創生することにより、バイオテクノロジーをはじめとする様々な分析化学分野への中赤外分光法の適用を拡大することが可能になる。

3. 研究の方法

() 超音波定在波による試料内部の反射面創成

本申請では、試料内部に発生させた超音波定在波により任意の深さに屈折率差 (= 反射面) を発生させて光を反射させる可変光路長の反射面創生方法を提案する。

水分を多く含む皮膚などの生体軟組織内部の音速は、水中の音速とほぼ同等であり約 1,500 m/s である。例えば、超音波周波数を 15 MHz とした場合、波長は 100 μm となる。試料表面が空気と接している場合は、音響インピーダンスの差が大きいことから境界面では定在波音速分布の自由端となる。このため、 $1/4 = 25\mu\text{m}$ の深さに表層から一番近い節が生成されることになる。反射計測の場合は、試料表面と一番目の節との往復の距離が光路長 ($25\mu\text{m} \times 2 = 50\mu\text{m}$) になる。ここで光路長の定義は、光学分野では屈折率を積算するが、分光分野ではセル厚さ自体を“光路長”と慣例的に呼ぶのに倣う。しかし、後述の事前評価実験により、皮膚を模擬した寒天では軟質性に起因した非線形現象によるパラメトリック効果を確認した。この場合、4倍音の高次高調波の周波数により反射面が形成されており、1 MHz の加振周波数でも $1/16$ 相当の 93 μm の深さ

に反射面が創生されている。これは、軟質物の皮膚内部での音の減衰が問題にならない低周波数（1MHz）でも、皮膚を伝搬できない高周波数と同等の浅い領域に反射面を創生できる利点を持つことを意味している。

なお、表面からの深さが2番目以降の節からの反射光は、光路長が長く中赤外光が水分により吸収されることから無視できる。また、皮膚含水率は、表皮層（厚さ：約0.1mm）、真皮層では60%～70%である。水単体（含水率100%）の場合、100 μ m程度の膜厚までなら中赤外光は透過可能であり、比較的表皮層が薄い耳たぶを計測対象として考えている。

（ ）高効率パラメトリック定在波生成

ラットを用いた動物実験により、皮膚内部からの中赤外反射光を検出可能であることを実証する。なお、試料の厚みが波長の整数倍の場合に最も強い定在波を生成できるが、耳たぶなどの生体膜の厚みは固体毎で異なる。そこで、図2に示すように音響インピーダンスを整合させるスペーサーなどを歪ませながら膜厚を変化させて検出した内部反射光量が、最も高くなった厚みにおいて分光計測を行うことを考えている。

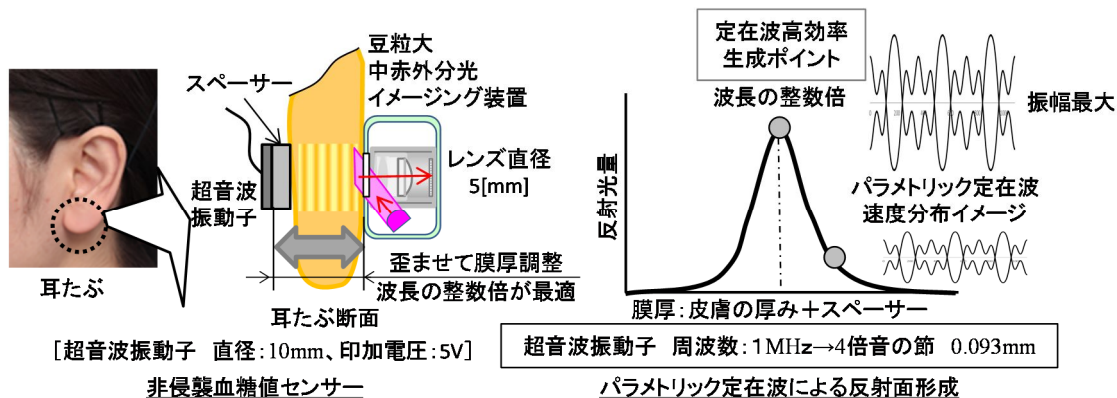


図2 膜厚変化によるパラメトリック定在波の高効率発生手法の検討

4. 研究成果

【パラメトリック定在波】 伝搬可能な低周波数でも狭隘な深さに反射面創生が可能

図3に示すように、生体試料を模擬したファントムとして寒天に超音波定在波を生じさせてOCT（光干渉断層像：Optical Coherence Tomography）により内部反射面を観察した。1[MHz]で加振したところ、波長 $\lambda=1.5$ mmの1/16の0.093mmの深さに反射面を確認した。これは、軟組織の場合、超音波のパラメトリック効果により高次高調波成分が発生したことによると考えている。パラメトリック効果とは、縦波である音の音圧が高い領域では密度が高くなり音速が早くなり、逆に低圧の領域では遅くなることにより音圧波形がのこぎり波状に歪む現象である。のこぎり波はフーリエ変換的な観点から考えると、整数倍の高次高調波により構成されていることが知られている。つまり、各周波数に分解して考えれば、基本音から2倍音、3倍音、4倍音と、それぞれの周波数の弾性波が個別に自由端の定在波を形成していると考えられる。我々は、これらの複数の周波数の定在波が重なり合った波形である“パラメトリック定在波”を発見した。

一般的に超音波診断装置においては、軟質物である皮膚内部では高い周波数ほど音圧が減衰してしまい伝搬できる周波数の上限は10MHz程度であると言われており、肝臓や胎児用の診断装置では3.5MHz、体表に近い甲状腺用では7.5MHzを用いている。しかし、皮膚表面から数十 μ m程度の深さに反射面を創生するには10MHz（ $\lambda/4=38\mu$ m）の高い周波数が必要となる。パラメトリック定在波の場合は、1MHzの伝搬減衰が問題にならない低い周波数を用いても、高次高調波により皮膚表層近傍の数十 μ m程度の深さに反射面を形成できる利点を有している。

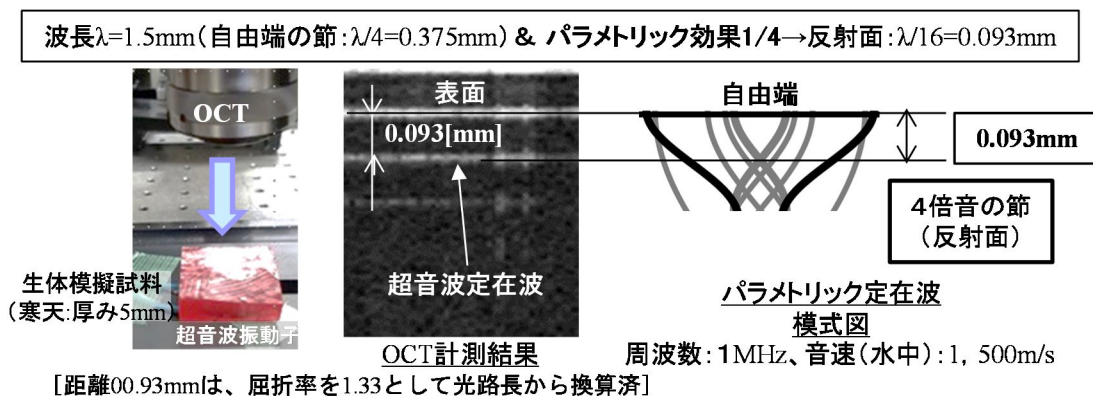


図3 軟質材（寒天）内部の超音波定在波による反射面のOCTでの計測結果

図4にしめすように、マウスの耳の下に超音波振動子（周波数：800kHz、印加電圧：10V）を設置してパラメトリック定在波を生成した。音響インピーダンスマッチングとして、耳と振動子の間に寒天を挟み込んでいる。図4中左下のグラフは、超音波を加えていない状態での耳内部からの反射光の中赤外分光計測結果である。図4中右下のグラフは、超音波パラメトリック定在波を生成した状態での耳内部からの反射光の中赤外分光計測結果例である。グルコース起因の吸収ピーク（@9.25 μm 、9.65 μm ）は、超音波 OFF の状態では観察されなかった。しかし、超音波パラメトリック定在波を生成した場合は、吸収ピークを安定的に観察することに成功した。

現在の実験光学系では、分光器と耳との間に長い距離が必要であり、大気中の湿度などの揺らぎの影響を受けてしまう事から血糖値計測精度の評価には至らなかった。本申請での成果を踏まえて、図4中右上に示すように、耳に近接できる豆粒大の分光器を開発することにより臨床評価へと展開する予定である。

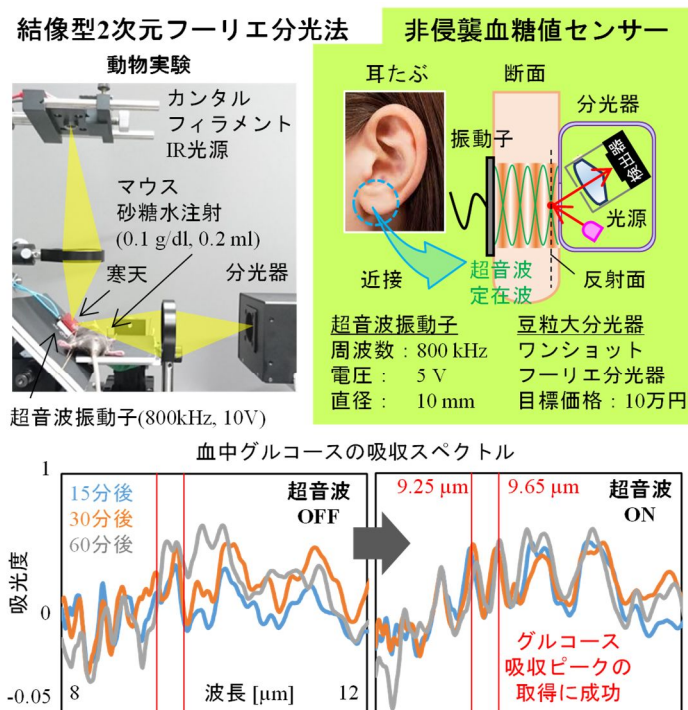


図4 マウスの耳内部からの中赤外反射光の分光計測結果例

図5に、スマートトイレを想定した、超音波アシストによる尿中からの内部反射光の分光計測結果を示す。糖度を50mg/dL、100mg/dL、200mg/dLと段階的に変化させたところ、9波長.25 μm における級区小戸と高い相関（相関係数：0.91）を得ることができた。

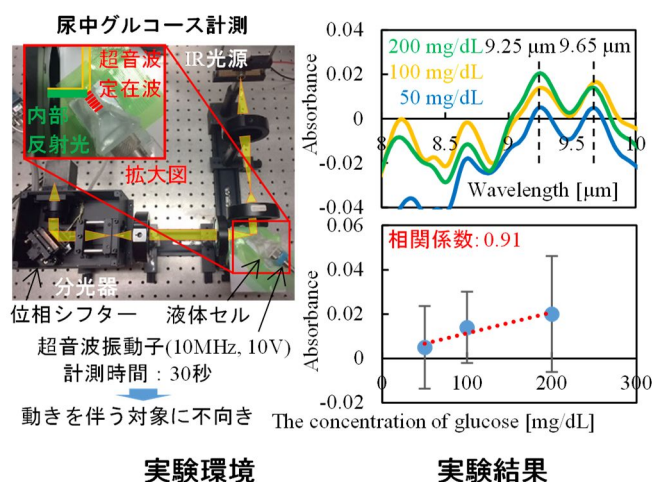


図5 スマートトイレを想定した尿中からの中赤外反射光の分光計測結果例

今後、本申請により実証できた超音波アシスト分光イメージングを、臨床評価へと適用展開して社会実装を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ichiro ISHIMARU	4. 巻 11130
2. 論文標題 Palm-sized (80mm cube weighing 0.5 kg) low-price (several thousand USD) mid-infrared (wavelength 8micro) Fourier spectroscopic imager	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of SPIE OPTICAL ENGINEERING + APPLICATIONS	6. 最初と最後の頁 111300G-1 to 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/12.2541389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kosuke Nogo, Kou Ikejima, Wei Qi, Natsumi Kawashima, Tomoya Kitazaki, Satoru Adachi, Kenji Wada, Akira Nishiyama, Ichiro Ishimaru	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of black microplastics using long-wavelength infrared hyperspectral imaging with imaging-type two-dimensional Fourier spectroscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 647-659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ay01738h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ichiro ISHIMARU	4. 巻 11130
2. 論文標題 Palm-sized (80mm cube weighing 0.5 kg) low-price (several thousand USD) mid-infrared (wavelength 8micro) Fourier spectroscopic imager	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of SPIE OPTICAL ENGINEERING + APPLICATIONS	6. 最初と最後の頁 111300G-1 to 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/12.2541389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Naoyuki Yamamoto Natsumi Kawashima Tomoya Kitazaki Keita Mori Hanyue Kang Akira Nishiyama Kenji Wada Ichiro Ishimaru	4. 巻 23(5)
2. 論文標題 Ultrasonic standing wave preparation of a liquid cell for glucose measurements in urine by midinfrared spectroscopy and potential application to smart toilets	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 050503-1 -4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/1.JBO.23.5.050503.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoya Kitazaki; Natsumi Kawashima; Naoyuki Yamamoto; Hiroyuki Nomura; Hanyue Kang; Akira Nishiyama; Kenji Wada; Ichiro Ishimaru	4. 巻 24(3)
2. 論文標題 Parametric standing wave generation of a shallow reflection plane in a nonrigid sample for use in a noninvasive blood glucose monitor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 036003-1 -7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/1.JBO.24.3.036003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Natsumi Kawashima, Tomoya Kitazaki, Kosuke Nogo, Akira Nishiyama, Kenji Wada, Ichiro Ishimaru	4. 巻 27
2. 論文標題 Superimposing interferogram method using a multi-slit array to enhance sensitivity and interference definition of spatial-phase-shift interferometers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Optical Review	6. 最初と最後の頁 530-541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10043-020-00626-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 1件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 川嶋なつみ, 北崎友哉, 西山成, 和田健司, 石丸伊知郎,
2. 発表標題 マルチスリット搭載型高感度中赤外ワンショットフーリエ分光器
3. 学会等名 Optics & Photonics Japan 2019, PDP3, 大阪, 2019.12
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川嶋なつみ, 北崎友哉, 西山成, 和田健司, 石丸伊知郎,
2. 発表標題 イヤリング型非侵襲血糖値センサーを目指した皮膚表層近傍における微弱な反射光検出が可能な高感度中赤外分光法
3. 学会等名 第4回黒潮カンファレンス, P37, 沖縄, 2019.11
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川嶋なつみ, 北崎友哉, 西山成, 和田健司, 石丸伊知郎
2. 発表標題 イヤリング型非侵襲血糖値センサーを目指した超音波アシスト中赤外フーリエ分光法
3. 学会等名 2019年度精密工学会秋季大会学術講演会, L46, 静岡, 2019.09
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川嶋なつみ
2. 発表標題 イヤリング型非侵襲血糖値センサーを目指した超音波アシスト中赤外ポイント分光システムの提案～感度及びSN比の改善を目的とした高開口数ポイントワンショット中赤外分光法
3. 学会等名 日本光学会年次大会 OPJ2019
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 乃村宏幸
2. 発表標題 豆粒大中赤外分光ユニットによる透析装置のin-situ血糖値モニタリング
3. 学会等名 2018年度精密工学会秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北崎友哉
2. 発表標題 Measurement of glucose concentrations inside agar using parametric standing wave to realize non-invasive blood glucose sensor
3. 学会等名 Optical Society of America Imaging and Applied Optics Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川嶋なつみ
2. 発表標題 Detection of Blood Glucose Level in Mice using Ultrasonic-assisted Mid-infrared Fourier Spectroscopy for realizing Earring-type Non-invasive Blood Glucose Sensors
3. 学会等名 Optical Society of America Imaging and Applied Optics Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石丸伊知郎
2. 発表標題 Ultrasonic-assisted point one-shot mid-infrared Fourier spectroscopy for realization of ear-clip-type non-invasive blood glucose sensors:
3. 学会等名 SPIE Bios2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石丸伊知郎
2. 発表標題 地方大学が中核になったオープンイノベーションによる新産業創出
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本化学会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 200
3. 書名 赤外線化学利用	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 分光測定装置	発明者 石丸伊知郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-160764	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 分光測定装置	発明者 石丸伊知郎	権利者 香川大学
産業財産権の種類、番号 特許、登録番号：2905591	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

石丸研ホームページ http://www.eng.kagawa-u.ac.jp/~ishimaru/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	和田 健司 (Kenji WADA) (10243049)	香川大学・医学部・教授 (16201)	
研究分担者	西山 成 (Akira NISHIYAMA) (10325334)	香川大学・医学部・教授 (16201)	
研究分担者	田中 直孝 (Naotaka TANAKA) (60324109)	香川大学・農学部・教授 (16201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------