

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25420311

研究課題名(和文) 赤外分光用中空光ファイバプローブを用いた血中グルコース濃度測定の試み

研究課題名(英文) Measurement of blood glucose level by using hollow optical-fiber probe based infrared spectroscopy

研究代表者

木野 彩子 (KINO, SAIKO)

東北大学・医工学研究科・産学官連携研究員

研究者番号：30536082

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：非侵襲な血中グルコース濃度(血糖値)測定を目指し、フーリエ変換赤外分光器(FTIR)および赤外光伝送用中空光ファイバ、減衰全反射(ATR)プリズムを組み合わせたリモート分光システムの開発を行った。試料への接触面の大きい多重反射型ATRプリズムの導入により、プリズム押付圧力の安定化および測定感度の大幅な向上を達成した。口唇粘膜を対象部位として、複数の被験者について糖負荷試験や通常の摂食前後のスペクトルを追跡し、その大きさの変化が実際の血糖値の推移に追従することを確認した。グルコースの吸収ピーク強度と、採血法による血糖値との相関では、全ての測定点で誤差15%以下となり、本手法の有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：A mid-infrared attenuated total reflection (ATR) spectroscopy system employing hollow optical fibers and a trapezoidal multi-reflection ATR prism has been developed to measure blood glucose levels. Using a multi-reflection prism brought about higher sensitivity, and the flat and wide contact surface of the prism resulted in higher measurement reproducibility. An analysis of in vivo measurements of human inner lip mucosa revealed clear signatures of glucose in the difference spectra between ones taken during the fasting state and ones taken after ingestion of glucose solutions. A calibration plot based on the absorption peak at 1155 /cm that originates from the pyranose ring structure of glucose gave measurement errors less than 20%.

研究分野：赤外分光

キーワード：血中グルコース濃度 赤外吸収スペクトル 全反射減衰プリズム 中空光ファイバ

1. 研究開始当初の背景

国内における糖尿病の推定患者数は約 700 万人、40 歳以上では 10 人に 1 人が糖尿病ともいわれ、大きな社会問題となっている。多数の患者が自身の血糖値を日常的に測定しなければならず、その負担の軽減および精度の向上が急務である。

血糖値測定法としては、穿刺針で指先を突いて絞り出した血液サンプルをその場で測定する手法が最も一般的であるが、これは痛みを伴う上、衛生上も慎重な取り扱いが必要である。一方、最近では近赤外分光法を利用した非侵襲血糖値測定器の開発が様々なメーカーによって行われている。しかし、この手法ではグルコースの分子振動に起因する吸収ピークの高調波を扱うため、赤外領域に存在する基本波に比べてピーク強度が非常に微弱である上、複数成分の高調波が複雑に混じり合い、成分の特定が難しいという致命的な欠点を有しており、その測定精度は実用領域には到達していない。

一方、赤外領域に現れるグルコース吸収の基本波を検出すれば非常に高い精度が期待されるが、ベッドサイドや机の上に配置してインビボでの測定を行うためには赤外光伝送用ファイバが必要となる。しかし、これまでは実用化に十分な特性をもつ赤外ファイバは存在しなかった。本研究ではこの問題を解決するため、我々の研究グループが開発してきた中空光ファイバをプローブとして利用し、インビボかつ高精度な血糖値測定を可能とするもので、その有効性は非常に高いものである。

当研究グループはこれまでに内視鏡下での生体組織分析を目的として、フーリエ変換赤外分光器 (FTIR) と赤外光伝送が可能な中空光ファイバプローブとを組み合わせたリモート分光システムの開発を行ってきた。その構成は図 1 に示すようにフレキシブルな中空光ファイバ先端に ATR 結晶を装着した赤外分光用プローブを用いたものであり、プリズムに接する試料の吸収スペクトルを測定することが可能である。様々な分野におけるリモート赤外分光の応用について調査を行った結果、本システムの有効な応用例として血糖値モニタリングが挙げられた。

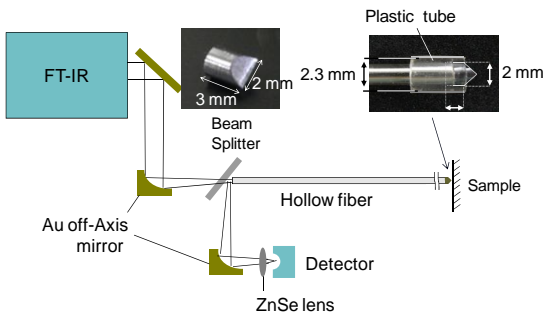


図 1 測定系の構成

柔軟なポリカーボネートチューブの内面に銀薄膜が形成された中空光ファイバ (内径 2 mm, 長さ 60 cm) を用いて、毛細血管へのアプローチが容易な口腔粘膜を測定対象として測定を行った結果、血中グルコース濃度の定量分析が可能であることがわかった。図 2 に被験者の口腔粘膜の吸収スペクトルの測定値を示す。グルコース吸収の基本波である 9.6 μm 付近の吸収ピークが明確に現れていることが確認できる。12 時間の絶食後、75 g の糖を摂取し 30 分おきに指尖採血により測定した血糖値も併せて示しているが、吸収ピークの強度と血糖値との間には強い相関がみられた。また、より容易に測定が可能な「耳たぶ」における測定も試みた結果、プローブ密着度の改善が必要なものの、この部位でも同様にグルコースの吸収ピークを確認することができた。

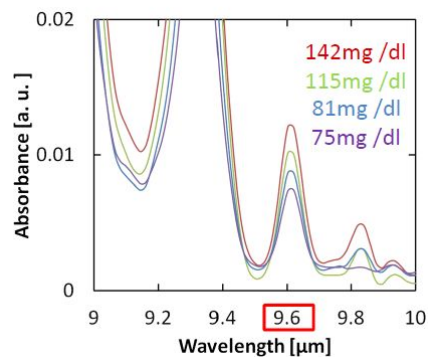


図 2 グルコースの吸収ピーク

ATR による吸収測定値はプリズムの押し付け圧力等により変化し、大きな誤差の原因となる。これを低減するためには、正規化の基準となる別のピークについての検討や、プローブ先端に一定圧力を付加できる機構の採用などが必要である。また、FTIR 分光装置では光量が小さいため SN 比が十分ではなく、比較的長い測定時間 (現状 2 分) が必要とされ、その間に被験者は動くことができない。よりリアルタイムでの計測を行うためには、波長を限定した量子カスケードレーザなどの光源の導入が有効であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、迅速かつ高精度な非侵襲血液成分測定システムの実現を目指し、これまで開発を行ってきたリモート分光システムの特長改善を行うことである。具体的な数値目標として次の 3 項目をあげる。

- ・グルコース検出精度の向上 (誤差 現状 50% 10%以下)
採血を伴う簡易測定装置と同レベルの誤差を目指す
- ・測定時間の短縮 (現状 2 分 10 秒)

患者が一定姿勢を維持できる時間内に測定が完了

- ・測定装置の小型化
(現状 $90 \times 180 \text{ cm}^2$ $50 \times 50 \text{ cm}^2$)
ベッドサイドに配置可能な小型システムが実現可能かどうかの検証

3. 研究の方法

ATR 測定値はプリズムの押し付け圧力により大きく変動してしまう。この影響を低減するために、i) 圧力を一定化する機構の導入、ii) 圧力変動の影響を低減する数値処理、iii) 圧力の影響を受けない新しい測定手法の開発、の3通りの対応について検討する。

i) については、まず重量計の上に設置した生体ファントムにプリズム先端を押し付けた状態でスペクトル測定を行うことにより、圧力とスペクトル強度との関係を明らかにする。圧力変動による影響はプリズム接触面積の変化、およびプリズムがやわらかい測定対象に押し込まれることによる被測定試料の厚さ方向の組織変化が影響する。そこで生体ファントムは生体組織と同様に深さ方向に層状に異なる組織が形成されたものを用いる。これらの実験結果をもとに測定時に圧力を同時に測定してスペクトル強度を補正する手法について検討する。そのためにロードセル(小型圧力センサ)をプリズムに取り付け、圧力モニタリングが可能なプローブの作製を行う。

ii) としてはグルコース以外の成分の吸収ピーク強度を用いてスペクトル強度を正規化する方法が考えられる。その手法として、皮膚への浸透度に優れ、厚さ方向に一定の分布で浸透する基準物質を測定時に塗布し、この物質のスペクトルを基準として用いる。基準物質の候補としては、安定な飽和炭化水素であり生体に害のないスクワランオイルなど、数種の物質について検討する。

iii) としては、はじめに現状のものと比較して接触面積が大きな ATR プリズムを用いる方法について検討する。現在使用しているプリズム形状は図 3(a)のように先鋭状であるために、圧力変化の影響が大きい。そこで図 3(b)に例として記載したような形状のプリズムを用いれば、接触面内に一定の圧力が加わるとともに圧力密度が低く抑えられるため、圧力変動の影響が低減されることが期待できる。また、サンプル表面での反射回数も増やすことが可能であるため、検出感度の上でも大きな改善が可能である。

以上の手法を組み合わせることにより、現状での測定誤差 50% から通常の簡易血液検査法

と同程度である誤差 10% の実現を目指す。

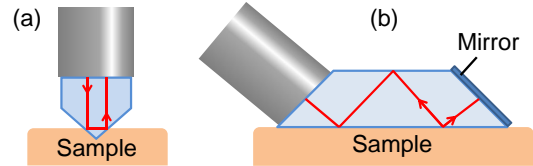


図 3 ATR プリズムの構造

現状の FTIR 分光器を用いた測定では、光源の強度が小さく十分な感度を得るための積分時間を得る必要がある、これ以上の時間短縮は難しい。そこで、より大きな光出力が得られる量子カスケードレーザ (QCL) を用いた測定法について検討する。ただし QCL は単一波長で発振するため、その波長を選択する必要があるが、その際には、これまでの FTIR による検討によりすでに明らかになっているグルコースの吸収ピーク ($1,040 \text{ cm}^{-1}$) を選択し、QCL の動作温度をベルチェ素子で制御することにより発振波長をコントロールする。また、前項 ii) で述べたように基準物質を用いた正規化を行うために必要な基準波長との 2 波長による測定を行えば信頼性の高い分析が可能であるため、2 つの QCL からの光を結合させて測定を行う系を構築する。その際には 2 つの QCL 間でパルスのタイミングをずらして、一つの検出器で測定を行う。これにより現状の 2 分という測定時間を 10 秒程度まで短縮することが期待できる。また、QCL を光源とする測定系は、現行の FTIR 分光器による系と比較してはるかに小型のものの実現が期待できる。

4. 研究成果

ATR プリズムの押し付け圧力による変動の影響を低減するため、i) 圧力の直接測定による補正、ii) 圧力変動の影響をキャンセル可能な数値処理、iii) 圧力変動そのものの低減、の 3 通りの対応について検討した。

i) については、重量計の上に設置した生体ファントムにプリズム先端を押し付けた状態でスペクトル測定を行い、圧力とスペクトル強度との関係を明らかにした。ある一定の値まではプリズムの押し付け圧力にスペクトル強度が比例し、その後は一定の強度に収束することを確認した。同一試料に関しては高い再現性が得られ、同時測定の圧力値による補正も可能であるが、測定対象部位により結果はばらつきがあり、異なる補正方法を用いる必要があった。

ii) としてはグルコース以外の成分の吸収ピーク強度を用いてスペクトル強度を正規化する

方法が考えられる。皮膚への浸透度に優れ、安定な飽和炭化水素であり体に害のないスクワランオイルを内部標準物質として選択し、この吸収ピーク強度を用いてスペクトル強度の正規化を行った。この手法は一定の誤差低減の効果をえたが、測定部位による浸透度の差異や塗布量・面積の統一などの問題が残った。そこで、測定部位自体に必ず含まれる水や蛋白質等成分のピーク強度を用い、測定回毎に正規化を行う方法について詳細に検討を行った。成分別に比較したところ、波長 $3\mu\text{m}$ 付近のOHの振動吸収を基準とすることで最も良好な結果が得られた。

iii) として、現状のものと比較して試料への接触面積が大きい ATR プリズムを用いる方法について検討した。このようなプリズムでは接触面の圧力密度が低く抑えられ、圧力変動の影響が低減される。また、試料表面での反射回数の増大が可能であり、検出感度の上でも大きな改善が見込める。試料上で複数回の反射が起こる新しい形状の Si プリズムを設計・製作し、導入を試みた。圧力変動による測定誤差は従来の半分以下に低減したが、反射回数によるスペクトル増強は予想を下回った。この理由としては、光路長の増大による反射角度の分散に加えて Si 自体の材料吸収が考えられた。そこで、新たに ZnSe を選択し、同様の多重反射プリズムを製作・導入した(図4)。ZnSe では生体試料との屈折率差が低く、光の深達度が大きくなる利点もある。反射回数増大の利益と光路長の増大による反射角度の分散/プリズムの材料吸収の不利益との関係について最適化を行い、入射端面への反射防止コーティングの導入も試みた。反射回数を 5→9 回へと増大させた結果、接触面の増加によるプリズム押付圧力変動の安定化および反射回数の増加による大幅な測定感度の向上を達成した。

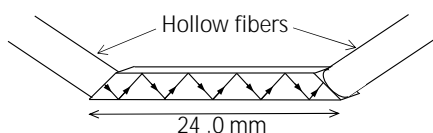


図4 多重反射型 ATR プリズム

この多重反射型 ZnSe プリズムの上下面を口唇に挟んだ状態で測定した波長 $9.6\ \mu\text{m}$ 付近のグルコースの赤外吸収スペクトルでは、グルコースの構造に特有なピラノース環をはじめとする複数の弱い吸収についても明瞭なピーク群が検出され(図5)、グルコース濃度のより正しい推量が可能となった。また、複数の被験者について糖負荷試験や通常の摂食前後のスペクトルの変化を追跡し、そ

の大きさが実際の血糖値の推移に追従して変化することを確認した。

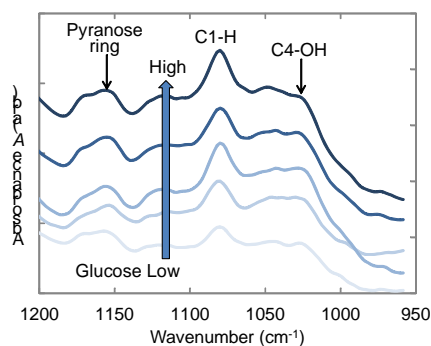


図5 グルコースの吸収ピーク群

グルコースの吸収ピーク強度と、採血を伴う既存法により測定した血糖値との相関を、血糖値測定器の評価に一般的に用いられるクラークエラーグリッド上に示す(図6)。採血法に対する測定誤差は 15% 以下となり、「臨床的測定精度を有する」と評価される「領域 A (誤差 20% 以内)」に全ての測定点が存在し、本手法の有効性が示されたと言える。

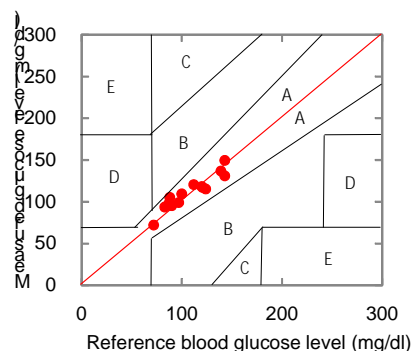


図5 較正直線

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2件)

1. S. Kino, S. Omori, Y. Matsuura, "Hollow optical-fiber based infrared spectroscopy for measurement of blood glucose level by using multi-reflection prism," Biomed. Opt. Express, vol. 7, no. 2, pp. 701-708 (2016). [査読有]
2. S. Kino, Y. Tanaka, Y. Matsuura, "Blood glucose measurement by using hollow optical fiber-based attenuated total reflection probe," J. Biomedical Opt., vol. 19, no. 5, pp. 057010-1-057010-3 (2014). [査読有]

〔学会発表〕(計9件)

1. 松浦 祐司, 木野 彩子, “赤外中空光ファイバプローブを用いた非侵襲血糖値測定,” 2016年電子情報通信学会総合大会(2016年3月15日,九州大学(福岡)) BI-8-3
2. S. Kino, Y. Matsuura, “Non-invasive measurement of blood glucose level based on mid-infrared spectroscopy using optical-fiber probe,” The Joint Symposium of 10th International Symposium on Medical, Bio- and Nano-Electronics (2 Mar. 2016, Sendai (JPN))
3. S. Kino, S. Omori, Y. Matsuura, “Blood glucose measurement in vivo using hollow-fiber based mid-infrared ATR probe with multi-reflection prism,” SPIE Conference on Optical Fibers and Sensors for Medical Diagnostics and Treatment Applications XVI (12 Feb. 2016, San Francisco(USA)) Paper 9702-9.
4. 木野 彩子, 松浦 祐司, “赤外 ATR ファイバプローブを用いた血糖値インビボ測定,” レーザー学会学術講演会第36回年次大会(2016年1月10日,名城大学(名古屋)) I10a 04
5. 木野 彩子, 大森 優, 松浦 祐司, “赤外 ATR ファイバプローブを用いた血糖値測定 -インビボ測定による検証-,” レーザー学会第479回研究会(2015年9月3日,近畿大学東京センター(東京)) RTM-15-22
6. 大森 優, 木野 彩子, 片桐 崇史, 松浦 祐司, “多重反射型赤外 ATR ファイバプローブを用いた非侵襲血糖測定,” 電気学会光・量子デバイス研究会(2015年3月2日,東北大学東京分室(東京)) OQD-15-025
7. 大森 優, 木野 彩子, 松浦 祐司, “多重反射型 ATR プリズムを用いた血中グルコース濃度測定,” レーザー学会学術講演会第35回年次大会(2015年1月12日,東海大学高輪校舎(東京)) 12aV09
8. 大森 優, 木野 彩子, 松浦 祐司, “赤外光ファイバ ATR プローブを用いた血中グルコース濃度測定,” 第61回応用物理学会春季学術講演会(2014年3月17日,青山学院大学(相模原)) 17a-E6-8
9. 大森 優, 木野 彩子, 松浦 祐司, “ヨウ化銀内装中空光ファイバを用いた赤外 ATR 分光測定,” 平成 25 年度電気関係学会東北支部連合大会(2013年8月22日,会津大学(会津若松)) 2H17

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計1件)

名称:赤外分光法を用いた非侵襲血糖値測定方法

発明者:松浦 祐司,木野 彩子

権利者:発明者と同じ

種類:特許

番号:2016-022711

出願年月日:2016.2.9

国内外の別:国内

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

木野 彩子(KINO SAIKO)

東北大学・大学院医工学研究科・

産学官連携研究員

研究者番号:30536082

(2)研究分担者

松浦 祐司(MATSUURA YUJI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号:10241530