

光ヘテロダイン検出法を用いた生体試料の 光透過特性に関する分光画像計測法の研究

市 村 勉

山形大学工学部電気電子工学科

Studies on Spectroscopic Imaging Measurements of Optical Transmission
Characteristics of Biological Tissues Using an Optical Heterodyne Detection Method.

T. Ichimura

Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering

(平成18年9月15日受理)

Abstract

We constructed a new spectroscopic imaging system that is a highly sensitive space-resolving spectrophotometer based on an optical heterodyne detection method using a tunable laser. First, we constructed a Mach-Zehnder interferometer using an acousto-optic modulator in order to generate the beat component. This interferometer incorporates two concave mirrors that correct the optical axis slip even if the laser wavelength varies. Next, we constructed an improved high-dynamic-range spectroscopic image system without concave mirrors using an optical heterodyne detection method. Using this system, we measured the spectroscopic characteristics of neodymium glass in a diluted solution of Intralipid -20% as a highly scattering medium. We also acquired a two-dimensional image of a test target in a highly scattering medium at different wavelengths. As a result, we were able to acquire two-dimensional absorbed images of some biological tissues at different laser wavelengths.

1. はじめに

光高散乱媒質中物体の光透過像および光透過断層像(光コンピュータトモグラフィ:光CT)を得る方法は,レーザーのヘテロダイン検波を用いて干渉成分を検出する方法を著者達のグループが1989年に提案し^{1,2)},光高散乱媒質中物体の光透過像および光透過断層像の観測に成功している^{3~5)}.これらの研究のうち参考文献5)の論文は社団法人電子情報通信学会より論文賞を受賞している.これは,従来生体試料のような光高散乱媒質中では直進成分がないとされていたが,光高散乱媒質中であってもほんの少しでも直進光が

残っていれば,光ヘテロダイン検波を用いて直進光を散乱光より選別検出できることを示した.

一方,1987年高田氏等(NTT)によって,スーパーluminescentダイオード(Super Luminescent Diode:SLD)を光源とする低コヒーレンス光干渉計によるリフレクトメータとして,10 μ mオーダーで光導波路の断線している場所を検出できる断線診断法が報告されていた⁶⁾.これは,光パルスにより反射観測地点からの反射パルス光を検出する代わりに,連続光ではあるが干渉性の距離の短い即ち低コヒーレンスなSLD光源を用いて,観測地点と同じ距離の基準

点からのSLDの反射光と、観測地点からの反射信号光との干渉を光ヘテロダイン検出することによりパルスのように反射地点だけを検出する新しい方法である。

著者たちが提案した光透過断層像の技術と高田氏等の低コヒーレンス光干渉を組み合わせれば、生体の様な光高散乱媒質中でも屈折率の異なる境界面があれば光ヘテロダイン検波を用いて種々の方向に散乱する成分と反射直進光が選別検出でき、光源を走引すればその面が断層像として計測出来るはずと考えた。著者はリフレクトメータに着目していた丹野直弘元教授と議論を経て、光コヒーレンストモグラフィ（Optical Coherence Tomography：OCT）の基本とも言うべき「光波反射像測定装置」なる名称の国内特許を、発明者丹野直弘、市村勉、佐伯昭雄の三人として1990年に出願した⁷⁾。その際、企業の勤務でも、科学技術振興機構（旧新技術開発事業団）の創造科学技術推進事業のプロジェクト勤務でも、特許の実務経験があり実績のある著者が主に出願の手続きを行った。この発明は2001年6月社団法人発明協会より発明賞を受賞している。著者達のこの成果は、文部科学省科学技術動向研究センターのメールマガジン“科学技術動向”2006年7月号で、“90年代はじめに日本の地方で医療機器に関する最先端の研究の芽が出る土壌が熟成されていたことを意味し、科学技術創造立国を標榜する我が国として賞賛すべきであり、また、自信を新たにする事例として見ることもできる”と紹介されている⁸⁾。

1991年、J.G.Fujimoto (MIT) 達のグループが初のOCTの論文発表をScienceに行った⁹⁾。そして、5年後1996年には米国ハンフリー社で眼科診断装置の実用機器が市販され我が国でも販売された¹⁰⁾。今や眼科ではOCTは必須の診断機器となっている。現在まで眼科応用に加えて、皮膚科、消化器外科、循環器系などの多くの臨床分野でOCTが検討されている。更に、OCTが実用になったことがきっかけで次世代OCTの研究が盛んになっている¹¹⁾。

そもそもこのOCTの発明のきっかけとなった光透過断層像（光CT）を得る方法は、技術的には、光散乱媒質の計測距離はOCTよりはほぼ一

桁大きく取れて、約数cmあるが、単色レーザーによる光CTのため、その波長での吸収像しか得られず、その実用的応用面が見つからないため未だ実用になっていない。しかも当初から光CTに期待されていた分光画像の成功は報告されていない。

波長を選択することで生体内部の空間情報とともに分光情報を同時に得ることができれば、生体内部の生理学的情報や物理的組成に関する情報が得られ、医療診断などに役立つと考えられている。従って、各種の生体組織を、空間情報に基づいた分光特性情報として得ることの出来る装置の開発と、それを用いた分光情報の蓄積は、非常に重要であり、その進展が期待されている。光ヘテロダイン検波と波長可変なレーザーを用い、レーザーの波長を連続的に走査させることにより光高散乱媒質中での分光計測、画像計測および分光画像計測が可能である^{12,13)}。

本研究は、まず、我々が開発したマッハツェンダー干渉計を基本とし、レーザーを波長可変することから、音響光学変調器AOMにより回折、変調を受け進行方向が変わったレーザービームを凹面鏡で再度AOMに入射させ回折させることで、1度目の入射時と同じ光軸上へ戻るようにして、波長変化に対する光軸のずれを補正するようにした光ヘテロダイン検波分光画像装置を構築した。次にその装置を改良し、ダイナミックレンジを高めた装置の構築を行なった。具体的には、光軸のずれを補正する凹面鏡を用いるため減衰が大きいので、凹面鏡のない新たな干渉計を構築した。

更に、ダイナミックレンジを高めた改良された光ヘテロダイン検波分光画像装置を用いて生体試料の吸収分光及び分光画像の測定を行なった。

2. 凹面鏡を用いた光ヘテロダイン分光画像計測装置の構築と測定結果

2.1 実験装置の概要

凹面鏡を用いた干渉計のブロック図をFig.1に示す。これは光源に波長可変レーザー（LUDRA, LUDRA II Ti:sapphire laser 昭和オプトロニクス(株)）を用いたマッハツェンダー干渉計を基本としている。レーザー光をビームスプリッタBS1で二分し、さらにBS2, BS3により、それぞれの

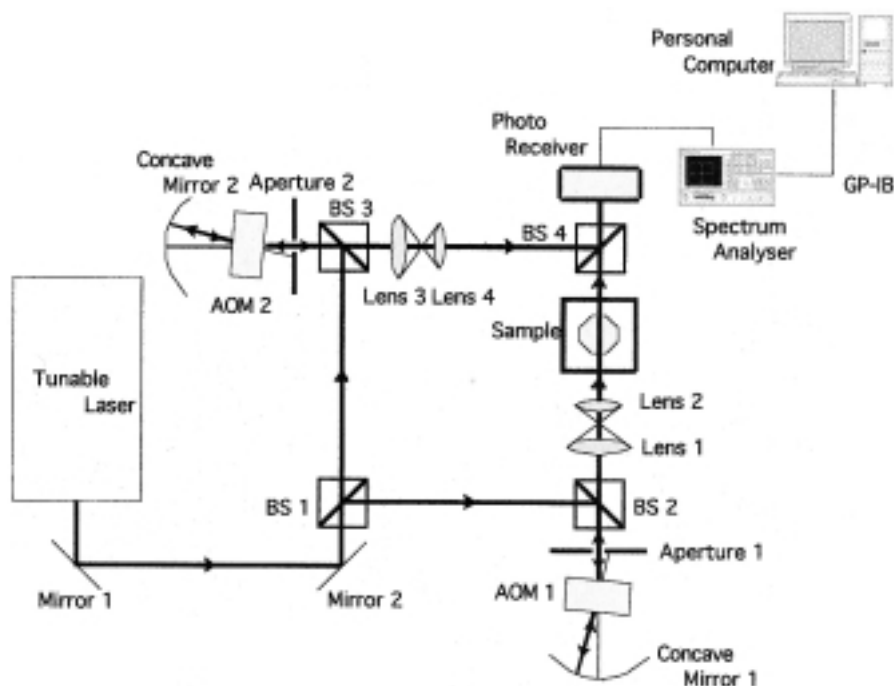


Fig. 1 Schematic diagram of the highly sensitive spectrophotometer based on an optical heterodyne detection method using a tunable laser.

光ビームを異なった周波数シフトを与える 音響光学変調器 A O M 1 (A-140-630 HOYA-SCHOTT (株)) にて 80.0MHz の周波数変調と A O M 2 にて 79.9MHz の周波数変調を受ける。A O M により回折、変調を受けた光ビームを凹面鏡で再度 A O M に入射させ回折させることで、一度目の入射時と同じ光軸上へ戻るようにしている。こうすることで波長を変化させたときの光軸のずれを補正している。また、凹面鏡により広がりをもったビーム径をレンズにより平行光にし、同時に細径化も行っている。その後、BS 4 により二光波を合成することで 2 光波の差周波数成分である 100kHz のビート信号が発生し、光ヘテロダイン検波が可能となる。

2. 2 実験結果

2. 2. 1 分光計測の実験結果

Fig. 1 の凹面鏡を用いた干渉計での光ヘテロダイン検波による実験系を用いて分光計測の実験を行った。波長可変のレーザーの波長を一定の間隔で変化させ、強度も一定になるように調整してビート信号を検出することにより測定を行った。

試料として、ネオジウムガラスを用い、その分光特性を紫外可視分光光度計 (V-560 日本分光

(株)) で測定したものを、Fig. 2 (a) に示し、光ヘテロダイン検波で測定したものを Fig. 2 (b) に示す。

擬似生体試料のイントラリピッド 20% を濃度 2.0% にして、10mm 角の石英製に入れ、それにネオジウムガラスを入れて、分光光度計で測定したものを Fig. 3 (a) に示し、光ヘテロダイン検出で測定したものを Fig. 3 (b) に示す。

2. 2. 2 画像計測の実験結果

凹面鏡を用いた光ヘテロダイン分光画像計測装置を用いて画像計測を行なった。まず、線幅 $179 \mu\text{m}$ である「2.8」をテストターゲット (NBS1963A) を試料として用い、光散乱媒質として「イントラリピッド 20%」を濃度 20mL/L (2%) としてテストターゲットの前において画像を取得した。レーザーの波長 800nm に固定して試料ステージを移動することにより画像計測が可能であることを確認した。

2. 2. 3 分光画像計測の実験結果

次に、テストターゲット (NBS1963A) の「4.0」(線幅 $125 \mu\text{m}$) の「0」側のみをネオジウムで覆い、さらにその前にイントラリピッドを配置し、ネオジウムガラスの吸収が最小となる波長 775nm と最

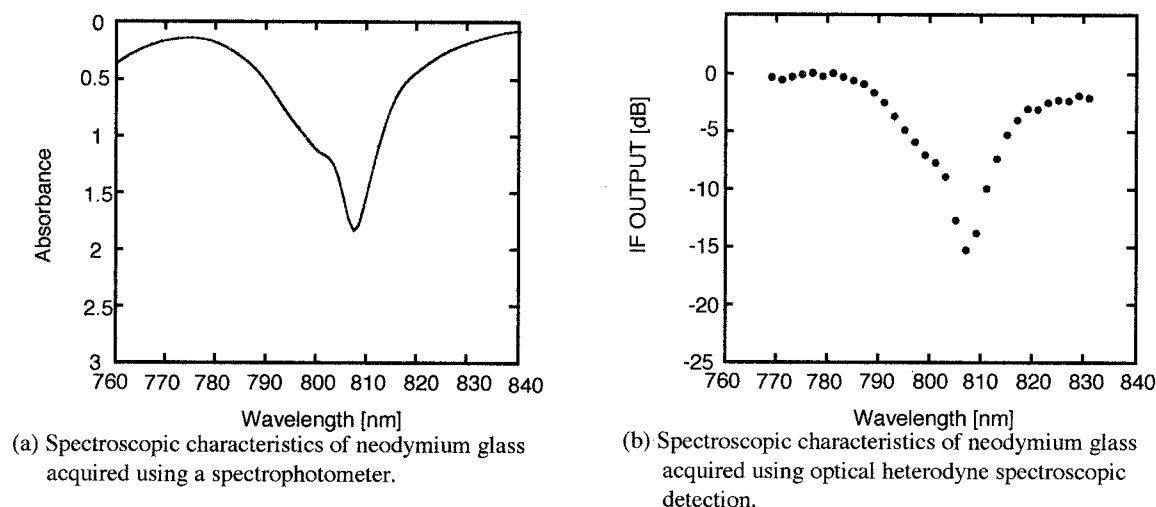


Fig. 2 Spectroscopic measurements of neodymium glass.

大となる波長807nmを用いて画像計測を行なった。

測定結果をFig.4に示す。(a)は、775nmで測定したもの、(b)は、807nmで測定したものである。この結果から波長を変化させることにより「0」側の画像に明瞭な差が出ていることが判る。

2. 2. 4 ダイナミックレンジ

凹面鏡を用いた干渉計での光ヘテロダイン検波による分光計測がどの程度のダイナミックレンジが取れるかの測定を行った。波長可変レーザーの波長を800nmに固定し、疑似生体試料としてイントラリピッド20%（大塚製薬^(株)製）の濃度を変化させていき、光路長10mmの石英セルに入れ、ビート信号の減衰を計測していった。測定結果をFig.5

に示す。直線的に減衰していくのは、イントラリピッドの濃度約2.5%（25mL/L）までであり、そのときのビート信号の減衰は約70dBであることが判った。

2. 3 考察

光源に波長可変レーザーを用い、マッハツェンダー干渉計を基本とした光学系に凹面鏡を用いて、レーザーの波長が変化しても光ヘテロダイン検波が出来る光学系を構築して計測を行った。その結果、疑似生体試料の光散乱媒質中の吸収物体の吸収分光が、既存の分光光度計で測定出来なくても計測出来た。更に、レーザーの波長を変化させた吸収物体の画像が取得出来た。従来の装置では計測出来ない高い光散乱媒質中の吸収物体の、

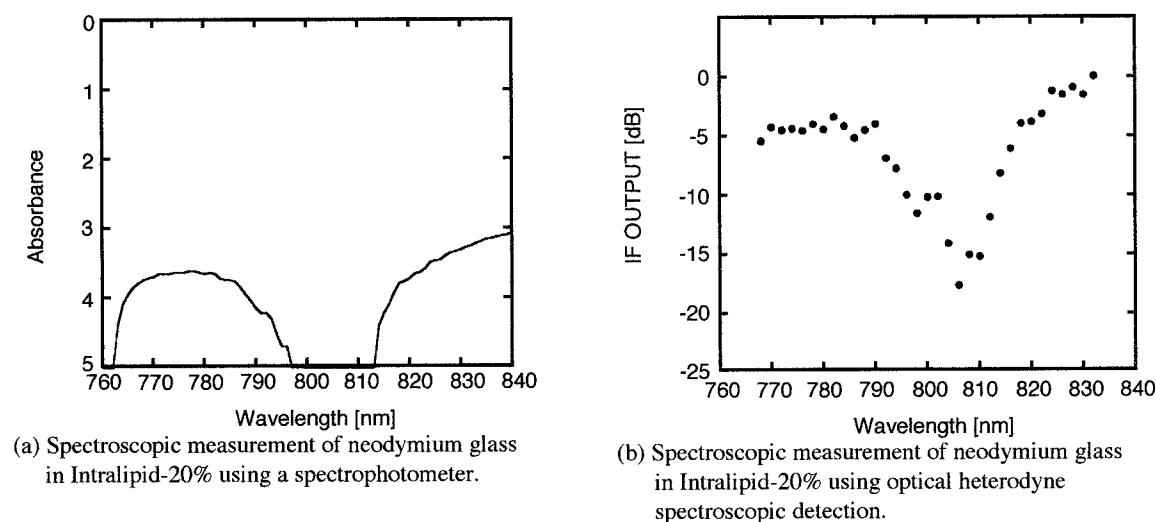


Fig. 3 Spectroscopic measurements of neodymium glass in a diluted solution of Intralipid-20%.

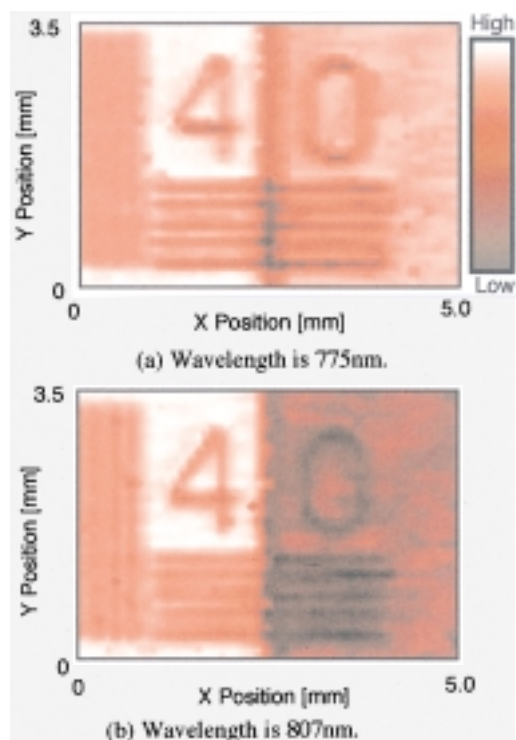


Fig. 4 Two-dimensional image of test target 「4.0」 with the numeral 「0」 partially obscured by neodymium glass through a random scattering medium.

しかも空間分解能を有する分光装置を構築出来たことになる。しかし、ダイナミックレンジが70dBで、生体試料の観測には充分でなく、本装置の改良が必要となった。

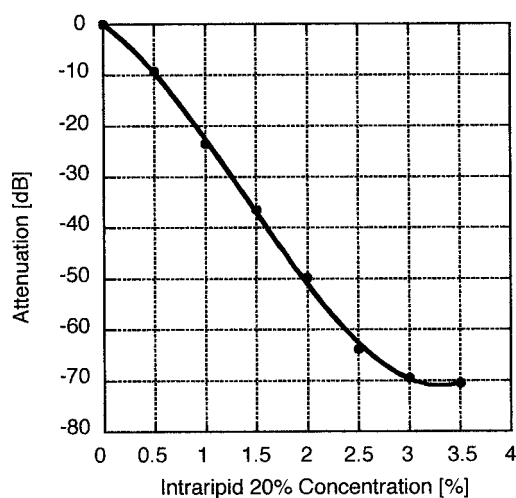


Fig. 5 Signal attenuation characteristics of Intralipid-20% with various concentrations in water.

3. 改良した光ヘテロダイン分光画像計測装置の構築

3. 1 実験装置の概要

今回、ダイナミックレンジを向上するため構成した実験系のブロック図をFig.6に示す。波長可変レーザーの波長を連続的に変化させた時、AOMが原因となる主たる問題はビーム光の移動であることが判った。そこで、試料を自動ステージに設置し、ステージコントローラにより波長の変

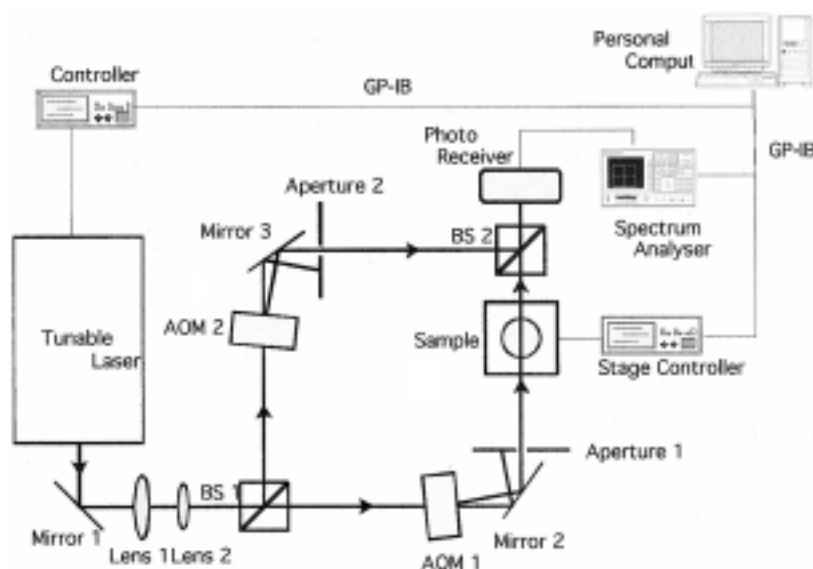


Fig. 6 Schematic diagram of the improved, highly sensitive spectrophotometer based on an optical heterodyne detection method using a tunable laser.

化によりビームの移動量だけ試料を移動させ、試料に入射する位置を一定に保つようにした。

3.2 ダイナミックレンジの比較

Fig.1の凹面鏡を用いた干渉計とFig.6の改良した干渉計により、ダイナミックレンジがどの程度改善されたかを、レーザーの波長を800nmに固定し、イントラリピッド20%を用いて濃度変化に対する信号の減衰の測定を行った。測定結果をFig.7に示す。図より、明らかなように、改良した干渉計では110dBまでLamber-beer則に従って減衰し、約40dBの改善が見られた。

3.3 実験結果

3.3.1 分光計測の実験結果

(1) ネオジウムガラスの吸収分光計測

ネオジウムガラスを試料として分光光度計で測定したものを、Fig.8に、光ヘテロダイン検波法によるものをFig.9に示す。このように、分光光度計における測定で示される吸収特性と同じ吸収特性が、光ヘテロダイン検波法でも得られることが確認できた。

(2) 光散乱媒質イントラリピッドの吸収分光計測

イントラリピッド20%溶液の濃度3.5%の吸収分光計測を測定した結果をFig.10に示す。

(3) 光散乱媒質イントラリピッドとネオジウムガラスの吸収分光特性

光散乱媒質として擬似生体試料のイントラリ

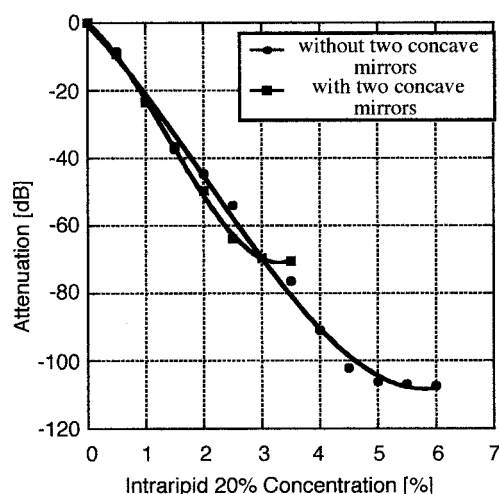


Fig. 7 Signal attention characteristics of Intralipid-20% with various concentrations in water with and without the two concave mirrors.

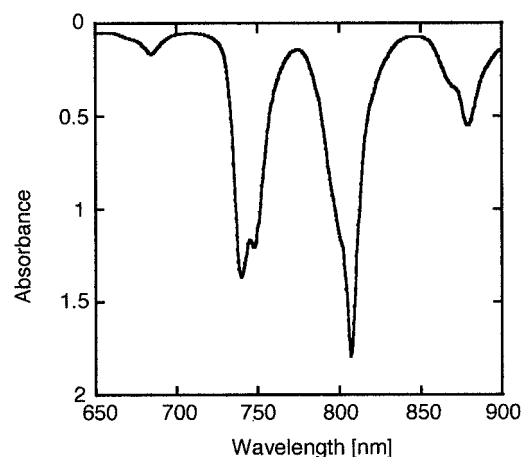


Fig. 8 Spectroscopic characteristics of neodymium glass acquired using a spectrophotometer.

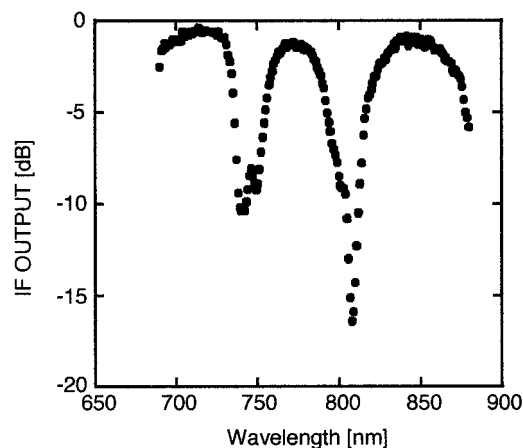


Fig. 9 Spectroscopic characteristics of neodymium glass acquired using optical heterodyne spectroscopic detection.

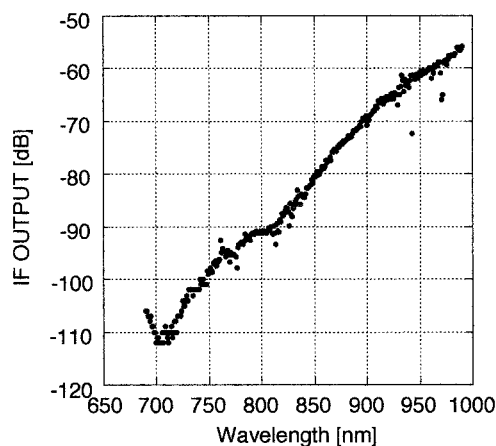


Fig.10 Spectroscopic characteristics of a 3.5% concentration of Intralipid-20% acquired using optical heterodyne spectroscopic detection.

ピッド20%の溶液の濃度3.5%を石英セルに入れ、その前にネオジウムガラスを配置して吸収分光特性を測定した。分光光度計で測定したものをFig.11に示し、光ヘテロダイン検波による吸収分光計測結果をFig.12に示す。

既存の分光光度計では測定出来ない吸収分光特性が測定出来た。

3.3.2 画像計測の実験結果

波長可変レーザーの波長を700nmにし、スキャンステップ250 μ mで、厚さ約1mmの生ハムでクリップを挟み画像計測を行った。中に挟まれているクリップは肉眼では確認することは出来ない。計測結果をFig.13に示す。

同じ条件で、甘海老の尻尾の画像計測を行った。計測結果をFig.14に示す。

3.3.3 分光画像計測の実験結果

生体試料を直接分光画像計測する前に、光散乱媒質であるイントラリピッド20%溶液の濃度3.5%を、テストターゲット(NBS1963A)の「4.5」の背後にネオジウムガラスで半分隠し、その後に配置して、異なった波長で吸収画像を取得した。波長はイントラリピッドの吸収に差がある波長を選択した。測定結果をFig.15に示した。

3.4 考察

改良した干渉計での光ヘテロダイン検波による実験系により、凹面鏡を用いた干渉計に比べ感度が向上し、40dBの改善によりダイナミックレンジ約110dBが実現出来た。光散乱媒質であるイントラリピッド20%溶液の吸収分光特性が、既存

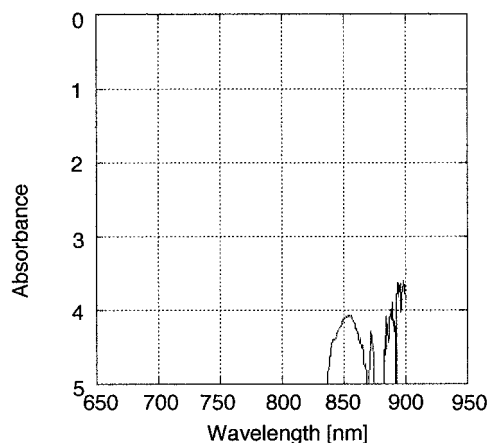


Fig. 11 Spectroscopic characteristics of a 3.5% concentration of Intralipid-20% acquired using a spectrophotometer.

の分光光度計で計測出来ないのが計測出来た。更にネオジウムガラスをイントラリピッド20%の溶液前に配置して吸収分光特性が計測出来た。

本実験系により、ハムで挟んだクリップの画像計測や海老の尻尾の画像計測も計測出来た。イントラリピッドの吸収に差がある波長を選択して異なる波長での、テストターゲット、その半分を隠

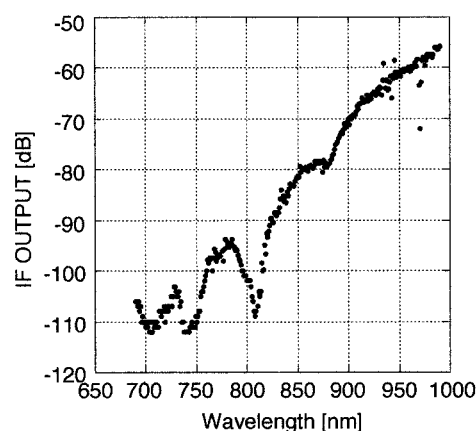


Fig.12 Spectroscopic characteristics of neodymium glass acquired through a 3.5% concentration of Intralipid-20 using optical heterodyne spectroscopic detection.

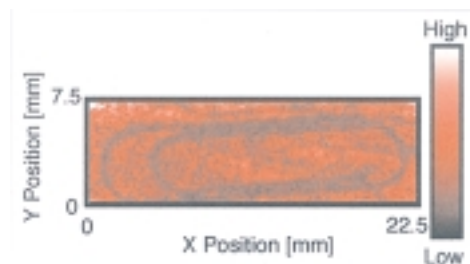


Fig. 13 Two-dimensional image of a clip which is sandwiched between two hams.

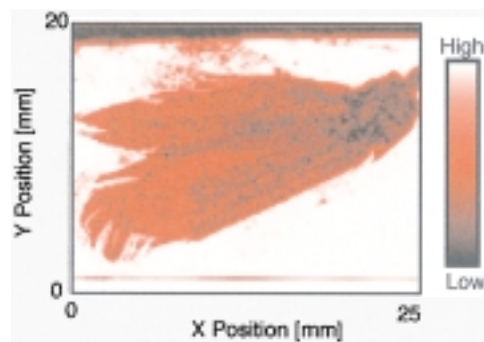


Fig. 14 Two-dimensional image of a tail of a prawn.

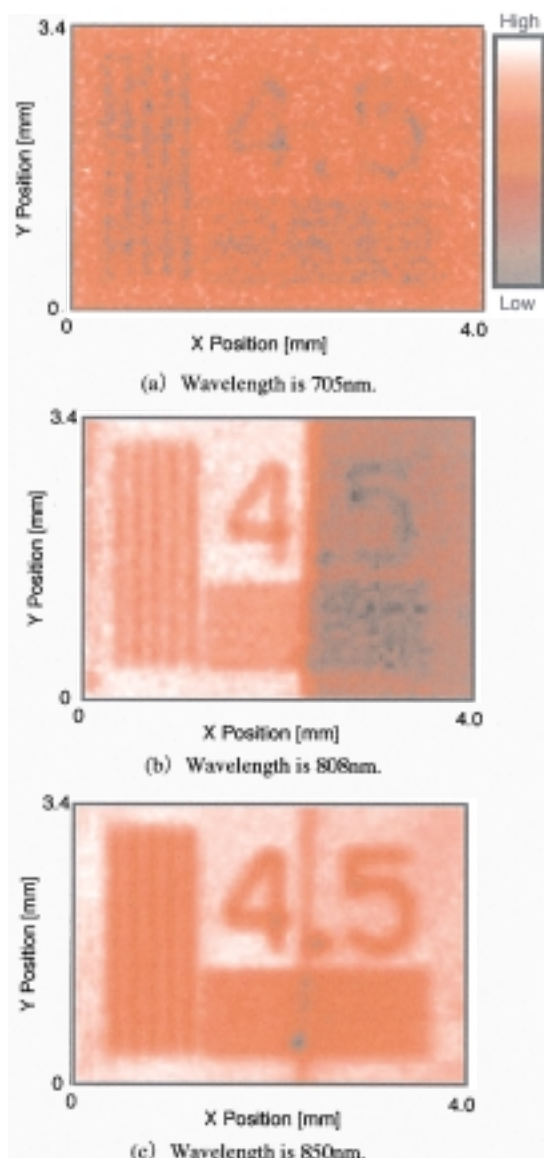


Fig. 15 Two-dimensional image of test target「4.5」 with the numeral 「5」 partially obscured by neodymium glass through a random scattering medium at different laser wavelengths.

したネオジウムガラス，イントラリピッドの順に配置した試料の画像計測を行い，散乱媒質を透過しての分光画像の取得も可能となった．

4. 生体試料の分光計測および分光画像計測

4. 1 生体試料の吸収分光計測および分光画像計測方法

生体試料の吸収分光計測および分光画像計測を行うため，ダイナミックレンジが約110dBあるFig.6に示した光ヘテロダイン検波分光画像計測装置を用いて測定を行った．異なる生体試料を用

意し，波長可変レーザーの波長をスキャンして吸収分光計測を行った．その結果に基づき試料の吸収の少ない波長と最も吸収のある波長を選択して分光画像計測を行った．

4. 2 生体試料の吸収分光計測および分光画像計測の実験結果

4. 2. 1 爪の吸収分光および分光画像

はじめに，人間の爪を試料に用いて分光画像計測をした．厚さ約1mmの親指の爪を切り，分光計測(加算平均：8回)および画像計測(縦：0.8mm，横：1.2mm，ステップ間隔：40 μ m，加算平均：8回)を行なった．実験結果をFig.16，Fig.17に示す．

Fig.16より吸収の少ない波長(805nm)と最も吸収のある波長(855nm)を選択し，それぞれ画像計測を行なった．

Fig.17(a)は同図(b)と比べ，黒い部分が少ないことから吸収が少ないことが画像でも確認できる．強度はFig.15の濃淡を参考．

4. 2. 2 ほうれん草の吸収分光及び分光画像

次に，植物であるほうれん草を試料に用いて分光画像計測を行なった．ほうれん草の茎及び葉をそれぞれ分光計測(加算平均：16回)および画像計測〔茎(縦：2mm，横：3mm，ステップ間隔：50 μ m，加算平均：10回)葉(縦：5mm，横：5mm，ステップ間隔：50 μ m，加算平均：10回)〕を行なった．実験結果をFig.18，Fig.19，Fig.20に示

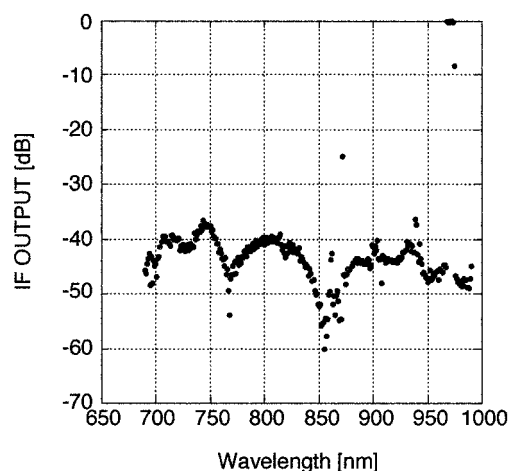


Fig. 16 Spectroscopic characteristics of a part of a nail.

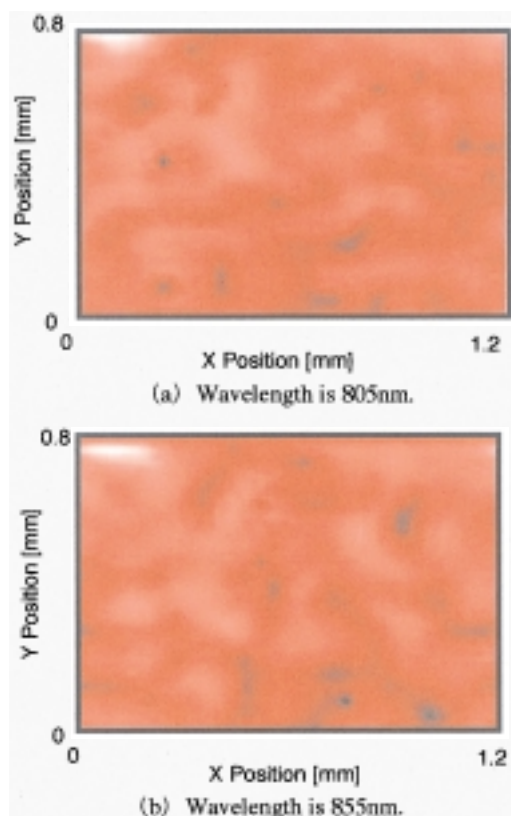


Fig. 17 Two-dimensional image of a part of a nail at different laser wavelengths.

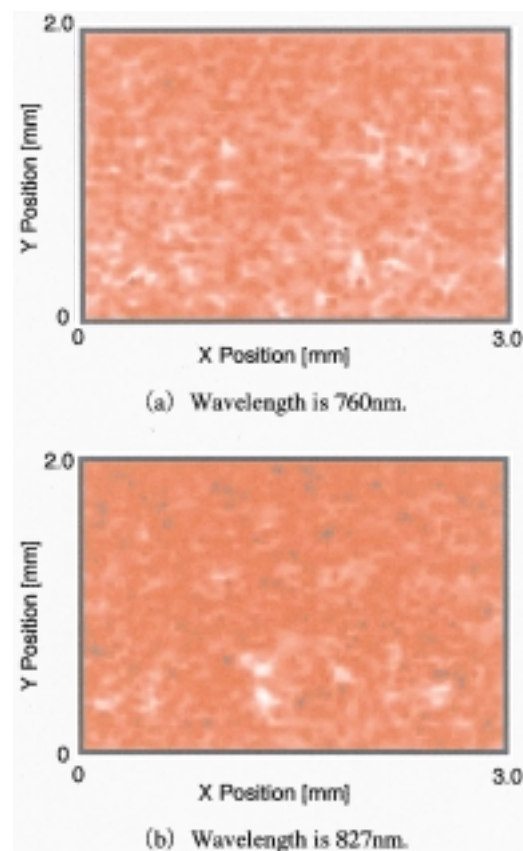


Fig. 19 Two-dimensional image of a stalk of spinach at different laser wavelengths.

す。

ほうれん草の茎において, Fig.18より吸収の少ない波長(760nm)と最も吸収のある波長(827nm)を選択し, それぞれ画像計測を行なった。この実験結果からFig.19 (a) は同図 (b) と比べ, 吸収

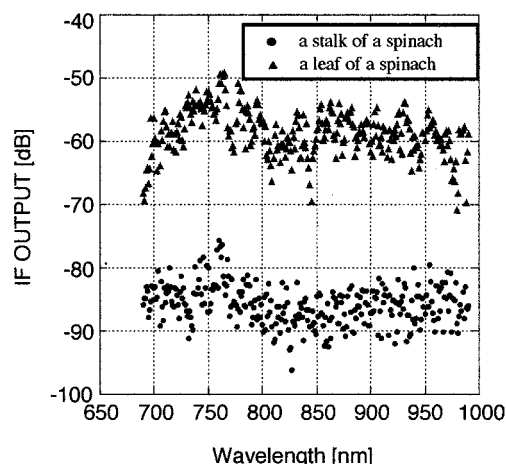


Fig. 18 Spectroscopic characteristics of a leaf and a stalk of spinach.

が少ないことが画像でも確認できる。

ほうれん草の葉においても, Fig.18より吸収の少ない波長(765nm)と最も吸収のある波長(845nm)を選択し, それぞれ画像計測を行なった。実験結果からFig.20 (a) は同図 (b) と比べ, 吸収が少ないことが画像でも確認できる。また, 同図 (a), (b) は, 真中と左中付近において葉脈を画像として捕らえている。

4. 2. 3 鶏肉の吸収分光及び分光画像

続いて, 鶏肉を試料に用いて分光画像計測をした。厚さ約1cmの鶏肉手羽先を骨の部分と肉の部分に分け, 骨の部分と肉の部分の分光計測(加算平均: 32回)および鶏肉手羽先を画像計測(縦: 7.5mm, 横: 7.5mm, ステップ間隔: 100 μ m, 加算平均: 8回)を行なった。実験結果をFig.21, Fig.22に示す。

Fig.21より, 骨と肉の吸収に差が大きい波長(717nm)と吸収の差が小さい波長(950nm)を選択し, それぞれ画像計測を行なった。この実験

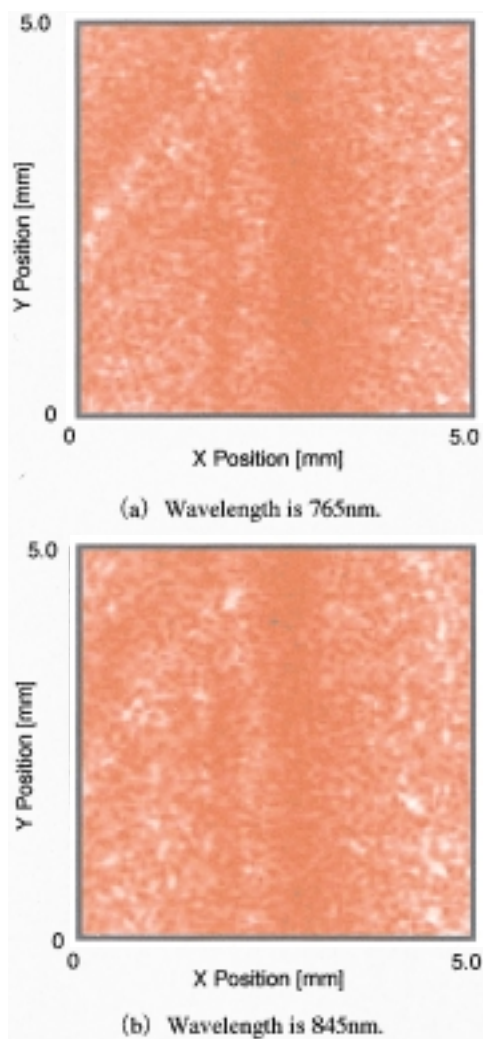


Fig. 20 Two-dimensional image of a leaf of spinach at different laser wavelengths.

結果より吸収に差が大きい画像Fig.22 (a)は画像の左1/3が吸収大きく、肉の部分と確認できる。これに対し、同図(b)は同図(a)に比べ、骨と肉の区別が見分けにくい。

この結果から生体内部に隠れている骨の存在を特定することができる分光画像化に成功した。

4. 3 考察

従来の分光光度計では計測が困難であった生体試料の吸収分光特性が測定出来た。吸収分光特性より、吸収の少ない波長での画像と最も吸収のある波長での画像では、異なる画像が得られた。

ほうれん草の葉では、葉脈を画像として捕らえた。また、鶏肉の画像Fig.22の(a)は画像の左1/3が吸収が大きく肉の部分と確認できる。これらは、散乱媒質でもレーザーの波長を選択して画像化す

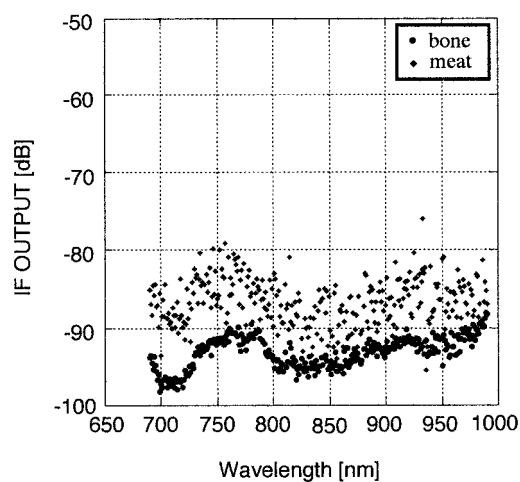


Fig. 21 Spectroscopic characteristics of chicken meat and bone.

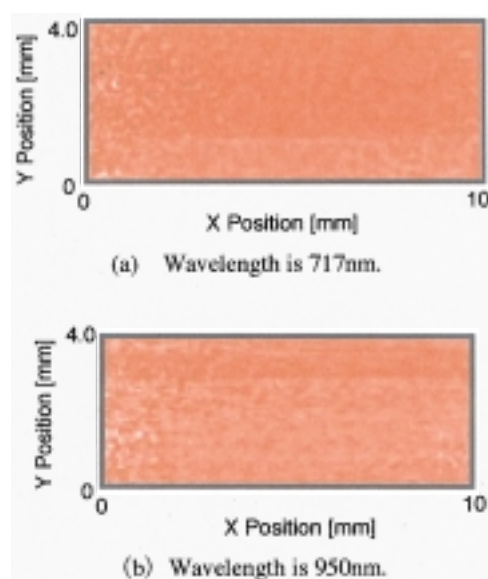


Fig. 22 Spectroscopic two-dimensional image of a chicken at different laser wavelengths.

れば吸収分光特性による試料の成分の違いを画像化できることを意味する。

これらより、生体組織の分光特性を測定出来、空間分解能を有する本研究で構築した装置を用いれば、生体組織の異なる部位による酸素飽和度の測定が可能になることが展望出来るようになった。

5. まとめ

以上、生体用光ヘテロダイン検出分光画像計測法の研究の結果、既存の分光技術では不可能で

あった，高散乱媒体である生体試料の吸収分光が110dBの高ダイナミックレンジで測定出来，生体試料の吸収分光並びに分光画像の計測にも成功した．これらより，生体内の空間的生理学的情報の計測が可能であることが展望出来る様になり，これからも光ヘテロダイン検波に着目した分光研究を押し進めることにより，今後益々技術の発展が期待できる．

謝 辞

終わりに，この研究は著者の研究室で勉学した卒業研究生，修士課程の学生諸君の実験結果や討論に基づくものであり，特に実験を担当してくれた井藤 剛，佐藤克志，木村貴寿，山本幸司君ら諸氏のご協力に深く感謝いたします．

参考文献

- 1) 市村勉，稲場文男：光断層画像化装置，特願平1-62897，特公平6-41911，特許第1911906号
- 2) 市村勉，稲場文男，戸井田昌宏：ヘテロダイン検波結像系及び該結像系を用いた光断層画像化装置，特願平1-250036，特公平6-021868，特許第1896737号
- 3) 戸井田昌宏，近藤真，市村勉，稲場文男：新しいレーザー生体計測法としての光ヘテロダイン方式CT法の研究開発，日本レーザー医学会誌，Vol. 10, No. 3, pp. 51-54 (1989)．
- 4) M. Toida, K. Kondo, T. Ichimura and H. Inaba: Experimental Verification of Image Detection in Highly Scattering Media Using Antenna Properties of Optical Heterodyne Microscope Scheme, Electronics Letters, Vol. 26, No. 11, pp. 700-702 (1990)．
- 5) 戸井田昌宏，近藤真，市村勉，稲場文男：Coherent Detection Imaging法に基づく生体光CTの研究，電子情報通信学会論文誌，C-I, Vol. J74-C-1, No. 4, pp. 137-150 (1991)．
- 6) K. Takada, I. Yokohama, K. Chida and J. Noda: New Measurement System for Fault Location in Optical Waveguide Devices based on an Interferometric Technique, Appl. Opt., Vol. 26, No. 9, pp. 1603-1606 (1987)．
- 7) 丹野直弘，市村勉，佐伯昭雄：光波反射像測定装置，特願平2-300169，特公平6-35946，特許第2010042号
- 8) 立野公雄：日本の医工連携イノベーションの推進，文部科学省科学技術動向研究センター，科学技術動向，Vol. 7, No. 64, pp. 14-23 (2006)．
- 9) D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito and J. G. Fujimoto: Optical Coherence Tomography, Science, Vol. 254, No. 5035, pp. 1178-1181 (1991)．
- 10) Humphery Instru. Inc. Humphery OCT Scanner, OCT 2000 (1966)．
- 11) 「光コヒーレンストモグラフィ(OCT)の新たな技術展開」特集号，レーザー研究，Vol. 34, No. 7, pp. 468-504 (2006)．
- 12) 佐藤克志，木村貴寿，井藤剛，市村勉，池田照樹：光ヘテロダイン検出法を用いた分光画像透過特性の計測，第2回生体医用光学研究会講演論文集，pp. 116-119 (2001)．
- 13) 木村貴寿，佐藤克志，井藤剛，市村勉，池田照樹：光ヘテロダイン検出法を用いた散乱体の分光画像透過特性，レーザー学会第289回研究会報告，pp. 1-6 (2001)．

