

平成23年度 修士論文

近赤外光を用いた無侵襲型血糖値計開発に対する基礎研究

指導教員 高橋 佳孝 准教授

群馬大学大学院工学研究科

電気電子工学専攻

茂木 雅晃

目次

第1章 緒言	
1. 1 背景1
2. 1 目的2
第2章 原理	
2. 1 皮膚構造3
2. 2 ミー散乱6
2. 3 散乱係数7
第3章 実験方法と結果	
3. 1 光源8
3. 2 使用波長の選択9
3. 3 一光源を用いたファイバプローブによる実験12
3. 3. 1 プローブの構造12
3. 3. 2 実験系13
3. 3. 3 生体での測定方法16
3. 3. 4 測定結果18
3. 4 二光源を用いたファイバプローブによる実験27
3. 4. 1 実験系と評価27
第4章 考察	
4. 1 血糖値の時間変化38
4. 2 プローブの固定法39
4. 3 生体での測定エラー40
第5章 総括	
5. 1 まとめ41
5. 2 今後の課題42
謝辞43
参考文献44

第1章 緒言

1.1 背景

厚生労働省の平成19年における「国民健康・栄養調査結果」によると、糖尿病が強く疑われる人は約890万人、糖尿病の可能性が否定できない人は約1320万人、合わせて約2210万人と推定されており、患者数は年々増加し続けている。糖尿病患者には血糖値(血中のグルコース濃度)の自己管理が必要であり1日に4~6回ほど測定しなければならない。現状では、針を体の一部に刺し、微量の血液を採取し、血中のグルコース濃度を測定する方法が一般に広く用いられている。この方法は採血を必要とするため、糖尿病患者は痛みや精神的ストレス、感染の危険を伴う。また、血糖値の変動が大きい重症時や手術下など、連続での計測が要求される時に対応が難しいという問題点があげられ、採血を必要としない無侵襲型血糖値計の開発が強く望まれているのが現状である。近年、生体に対し比較的透過性の高い近赤外光を用いた無侵襲測定法の研究が進められている。しかし、生体の強い散乱性や、グルコース以外の多くの吸収成分、例えば、水分量、たんぱく質の濃度、温度などの変動によって、簡便な測定法がまだ確立されていない状況にある。

現在、無侵襲型血糖値の研究において進められている方法には、血管分布が大きい口中の皮膚の散乱スペクトルを求める方法や、OCT(optical coherence tomography)により屈折率の変化を測定する方法、グルコース以外の吸収成分が少ない前眼房水に光を照射し旋光度により求める方法などがある。その中でも、最も実用化に近いとされているのが、近赤外反射分光法である¹⁾。しかし、装置の大型化や使用光源の安定までに時間がかかるといった問題があり、この方法では、自己測定を必要とする糖尿病患者が望むような、小型で簡単に計測ができる血糖値計の実現には限界がある現状である。

1.2 目的

本研究では、無侵襲型であり、かつ簡便かつ即時測定が可能な方法で、血糖値を計ることを目的とする。そこで、簡便な測定器となるよう、測定における光源を近赤外半導体レーザーダイオードとする。これにより、光源の小型化が可能になり、また受光効率が高くなる、制御が容易になるなどの利点が生まれる。また血中では先に述べたように、水分量、たんぱく質濃度、温度などの影響が上げられるため、真皮といわれる表皮の下である層での測定を試みる。真皮では毛細血管が発達しているため、そこからグルコースが滲み出ること、血液中と同程度のグルコース濃度になるとされており¹⁾、血中での測定より精度良く血糖値の変動が確認できると考えられる。

第 2 章 原理

2.1 皮膚構造

皮膚は表皮、真皮、皮下組織の 3 層で構成されている。人の皮膚構造を断面で見ると Fig. 1 のようになっている。真皮の下には皮下組織があり、この皮下組織の中に皮下脂肪などが存在する。これらの上皮と皮下組織が、人の皮膚組織を構成している。表皮の表面は皮膚膜で覆われ、その下は「角質層」「顆粒層」「有棘層」「基底層」の複数の層に分かれている。表皮は薄い組織で、おおよそ 0.2mm 程度である。真皮は、表皮の基底層の下に位置し、表皮よりも厚くおおよそ 2mm の層になっている。また、皮下組織の厚さは、組織のほとんどをしめる脂肪の量に左右され、身体の部位、年齢、性別、肥満度によってもかなり差があるが、皮下組織の厚さは、おおよそ 2mm 程度である。

本研究では、皮膚表面に近赤外光を照射した際に生じる真皮からの散乱光を受光することで測定を行う。皮膚は強散乱体であり、深部に行くにつれて近赤外光を透過しにくくなり、また血液中にはグルコース以外にアミノ酸や脂肪など近赤外領域に影響を与える成分が多く存在する。これらの要因が測定精度の低下を招き、結果として実用化を難しくしている。しかし、その中でも真皮では比較的、散乱の影響が少なく、血液中よりもグルコース以外の吸収成分が少ない。また、毛細血管が発達しているため、そこからグルコースが滲み出ること、血液中と同程度のグルコース濃度になるとされている¹⁾。

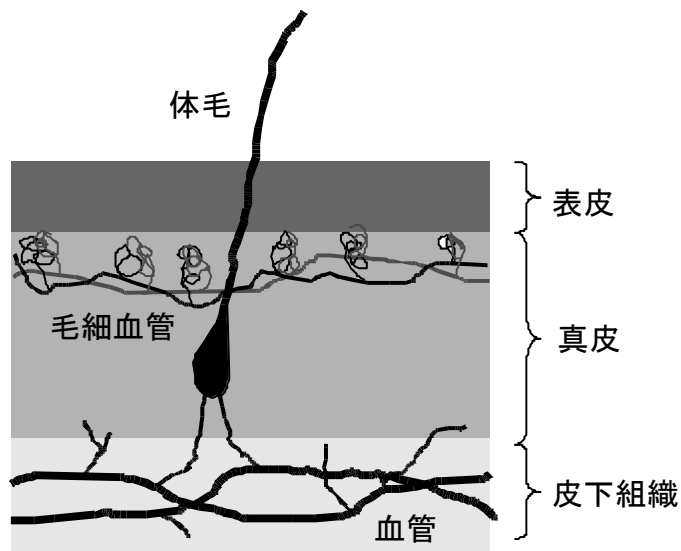


Fig. 1 皮膚構造

表皮を下から支える真皮は、水分を多く含み、コラーゲン繊維とその継ぎ目の役割を果たすエラスチン、これらの間を埋める基質からなる結合組織の層であり、水分などを取り除いた70%をコラーゲン繊維^{2),3)}が占めている。コラーゲン分子は、—(グリシン)—(アミノ酸X)—(アミノ酸Y)—の配列を繰り返す1本のポリペプチド鎖が3本絡み合って、緩い右巻きの螺旋構造を形成し、その両端に鎖が解けたようにアミノ酸組成の異なる部分がわずかに突き出ているテロペプチドを持つ。一般的にコラーゲン分子とはこれを指し、この状態のコラーゲン分子をトロポコラーゲンと呼ぶ。このトロポコラーゲンの両端のテロペプチド同士が互いに結合して分子間架橋を形成し、少しずつずれてたくさん集まることにより、より太く長いコラーゲン細線維を形成する(Fig. 2)。

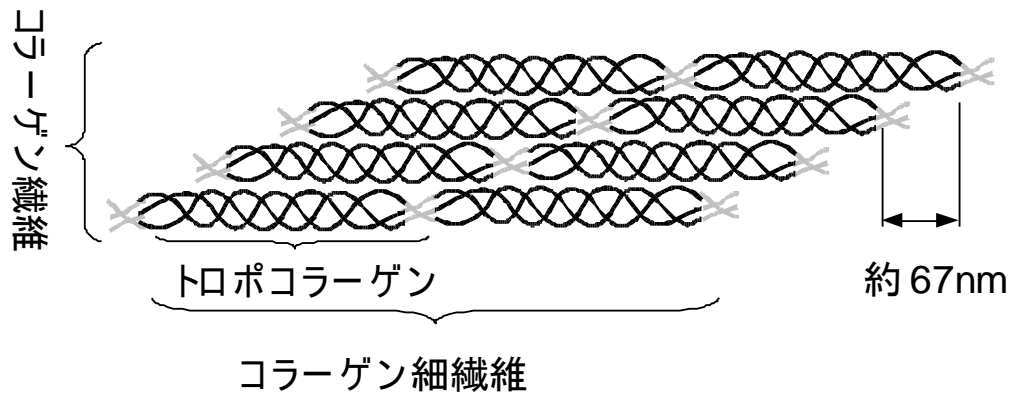


Fig. 2 コラーゲン繊維の構造

コラーゲン細線維はさらに多く寄り集まって束になり、結合組織内で強大なコラーゲン線維を形成する。太さは数 μ m～数十 μ m 程度で、適切な染色を行うと、光学顕微鏡でも観察することができ、コラーゲン線維は真皮や腱などにびっしりと詰まっている³⁾このコラーゲン細線維を電子顕微鏡で観察すると、約 67nmの周期をもつ構造が見られる。トロポコラーゲンの大きさは、長さが約 300nmであり、この分子がおよそ 4 分の 1 ずつずれながら規則的に会合しているため、約 67nm 周期の超微細構造をもつことが説明されている。

Fig.2 で灰白色で示したテロペプチド同士の分子間架橋部分は、互い違いな周期構造を持ち、この部分は電子が多く存在するため、屈折率の周期的変化をもたらす。光の散乱は、屈折率の変動が不連続の粒子によるものか、屈折率が連続変化する物体であるかどうかに関わらず、屈折率の変動を含む媒体で生じる。真皮では主として、コラーゲン繊維の周期的屈折率の変化により散乱が生じる。

2.2 ミー散乱

生体組織中において、光の散乱は波長に対する散乱粒子の大きさにより、3つに分類される⁴⁾。粒子が波長より小さいときはレイリー散乱、波長と同じ程度の大きさではミー散乱、波長よりずっと小さいときは幾何散乱が起こる。真皮の大半を占めるコラーゲン繊維のような細胞外基質といった様々な細胞構造は、一般に生体計測に用いられる波長と同程度の大きさである。これらの構造は必ずしも球状ではないが、近似的にその散乱の様子は、同じ大きさで同じ屈折率をもつ球体に対し、ミー理論を用いることにより説明される。ミー理論とは均質球形の粒子に太陽放射が入射し、その粒子1個あたりの消散係数(消散効率因子: 消散断面積と粒子の幾何学的な断面積の比)を求める理論である。この理論は粒子の大きさと複素屈折率に依存する。また、ミー理論⁵⁾によると、周りの媒質とは異なる屈折率をもつ球状の粒子では、分子内の電子振動による双極子放射が強い散乱放射源となる。またこのときの双極子からの放射は、入射光の順方向以外ですべて打ち消しあうわけではなく、方向によって効率が異なる。粒子の径が大きいため、散乱光強度の角度分布が粒子の条件によって大きく異なるが、後方散乱より前方散乱が大きくなる。

2.3 散乱係数

断面積 $A[\text{cm}^2]$ の球状粒子について散乱を考える⁴⁾。球状粒子に光を入射したとき、散乱により生じる陰の部分である有効断面積 $\sigma_s[\text{cm}^2]$ は、粒子の幾何的な大きさを $A[\text{cm}^2]$ とすると、定数である散乱効率 Q_s を用いて、

$$\sigma_s[\text{cm}^2] = Q_s A[\text{cm}^2] \quad (1)$$

で表され、幾何学的な大きさより小さくなったり大きくなったりする。

散乱係数 $\mu_s[\text{cm}^{-1}]$ は、体積密度 $\rho_s[\text{cm}^{-3}]$ で散乱粒子を含む媒質を定義し、

$$\mu_s[\text{cm}^{-1}] = \rho_s[\text{cm}^{-3}] \sigma_s[\text{cm}^2] \quad (2)$$

で表され、散乱係数は媒質の単位体積あたりの散乱の断面積を意味する。ここで、散乱による正味の自由行程 $l_s[\text{cm}]$ は

$$l_s[\text{cm}] = 1 / \mu_s[\text{cm}^{-1}] \quad (3)$$

で表され、光子が次の散乱粒子に当たるまでの平均光路長である。

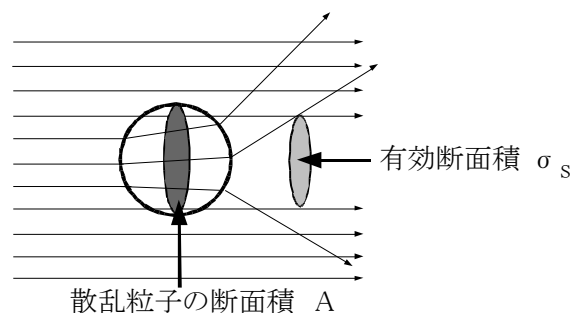


Fig. 3 散乱の概念図

第3章 実験方法と結果

3.1 光源

今回、研究の参考にした反射分光法¹⁾では、ハロゲンランプなどの広帯域光源を用いてスペクトル分析を行っている。装置が大型で、安定するまでに時間がかかるため、本研究の目的である装置の小型化かつ簡便な測定法に広帯域光源を用いることは望ましくない。また使用する波長の選択に狭帯域フィルタなどを用いると、光源の光エネルギーを大幅にカットして用いることになり、フォトディテクタで受光される光エネルギーが減少してしまい効率が悪い。反射散乱光のグルコースによる変動は非常に小さいため、検出光の出力が弱いと測定が難しくなる。そこで本研究では、独立した複数の近赤外狭帯域光源を用いて測定を行う。広帯域光源ではなく、グルコースの吸収変化を特徴的に捉えられる波長の複数の LD を用いることにより、測定装置の小型化も可能となる。また、波長の選択を行わないため、フォトディテクタにおける受光効率が、波長の選択を行うよりも良好となり、測定精度が向上すると考えられる。

3.2 使用波長の選択

本研究ではグルコースの吸収変化を利用して、真皮中のグルコース濃度を測定することを目的としている。使用するLDを選択するために、以前当研究室で測定した吸収スペクトルを用いた。このスペクトルはグルコースの吸収変化をはっきりと確認するために、グルコース水溶液の濃度を0%から20%まで大きく変化させ、光路長1mmのセル(テンパックスガラス)と分光光度計(日本分光 V-570)を用いて、測定したものである¹¹⁾。

α を吸収係数、 I_0 を入射光強度、 I を透過光強度、 X をサンプル長とすると、ランベルト-ベールの法則⁶⁾より、式(4)のように表され、これにより吸収係数 α は式(5)となる。また透過率 T は式(6)で表される。

$$I = I_0 \exp(-\alpha X) \quad (4)$$

$$\alpha = -\log(I / I_0) / X \quad (5)$$

$$T[\%] = I / I_0 \cdot 100 = \exp(-\alpha X) \cdot 100 \quad (6)$$

波長は、グルコースの吸収が比較的大きく、検出信号が大きくなると考えられる1000nm から 1800nm まで変化させている。グルコース水溶液は、吸収係数の変化が顕著に観察されるように濃度 0、1、5、10、20%の5種類を用意し、各グルコース濃度毎のグルコース水溶液の吸収スペクトルの変化、また 1300nm から 1600nm までの吸収スペクトルの拡大図を Fig. 4に示す。また 20%グルコース水溶液の吸収係数からそれを引くことでグルコースに由来した吸収係数も算出した。これを Fig. 5 に示す。グルコース水溶液の吸収のピークとなっている 1460nm 付近で、グルコース濃度による吸収の変化が顕著に現れている。したがって、濃度によりグルコースの吸収係数の変化が見られる 1300nm から 1800nm に注目し、本実験では入手が容易であり、グルコースの吸収も大きい 1480nm と 1550nm の 2 種類の近赤外 LD を用いて、2 波長法によるグルコース濃度の選択的な計測を行なった

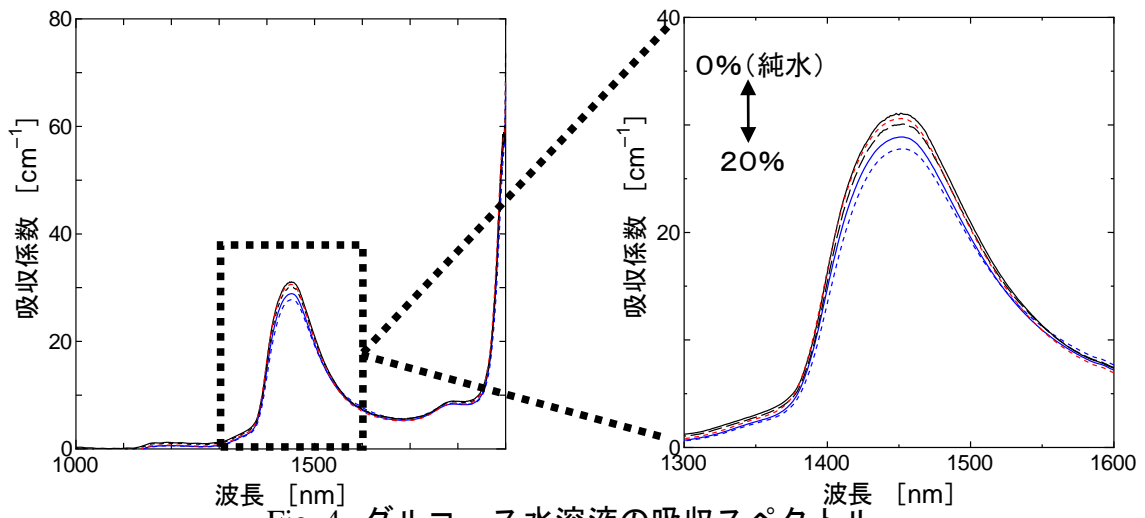


Fig. 4 グルコース水溶液の吸収スペクトル

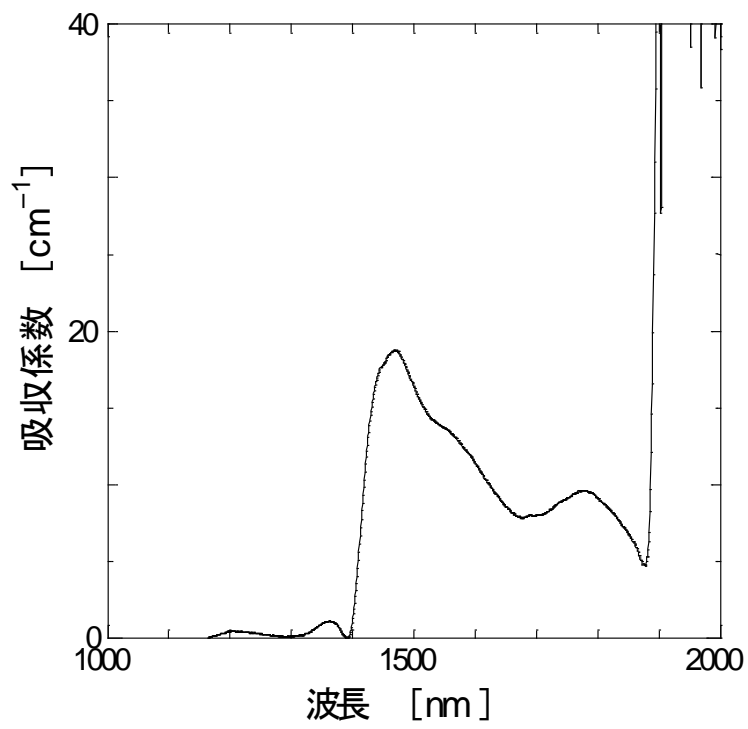


Fig. 5 水溶液中でのグルコース吸収スペクトル

3.3 一光源を用いたファイバプローブによる実験

本研究では、生体での測定に対し皮膚表面での反射光により散乱光がマスクされないよう、それらをカットする構造のファイバプローブを用いた測定系を作成し、用いた。

3.3.1 プローブの構造

プローブの入射・受光ファイバ間の距離は Monte Carlo 法によるシミュレーション⁸⁾を参考にした。これは検出される光が媒体のどの程度の深さを通過するかをシミュレートしたもので、グルコースによる変化は深さ 0.2~2.2mm の真皮層で起こり、この深さと皮膚での散乱係数に対応した入射・受光間距離は 0.3~1.8mm であった。しかし距離が長くなると吸収による減衰が大きくなるので、入射・受光間距離はできるだけ狭くなるものを作製した。今回の研究ではスペーサの材料としてフロッピーディスクの中身を用い、入射側のファイバと受光側のファイバの干渉をなくす構造を用いた。その厚さは 0.75 μ m なので6枚重ねることで 0.45mm のものを作製した。入射側のファイバと受光側のファイバでこのスペーサを挟み込み接着剤で固め、その後、研磨紙でファイバの先の固まった接着剤を削り取ることで作製した。またファイバが測定対象に垂直に当たるよう、長方形のスポンジで挟み込むことで測定の際、使用した。

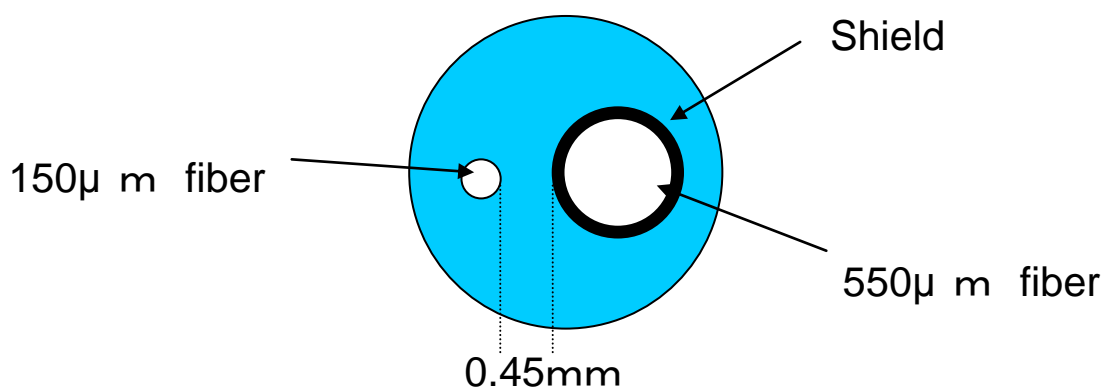


Fig.6 プローブの構造

3.3.2 実験系

ファイバプローブを用いたグルコース濃度測定実験系を Fig.7 に示す。

本研究では波長 1480nm の LD(古河 FOL1402PLF-317)1550nm の LD(ROITHNER LASERTECHNIK RLT1550-5G) の二つを光源に用いた。それぞれの LD 特性を Fig.8 Fig.9 に示す。近赤外 LD から出射した光をファイバに通し、生体またはサンプルに当て、その後方散乱光をもう一方のファイバに通し、ディテクタ(InGaAs PD: 浜松ホトニクス G8370-83)で受光し、その信号をアンプ(浜松ホトニクス C4159-03)で増幅した。入射側のファイバはエネルギー密度が上がり肌などに影響が出ないようにコア径 150μm、受光側はコンスタントの光量を確保するためにコア径 550μm のものを使用した。また、550μm ファイバのプローブ部分は近赤外光をカットするフィルタで覆い、入手できた受光側のファイバの被覆が透明で外乱を受けやすいため、ファンクションジェネレーター(Agilent 33250A)を用い近赤外 LD の光に変調をかけた。ここでは LD に 1480nmLD は 30mA、1550nmLD は 20mA ほどのバイアス電流に加えて変調電流は 1480nmLD に 30mA、1550nmLD では 40mA のパルスを重ねている。また、変調周波数をロックインアンプ(THORLABS MODEL LIA100)に入れることで同期検出することにより、測定精度の向上を図っている。またファイバには対物レンズを用いて LD の光を入射させているので出力は 50%程度となっている。

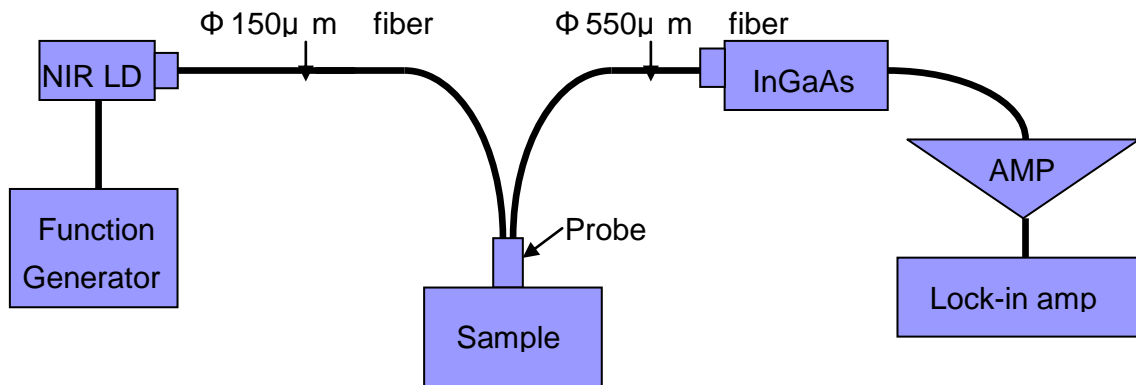
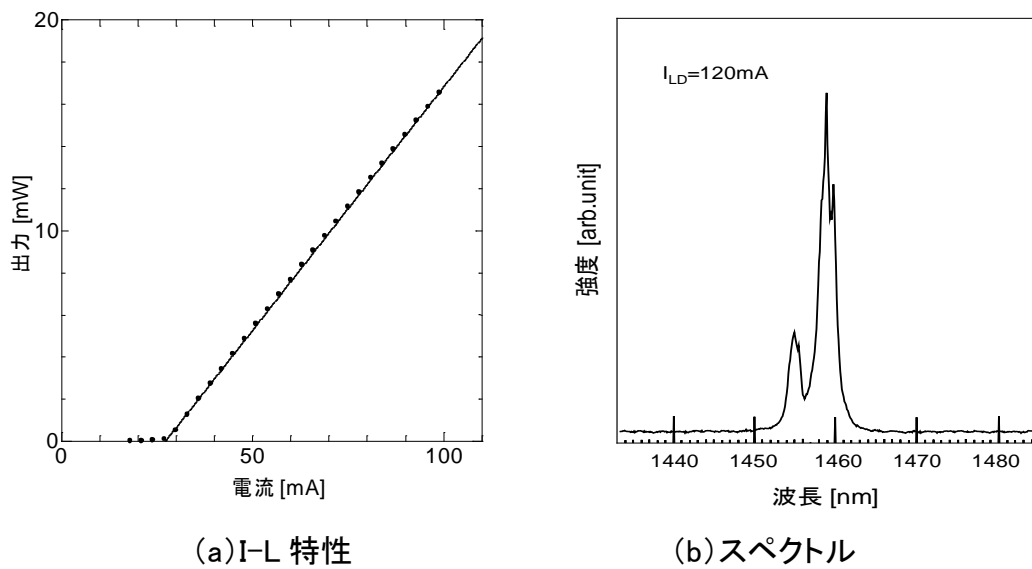


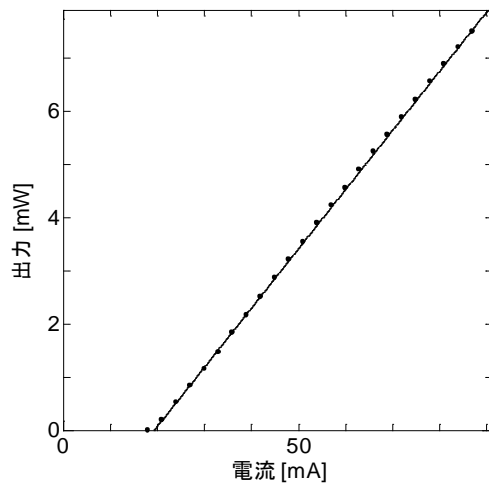
Fig.7 ファイバプローブを用いた実験系



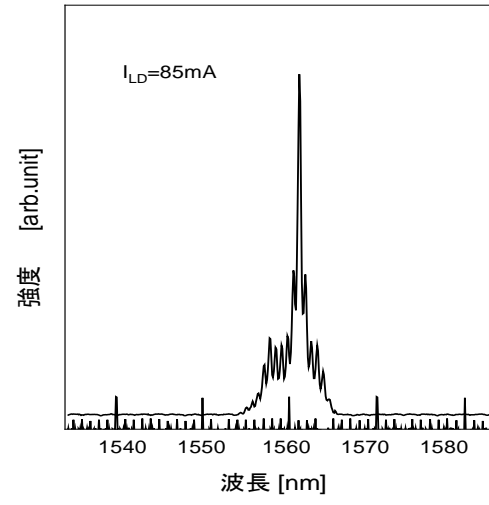
(a) I-L 特性

(b) スペクトル

Fig.8 1480nmLD 特性



(a) I-L 特性



(b) スペクトル

Fig.9 1550nmLD 特性

3.3.3 生体での測定方法

前述の測定系で生体での測定を行った。測定する部屋は暗くし、ディテクタへの外乱光の入射を極力防いだ。また、血糖値は正常な人であるなら食後 2 時間ほどで元に戻るため、測定前 3 時間は食事を取らず測定した。次にプローブの固定法を記す。プローブを固定する位置を本研究では前腕部とした。これは今回の測定ではプローブによるずれがそのまま結果に影響されると予想されるため、なるべく人体の動きに影響されないことを考慮したものである。その固定法を Fig.10 に示す。ファイバが腕に垂直に当たるようにスポンジ状のものでプローブを固定し、全体をベルトで腕に巻きつけ固定した。また、測定位置のずれの防止のため固定器具と皮膚の間に弱粘性のゴムを挿入した。

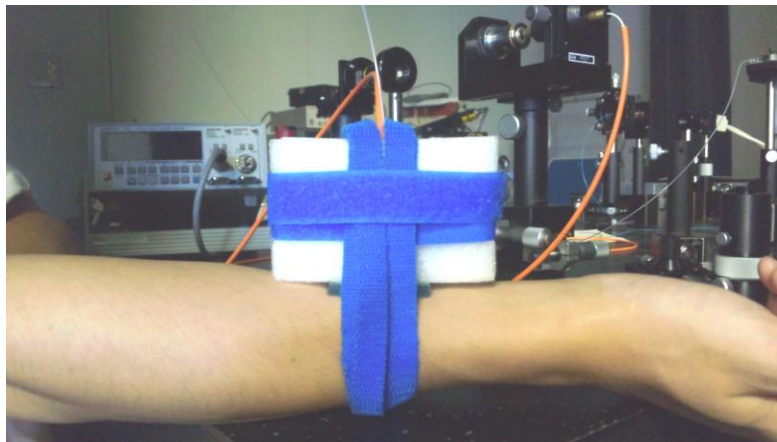


Fig.10 プローブの固定法

本研究では測定中に血糖値を変動させるため、グルコースの代用として、ショ糖水溶液を摂取することで変化させ散乱光強度の時間的な変化を測定した。ショ糖とはスクロースであり人体での吸収の際、腸液に含まれる消化酵素「サッカラーゼ(インベルターゼ)」によりグルコースとフルクトースに加水分解され小腸で吸収されて血流に入る。この反応は短時間で起こるため、血糖値が上昇し元に戻るまでが短時間で起こるので測定しやすいというメリットがある。また、測定の結果を採血型血糖値計との比較も行うため、市販の簡易血糖値計(ニプロ フリースタイルフラッシュ)を用いた。

3.3.4 測定結果

1550nmLD での測定結果を Fig.11 に示す。ファイバからの出射出力は 2mW であり 230Hzの変調を LD にかけている。ショ糖の水溶液を摂取したところから測定を開始している。測定を開始後、時間の変化と共に PD 出力電圧が下がっていき、測定開始から 20 分近くから徐々に PD 出力電圧が上昇していく結果となった。これは以前、当研究室で測定したイントラピッド水溶液を用いた擬似生体試料での測定で得られたグルコース濃度が上がるにつれて散乱光強度が下がるという傾向と一致することを確認した¹¹⁾。

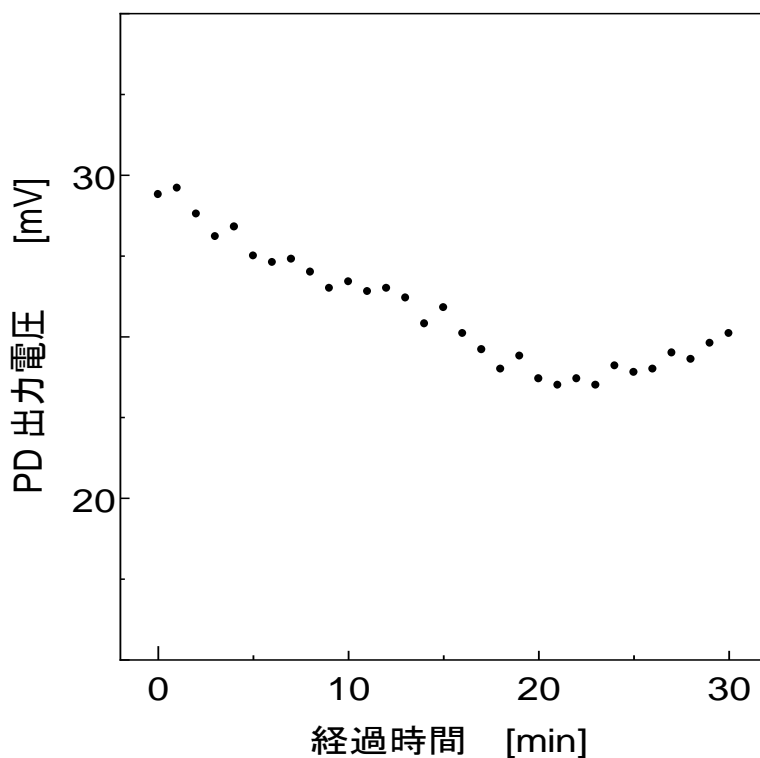


Fig.11 散乱光強度の時間変化(1550nm)

同様の実験を 1480nmLD でも行った。ファイバからの出射出力は 4mW であり、230Hz の変調を LD にかけている。これも 1550nmLD と同様にシヨ糖の水溶液を摂取したところから測定を開始している。結果であるグラフを Fig.12 に示す。1550nmLD と同様に 30 分間測定をしたが PD 出力電圧が大きく変化することなく、ほぼ一定の値をとり続ける結果となった。

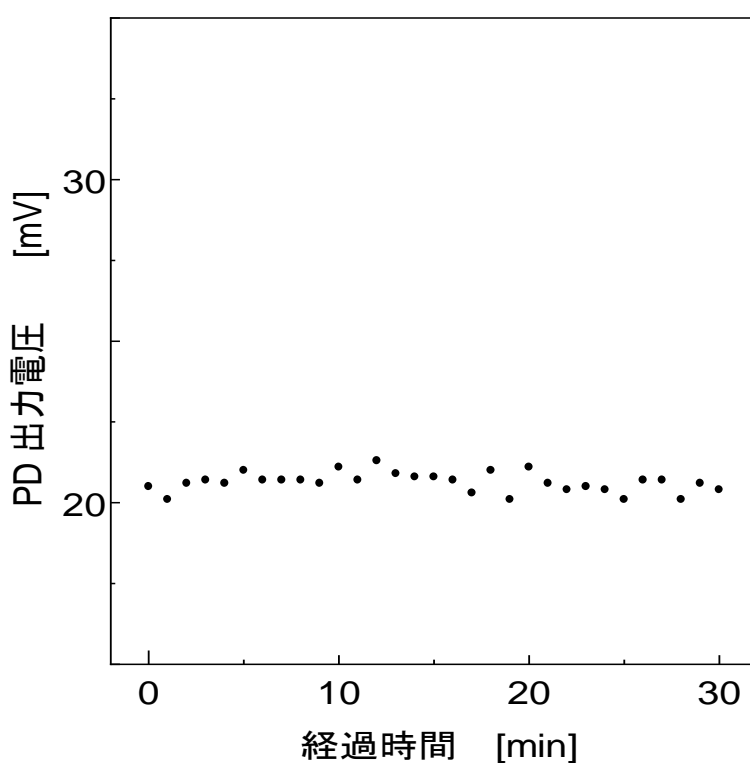


Fig.12 散乱光強度の時間変化(1480nm)

次に、採血型血糖値計との比較をした結果を示す。Fig.13 に 1550nmLD、Fig.14 に 1480nmLD の血糖値計との比較をそれぞれ示す。これより以下、図では血糖値計の測定値を「血糖値[mg/dl]」と表記する。血糖値の上昇に対して PD 出力電圧が減少していくので PD 出力電圧の軸を反転した。今回用いた簡易血糖値計の精度は±10%であるのでエラーバーにより表示している。PD 出力電圧と採血型血糖値計の値を比較するに当たって、採血型血糖値と PD 出力電圧の縦軸はそれぞれの変化が確認できるよう適宜あわせてある。PD 出力電圧の時間変化と採血型血糖値計との時間変化の様子を見ると、共に測定開始から20分あたりで値のピーク値を取っていることが確認できる。これから、測定できた PD 出力電圧は血糖値に追従した時間変化を起こしていることを確認した。これより1波長でも血糖値のピークや元に戻るまでの時間等、相対的な変化がある程度測定できることを確認した。

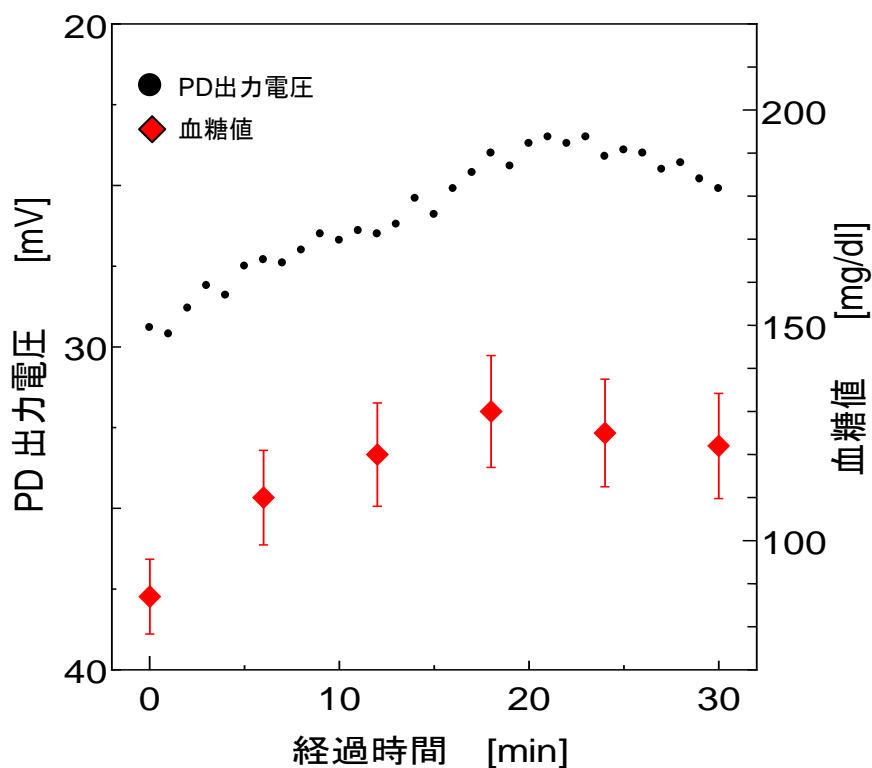


Fig.13 血糖値計との比較(1550nm)

1480nmLD でも同様に採血型血糖値計との比較を行った。1550nmLD のときと同様に、それぞれの値の変化が見られるよう、縦軸は適宜、調整している。採血型による血糖値ではショ糖の水溶液を摂取後、25分で血糖値のピーク値を取っているが PD 出力電圧の変化ではそのような変化が起きていないことを確認できる。また、血糖値を大きく変化させても PD 出力電圧にあまり変化が見られず常にほぼ一定の数値となった。変化の起きない原因として 1480nm 帯では表皮と真皮での吸収が大きく散乱光に真皮からの成分が含まれないということが挙げられる¹²⁾。対処法として入射ファイバを太くしたり、分岐させて複数のファイバから出射させるなどして出力を上げることが考えられるが、当研究室¹¹⁾では以前皮膚に影響がない 10mWの出力で測定を試みたが、十分な変化を見られなかったため、この波長帯では血糖値による変化を確認するのは困難だと判断した。しかし、散乱光がグルコース濃度に依存して変化することが確認できなかったが、プローブを適宜、ずらすことでの散乱光強度の変化を確認できているためプローブのずれの影響を補償する参照光として使える可能性がある。

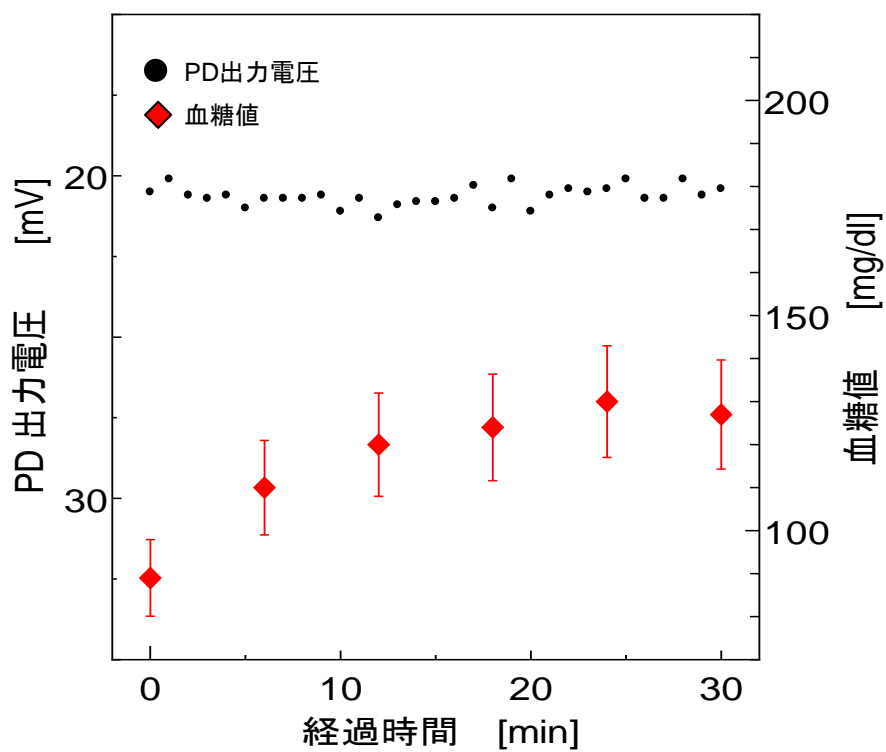


Fig.14 血糖値計との比較(1480nm)

ここで、得られた結果から PD 出力電圧と採血型血糖値計の較正を試みた。

ここでまず、透過光強度と散乱光強度は真皮を透過してきた光強度に依存するためランベルトベールの法則⁶⁾から

$$I = I_0 e^{-\alpha l} \quad (7)$$

I_0 は入射光度であり、 I は透過光強度、 α は吸収係数であり、 l はサンプル長である。

ここでサンプル長 l は一定とみなし、吸収係数 α は血糖値に依存するので

$$-\alpha l = tBS \quad (8)$$

と置き換える。ここで BS は血糖値である。これから

$$I = I_0 e^{tBS} \quad (9)$$

$$I/I_0 = e^{tBS} \quad (10)$$

ここで

$$I/I_0 = k'V \quad (11)$$

とおく、 V [mV] は測定された PD 出力電圧である。

$$\log(k'V) = tBS \quad (12)$$

となり

$$BS = 1/t \cdot \log(V) + 1/t \cdot \log(k'V) \quad (13)$$

ここで Fig.13 に示した結果から

$$1/t = -195 \quad 1/t \cdot \log(k') = 746 \quad (14)$$

となり、 BS と V の関係式を

$$BS[\text{mg/dl}] = -1.95 \times 10^2 \cdot \log(V) + 7.46 \times 10^2 \quad (15)$$

とした。

この較正式を用いることで別の被験者の測定値 (Fig.15) から血糖値を算出した。
算出した血糖値と採血型血糖値計の比較したものを Fig.16 に示す。

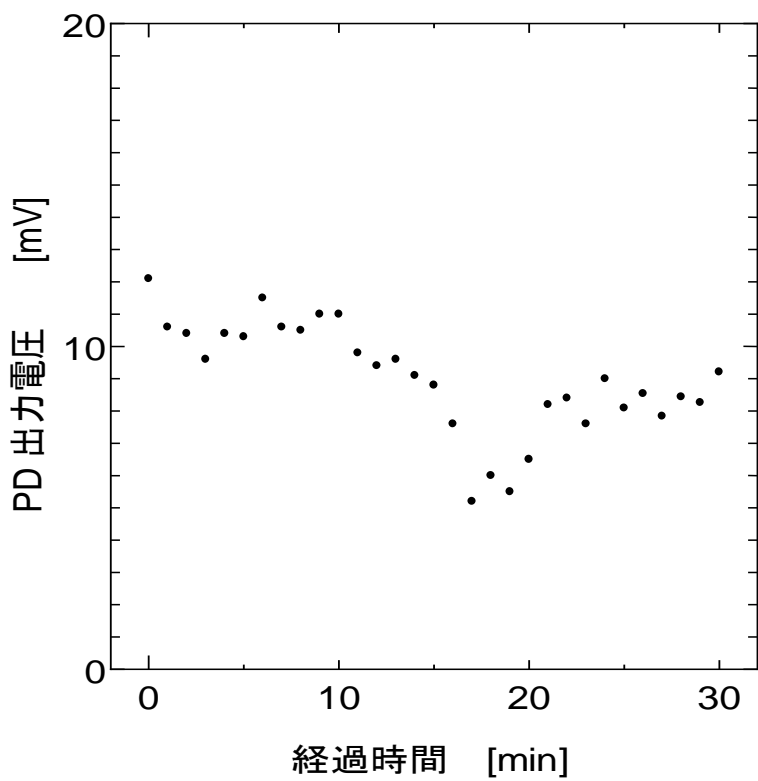


Fig.15 散乱光強度の時間変化 2(1550nm)

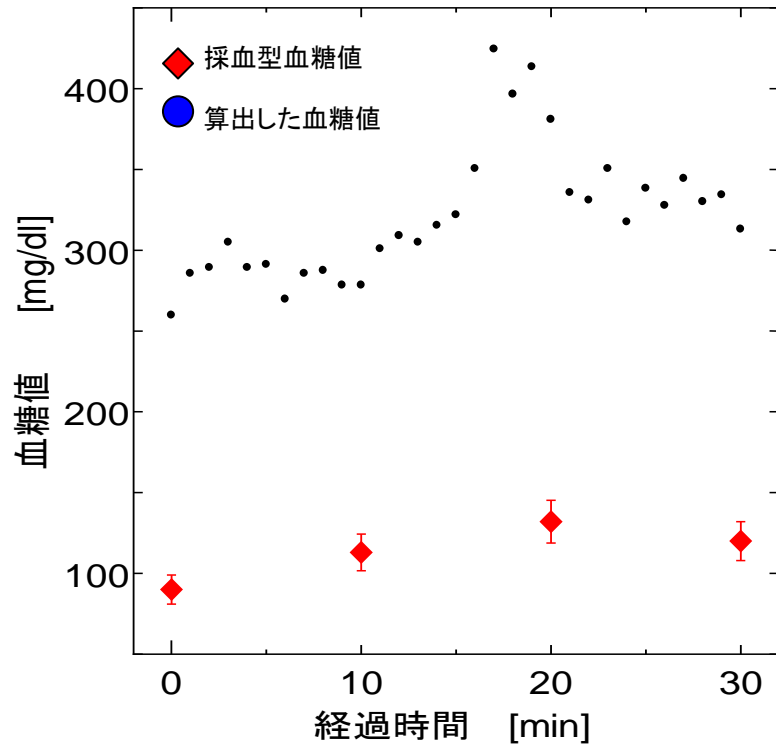


Fig.16 採血型での血糖値と算出した血糖値の比較

算出した血糖値は採血型血糖値計に比べ大きな値が出ていることが確認できる。これから(15)式で求めた較正式は被験者が異なると適用が困難であった。これは真皮からの散乱光が個人によって異なるためと考えられ、他の較正法が必要であると考えられる。

以上の結果から 1550nmLD ならば血糖値の時間変化が見られることを確認できた。しかし、PD 出力電圧から血糖値を求めようとしたが、できなかった。また測定対象である前腕部を動かすことで、PD 出力電圧が変化してしまうといった問題点も見受けられ、長時間での測定が困難であった。一例として 1550nmLD でのグルコース濃度測定中におきた、ずれによる影響が考えられる結果を Fig.17 に示す。測定開始から PD 出力電圧が徐々に下がっていくのに対し、15 分経過したところから PD 出力電圧が大きく変化している。これは、測定中は座っていたため、少し体を動かしたときに起きた現象であり、この行動により固定していたプローブがずれたためだと考えられる。

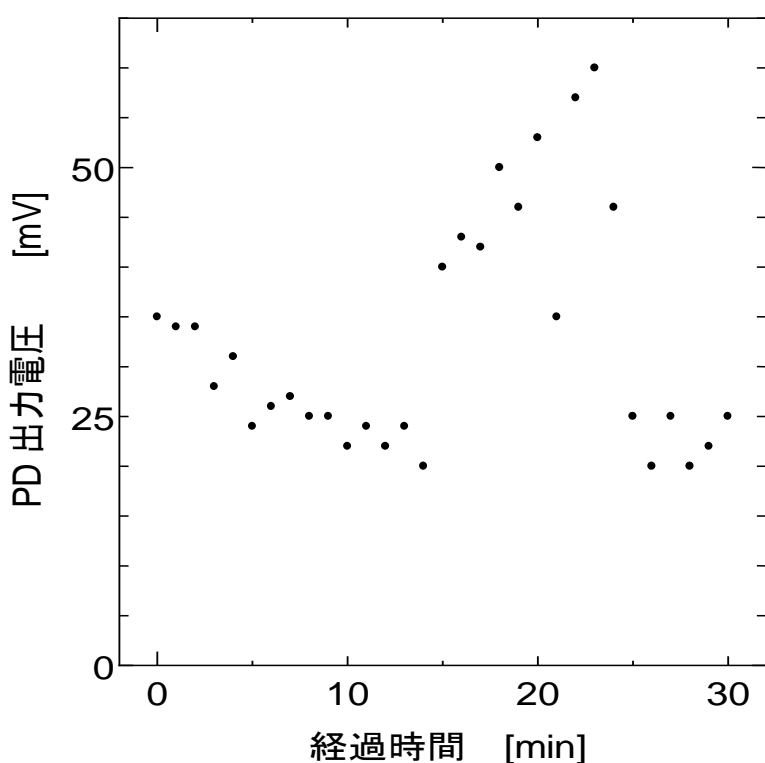


Fig.17 散乱光強度の時間変化(ずれた場合)(1550nm)

3.4 二光源を用いたファイバプローブによる実験

一光源では PD 出力電圧から血糖値を求めることができなかつたため、もし 1480nmLD と 1550nmLD の PD 出力電圧の比が個人差やプローブでの当て方に依存しないと仮定するならば、測定場所や測定対象によっても値が変化してくる一光源での測定より正確な血糖値を算出する較正ができると考え実験をおこなった。二光源での測定は一光源での問題点の一つであった、プローブによるずれの影響にも有効であると考えられる。一光源での結果より、ここでは、生体では血糖値に追従した変動を起こさないがプローブのずれによる散乱光の変化を確認できる 1480nmLD を参照光として用い、血糖値のピーク値に到達する時間を確認できる可能性のある 1550nmLD を同時に入射することにより、PD 出力電圧の比をとることで測定を行う。

3.4.1 実験系と評価

二光源を用いたグルコース濃度測定実験系を Fig.18 に示す。二つの近赤外 LD にフランクシヨンジネレーターを二つ用いることで、1480nm は 210Hz、1550nm は 230Hz の変調をかけた光を WDM カプラに通し、その後ファイバに入射させ生体に当て、その後方散乱光をもう一方のファイバで受光し、ロックインアンプでの検出周波数を変えることにより、それぞれの PD 出力電圧を測定する構造となっている。ここでは、WDM カプラに入射することにより LD の出力が 1480nm で 50%程度下がり 1550nm では対物レンズを用いて入射しているため 10%程度になってしまったため、十分な変化が測定できるようアンプで出力を増幅し測定している。検出周波数を交換することでロックインアンプからの出力が変動するため、検出周波数を変えてから 30 秒、時間をおき測定した。なおディテクタ、アンプ、ロックインアンプ、ファイバ、プローブに関しては一光源の時と同様のものを使用している。ここでは 1480nmLD では 30mA、1550nmLD では 20mA の電流に加えて変調電流を 1480nmLD では 30mA、1550nmLD では 50mA のパルスを重ねている。ファイバへの入射には対物レンズを用いているため、LD の出力は 50%程度となっている。

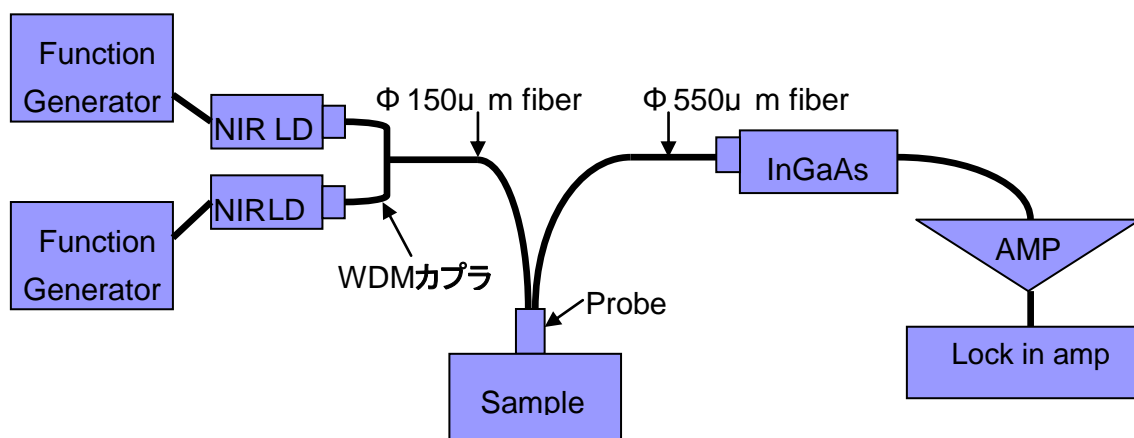


Fig.18 二光源でのグルコース濃度測定系

作成した測定装置で一光源のときと同様な散乱光強度の変動が確認できるか、評価を行った。測定方法は一光源のときと同様である。採血型血糖値計との比較も行い、血糖値の上昇に対してPD出力電圧が減少していくのでPD出力電圧の軸を反転した。仕様によると採血型血糖値計の精度は±10%であるのでこれをエラーバーにより表示している。 Fig.19、Fig.20 に 1550nmLD と 1480nmLD の測定結果を、それぞれ示す。PD出力電圧と採血型血糖値計との値を比較するに当たって、それぞれの縦軸は変化が確認できるように適宜に調整した。一光源のときと同様に、ばらつきは存在するが 1550nmLD では採血型血糖値計との比較から血糖値のピーク値を取る時間変化をPD出力電圧の時間変化から確認できた。1480nmLD では採血型血糖値計で測定できる血糖値のピーク値とPD出力電圧の時間変化の相関関係は見受けられない結果となった。どちらも一光源のときと同様の傾向が得られた。

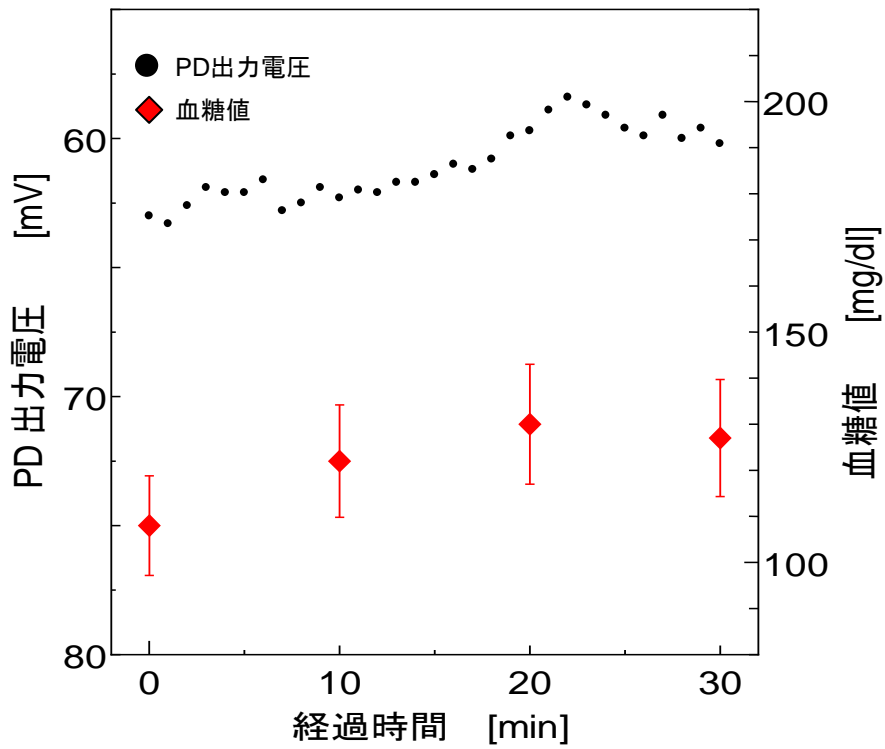


Fig.19 グルコース濃度測定結果(二光源実験系 1550nm)

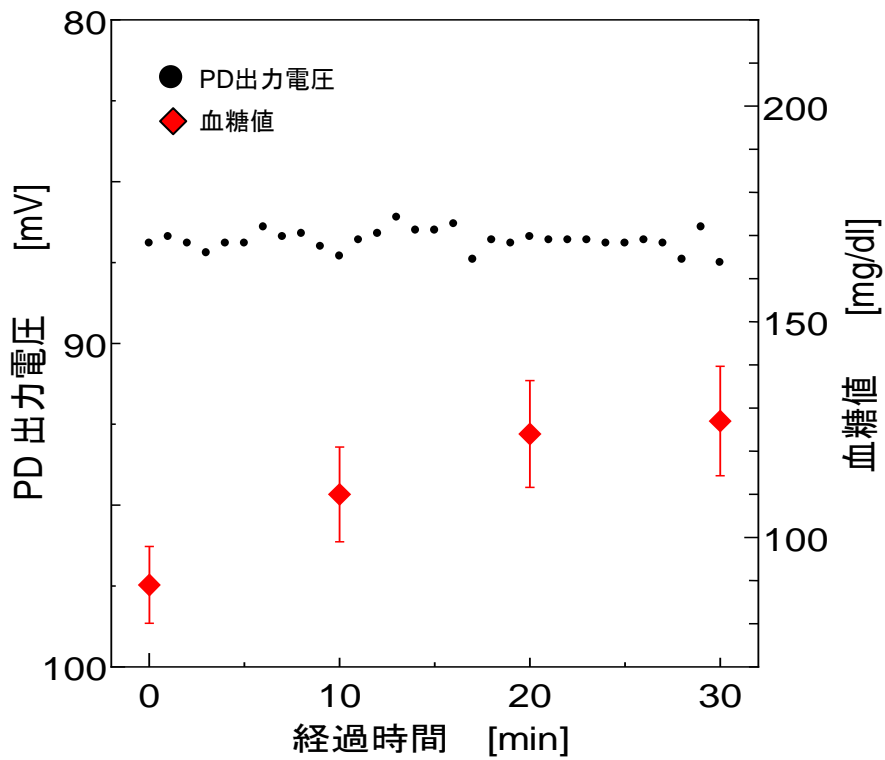


Fig.20 グルコース濃度測定結果(二光源実験系 1480nm)

次に測定中に故意にプローブをずらし、PD 出力電圧を変化させ 1480nmLD が参照光として使用できるかを確認するため、230Hz の変調をかけた 1550nmLD と 210Hz の変調をかけた 1480nmLD を同時に光らせロックインアンプで検出周波数を変えることによりそれぞれの PD 出力電圧をとり、その比の変動を調べた。ここでは検出周波数を変えてから30秒待ち、PD 出力電圧が安定した所を測定している。この測定では測定前にシヨ糖の水溶液を摂取することはせず、かつ測定前 3 時間は食事を摂っていないため血糖値の大きな変動はないものと考えられる。Fig.21 に 1550nmLD での変化を、Fig.22 に 1480nmLD での変動をそれぞれ示す。LD 単体では測定の結果、開始直後からPD 出力電圧に大きな変化の様子が見られるが、1550nmLD と 1480nmLD 共に同様な変化をする結果が得られた。

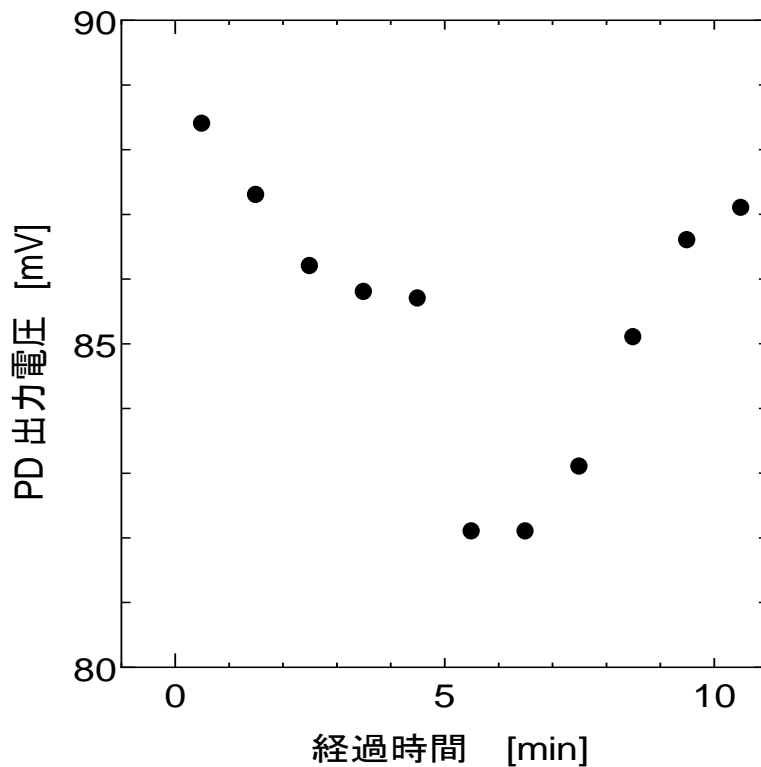


Fig.21 散乱光強度のずれによる影響(1550nm)

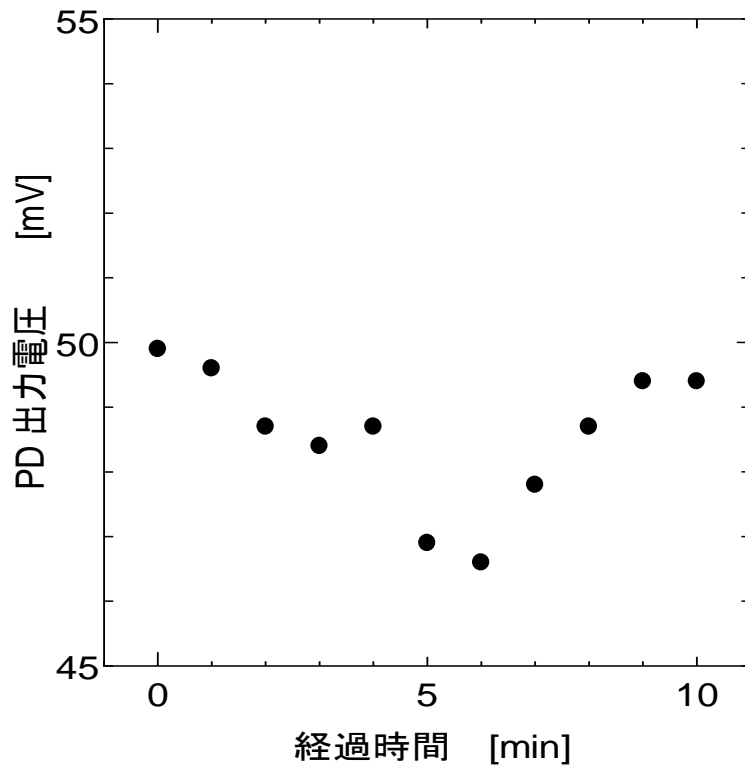


Fig.22 散乱光強度のずれによる影響(1480nm)

ここで1550nmLDと1480nmLDとの散乱光強度の比をとったグラフをFig.23に示す。LD 単体ではPD 出力電圧に大きな変化が現れる結果となったが比をとることで、そのPD 出力電圧の大きな変化が消えていることが確認できる。この結果からプローブのずれによる散乱光強度の変化は1480nmLD、1550nmLD共に同じ割合で影響することが確認でき、1480nmを参照光に用いることの有効性を確認した。

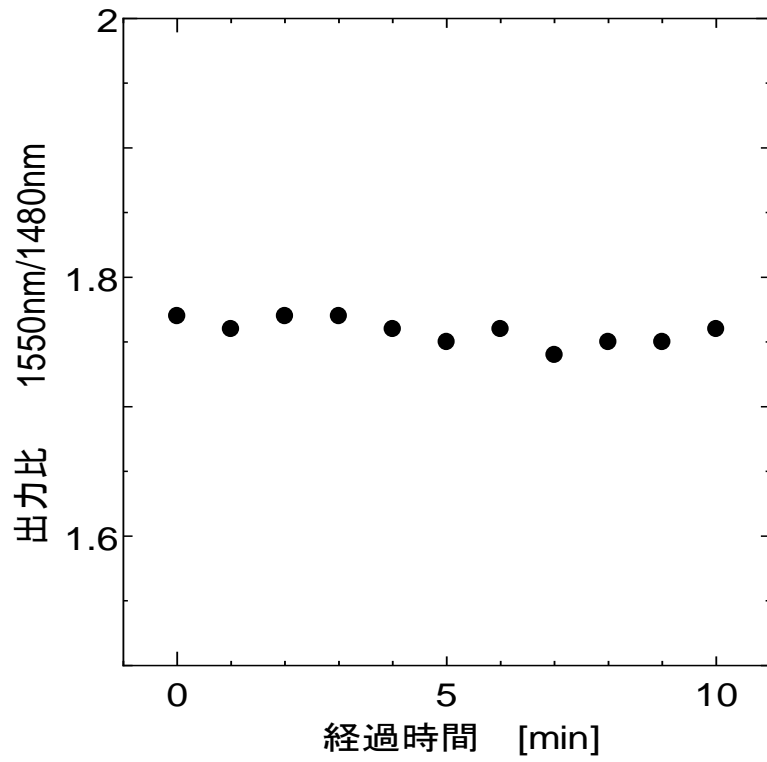


Fig.23 散乱光強度比(1550nm/1480nm)

比をとることでプローブのずれによる影響を低減できることがわかったので、二波長を同時に用いることで測定の精度の向上を図った。測定中にわざと動くことでプローブでのずれに対する測定結果を示す。Fig.24 に 1550nmLD、Fi.g.25 に 1480nmLD を示す。プローブからの出射出力は 1550nmLD が 0.2mW であり変調は 230Hz、1480nm が 2.4mW で変調は 210Hz である。ロックインアンプでの検出周波数を変えているため、検出周波数を変えてから 30 秒おいて測定をしている。なお、シヨ糖の水溶液を摂取と同時に測定を開始した。血糖値計との比較も行っているので、PD 出力電圧の軸は反転した。採血型血糖値計との比較に当たって、縦軸はそれぞれの変化が確認できるように適宜あわせてある。1550nmLD、では血糖値の上昇に対して PD 出力電圧は下がってくるはずだが、上昇しているため血糖値の動きとは逆になっていることが確認できる。1480nmLD でも 1550nmLD と同様に PD 出力電圧が上がり続ける状態となりプローブでのずれによる影響を受けていることが確認できる。

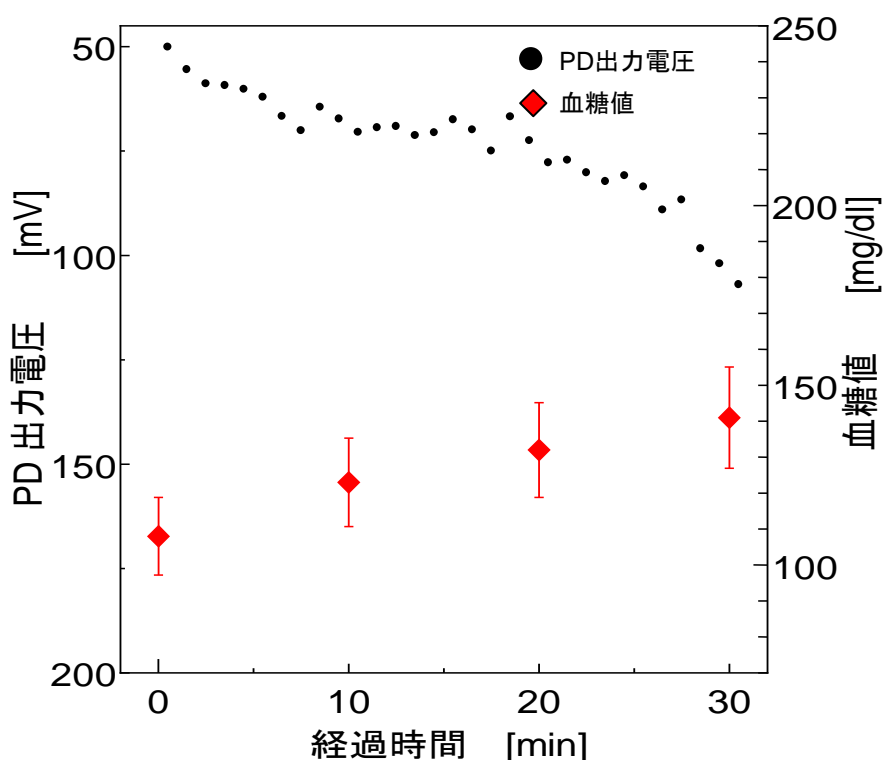


Fig.24 血糖値計との比較(1550nm)

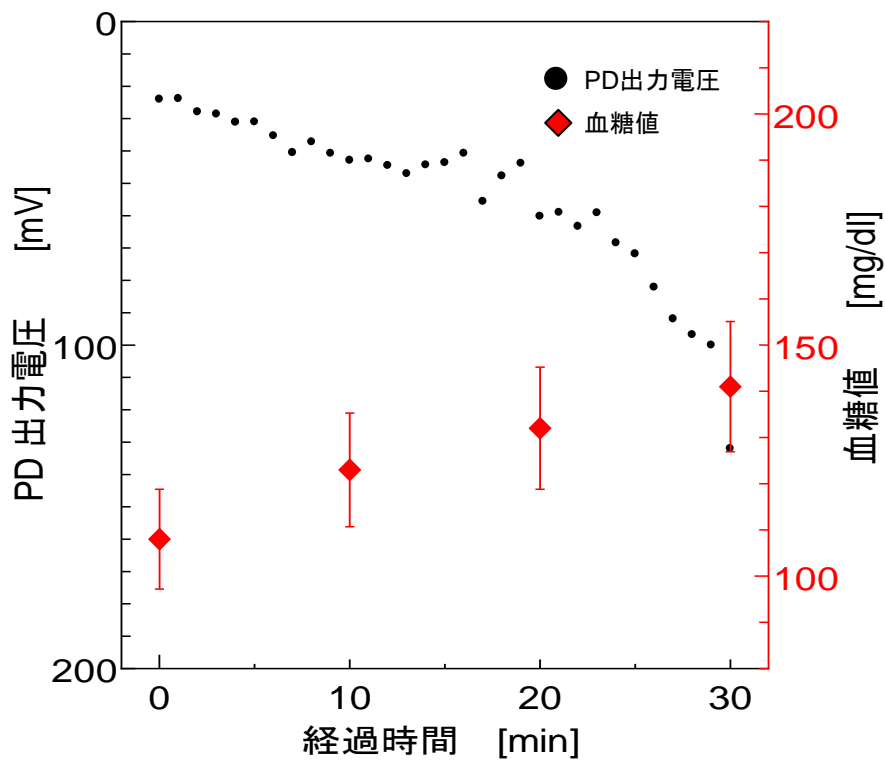


Fig.25 血糖値計との比較(1480nm)

次に 1480nm との PD 出力電圧の比 R をとったものと採血型血糖値計で得られた血糖値との比較をしたものを Fig.26 に示す。ここで、比較している PD 出力電圧の比は反転した。採血型血糖値計の精度は $\pm 10\%$ であるのでエラーバーにより表示している。比をとった値は測定開始から下がり続けているため、それぞれの LD 単体で測定したものより血糖値の相対的な時間変化が見られるため、1480nmLD は参照光として用いることができることを確認した。

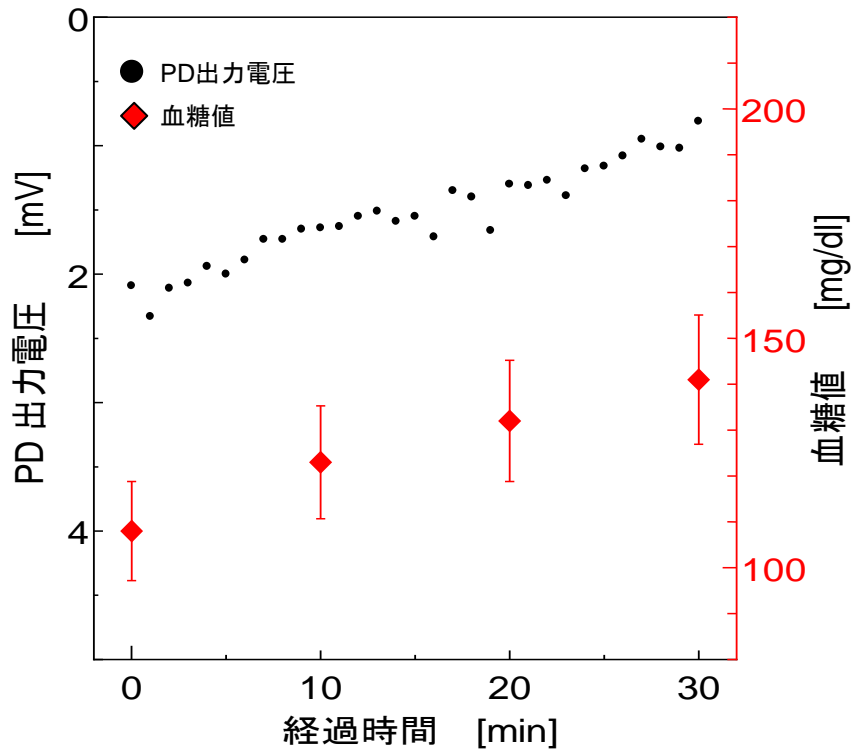


Fig.26 散乱光強度の比(1550nm/1480nm)

ここで、一光源でのときと同様に、Fig. 26 の比の値から血糖値を算出する式を求めた。式(16)がその式である

$$BS[\text{mg/dl}] = -0.42 \times 10^2 \log(R) + 1.39 \times 10^2 \quad (16)$$

ここで求めた式を用い、別の測定で得られた比の値を式(16)に代入し血糖値を算出した。別の測定で得られた比を Fig.27 に示す。また採血型血糖値計により得られている値と算出して求めた値を比較したものが Fig.28 である。

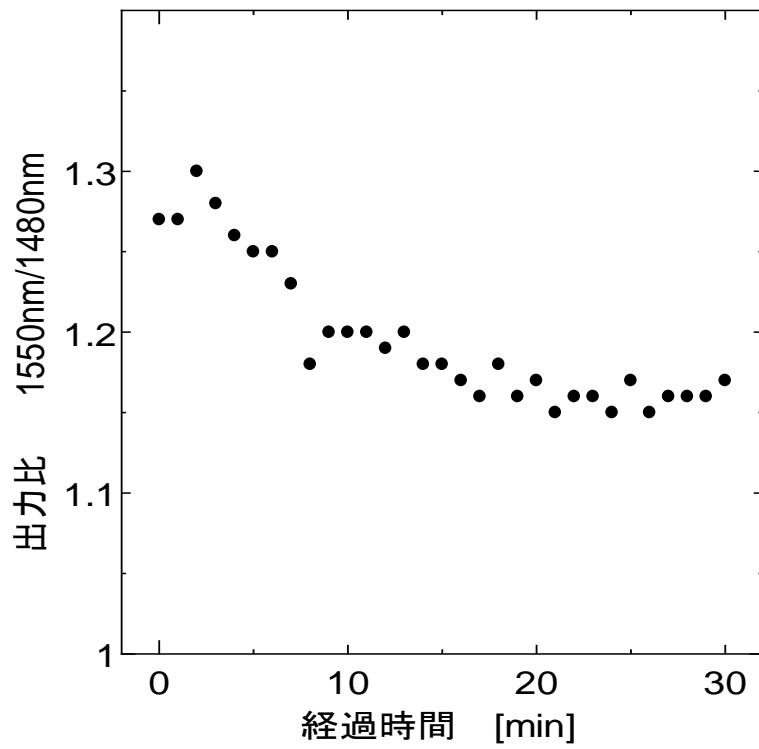


Fig.27 別の測定で得られた出力比

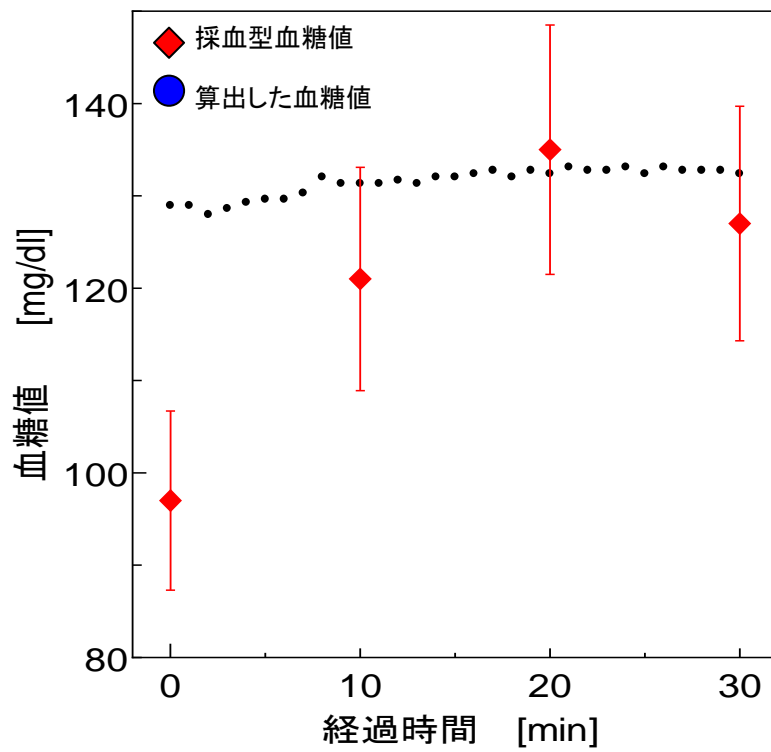


Fig.28 採血型での血糖値と算出した血糖値の比較

Fig.28 より、求めた較正式(16)を用いて血糖値を算出したが採血型のものと比較すると血糖値の変動が小さく、算出した値では測定時間中に最大で 5mg/dl の変化しか起こさず、較正式は適用できなかった。原因として一光源でのときと同様に人によって比の値や、その変化量に違いが出てくることが考えられ、二光源での出力の比から血糖値を較正することできなかった。

第4章 考察

4.1 血糖値の時間変化

本研究で、散乱光強度の時間的な変化より、血糖値の相対的な変化を見ることができた。Fig.29 に一般的な血糖値の時間変化を示す。Fig.29 より食事をした後の正常人、異常がある人、その予備軍と呼ばれる人の血糖値の時間変化を見ることができる。また食後2時間で空腹時の血糖値に戻るかということが人間ドッグなどの検査でも重要視されているため、今回得られた結果は血糖値の変動に関してはある程度計測することができるので、血糖値のピークの時間や、食後2時間での相対値の測定には有効性があると考えられる。

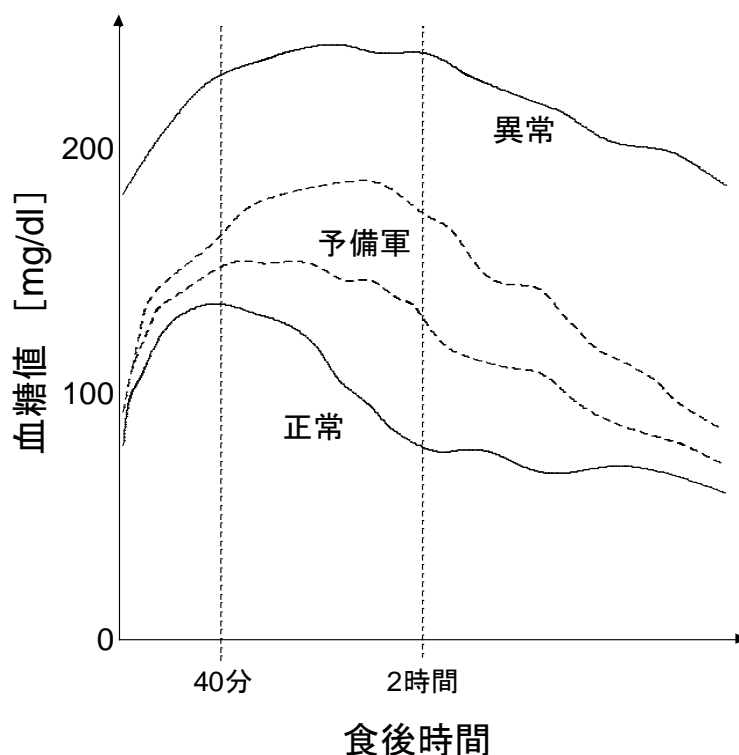


Fig.29 食後の時間と血糖値の変化

4.2 プローブの固定法

本研究で、プローブは生体と接する重要な場所であり、皮膚に垂直にファイバが当たるように固定し測定を行ったが、二光源での実験系よりプローブによる多少のずれに対する散乱光強度の変動に対しては強くなったものの、ずれ防止のため強く固定すると散乱光の変化が見られなくなるなど、安定した測定が困難になり、血糖値の変化の測定が難しくなる。プローブの固定器具と皮膚の間に弱粘性のゴムを挟み、ずれを防止するようにするなどの工夫によりある程度は安定するが、長時間での測定は今のプローブの固定法では難しい。散乱光強度の変動で見られる血糖値の相対的な変動測定では2時間以上の測定が必要となり、長時間安定して散乱光の変化を読み取れるような固定法、あるいはプローブ部の形状が求められる。

4.3 生体での測定エラー

本研究では、複数の波長で数回の測定をし再現性を確認した。生体においては同量のグルコースを摂取しても血糖値の変動が違ふなど、全く同じ条件での測定はできなかったが、1480nm LD では血糖値に追従する変動がなかったり、1550nm LD では血糖値に追従する変動がみられたなど、同様の傾向は得られている。測定の際には5分程度プローブを固定したまま、散乱光強度が安定していることを確認してから測定を行っているが、その時にグルコースを摂取していないのに散乱光強度が徐々に下がっていくという現象が起きることがあった。このような変化はプローブを固定する際に、強く固定しすぎると起き、その後の測定部位を見ると赤く鬱血した状態になっている。この現象はプローブを押し当てることで、血流が滞ったり、皮膚が押しつぶされることにより表皮、真皮の厚さが変わり、皮下組織での吸収の影響が大きくなるため起きると考えられる¹²⁾。測定ではこういったことが起こっていないことを確認してから測定を行っているが、影響が全くないとは言えないため、実験後の測定部位が鬱血しているか注意しながら測定を行う必要がある。また、このような状況を回避するためプローブの固定を甘くすることにより、測定中にプローブがずれ防止のための弱粘性のゴムにあたり散乱光強度の変化が見られなかったりといったこともあった。このようなことがないように細心の注意を払ってはいるが完全に取り除くことはまだ難しい現状である。

第 5 章 総括

5.1 まとめ

近赤外 LD を用いた測定法により、散乱光強度が血糖値に依存して減少していくことを確認できた。また、本研究で、生体での測定により、1550nmLD では、血糖値の時間変化が相対的に見られ、測定の有効性を確認できた。1480nmLD では散乱光強度による、血糖値の時間変化が見られず散乱光強度はほぼ一定の値を示し、吸収の大きい波長帯では生体の散乱光強度の変化を見るには適さないことを確認した。

また測定された PD 出力電圧、また二光源における出力比から血糖値を算出する較正式を求めたが、別の被験者や別の測定値を用いると血糖値を導き出せなかった。また二光源での測定系から血糖値の変化に依存せず、ほぼ一定の値を示す 1480nmLD を参照光として用いることで、プローブでのずれに強い測定系を作製できた。

5. 2 今後の課題

本研究で、1550nm と 1480nm の LD を用いることで、散乱光強度による相対的な血糖値の変動を確認するができたが、他にもグルコースの変化を精度よく見ることができると考えられる波長が存在する可能性があるため、その波長を特定する必要がある。また、グルコース以外の吸収成分を除くために、グルコースの吸収成分が大きい波長帯から2波長、さらにグルコースも含めた吸収による影響が少ない波長を用意するなどして、さらによくグルコースの散乱光強度の変化を確認できるようにするべきである。

今回の二光源での測定系により、プローブのずれによる影響の改善はできたが、プローブの固定する力などでも PD 出力電圧が変化してくるため、固定法の改善も課題となる。

謝辞

本研究を行うにあたり、あらゆる面でご指導、ご鞭撻を賜りました高橋佳孝准教授に深く感謝の意を表すとともに、厚く御礼申し上げます。そして、数々のご協力をいただいた同研究室の皆様、ならびに本研究に関わったすべての方々に深く感謝いたします。

本論文の作成に当たり、お忙しい中審査してくださった高田和正教授、花泉修教授に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 田村 守, “無侵襲血糖値測定法の現状と課題” 光学, vol.33, No.7, (2004) 380-386
- 2) Kay C Dee et al., “An introduction to tissue-biomaterial interactions,” Hoboken, (2002) 26-31
- 3) Bohren A et al., “Absorption and Scattering of Light by Small Particles,” Wiley, (1998) 83-129
- 4) Tuan Vo-Dinh et al., “Biomedical Photonics handbook,” CRC Press, (2003) 2-1 - 2-36, 38-9 - 38-10
- 5) Tamara L. Troy et al., “Optical Properties of human skin in the near infrared wave length range of 400-1100nm,” *Journal of Biomedical Optics*, **6(2)**, (2001) 167-176
- 6) 泉 美治ら, 機器分析のてびき(1), 化学同人, (1996) 115-124
- 7) Bruulsema, J.T. et al., “Correlation between blood glucose concentration in diabetics and noninvasively measured tissue optical scattering coefficient,” *Optics Letters*, **22(3)**, (1997) 190-192
- 8) Lihong Wang, Ph. D. et al., “MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues,” *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, **47(2)**, (1995) 131-146
- 9) 日本糖尿病学会編, 糖尿病の臨床, 講談社, (1986) 55-70
- 10) 日本糖尿病学会編, 糖尿病治療ガイド, 文光堂, (2003)
- 11) “近赤外光を用いた血中グルコース濃度変化測定” 川島洋介 (2007)
群馬大学大学院工学研究科 ナノ材料システム工学専攻 修士論文

12) “可視光及び近赤外光の皮膚における光伝播“

電気通信大学 知能機械工学科 山田研究室 飯野健二

<http://www.ymdlabs.mce.uec.ac.jp/thesis/2003iino.pdf#search=>