

## 近赤外時間分解分光法による脳深部 ヘモグロビン濃度定量計測の試み

鈴木 裕昭 小田 元樹 矢巻 悦子 鈴木 俊彦  
山下 大輔 佳元 健治 山下 豊

**要 旨：**われわれは、生体組織内部のヘモグロビン動態を定量的に計測できる3波長時間分解分光システム(TRS-20)を開発してきた。そこで、光入射-検出間距離を長くして、より深部の生体内部情報を計測するためにパルス光源の高出力化と検出用ファイバの高収集率化をおこない、高感度化した3波長時間分解分光システムの開発をおこなった。さらに、成人男女ボランティア10名に対して、開発したシステムで右耳内部に近赤外パルス光を入射し左耳内部にて透過してきた光の時間応答関数を検出する脳深部計測を試みた。その結果、9名に対して時間応答関数を測定でき、光拡散理論を適用することにより脳深部ヘモグロビン濃度、組織酸素飽和度を算出し、脳深部計測の可能性を見出した。

(J Jpn Coll Angiol, 2011, 51: 247-253)

**Key words:** near-infrared spectroscopy, time-resolved spectroscopy, hemodynamics, oxygen saturation

### 序 言

近赤外時間分解分光法(near-infrared time-resolved spectroscopy)は、生体組織のような光散乱媒質内部の吸光物質濃度を定量計測する有効な手法として提案されている<sup>1-4)</sup>。われわれはこの手法を応用するために、時間相関単一光子計数法(Time-Correlated Single Photon Counting Method)に基づく3波長時間分解分光システムを開発してきた<sup>5-7)</sup>。3波長時間分解分光システムは、生体組織内部のヘモグロビン動態を定量的に計測することを可能とし、術中の脳酸素代謝モニター<sup>8,9)</sup>、NICU(Neonatal Intensive Care Unit)における新生児頭部の組織酸素飽和度や脳組織血液量測定<sup>10)</sup>、脳卒中患者に対する吸収色素を利用した脳血流測定<sup>11)</sup>のようにさまざまな分野での応用研究がおこなわれてきた。しかしながら、報告されている研究のほとんどは検出光量の制約により、計測部位の深部方向が生体表面から数cmを対象としている。

一方、生体深部には生命を維持するために重要な役割を担う臓器が多く存在し、生体深部を計測することは非常に重要であると考えられる。そこで、今回われわれは

生体深部計測を目的として、高感度化した3波長時間分解分光システムを開発をおこない、成人男女10名に対して脳深部計測実験を試みたので、その計測結果について報告する。

### 対象と方法

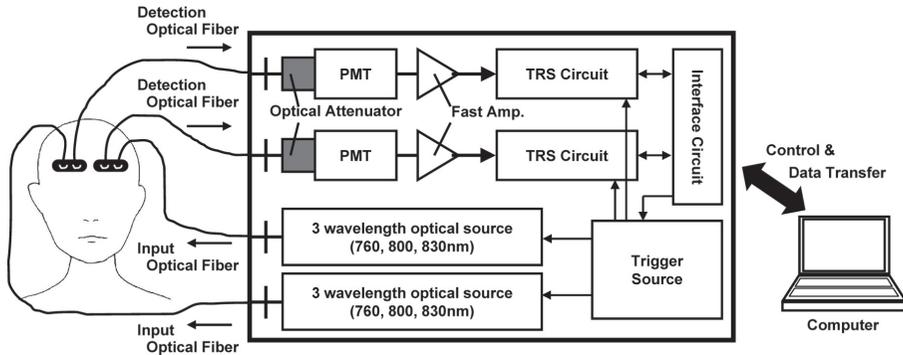
#### 1. 3波長時間分解分光システム

はじめに、現在までに開発した3波長時間分解分光システム(TRS-20, 浜松ホトニクス(株))<sup>12)</sup>の紹介をする。**Fig. 1**に TRS-20のシステム構成図を示す。TRS-20は、独立した2チャンネルの同時計測が可能な3波長時間分解分光システムである。光源部には、3波長(760 nm, 800 nm, 830 nm)の半導体パルス光源を有しており、半値全幅(full width at half maximum; FWHM)100 ps以下のパルス光を5 MHzの繰り返しにて発生させ、平均出力は約200 μWとなる。入射用光ファイバにて生体組織に照射し、生体内部を拡散反射してきたパルス光は検出用バンドルファイバ(有効径: φ3 mm, 開口数: NA=0.26)にて光減衰器を経由して光検出部に導かれる。光検出部

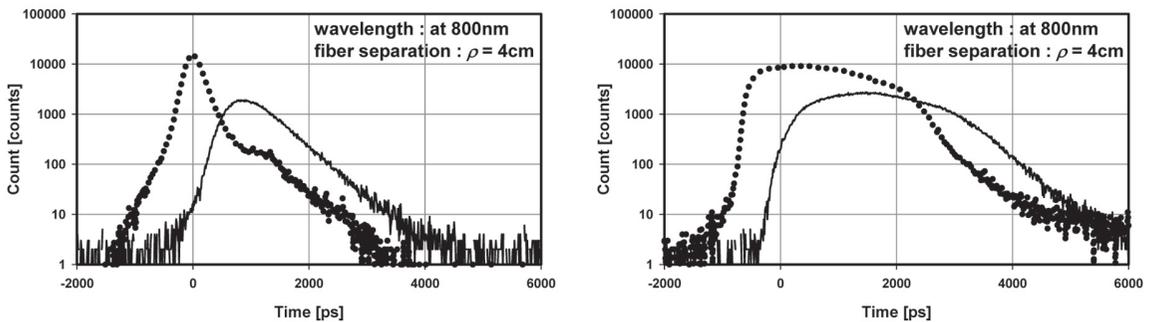
2010年8月31日受付

2011年6月2日受理

浜松ホトニクス株式会社中央研究所



**Figure 1** Block diagram of three-wavelength time-resolved spectroscopy system. (TRS-20: Hamamatsu Photonics K.K.)



**Figure 2** Incident pulse profile (dotted line) and observed temporal profile (forehead,  $\rho=4$  cm) measured using TRS-20 (A) and highly sensitive TRS system (B).

A | B

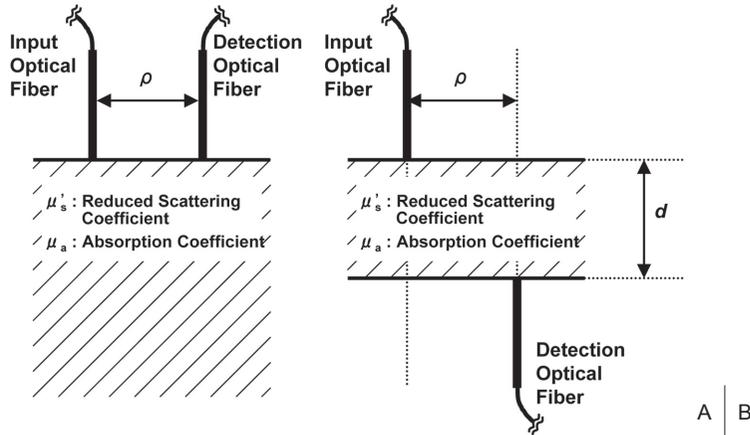
は、GaAs 光電面を持つ光電子増倍管 (photomultiplier tube; PMT) を採用し、高感度計測を可能にしている。時間分解計測部には、高い時間分解能と高感度を両立できる時間相関単一光子計数法を採用し、CFD、TAC、A/D コンバータ、ヒストグラムメモリ等から構成されている。

今回われわれは、より深部の生体内部情報を計測するため、半導体パルス光源の駆動能力を強化し、平均出力を約  $200 \mu\text{W}$  から約  $3 \text{ mW}$  に上昇させた (約 15 倍)。ただし、このときの半導体パルス光源の FWHM は約  $2\sim 3 \text{ ns}$  である (TRS-20 は約  $100 \text{ ps}$  以下)。さらに、収集効率を高めた検出用バンドルファイバ (有効径:  $\phi 3 \text{ mm}$ , 開口数:  $\text{NA}=0.56$ ) を利用することにより、検出効率を約 5 倍に増加させた。その結果、システム全体としては約 75 倍に高感度化した TRS システムを開発することに成功した。

**Fig. 2** に TRS-20 と高感度化した TRS システムにてヒト前額部を実際に計測したときの時間応答関数を示す。ここで、横軸は時間、縦軸は光強度を示している。また、

点線はシステムの装置関数 (instrument function) であり、実線はヒト前額部 (光入射-検出間距離 =  $4 \text{ cm}$ ) の時間応答関数を示している。また、高感度化した TRS システムでの装置関数取得時に収集効率を高めた検出用バンドルファイバを使用しているため、測定誤差が大きくなるような検出用ファイバ直前には拡散板を置いて測定をおこなった。拡散板を検出用ファイバ直前に置くことにより、生体計測時と同様の測定条件となる。そのため、高 NA ファイバの特性を含んだ装置関数波形の取得が可能となり、高 NA ファイバを使用したことによる測定誤差への影響は小さくなることが報告されている<sup>13)</sup>。実際に取得した装置関数の FWHM を比較すると、TRS-20 では  $300 \text{ ps}$  程度であるのに対し、高感度化した TRS システムでは約  $3 \text{ ns}$  と広がっている。

**2. 生体組織内ヘモグロビン濃度、組織酸素飽和度の算出**  
ヒト前額部計測実験では、**Fig. 3A** のような反射型計測をおこなう。得られた反射光の時間応答関数  $R(\rho, t)$  に



**Figure 3** (A) Geometry of the reflectance measurement for a semi-infinite homogeneous medium with reduced scattering coefficient  $\mu_s'$  and absorption coefficient  $\mu_a$ . (B) Geometry of the transmittance measurement for an infinite homogeneous slab with reduced scattering coefficient  $\mu_s'$  and absorption coefficient  $\mu_a$ .

対して、一様な吸収係数  $\mu_a$ 、等方換算散乱係数  $\mu_s'$  を持つ半無限媒質の幾何学的配置での光拡散理論を適用することによって、生体組織の吸収係数と等方換算散乱係数を算出することができる<sup>3,12)</sup>。

また、ヒト脳深部計測実験には、**Fig. 3B** のような透過型計測をおこなう。一様な吸収係数  $\mu_a$ 、等方換算散乱係数  $\mu_s'$  を持つ無限スラブ型の幾何学的配置を考え、光散乱媒質と外部との境界で光子密度 (fluence rate) をゼロとする zero boundary condition の下で光拡散方程式を解くと、透過光の時間応答関数  $T(\rho, d, t)$  として式(1)が得られる<sup>3)</sup>。

$$\begin{aligned}
 T(\rho, d, t) = & (4\pi Dc)^{-3/2} t^{-5/2} \exp(-\mu_a ct) \exp\left(-\frac{\rho^2}{4Dct}\right) \\
 & \times \left\{ (d - z_0) \exp\left[-\frac{(d - z_0)^2}{4Dct}\right] - (d + z_0) \exp\left[-\frac{(d + z_0)^2}{4Dct}\right] \right. \\
 & \left. + (3d - z_0) \exp\left[-\frac{(3d - z_0)^2}{4Dct}\right] - (3d + z_0) \exp\left[-\frac{(3d + z_0)^2}{4Dct}\right] \right\} \\
 & \dots\dots\dots (1)
 \end{aligned}$$

$$D = (3\mu_s')^{-1}, \quad z_0 = (\mu_s')^{-1}$$

この場合、 $\rho$  は光軸間距離、 $d$  は無限スラブの厚さ、 $t$  は応答時間である。測定した時間応答関数に対して、式(1)に装置関数をコンボリューションした結果を最小二乗法

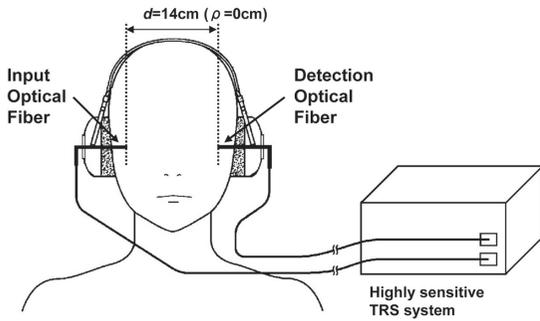
にてフィッティングすることにより、生体組織の吸収係数、等方換算散乱係数を算出することができる。さらに、得られた3つの波長での吸収係数から、波長  $\lambda$  における吸収係数  $\mu_a(\lambda)$  を

$$\begin{aligned}
 \mu_a(\lambda) = & \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) \cdot C_{HbO_2} + \varepsilon_{Hb}(\lambda) \cdot C_{Hb} + \mu_{a,background}(\lambda) \cdot \\
 & \dots\dots\dots (2)
 \end{aligned}$$

と表す。ここで、 $\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)$ 、 $\varepsilon_{Hb}(\lambda)$  は酸素化、脱酸素化ヘモグロビン分子の波長  $\lambda$  における分子吸収係数、 $C_{HbO_2}$ 、 $C_{Hb}$  は酸素化、脱酸素化ヘモグロビン濃度を示し、 $\mu_{a,background}(\lambda)$  はヘモグロビン以外の物質による光吸収を示す。3波長時間分解分光システムにて計測した3つの波長での吸収係数について式(2)の連立方程式を解くことにより酸素化、脱酸素化ヘモグロビン濃度、総ヘモグロビン濃度 ( $C_{HbO_2} + C_{Hb}$ )、さらに酸素代謝のパラメータである組織酸素飽和度 ( $SO_2 = C_{HbO_2} / (C_{HbO_2} + C_{Hb})$ ) が算出できる<sup>9,12)</sup>。このとき、 $\mu_{a,background}(\lambda)$  は生体組織内部の水(濃度60%)に起因すると仮定した<sup>14)</sup>。

### 3. ヒト前額部計測実験

浜松ホトニクス株式会社の研究開発倫理委員会承認のもと、22~35歳の成人男女ボランティア10名(男性8名、女性2名、平均年齢28.7±4.1歳)に対して、TRS-20と高感度化したTRSシステムにて安静時の左右前額部計測実験をおこなった。このとき、光入射-検出間距離



**Figure 4** Input and detection optical fiber position for measuring human deep brain using highly sensitive TRS system.

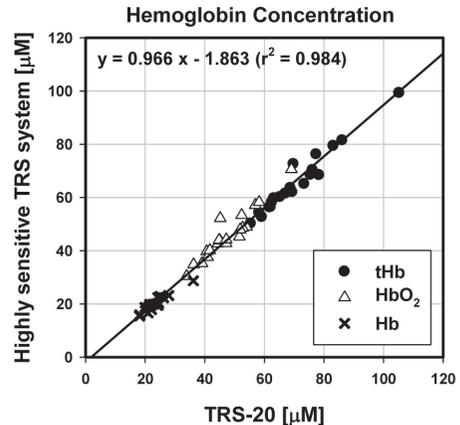
は  $\rho=4$  cm とした (Fig. 3A 参照)。各波長に対して得られた反射光の時間応答関数から吸収係数を算出し、さらに酸素化、脱酸素化ヘモグロビン濃度、組織酸素飽和度を求めた。

#### 4. ヒト脳深部計測実験

上記したボランティア 10 名に対して、高感度化した TRS システムにて脳深部計測実験をおこなった。Fig. 4 のように、イヤーマフに入射用ファイバ(右耳)と検出用ファイバ(左耳)を固定し、頭部に取り付けた。右耳穴に近赤外パルス光を入射し、脳深部を透過してきた光の時間応答関数を左耳穴に固定した検出用ファイバにて検出した。検出光量を最大とするため、TRS システムで検出光量をモニターしながらイヤーマフとファイバの位置調整をおこなった。ここで、式(1)の光入射-検出間距離はあるボランティア計測時の光ファイバ間距離の  $d=14$  cm を採用した。仮に、式(1)の  $d=14$  cm を  $d=15$  cm に変更して解析しても、算出される吸収係数の差は約 0.1~0.2% と非常に小さく、ヘモグロビン濃度の差も約 0.2% と小さい結果となる。そのため、すべてのボランティアに対する光入射-検出間距離は、 $\rho=0$  cm,  $d=14$  cm と仮定した。

## 結 果

成人男女ボランティア 10 名に対して、TRS-20 と高感度化した TRS システムで安静時の左右前額部計測をおこなった結果 (N=20: 左 10+ 右 10) を Fig. 5 に示す。Fig. 5 内の●は総ヘモグロビン濃度 (tHb), △は酸素化ヘモグロビン濃度 (HbO<sub>2</sub>), ×は脱酸素化ヘモグロビン濃度 (Hb) を示している。ただし、横軸が TRS-20 によって算



**Figure 5** Comparison of the hemoglobin concentration obtained using TRS-20 ( $\rho=4$  cm) and highly sensitive TRS system ( $\rho=4$  cm) on human forehead.

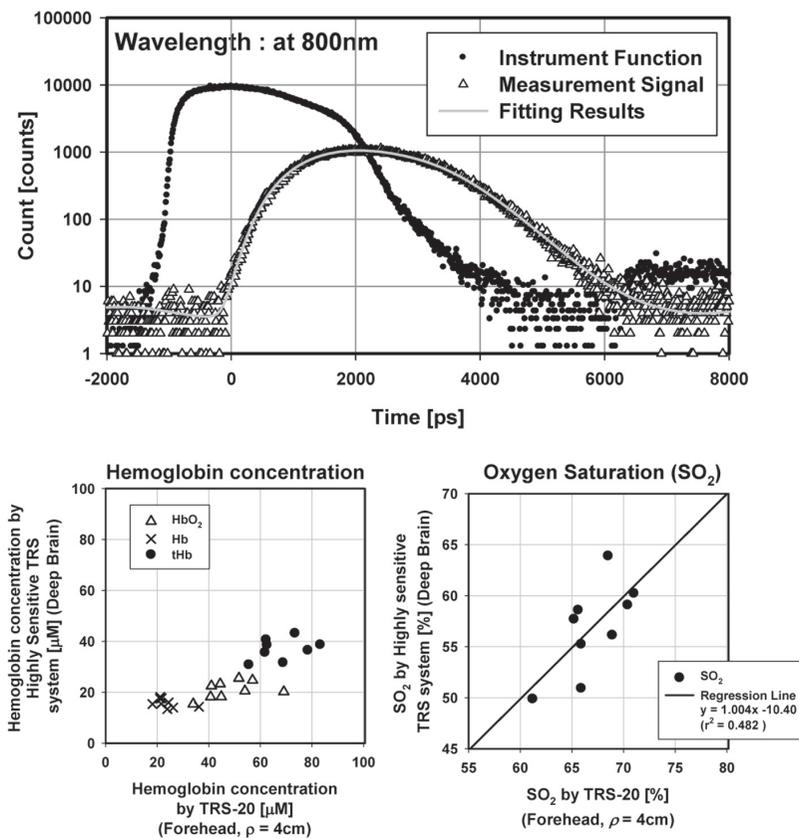
出された値、縦軸が高感度化した TRS システムによって算出された値である。これらの結果より、TRS-20 と高感度化した TRS システムによるヒト左右前額部計測において、算出されるヘモグロビン濃度 (tHb, HbO<sub>2</sub>, Hb) はほぼ同値となることが確認できた。

次に、高感度化した TRS システムを用いて脳深部計測をおこなったときに得られた結果を Table 1 に示す。10 名中 9 名に対して、耳から耳の透過型計測によって脳深部を透過してきた光の時間応答関数を検出することが可能であった。また、得られた時間応答関数に対して、式(1)に装置関数をコンボリューションした結果をフィッティングしたときの一例を Fig. 6A, TRS-20 によって計測されたヒト前額部の組織酸素飽和度と高感度化した TRS システムによる脳深部計測によって得られたヘモグロビン濃度の比較結果を Fig. 6B, 組織酸素飽和度 (SO<sub>2</sub>) の比較結果を Fig. 6C に示す。これらの結果より、高感度化した TRS システムを使用することによって、一方の耳穴に入射したパルス光の時間応答関数を他方の耳穴にて検出することが可能であることが判明した。さらに、総ヘモグロビン濃度に関しては前額部測定結果と脳深部計測結果に相関は認められず (相関係数:  $r=0.047$ )、脳深部計測結果は常に前額部測定結果より低く見積もられていた。また、組織酸素飽和度に関しては脳深部計測結果が約 10% 低く見積もられているものの、前額部の結果と相関を認めた ( $r=0.694$ )。

**Table 1** Results of hemoglobin concentration and oxygen saturation using highly sensitive TRS system in human deep brain for ten subjects (N=10)

No.	Sex	Age	HbO <sub>2</sub> [μM]	Hb [μM]	tHb [μM]	SO <sub>2</sub> [%]
No. 1	F	35	18.2	17.7	35.9	50.6
No. 2	M	25	20.6	15.8	36.4	56.7
No. 3	M	27	24.8	14.3	39.1	63.4
No. 4	M	25	22.8	14.9	37.7	60.5
No. 5	M	28	23.3	15.6	38.9	59.8
No. 6	M	30	18.7	13.6	32.3	58.0
No. 7	M	33	25.5	18.2	43.7	58.4
No. 8	F	31	15.2	15.5	30.7	49.5
No. 9	M	31	22.8	18.4	41.2	55.3
No. 10 *	M	22	—	—	—	—
Average		28.7	21.3	16.0	37.3	56.9
S. D.		4.0	3.4	1.7	4.1	4.5

\* It was impossible to measure a subject No. 10 because of the weak light intensity.



**Figure 6** (A) Instrument function and observed data using highly sensitive TRS system in human deep brain and the fitting result using Eq. (1). (B) Comparison of hemoglobin concentration results using TRS-20 (human forehead) and highly sensitive TRS system (human deep brain). (C) Comparison of oxygen saturation results using TRS-20 (human forehead) and highly sensitive TRS system (human deep brain).

## 考 察

高感度化した TRS システムを使用することにより、10 名中 9 名に対して、耳から耳の透過型計測によって脳深部の平均的な吸収係数、ヘモグロビン濃度、組織酸素飽和度を算出することができた。しかしながら、1 名に関しては十分な光量を検出することができず、長時間積算 (17~441[秒]) においても解析に耐えうる十分な S/N が得られなかった。入射用ファイバと検出用ファイバを耳穴に入れて固定するが、外耳道の形状が個人によって大きく異なり、検出光量が大きくばらついていた。このことが、1 名の被験者において十分な光量が得られなかった原因と考えられる。そのため、より効率的な光プローブの開発が必要だと考えられる。

脳深部計測時における入射用ファイバと検出用ファイバ間には、鼓膜、中耳、内耳、橋、延髄などのさまざまな組織が存在するため<sup>15)</sup>、反射型である前額部計測と比較すると透過型の脳深部計測では多くの組織を透過する。このため、前額部計測時よりも血液量が少ない組織の影響を受け、平均的なヘモグロビン量は低くなると考えられる。さらに、ポジトロン断層撮像法 (positron emission tomography; PET) でラット、猫、猿、健常人に対して、安静時における脳局所のグルコース代謝を部位間で比較した結果が報告されている<sup>16)</sup>。ここで、大脳皮質でのグルコース代謝は白質、橋、小脳よりも高く、部位間で大きな差があることが判明している。そのため、脳深部計測において算出された総ヘモグロビン濃度が前額部計測時よりも低く見積もられた理由としては、検出した光が血液量の少ない組織の影響を多く含んでいたり、脳局所での活動レベルの違いを反映したことによる影響と推測することができる。一方、組織酸素飽和度が約 10% 低い理由は、測定領域を均一と仮定したモデルの限界であると考えられる。

今回のような脳深部計測では、入射用ファイバと検出用ファイバの間にはさまざまな組織が存在している。反射型の前額部計測では測定部位の層構造を考慮したモデルが多く報告<sup>17-20)</sup> されているため、今後の課題としては、今回のような透過型のヒト脳深部計測に対しても測定部位の生体組織構造を考慮した新しいモデルを検討し、脳深部計測が主にどの部位の情報を反映しているかを検討していく必要がある。将来的には、高感度化した TRS システムを使用することにより、生体深部臓器の酸

素動態計測への応用、頭部に対する透過型光 CT への応用も期待される。

## 結 論

今回われわれは、高感度化した TRS システムを開発し、成人男女ボランティア 10 名に対して耳から耳の透過型計測をおこないヒト脳深部計測の可能性を見出した。

## 文 献

- 1) Chance B, Nioka S, Kent J et al: Time-resolved spectroscopy of hemoglobin and myoglobin in resting and ischemic muscle. *Anal Biochem*, 1988, **174**: 698-707.
- 2) Delpy DT, Cope M, van der Zee P et al: Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement. *Phys Med Biol*, 1988, **33**: 1433-1422.
- 3) Patterson MS, Chance B, Wilson BC: Time resolved reflectance and transmittance for non-invasive measurement of tissue optical properties. *Appl Opt*, 1989, **28**: 2331-2336.
- 4) Oda M, Yamashita Y, Nishimura G et al: A simple and novel algorithm for time-resolved multiwavelength oximetry. *Phys Med Biol*, 1996, **41**: 551-562.
- 5) Oda M, Yamashita Y, Kan H et al: Advanced devices for near-infrared time-resolved spectroscopy and optical computed tomography: high sensitive/fast PMT, high power PLP, miniaturized CFD/TAC module and high speed multi-channel signal acquisition unit. *Proc SPIE*, 1997, **2979**: 765-773.
- 6) Oda M, Yamashita Y, Nakano T et al: Near-infrared time-resolved spectroscopy system for tissue oxygenation monitor. *Proc SPIE*, 1999, **3597**: 611-617.
- 7) Oda M, Yamashita Y, Nakano T et al: Nearinfrared time-resolved spectroscopy system for tissue oxygenation monitor. *Proc SPIE*, 2000, **4160**: 204-210.
- 8) Sato C, Yamaguchi T, Seida M et al: Intraoperative monitoring of depth-dependent hemoglobin concentration change carotid endarterectomy by time-resolved spectroscopy. *Appl Opt*, 2007, **46**: 2785-2792.
- 9) Ohmae E, Oda M, Suzuki T et al: Clinical evaluation of time-resolved spectroscopy by measuring cerebral hemodynamics during cardiopulmonary bypass surgery. *J Biomed Opt*, 2007, **12**: 062112.
- 10) Ijichi S, Kusaka T, Isobe K et al: Developmental changes of optical properties in neonates determined by near-infrared time-resolved spectroscopy. *Pediatr Res*, 2005, **58**: 568-573.
- 11) Liebert A, Wabnitz H, Steinbrink J et al: Bed-side assessment of cerebral perfusion in stroke patients based on opti-

- cal monitoring of a dye bolus by time-resolved diffuse reflectance. *NeuroImage*, 2005, **24**: 426–435.
- 12) Oda M, Yamaki E, Suzuki H et al: Tissue oxygenation measurements using near-infrared time-resolved spectroscopy. *Jpn Coll Angiol*, 2009, **49**: 131–137.
  - 13) Liebert A, Wabnitz H, Grosenick D et al: Fiber dispersion in time domain measurements compromising the accuracy of determination of optical properties of strongly scattering media. *J Biomed Opt*, 2003, **8**: 512–516.
  - 14) Fush CH, Scharrer B, Hungerland E et al: Body water, lean body and fat mass of healthy children as measured by deuterium oxide dilution. *Isotopenpraxis environ. Health Stud*, 1993, **29**: 125–131.
  - 15) VonHagens G, Romrell LJ, Ross MH et al: The visible human body: an atlas of sectional anatomy. Lea & Febiger, Philadelphia, 1991.
  - 16) Micheal EP, John CM, Heinrich RS: Positron Emission Tomography and Autoradiography: Principles and Applications for the Brain and Heart. Raven Press, New York, 1986, Chapter 11, 493–580.
  - 17) Kohri S, Hoshi Y, Tamura M et al: Quantitative evaluation of the relative contribution ratio of cerebral tissue to near-infrared signals in the adult human head: a preliminary study. *Physiol Meas*, 2002, **23**: 301–312.
  - 18) Okada E, Delpy DT: Near-infrared light propagation in an adult head model. I. Modeling of low-level scattering in the cerebrospinal fluid layer. *Appl Opt*, 2003, **42**: 2906–2914.
  - 19) Okada E, Delpy DT: Near-infrared light propagation in an adult head model II. Effect of superficial tissue thickness on the sensitivity of the near-infrared spectroscopy signal. *Appl Opt*, 2003, **42**: 2915–2922.
  - 20) Gagnon L, Gauthier C, Hoge RD et al: Double-layer estimation of intra- and extracerebral hemoglobin concentration with a time-resolved system. *J Biomed Opt*, 2008, **13**: 051019.

## Measuring Hemoglobin Concentration of Human Deep Brain Tissue Using Near-Infrared Time-Resolved Spectroscopy

Hiroaki Suzuki, Motoki Oda, Etsuko Yamaki, Toshihiko Suzuki, Daisuke Yamashita, Kenji Yoshimoto, and Yutaka Yamashita

Central Research Laboratory, Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japan

**Key words:** near-infrared spectroscopy, time-resolved spectroscopy, hemodynamics, oxygen saturation

We have developed a three-wavelength time-resolved spectroscopy system (TRS-20) that can quantify tissue hemodynamics. To lengthen the optode distance to measure biological information at greater depths, we created a highly sensitive system featuring a higher-output pulsed light source and a detector fiber with improved photon collection efficiency. We used the system to obtain temporal profiles of near-infrared pulsed light passing through the brain in 10 male and female adult volunteers. After the right external ear canal was illuminated using the near-infrared pulsed light, deep-brain measurements were performed to detect the time response function of the light that had passed through to the left ear canal. Measurements of the time response function were successfully made for 9 of the 10 volunteers. By applying photon diffusion theory, we were able to calculate the hemoglobin concentration and tissue oxygen saturation in the human deep brain. The results of this experiment demonstrate the potential applicability of the new system to deep brain measurements.

(*J Jpn Coll Angiol*, 2011, **51**: 247–253)