原著

ORIGINAL ARTICLE

生体組織の散乱係数誤算出における Mie 散乱及び Rayleigh 散乱を用いた補正

南條 卓也¹, 石井 克典¹, 本多 典広¹, 栗津 邦男^{1,2,3,4,5}¹ 大阪大学 大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻 量子エネルギー工学講座 量子ビーム応用工学領域² 大阪大学 大学院生命機能研究科³ 大阪大学 臨床医工学融合研究教育センター⁴ 福井大学 附属国際原子力工学研究所⁵ 科学技術振興機構 研究成果展開事業 (先端計測分析技術・機器開発)

(平成 23 年 11 月 21 日受理, 平成 24 年 2 月 6 日掲載決定)

Approximation by Mie and Rayleigh Scattering in the Estimation Error of Scattering Coefficient of Biological Tissues

Takuya Nanjo¹, Katsunori Ishii¹, Norihiro Honda¹, Kunio Awazu^{1,2,3,4,5}¹Medical Beam Physics Laboratory, Division of Sustainable Energy and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Osaka University²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University³The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University⁴Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui⁵Development of Systems and Technology for Advanced Measurement and Analysis, Japan Science and Technology Agency

(Received November 21, 2011, Accepted February 6, 2012)

要 旨

光学特性算出において高吸収波長域における散乱係数の誤算出が確認されており, 吸収が強い波長域での正確な散乱係数は得られておらず, 未だ本質的な解決に至っていない. 本研究では, 生体組織の誤算出した散乱係数を改善することを目的とし, 物理モデルを用いた散乱係数の補正法の検討を行った. 具体的には, 双積分球光学系と inverse Monte Carlo 法で構成された光学特性算出システムにより, 波長域 350-1000 nm におけるヒト皮膚の生体模擬サンプル及びヒト静脈の換算散乱係数を算出し, 波長 400 nm 帯で生じた換算散乱係数の誤算出に対して Mie 散乱及び Rayleigh 散乱を用いた補正法を検討した. その結果, ヒト皮膚の生体模擬サンプルでは Mie 散乱, ヒト静脈では Mie+Rayleigh 散乱を用いた補正法が最適であった.

キーワード: 光学特性, Mie 散乱, Rayleigh 散乱, 生体組織, 散乱係数誤算出

Abstract

Currently, the estimation errors of the scattering coefficient measurements in highly absorbing biological tissues have been reported and there is no other data available in this high absorption region. In my study, approximation methods by physics model were investigated to improve the estimation errors of scattering coefficient of biological tissues. Reduced scattering coefficient spectra of human skin tissue model and human vein in the wavelength range from 350 to 1000 nm were measured by double integrating sphere system and inverse Monte Carlo method, and the estimation errors around 400 nm were approximated by Mie scattering and Rayleigh scattering. As a result, Mie scattering was optimal approximation method for human skin tissue model and Mie and Rayleigh scattering was optimal one for human vein.

Key words: optical property, Mie scattering, Rayleigh scattering, biological tissue, estimation error

1. 背景

生体組織の光学特性 (吸収係数; μ_a , 散乱係数; μ_s , 異方性因子; g など) によって, 組織内での光の伝播は数値的に理解することができる. ここで, 吸収係数 [cm^{-1}] 及び散乱係数 [cm^{-1}] の逆数で与えられる数値は, 光がその距離だけ進むと吸収または散乱により光強度が $1/e$ になることを意味する. 異方性因子は -1 から 1 までの値を取り, -1 で純粋な後方散乱, 0 で等方散乱, 1 で純粋な前方散乱を表す. 生体組織では強い前方散乱のため異方性因子は 0.9 以上と一般的に理解されている. このように, 生体組織内での光伝播の様子を数値的に理解することで, 定量的な光医療を実現することができる^{1,2)}. 以上のような背景から, 生体組織の光学特性に関する研究^{3,4)}は現在に至るまで数多く報告されている. しかし, それらの研究において, 吸収係数が大きい値を示す波長域での散乱係数の誤算出が確認されている^{5,6)}.

可視から近赤外域における生体組織において, 波長 $400, 500 \text{ nm}$ 付近のヘモグロビン及び波長 $1450 \text{ nm}, 2000 \text{ nm}$ 付近の水が主な吸収因子であり, これらの波長域において散乱係数の誤算出が確認されている. 一方で, これら以外の波長域では吸収は弱い散乱係数は正確に算出されている⁵⁾. 光学特性算出において, 吸収が弱い波長域では生体組織の屈折率は実部のみで定義されるが, 吸収が強い波長域では屈折率は実部だけでなく虚部の影響も考慮される必要がある⁷⁾. すなわち, 生体組織の光学特性算出において, 複素屈折率を用いた算出手法が必要である. しかしながら, 生体組織の複素屈折率の正確なデータベース及びそれらを考慮した散乱係数の算出は行われておらず, 依然として, 吸収が強い波長域での正確な散乱係数のデータは得られていない⁸⁾.

光の散乱は巨視的に見ると, 粒子群による多重散乱の単純な合計ではなく, 細胞膜や細胞間での屈折・反射, あるいは各々の細胞内に含まれる微小な粒子や器官による散乱等, 様々な光学現象が複雑に絡み合った結果である. しかし, 細胞の構造は非常に複雑であるため, 全ての微視的な光学現象を積分して巨視的な散乱の様子を示す過程はまだ明らかになっていない⁹⁾. そこで, 生体内の散乱体を均一粒子によるものと仮定することで, 生体の散乱現象を擬似的に記述することができる. その一つの手法として Mie 散乱理論が挙げられる. 粒子の大きさが光の波長と同程度であれば粒子による散乱は Mie 散乱によって記述される. Mie 散乱では, 均質な溶媒中に分散した任意の大きさを持つ誘電性粒子の, 散乱係数, 吸収係数や異方性因子を正確に算出することができる¹⁰⁾. また, 粒子の大きさが光の波長より十分に小さい光の散乱は Rayleigh 散乱と呼ばれている. その際, Rayleigh 散乱による散乱係数は波長の 4 乗に反比例することが知られている. 一方で, Mie 散乱による散乱係数は Rayleigh 散乱ほど容易に記述することはできないが, Bohren と Huffman¹¹⁾ によって溶媒中に存在する均一粒子の散乱断面積や吸収断面積等を求めるプログラムが開発されて以降, Mie 散乱理論を用いた散乱係数算出のプログラムがいくつも開発されてきた¹²⁾. 生体光学の分野においても, Mie 散乱理論を用いた応用例がいくつか存在してい

る. 例えば, ヒト胸部の換算散乱係数に対して, 換算散乱係数スペクトルの傾きから Mie 散乱理論を用いて組織内の粒子径や細胞数密度を評価する研究¹⁰⁾が行われている. 従って, Mie 散乱や Rayleigh 散乱を用いて生体の散乱現象を解釈することで, 正確な散乱係数を推定することができると考えられる.

2. 目的

本研究では, 生体組織の高吸収波長域の散乱係数誤算出を改善することを目的として, 物理式を用いた散乱係数の補正モデルの提案を行う. 具体的には, 生体組織の光学特性の算出を行い, 吸収由来の散乱係数誤算出に対して, Mie 散乱及び Rayleigh 散乱を用いた補正モデルを実行し, 誤算出した散乱係数を改善するための解決策を提示する.

3. 実験方法

3.1 対象

測定サンプルとしてヒト皮膚模擬サンプルとヒト静脈組織を用いた. ヒト皮膚模擬サンプルはヘモグロビン (H7379-10G, sigma-aldrich) とイントラリピッド (FB-01IL20, TERUMO) とゼラチン (G2500-500G, sigma-aldrich) 含有のゲル状サンプルを作成し, ヒト皮膚模擬サンプルとした. ヘモグロビンは波長 400 nm 付近に吸収ピークを持つ吸収媒体として, イントラリピッドは可視から近赤外域における散乱媒体として利用した. ヒト皮膚模擬サンプルの構成はヘモグロビン水溶液 0 及び 4.0 mg/ml , イントラリピッド 4% , ゼラチン水溶液 0.1 g/ml とした. それぞれの混合液を 37°C で湯煎後, 厚さ 1 mm となるよう調整した 2 枚のスライドガラスの間に流し込み, 測定サンプルとした.

ヒト静脈サンプルはストリッピング手術で摘出されたヒト下肢静脈瘤血管を用いた. 実験では摘出後, 生理食塩水に浸漬されたものを使用した. その後, 医療用ハサミで切り開き, 2 枚のスライドガラスで挟み, スペーサーを用いて厚さ 1 mm に調整し, 測定サンプルとした. ヒト皮膚模擬サンプルは 3 つ ($n=3$), ヒト静脈は 5 つ ($n=5$) それぞれ用意し, 光学特性算出システムを用いて吸収係数と換算散乱係数を算出した.

3.2 光学特性算出システム

生体組織の吸収係数と換算散乱係数は双積分球光学系と inverse Monte Carlo (IMC) 法によって構築した光学特性算出システム¹³⁾を用いて算出した. 以下, 光学特性算出システムによって得られた算出結果を実測値と記述する. 光学特性算出システムの概略を Fig.1 に示す.

3.2.1 双積分球光学系

積分球 (CSTM-3P-GPS-033-SL, Labsphere) は外径 100 mm , 内径 84 mm , 入射, サンプルポート径 10 mm であった. 光源にはキセノンランプ (キセノンランプ; L2274 (GS), 電源; C8849, ランプハウス; E7536, 浜松ホトニクス株式会社) を用いた. 光源からの出射光はアパーチャーによりビーム形状を整え, レンズ光学系を用いて疑似

Fig.1 Schematic of the experimental set up for the determination of optical properties of the sample.

平行化し、積分球入射前より集光を行い、積分球入射直前にアパーチャーを設置し、ビーム径を制限し、積分球間に設置したサンプル表面でビーム直径を1 mmとし、サンプルに照射した。サンプルからの反射光及び、透過光は積分球内で拡散され、検出ポートからコア径600 μm のマルチモードファイバー (QP600-1-VIS-NIR, Ocean Optics) を通して、分光器に伝送した。反射率 R_d 、透過率 T_t の測定は分光器 (Maya2000-Pro; 200-1100 nm, Ocean Optics) を用いて波長域 350-1000 nm にて行った。

3.2.2 inverse Monte Carlo 法

測定した反射率 R_d 、透過率 T_t から IMC 法を用いて光学特性 (吸収係数 μ_a 、換算散乱係数 μ'_s) を算出した。本研究では、Wang¹⁴⁾ らにより開発され、現在 Oregon Medical Laser Center at Providence St. Vincent Medical Center で公開されている Monte Carlo (MC) 法¹⁵⁾ を用いて独自に開発したものを使用した。MC シミュレーションを行う際、測定サンプルの異方性因子 g 及び屈折率 n を設定する必要がある。生体組織の散乱は前方散乱が支配的であるため $g=0.9$ とした。ヒト真皮、ヒト大腿静脈の屈折率はそれぞれ 1.378, 1.39¹⁶⁾ を示すため、本研究では $n=1.38$ で統一した。MC 法に逆問題解法を取り入れた IMC 法による光学特性算出のアルゴリズムは以下の手順に従う。1) サンプルの光学特性 (μ_a , μ_s) を推定。2) MC シミュレーションにより推定したサンプルの光学特性から R_d , T_t の理論値を算出。3) R_d , T_t の理論値と実測値を比較。4) 理論値と実測値の誤差が R_d , T_t とともに 0.5 % 以下になるまで 1)-3) を反復。最終的に誤差 0.5 % 以下になったときの 1) の値をサンプルの光学特性とし、得られた散乱係数 μ_s と異方性因子 $g=0.9$ から換算散乱係数 $\mu'_s=(1-g)\mu_s$ の算出を行った。

3.3 散乱係数補正法

本研究では Matzler¹⁷⁾ によって開発され、Jacques によって改良された Matzler's MATLAB code for Mie theory¹⁸⁾ (以下 Matzler's code) を用いて、Mie 散乱理論による換算散乱係数スペクトル (以下 Mie 散乱スペクトル)

を算出した。Matzler's code を実行するにあたって必要となる入力パラメーターは溶媒の屈折率 n_{med} 、粒子の屈折率 n_p 、粒子の体積分率 f_v 、粒径 d である。IMC 法の屈折率 $n=1.38$ は溶媒や粒子等、組織全体の平均値であるが、Mie 散乱理論では溶媒の屈折率と粒子の屈折率をそれぞれ n_{med} , n_p と区別して設定を行う必要がある。従って、本研究では、生体組織の散乱体を主に脂質、溶媒を細胞質ゾルと仮定¹⁹⁾ し、 $n_{\text{med}}=1.35$, $n_p=1.46$ とした。波長域 350-1000 nm において、散乱体の粒径 d 及び体積分率 f_v はそれぞれ $d=10\text{ nm} \sim 10\text{ }\mu\text{m}$, $f_v=1 \sim 10\%$ の範囲で網羅的に Matzler's code を実行し Mie 散乱スペクトルを算出した。ヒト皮膚模擬サンプル及びヒト静脈の実測値と Mie 散乱スペクトルの比較の際には $d=20\text{ nm}$, $f_v=0.2\%$ ごとに Matzler's code を実行し、スペクトルの傾き及び換算散乱係数が実測値と最も近い値となった時の Mie 散乱スペクトルを選択した。

ヒト皮膚模擬サンプルの補正に関して、より実測値に近い値を得るために Mie 散乱スペクトルの振幅を解消する必要がある。よって、 $d=300\text{-}400\text{ nm}$ の Mie 散乱スペクトルの中から 2 つを平均し、最も実測値に近い平均値をヒト皮膚模擬サンプルに対する補正スペクトルとした。

一方、ヒト静脈サンプルに関しては Mie+Rayleigh 散乱^{20,21)} で補正を行った。Rayleigh 散乱スペクトルは $\mu'_s=A\lambda^{-4}$ で表され、 A は任意の数で、 λ は波長 [nm] である。Mie+Rayleigh 散乱の補正法は上記で選出された Mie 散乱スペクトルと、実測値に最適な値を取るよう A を調整した Rayleigh 散乱スペクトルの和で表した。

また、得られた Mie 散乱及び Mie+Rayleigh 散乱による補正スペクトルと実測値の差を取ることで補正の評価を行った。

4. 実験結果

4.1 生体組織の光学特性

Fig.2 に光学特性算出システムを用いて算出したヒト皮膚模擬サンプルの吸収係数スペクトル及び換算散乱係数スペクトル、Fig.3 にヒト静脈の吸収係数スペクトル及び換算散乱係数スペクトルをそれぞれ示す。Fig.2 のヒト皮膚模擬サンプルの吸収係数スペクトルにおいて、ヘモグロビンの有無によって波長 400 nm 付近にヘモグロビン由来の吸収ピークが観察され、波長 405 nm におけるヘモグロビン含有・非含有ヒト模擬サンプルの吸収係数はそれぞれ 3.15 mm^{-1} , 0.24 mm^{-1} であった。同様に、ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペクトルにおいて、ヘモグロビンの有無によって波長 400 nm 付近に下に凸のピークの有無が観察された。

また、Fig.3 のヒト静脈の吸収スペクトルにおいて、波長 420 nm 付近に吸収ピークが観察され、その値は 0.37 mm^{-1} を示した。ヒト静脈の換算散乱係数スペクトルは波長が長くなるにつれて滑らかに減少したが、波長 420 nm 付近で僅かに下に凸のピークが観察された。

4.2 ヒト皮膚模擬サンプルの散乱係数補正

Fig.4 (a) に $f_v=4.0\%$, $d=300\text{-}400\text{ nm}$ の条件の Mie 散乱スペクトルとヘモグロビン非含有、イントラリピッド 4 %

Fig.2 Optical properties of biological tissue phantom.

Fig.3 Optical properties of human vein.

Fig.4 Reduced scattering coefficient spectra of the biological tissue phantoms and Mie scattering. Tissue phantom concentrations were hemoglobin 0 mg/ml, intralipid 4 %. Mie scattering parameters were (a) $d = 300\text{--}400$ nm, $f_v = 4.0$ % and (b) $d = 350$ nm, $f_v = 3.5\text{--}4.3$ %.

のヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数を示す。 $d = 300\text{--}400$ nm の Mie 散乱スペクトルには振幅が観察され、その振幅は d が大きくなるにつれて長波長側へ移動した。一方、イントラリピッドの換算散乱係数スペクトルは直線的なスペクトルで、Mie 散乱スペクトルのような振幅は観察されなかった。従って、Mie 散乱スペクトルとヒト皮膚模擬サンプルの実測値が一致することはなかった。

Fig.4 (b) に $d = 350$ nm, $f_v = 3.5\text{--}4.3$ % の条件の Mie 散乱スペクトルとヘモグロビン非含有、イントラリピッド 4 % のヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数を示す。 f_v の増加に比例して、Mie 散乱スペクトルの換算散乱係数の増加が観察され、本研究で検討を行った Matzler's code の条件の中では、 $f_v = 3.5$ % の Mie 散乱スペクトルがヒト皮膚模擬サンプルの実測値に近い値を示した。

Fig.5 (a) にヘモグロビン 4.0 mg/ml, イントラリピッド 4 % 及びヘモグロビン非含有、イントラリピッド 4 % のヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数と $d = 350$ nm, $f_v = 3.7$ % の条件の Mie 散乱スペクトルを示す。ヘモグロビン含有・非含有ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペク

トルを比較すると、波長域 650-1000 nm では一致していたが、波長域 350-650 nm ではヘモグロビン含有条件の換算散乱係数が非含有条件より小さい値を示した。また、Mie 散乱スペクトルとヘモグロビン非含有ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペクトルを比較すると、波長域 800-1000 nm では一致したが、それより短波長域では Mie 散乱スペクトルに振幅が観察されたため、ヘモグロビン非含有条件の実測値と一致することはなかった。

より実測値に近い値を得るためには Mie 散乱スペクトルの振幅を解消する必要がある。よって、 $d = 300\text{--}400$ nm の Mie 散乱スペクトルの中から 2 つを平均し、最も実測値に近い平均値を選択した。その結果、 $d = 300$ nm 及び $d = 400$ nm の Mie 散乱スペクトルの平均値が最も実測値に近い値を示した。Fig.5 (b) にヘモグロビン 4.0 mg/ml, イントラリピッド 4 % 及びヘモグロビン非含有、イントラリピッド 4 % のヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数と $d = 300$ nm 及び $d = 400$ nm の Mie 散乱スペクトルを平均したスペクトルを示す。2 つの Mie 散乱スペクトルを平均化することで振幅の発生はある程度解消し、1 つの

Fig.5 Reduced scattering coefficient spectra of biological tissue phantoms and Mie scattering. Tissue phantom concentrations were hemoglobin 4.0, 0 mg/ml, intralipid 4 %. (a) Mie scattering - $d = 350$ nm, $f_v = 3.7$ %. (b) Averaged Mie scattering - $d = 300$ nm, 400 nm and $f_v = 3.7$ %.

Fig.6 Reduced scattering coefficient spectra of the human vein and Mie scattering. Mie scattering parameters were (a) $d = 120$ -200 nm, $f_v = 3.0$ % and (b) $d = 180$ nm, $f_v = 2.0$ -4.0 %.

Mie 散乱スペクトルの補正よりは実測値に近い値を示した。しかし、波長 650 nm 付近では差が観測され、完全な一致には至らなかった。

4.3 ヒト静脈の散乱係数補正

Fig.6 (a) に $f_v = 3.0$ %, $d = 120$ -200 nm の条件の Mie 散乱スペクトルとヒト静脈の換算散乱係数を示す。Mie 散乱スペクトルは波長域 550-1000 nm では d の増加に伴って換算散乱係数は増加したが、波長域 350-550 nm では換算散乱係数は単調に増加しなかった。長波長域を基準に Mie 散乱スペクトルとヒト静脈の換算散乱係数を比較すると、 $d = 180$ nm の Mie 散乱スペクトルがヒト静脈の実測値と近い値を示した。Fig.6 (b) に $d = 180$ nm, $f_v = 2.0$ -4.0 % の条件の Mie 散乱スペクトルとヒト静脈の換算散乱係数を示す。 f_v の増加に比例して、Mie 散乱スペクトルの換算散乱係数の増加が観察された。Mie 散乱スペクトルとヒト静脈の換算散乱係数の比較を行うと、 $f_v = 3.0$ -3.5 % の Mie 散乱スペクトルの範囲にヒト静脈の実測値は存在

した。しかし、短波長域では Mie 散乱スペクトルとヒト静脈の実測値に大きな乖離が生じていた。

従って、 $d = 180$ nm, $f_v = 3.0$ % 付近の Mie 散乱スペクトルを基準に Rayleigh 散乱の追加を行った。Rayleigh 散乱の A の値を調整し、Mie+Rayleigh 散乱スペクトルを算出した結果、 $d = 180$ nm, $f_v = 2.8$ %, $A = 5 \times 10^{10}$ の条件がヒト静脈の換算散乱係数と非常に良く一致した (Fig. 7)。

4.4 散乱係数補正法の評価

Fig.8 にヘモグロビン非含有、イントラリピッド 4 % のヒト皮膚模擬サンプルに対して行った補正の評価結果を示す。1 つの Mie 散乱スペクトル ($d = 350$ nm, $f_v = 3.7$ %) による補正の誤差と 2 つの Mie 散乱スペクトル ($d = 300$, 400 nm, $f_v = 3.7$ %) を平均化して行った補正の誤差を比較したところ、1 つの Mie 散乱スペクトルの補正誤差は最大 -0.4 mm^{-1} を示したが、2 つの Mie 散乱の平均スペクトルの補正誤差は最大 -0.25 mm^{-1} とより小さい値を示した。また、全波長域における差分スペクトルの振れ幅も小さかった。

Fig.7 Reduced scattering coefficient spectra of human vein and Mie + Rayleigh scattering. Mie parameters were $d=180$ nm, $f_v=2.8\%$ and Rayleigh parameter was $A=5 \times 10^{10}$.

Fig.8 Subtraction spectra were reduced scattering coefficient of Mie scattering minus the one of biological tissue phantom.

Fig.9 Subtraction spectra were reduced scattering coefficient of Mie (+ Rayleigh) scattering minus the one of human vein.

Fig.9 にヒト静脈に対して行った補正の評価結果を示す。Mie 散乱スペクトル ($d=180$ nm, $f_v=3.5\%$) の補正では波長域 550-1000 nm における誤差は ± 0.2 mm $^{-1}$ 以内と小さい値を示したが、それより波長が短くなるにつれて誤差は増加していき、最大 -2.5 mm $^{-1}$ を示した。一方、Mie+Rayleigh 散乱スペクトル ($d=180$ nm, $f_v=2.8\%$, $A=5 \times 10^{10}$) の補正では全波長域において ± 0.5 mm $^{-1}$ 以内であり、特に波長域 400-1000 nm では ± 0.2 mm $^{-1}$ 以内と小さい値を示した。

5. 考察

5.1 生体組織の散乱係数誤算出

Fig.2 (a), (b)より、ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペクトルは波長 400 nm 付近において下に凸のピークが観察され、このピークはヘモグロビン濃度の増加に伴って大きくなった。ヘモグロビンの吸収波長ではない波長域 700-1000 nm のヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数はヘモグロビンの濃度条件に関わらず一致していた。つまり、高い吸収係数が換算散乱係数スペクトルの下に凸のピークの発生に影響を及ぼしていると考えられる。一般的に、生体組織の散乱係数スペクトルは可視から近赤外域において、波長の増加に依存して指数関数的に減少していきピークは存在しないと考えられている。従って、波長 400 nm 付近で見られた下に凸のピークは高吸収波長域における換算散乱係数の誤算出であると言える。同様に、Fig.3 より、ヒト静脈の換算散乱係数スペクトルは波長 420 nm 付近において僅かに下に凸のピークが観察され、この下に凸のピークも換算散乱係数の誤算出であると言える。

高吸収波長域における換算散乱係数誤算出について、明確な原因は判明していないのが現状である。Bhandari ら²²⁾はヘモグロビンの吸収波長に対応した屈折率の変化や複素屈折率の考慮の必要性を報告している。Bashkatov ら²⁰⁾は高吸収波長域において、異方性因子の減少を報告している。つまり、生体組織の吸収体が屈折率や異方性因子の値に特異的な影響を及ぼしているため、高吸収波長域で換算散乱係数誤算出が観察されると考えられる。しかし、広波長域における生体組織の屈折率や異方性因子を実測することは非常に困難であるので、換算散乱係数誤算出の具体的な解決策は未だ判明していない。従って、正確な換算散乱係数を決定する上で換算散乱係数スペクトルを補正する手法が必要であると言える。

5.2 生体組織別による散乱係数補正法

本研究では、ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数を補正するために Mie 散乱のみを用いた。一方で、ヒト静脈の換算散乱係数に関しては、Mie+Rayleigh 散乱の補正が最適であった。文献において、イントラリピッドを用いたヒト皮下組織モデルの散乱係数を Mie+Rayleigh 散乱で近似した場合、Rayleigh 散乱の割合は 1% 以下であることが示されている²²⁾。一方で、実組織の散乱係数に対して、Mie+Rayleigh 散乱を用いた補正が報告されている^{20,21)}。つまり、散乱係数の補正法は生体組織や組織構造によって異なることが考えられ、散乱係数誤算

出に対して最適な補正法を選択することが重要である。

最適な補正法を選択する上で、散乱係数スペクトルの傾き (Scattering slope; γ) が有用であると考えられる。生体組織の散乱係数はべき乗則を用いて経験的に $\mu_s = B\lambda^{-\gamma}$ で表される²³⁾。Bは任意の数であり λ は波長[nm]である。 γ の値は最大で $\gamma=4$ を取り、これはRayleigh散乱である。 γ が小さくなるにつれてRayleigh散乱の割合が減少し、Mie散乱の割合が支配的になる。実際に、Mie散乱で補正を行ったヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペクトルの γ を算出したところ、 $\gamma=0.1$ であった。一方で、Mie+Rayleigh散乱で補正を行ったヒト静脈の換算散乱係数スペクトルでは、 $\gamma=1.8$ であった。つまり、 γ が小さい領域ではMie散乱のみで補正が可能であり、 γ が大きい領域ではMie+Rayleigh散乱で補正を行う必要があると考えられる。実際の生体組織では、Zoniosら²³⁾は正常なヒト皮膚で $\gamma=0.7$ と報告し、Bashkatovら⁵⁾はヒト粘膜組織で $\gamma=1.62$ 、ヒト皮下脂肪組織で $\gamma=0.68$ と報告しており、生体組織の γ は対象組織ごとに様々な値を示すことが分かっている。また、Wangら²⁴⁾やZoniosら²³⁾は γ と散乱体の粒径 d の間に関係性があることを報告している。従って、生体組織別による散乱係数の γ を体系的に把握し、散乱係数スペクトルの特徴を数値的に分類分けすることで、散乱係数誤算出の補正法について最適な選択を行うことができると考えられる。

5.3 本補正法の妥当性と今後の散乱係数算出の展望

可視から近赤外域において、長波長域はMie散乱、短波長域はRayleigh散乱が支配的であることが知られている⁵⁾。具体的には、波長域600-2000 nmのMie散乱が支配的な領域では、直径数百nmの散乱体が主に寄与しており、ミトコンドリアや他の細胞小器官、コラーゲン繊維等が挙げられ、波長域300-600 nmのRayleigh散乱が支配的な領域では、直径数十nmのメラニンダストやコラーゲン細繊維が挙げられる。実際に、ヒト皮膚模擬サンプルの散乱係数に対する補正では $d=300\sim400$ nmのMie散乱が最適であり、散乱媒体として用いたイントラリピッドの粒径分布 $d=25\sim675$ nm²⁵⁾の範囲内であった。ヒト静脈に対する補正では $d=180$ nmのMie散乱にRayleigh散乱を足すことで実測値とよく一致した。つまり、Mie散乱で採用した d の値が実組織で散乱に寄与していると考えられる物質の粒径(数百nm)と同程度の大きさであったことから、本補正法は組織学的な観点から見て妥当であることが示唆された。

その一方で、本研究は生体組織の散乱現象に対して、巨視的に見た理解で留まっていると言える。なぜなら、本補正法は生体組織の散乱体の粒径を1つあるいは2つと仮定してMie散乱を記述したが、実組織は様々な粒径の物質によって構成されている。また、本光学特性算出システムの光学系はサンプル厚さが1 mm、サンプル表面でのビーム径が1 mmと、ミリメートルオーダーの計測である。そもそも散乱係数の誤算出は実組織内で起こっている非常に複雑な散乱現象を正確に計算あるいはモデル化できていないことが原因と考えられる。従って、生体組織の散乱現象をより緻密に理解することで散乱係

数の誤算出は解決されと考えられ、そのためにはマイクロメートルオーダー、ナノメートルオーダーでの散乱係数の検討が今後必要になってくると考えられる。

6. 結論

双積分球光学系及びIMC法を用いて波長域350-1000 nmにおけるヒト皮膚模擬サンプルとヒト静脈の光学特性を算出した。これらの換算散乱係数スペクトルにおいて吸収由来の誤算出が確認され、それに対してMie散乱及びMie+Rayleigh散乱を用いて補正を行った。その結果、ヒト皮膚模擬サンプルの換算散乱係数スペクトルには $d=300$ nm, 400 nmのMie散乱を平均化したスペクトルが実測値と近い値を示し、ヒト静脈では $d=180$ nmのMie散乱にRayleigh散乱を追加したMie+Rayleigh散乱による補正が最適であった。今後、他の生体組織の散乱係数に対してMie散乱及びMie+Rayleigh散乱を用いた補正法が最適であるか、調査を行う。

7. 謝辞

本研究は科学技術振興機構研究成果展開事業【先端計測分析技術・機器開発プログラム】の「高度診断治療に向けた生体組織の光学定数計測技術開発」による支援を受けて行われた。

参考文献

- 1) W. Cheong, S. A. Prahl, A. J. Welch: A review of optical properties of biological tissues, IEEE Journal of Quantum Electronics, 26(12): 2166-2185, 1990.
- 2) J.P. Ritz, A. Roggan, C. Isbert, G. Muller, H.J. Buhr and C.T. Germer: Optical properties of native and coagulated porcine liver tissue between 400 and 2400 nm, Lasers in Surgery and Medicine, 29: 205-212, 2001.
- 3) A.N. Yaroslavsky, P.C. Schulze, I.V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich and H.J. Schwarzmair: Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues *in vitro* in the visible and near infrared spectral range, Physics in Medicine and Biology, 47: 2059-2073, 2002.
- 4) H. Ao, D. Xing, H. Wei, H. Gu, G. Wu and J. Lu: Thermal coagulation-induced changes of the optical properties of normal and adenomatous human colon tissues *in vitro* in the spectral range 400-1100 nm, Physics in Medicine and Biology, 53: 2197-2206, 2008.
- 5) A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.I. Kochubey and V.V. Tuchin: Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm, Physics in Medicine and Biology, 38: 2543-2555, 2005.
- 6) S. H. Tseng, P. Bargo, A. Durkin and N. Kollias: Chromophore concentrations, absorption and scattering properties of human skin *in-vivo*, Optics Express, 17(17): 14599-14617, 2009.
- 7) D.J. Faber, M.C.G. Aalders, E.G. Mik, B.A. Hooper, M.J. C. van Gemert and T.G. van Leeuwen: Oxygen saturation-dependent absorption and scattering of blood, Physical Review Letters, 93(2): 028102, 2004.
- 8) M. Fribel, A. Roggan, G. Muller and M. Meinke: Determination of optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm using Monte Carlo simulations with hematocrit-dependent effective scattering phase functions, Journal of Biomedical Optics, 11(3): 034921, 2006.

- 9) 山田 幸生, 高橋 ゆかり: 医学・生物学における光と生体組織の相互作用および光によるイメージング, 機械技術研究所所報, 49(1): 1-31, 1995.
- 10) X. Wang, B.W. Pogue, S. Jiang, X. Song, K.D. Paulsen, C. Kogel, S.P. Poplack and W.A. Wells: Approximation of Mie scattering parameters in near-infrared tomography of normal breast tissue *in vivo*, Journal of Biomedical Optics, 10(5): 051704, 2005.
- 11) C.F. Bohren and D.R. Huffman: Absorption and Scattering of Light by Small Particles, John Wiley & Sons, Inc., 1998.
- 12) P. Laven: MiePlot (A computer program for scattering of light from a sphere using Mie theory & the Debye series), <http://www.philiplaven.com/mieplot.htm>, 2011.
- 13) 本多典広, 寺田隆哉, 南條卓也, 石井克典, 栗津邦男: Inverse Monte Carlo法による光線力学療法前後の腫瘍組織の光学特性の算出, 日本レーザー医学会誌, 31(2): 115-121, 2010
- 14) L.H. Wang, S.L. Jacques and L.Q. Zheng: MCML-Monte Carlo modeling of photon transport in multi-layered tissues, Computer methods and Programs in Biomedicine, 47: 131-146, 1995.
- 15) Oregon Medical Laser Center at Providence St. Vincent Medical Center, <http://omlc.ogi.edu/software/mc/>
- 16) V.V. Tuchin: Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis, SPIE Press, Bellingham, WA, 2007.
- 17) C. Matzler: MATLAB Functions for Mie Scattering and Absorption, Institut für Angewandte Physik, Research Report No. 2002-08, 2002.
- 18) S. L. Jacques: Maetzler's MATLAB code for Mie theory, <http://omlc.ogi.edu/software/mie/>, 2010.
- 19) J.M. Schmitt and G. Kumar: Optical scattering properties of soft tissues: a discrete particle model, Applied Optics, 37(13): 2788-2797, 1998.
- 20) A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.I. Kochubey, A.A. Gavrilo, S.V. Kapralov, V.A. Grishaev and V.V. Tuchin: Optical properties of human stomach mucosa in the spectral range from 400 to 2000 nm: Prognosis for gastroenterology, Medical Laser Application, 22: 95-104, 2007.
- 21) I.S. Saidi, S.L. Jacques and F.K. Tittel: Mie and Rayleigh modeling of visible-light scattering in neonatal skin, Applied Optics, 34 (31): 7410-7418, 1995.
- 22) A. Bhandari, B. Hamre, O. Frette, K. Sramnes and J.J. Stamnes: Modeling optical properties of human skin using Mie theory for particles with different size distributions and refractive indices, Optics Express, 19 (15), 14549-14567, 2011.
- 23) G. Zonios and A. Dimou: Light scattering spectroscopy of human skin *in vivo*, Optics Express, 17 (3): 1256-1267, 2009.
- 24) X. Wang, B.W. Pogue, S. Jiang, H. Dehghani, X. Song, S. Srinivasan, B.A. Brooksby, K.D. Paulsen, C. Kogel, S.P. Poplack and W.A. Wells: Image reconstruction of effective Mie scattering parameters of breast tissue *in vivo* with near-infrared tomography, Journal of Biomedical Optics, 11(5): 041106, 2005.
- 25) H. J. Staveren, C.J. M. Moes, J. Marle, S.A. Prahl and M.J.C. Gemert: Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm, Applied Optics, 30 (31), 4507-4514, 1991.

著者紹介

南條 卓也 (Takuya Nanjo)
2010 年 3 月, 大阪大学工学部卒業.
2010 年 4 月, 大阪大学大学院工学研究
科博士前期課程入学.

石井 克典 (Katsunori Ishii)
2008 年 3 月, 大阪大学大学院工学研究
科博士後期課程修了 (博士 (工学)).
2008 年 4 月, 大阪大学大学院工学研究
科 特任研究員 (21 世紀 COE プログラム).
2009 年 2 月, 大阪大学大学院工学研究
科 助教 (環境・エネルギー工学専攻量子
エネルギー工学講座量子ビーム応用工学領域). 専門はレ
ーザー治療基礎, 生体光学. 日本レーザー医学会 (編集委
員会幹事), 日本レーザー歯学会, レーザー学会, 日本生
体医工学会, SPIE, 各会員. 応用物理学会分科会日本光
学会「光学」編集委員. 第 29 回日本レーザー医学会総会
賞, 第 21 回日本レーザー歯学会優秀発表賞, 平成 21 年
度日本生体医工学会論文賞・阪本賞, 各受賞.

本多 典広 (Norihiro Honda)
2010 年 3 月, 大阪大学大学院工学研究
科博士前期課程修了. 2010 年 4 月, 大
阪大学大学院工学研究科博士後期課程
入学. レーザー学会, SPIE, 各会員. 第
30 回日本レーザー医学会総会賞受賞.

栗津 邦男 (Kunio Awazu)
1984 年 3 月, 神戸大学大学院工学研究
科修士課程修了. 1996 年 4 月, 博士 (工
学) 神戸大学, 1997 年 3 月, 博士 (医学)
順天堂大学. 2000 年 5 月, 大阪大学大
学院工学研究科 客員教授. 2005 年 4 月,
同 教授 (環境・エネルギー工学専攻量子
エネルギー工学講座量子ビーム応用工学領域). 2005 年
4 月, 光産業創成大学院大学 員教授 (2010 年 3 月まで).
2007 年 4 月, 大阪大学 臨床医工学融合研究教育センター
兼任. 2009 年 4 月, 福井大学附属国際原子力工学研究所
医学物理・化学部門 客員教授. 2010 年 4 月, 京都大学化
学研究所 客員教授 (2011 年 3 月まで). 2011 年 10 月, 大
阪大学大学院生命機能研究科 兼任. 専門はレーザー診断
治療基礎, 光生物学, 生体光学. 日本レーザー医学会理事・
編集委員長, 日本レーザー歯学会理事, レーザー学会理事,
日本光線力学学会幹事, 日本レーザー治療学会, 日本生
体医工学会, SPIE 会員等.