第 38 回 日本レーザー医学会総会賞受賞論文**AWARDED ARTICLE****量子カスケードレーザーを用いた無侵襲血糖値測定**吉岡 希利子¹, 小山 卓耶², 木野 彩子², 松浦 祐司²¹東北大学大学院工学研究科²東北大学大学院医工学研究科

(平成 30 年 7 月 12 日受理, 平成 30 年 7 月 20 日掲載決定, 平成 30 年 8 月 31 日 J-STAGE 早期公開)

Non-Invasive Blood Glucose Measurement Using Quantum Cascade LasersKiriko Yoshioka¹, Takuya Koyama², Saiko Kino², Yuji Matsuura²¹Graduate School of Engineering, Tohoku University²Graduate School of Biomedical Engineering, Tohoku University

(Received July 12, 2018, Accepted July 20, 2018, Advance Publication released online August 31, 2018)

要 旨

中赤外領域で発振する量子カスケードレーザー (QCL) を用いた血糖値測定法について紹介する。複数の単一波長 QCL と中空光ファイバを用いた中赤外分光システムを構築し、ヒト口唇の吸収スペクトルを測定することにより、血糖値測定を行う。測定に用いる QCL の波長については、フーリエ赤外分光器を用いて行った口唇の吸収スペクトルにおいて、血糖値との高い相関が得られているグルコースの環状構造に起因する吸収ピーク波長 $1,152\text{ cm}^{-1}$ を選択した。また、グルコースの吸収が現れない $1,186\text{ cm}^{-1}$ の吸光度をリファレンスとすることで、ベースラインの変動を取り除くことを試みた。これら 2 波長における吸光度の差分値と、採血による血糖値を比較したところ、両者の間に相関を確認することができた。

キーワード: 血糖値測定, 量子カスケードレーザー, 赤外分光法, 中空光ファイバ**Abstract**

A non-invasive blood glucose measurement method using quantum cascade lasers (QCLs) oscillated in mid-infrared region is introduced. A mid-infrared spectroscopy system equipped with a combination of quantum cascade lasers (QCLs) as light sources and hollow-optical fibers as beam delivery media is developed. As the wavelengths of QCLs, the wavenumber of $1,152\text{ cm}^{-1}$ that exhibited strong correlation with blood glucose in the optical absorption of human lips using FT-IR is firstly chosen. Then $1,186\text{ cm}^{-1}$ where glucose shows no absorption is also chosen as a reference to remove effects of the baseline variation. By using the QCL-based system, it is shown that the differential absorption between these wavelengths exhibits high correlation with blood glucose level.

Key words: Blood glucose, Quantum cascade laser, ATR spectroscopy, Hollow-optical fiber**1. はじめに**

現行の血糖自己測定手法は指先から少量の血液を採取する侵襲的な方法であり、身体的苦痛や感染症の危険性

を伴うため、その負担の軽減および精度の向上が急務である¹⁾。非侵襲に血糖値を測定する手法としては、おもに人体への透過性が高い波長 $800\sim 1,500\text{ nm}$ 程度の近赤

外光を用いた測定法の研究が進められてきたが、市場に普及するような決定的なものは実現されていない。この主な理由は、近赤外領域では血中糖分（グルコース）の吸収は非常に弱いいため、その検出精度や再現性に問題があるためである。グルコースの分子振動に起因する吸収ピークの基本波は、波長が $10\ \mu\text{m}$ 程度の中赤外域に存在し、近赤外域に現れるのはその倍音振動であるために吸収は非常に微弱となってしまう。さらにこの領域には、生体を構成する他の物質の吸収ピークも多数存在しており、グルコースのみを検出することは極めて困難である。

そこで中赤外領域に存在するグルコースの基準振動による吸収ピーク群（いわゆる「指紋スペクトル」）を解析すれば、血液中のグルコースの定量分析も原理的には可能となる。我々のグループでは、フーリエ変換赤外分光装置（FT-IR）と中空光ファイバを用いた全反射減衰分光法（ATR 法）により、精度良く血糖値を測定することに成功した²⁾。しかし、本システムは装置が大型かつ高価であり、実際のヘルスケア用品として使用するのには困難であった。システムの小型化には、近年急速に開発が進む量子カスケードレーザー（QCL）が有効である。そこで近年では QCL を光源として用いた血糖測定法について、いくつかの提案がなされている。これらは主に、レーザー媒体の外部に共振器を設け、そこに設置した可動グレーティングにより発振波長を選択する波長可変レーザーを用いたものであり、グルコースの吸収域全体をカバーすることもできる。そのため、FT-IR で得られた手法をそのまま採用することができ、数多くの波長における吸収値から得られる多くの情報をもとに、多変量解析などの手法を用いることにより、高い精度の測定が可能となり得る。これまで皮膚からの後方散乱光を測定した手法の報告³⁾があるが、皮膚を対象としたためか十分な精度は得られていない。一方、侵入深さの点で有利な光音響法を用いて測定を行った報告もなされている^{4,5)}。しかし、波長可変 QCL は可動グレーティングを装備するため、機械的な安定性に欠けるとともに、低コスト化・小型化は難しい。一方、分布帰還型（DFB）の波長固定 QCL レーザーはモノリシックな構造とすることが可能で、将来的に大量生産が可能となれば圧倒的な低コスト化が見込まれる。

そこで本稿では、中赤外吸収スペクトル測定による血糖値測定についての原理を解説するとともに、小型かつ安価なシステムの実現を目指して、複数の離散波長 QCL を用いたシステムを構築し、血糖値測定のための中赤外 ATR 測定を行った結果を報告する。なお本研究は東北大学大学院工学研究科人を対象とする研究に関する倫理委員会の承認（15A-3）のもと実施されたものである。

2. 中赤外光を用いた血糖値測定の原理

グルコースの高い吸収強度が得られる中赤外領域において、分光による検出を行うには、赤外減衰全反射（ATR）法が有効である。赤外 ATR 法は、高屈折率プリズムに中赤外光を入射し、プリズムと外界との境界面で全反射が生じる際に現れる界のしみ出し（エバネッセント場）を利用したものである。プリズムに測定対象となるサンプルが触れた状態で測定を行えば、しみ出した界がサン

ルによって吸収される。ATR 法ではプリズムを透過した検出光のエネルギーが大きく取れ、SN 比の点では有利だが、生体組織を対象とした場合、中赤外光は組織に含まれる水分に強く吸収され、そのしみ出しの深さは $10\ \mu\text{m}$ 以下となる。数 mm 以上浸透する近赤外光と比較した場合、この小さな侵入深さが中赤外光を用いた分光法の検出感度を大きく制限する。

Fig.1 はフーリエ変換赤外分光高度計（FT-IR）と ATR プリズムを用いて測定したグルコース水溶液の吸収スペクトルである。グルコースの 5 つの吸収ピークが現れており、それぞれのピークには、グルコースのどの部分の分子振動に起因するものかが示されている。なおグルコース（ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ）は水溶液中では 5 つの C と 1 つの O からなるピラノース環と呼ばれる構造（Fig.1 参照）をとり、例えば $1,035\ \text{cm}^{-1}$ 付近の大きなピークは、4 番で示した C と OH 基の結合によるものである。なお、 $1,155\ \text{cm}^{-1}$ のピークはピラノース環の構造全体に起因するものである⁶⁾。

Fig.2 は、台形状の ATR プリズムの上下面を口唇に挟んだ状態で測定したヒト口唇粘膜の吸収スペクトルである。上述の通り中赤外光のヒト組織への侵入深さはミクロンオーダーであり、厚さ $20\ \mu\text{m}$ 程度の角質層で覆われている皮膚を測定対象とすることは困難である。そこで角質がほとんど存在しない口腔粘膜を測定対象とすることが有利であり、そのための赤外光用中空光ファイバを用いた測定系²⁾が提案されている。 $3,300\ \text{cm}^{-1}$ 付近に水のピーク、 $1,650\ \text{cm}^{-1}$ と $1,550\ \text{cm}^{-1}$ 付近にはタンパク質のピークがはっきりと現れている。 $1,000\ \text{cm}^{-1}$ 付近を拡大すればいくつかのグルコースの吸収ピークが確認される

Fig.1 Absorption spectra of glucose solution with different concentrations.

Fig.2 Absorption spectrum of human lips.

ものの、Fig.1 のスペクトルとは若干形が異なっている。これはこの波長帯には、唾液や粘膜に含まれるグルコース以外の成分の吸収が重畳しているためと考えられ、これらの他成分の影響を考慮することが必要である。

そこで被験者の空腹時（低血糖時）のスペクトル形状を基準として、そこからの変化量を検出することによりグルコース上昇による変化のみを求めた結果を Fig.3 に示す。太線が得られた差分スペクトル、細線はグルコース水溶液の吸収スペクトルを測定スペクトルにフィッティングしたものであり、ヒトを対象とした無侵襲測定で、5つの吸収ピークで構成されるグルコースの指紋スペクトルが得られた。この指紋スペクトル上の各吸収ピークと血糖値との相関について調査した結果、 $1,155\text{ cm}^{-1}$ 付近のピラノース環に起因するピーク強度が、血糖値と最も高い相関を示すことが報告されている²⁾。

3. QCL を用いた測定系の構築

上記の結果から、中赤外領域に現れるグルコース吸収の基本振動を検出すれば、無侵襲での血糖値測定が可能である。しかし、これまで中赤外分光システムのほとんどは FT-IR を用いたものであり、装置が大型かつ高コストであるうえ、一般的な FT-IR に使用されるセラミック光源から発生する中赤外光の強度が微弱なため、検出器としては液体窒素による冷却が必要な高感度 HgCdTe (MCT) 検出器が用いられるケースが多く、ヘルスケア機器としての順応性は非常に低いものであった。さらには中赤外領域で利用可能な光ファイバが存在しなかったため、フレキシブルに光路を変更できないことも有用な中赤外分光システムの実現を困難なものとしていた。

ところが近年、中赤外領域で発振する QCL の開発が進むとともに、室温動作する InAsSb などの中赤外領域に対応した光起電力素子の市販も開始されている。また光ファイバについても中赤外領域に対応する中空光ファイバなど、低コストかつフレキシブルな光ファイバの開発が進み、その応用も展開されている。これらの光源、検出器、光ファイバを用いれば近い将来にはきわめて低コストな分光分析システムの実現が可能となり、ヘルスケア機器としても十分に適用可能となることが期待される。

前述の通り、波長固定 QCL レーザーはモノリシックな

構造とすることが可能で、将来的に大量生産が可能となれば圧倒的な低コスト化が見込まれる。しかし、測定対象の温度や表面状態の変化などによる吸収スペクトルのベースラインの変動は不可避なため、複数の QCL を用いていくつかの波長における吸収を同時に測定し、ベースライン変動を除去する必要がある。そこで本研究では、Fig.4 に示す 2 台の波長固定 QCL を用いた測定系を構築し、中赤外 ATR 測定を行った⁷⁾。QCL の光出力は連続波 20 mW 程度であり、2 台の QCL からの光は可動ミラーによって切り替えられる。これを内径 2 mm、長さ 26 cm の中空光ファイバを介して ATR プリズムへ入射する。中空光ファイバは、柔軟なポリカーボネイトチューブの内面に銀薄膜と誘電体層が形成されたものであり、誘電体層の厚さは波長 9–10 μm 帯の中赤外光に対して低損失性を示すように設定されている。ATR プリズムには、無毒性の ZnS を使用した、厚さ 1.6 mm、長さ 24 mm の台形型プリズムを用いており、プリズム上面において入射光が 8 回反射する構造となっている。検出器として、室温動作の InAsSb 半導体検出器を用いている。

本システムでは、複数の離散波長においてのみ測定を行うため、血糖の主成分であるグルコースの吸収を強く反映する波長を選択する必要がある。そこで上述の通りグルコースを構成するピラノース環と呼ばれる六員環の構造に由来する $1,155\text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収ピークを対象波長とし選択した。Fig.5 は、同時刻においてスペクトルを 3

Fig.4 Schematic of measurement setup.

Fig.3 Differential absorption spectra of human lips (thick curves). The thin curves are spectra of glucose solution fit to the lip spectra.

Fig.5 Absorption spectra of human lips measured three times in a row.

回測定した結果を示している。どのスペクトルにも $1,155\text{ cm}^{-1}$ 付近に吸収ピークが見られるものの、ベースラインが大きく変動している。この原因は、各測定においてプリズムを口唇で挟む際の位置が変化していることや、体温変化等の影響が考えられる。そこで、グルコースの吸収が存在しない波長の QCL を利用することで、これらの影響を取り除くことを考えた。Fig.6 は FT-IR を用いて、グルコース水溶液（濃度 10%）の吸収スペクトル

Fig.6 Absorption spectrum of glucose solution.

Fig.7 Clark error grid based on differential absorptions between $1,152\text{ cm}^{-1}$ and $1,186\text{ cm}^{-1}$.

を測定した結果である。Fig.6 より、グルコースの主な吸収域である $1,200\text{ cm}^{-1}$ から $1,000\text{ cm}^{-1}$ において強い吸収ピークが確認でき、また、 $1,500\text{ cm}^{-1}$ から $1,200\text{ cm}^{-1}$ の領域にも緩やかなピークが存在することが分かる。一方、 $1,183\text{ cm}^{-1}$ 付近はこれらのピーク間の谷となっており、この付近にはグルコースの吸収が存在しないことが分かる。すなわち、 $1,183\text{ cm}^{-1}$ 付近の波長を用いることで、生体の測定で生じるベースラインの変化の影響を取り除くことができると考えられる。

以上の結果から測定対象とする波長の組み合わせとして、上記の 2 波長に近い $1,152\text{ cm}^{-1}$ および $1,186\text{ cm}^{-1}$ を選定し、これらの波長を用いた血糖値測定の有効性を確認するため、FT-IR で測定したヒト口唇の吸収スペクトルを用いてシミュレーションを行った。Fig.7 に、FT-IR で測定したスペクトルにおける $1,152\text{ cm}^{-1}$ と $1,186\text{ cm}^{-1}$ の吸光度の差分値と、同時刻に採血から得られた血糖値の相関を示す。測定点は、一人の被験者に対して 14 日間にわたって測定した 128 点のデータをまとめたものである。なお、吸光度の差分値は、回帰線をもとに予測された血糖値に変換している。Fig.7 中に示した各領域は、ある測定法で得られた血糖値と、採血により得られた血糖値がどの程度対応するかを示す指標である、クラークエラーグリッド⁸⁾の領域を示している。この指標において臨床的測定精度を有すると評価される、領域 A（測定誤差 20%以内）に 8 割以上の測定点が存在している。また差分吸光度と血糖値の相関係数は 0.51 となり、これらの 2 波長を利用することで、血糖値測定が行える可能性が示された。

4. QCL を用いた血糖値測定結果

前節の結果をもとに選択した $1,152\text{ cm}^{-1}$ と $1,186\text{ cm}^{-1}$ の 2 つの波長の光を発生する QCL を用いて Fig.4 に示した測定系を構築し、ヒト口唇の吸収係数を測定した。Fig.8 は測定した吸収係数の差分値の食後の時間変動を、採血により測定した血糖値と比較して示したものであり、同一の被験者に対して異なる 2 日間について測定したものである。

2 つの結果ともに、光学的に測定した差分吸収値が血糖値によく追従していることが確認できる。なお、差分値のレベルが 2 つのグラフで大きく異なっているが、こ

Fig.8 Change in the optical absorbances of human lips compared with blood glucose levels.

Fig.9 Correlation plot between blood glucose levels estimated by optical measurement and ones measured by blood sampling.

れは吸収スペクトルのベースラインの傾きが2日間で大きく変動しているためである。しかし、同日中ではほとんど変動しないため、一回較正すれば十分である。現在は較正なしでもある程度良好な測定誤差で測定を行うための波長の選択、測定方法について検討中である。

Fig.9 は上記の2つの測定結果を相関図としてまとめたものである。光学的な推測値と採血による血糖値との相関係数は $R^2 = 0.44$ 程度であり、やや誤差は大きいものの2波長 QCL による血糖値測定の可能性が示された。

5. まとめ

中赤外領域で発振する QCL を用いた血糖値測定法について紹介した。複数の単一波長 QCL と中空光ファイバを用いた中赤外 ATR 分光システムを構築した。測定に用いる QCL の波長については、FT-IR を用いて行った口唇の吸収スペクトルにおいて、血糖値との高い相関が得られているグルコースの環状構造に起因する吸収ピーク波長 $1,152\text{ cm}^{-1}$ を選択した。また、グルコースの吸収が現れない $1,186\text{ cm}^{-1}$ の吸光度をリファレンスとすることで、ベースラインの変動を取り除くことを試みた。これら2波長における吸光度の差分値と、採血による血糖値を比較したところ、両者の間に相関を確認することができたが、今後は測定誤差を低減するための測定手法の改善やグルコースの体内代謝の影響の解明、さらには測定波長の最適化などが必要とされる。

光学的に得られる値には個人差があり、血糖値の絶対値を得るためには基本的には採血による参照値による較正が必要である。しかしヘルスケア機器としての観点であれば必ずしも血糖値そのものを測定する必要はなく、毎週、毎日と繰り返し測定した個人の測定値の変動から食生活や運動不足のアラートを出すなど、さまざまな用途が考えられる。その際には血糖値だけではなく、コレステロール値などと併せて評価すればより有用となり、現在我々のグループでは血糖値以外のさまざまな成分の検出についても検討を行っている。また現在、FT-IR を用いたシステムを用いて多くの被験者のデータを取得す

ることにより、採血による較正を必要としない最適波長の組み合わせを線形回帰分析により探索することについても検討している。

近年、急速に開発が進んでいる中赤外 QCL にとって、大量生産が必要とされる大きなマーケットが現れれば、その製造コストの大幅な低減が見込めるとともに、室温動作の光検出器および柔軟な光ファイバとの組み合わせにより、小型・低コストなヘルスケア機器の開発へとつながる。さらには QCL の大きな光出力により測定の SN 比が大幅に向上し、角質層がある指先などでも有効な測定が可能となることが期待される。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP17H03242 および JP17K01403 の助成を受けた。

利益相反の開示

利益相反なし。

参考文献

- 1) Vashist SK. Non-invasive glucose monitoring technology in diabetes management: a review. *Anal Chim Acta*. 2012; 750: 16-27.
- 2) Kino S, Omori S, Katagiri T, Matsuura Y. Hollow optical-fiber based infrared spectroscopy for measurement of blood glucose level by using multi-reflection prism. *Biomed Opt Express*. 2016; 7: 701-708.
- 3) Liakat S, Bors KA, Xu L, Woods CM, Doyle J, Gmachl CF. Noninvasive *in vivo* glucose sensing on human subjects using mid-infrared light. *Biomed Opt Express*. 2014; 5: 2397-2404.
- 4) Lilienfeld-Toal H, Weidenmüller M, Xhelaj A, Mäntele W. A novel approach to non-invasive glucose measurement by mid-infrared spectroscopy: The combination of quantum cascade lasers (QCL) and photoacoustic detection. *Vib Spectrosc*. 2005; 38: 209-215.
- 5) Pleitez MA, Lieblein T, Bauer A, Hertzberg O, von Lilienfeld-Toal H, Mäntele W. *In vivo* noninvasive monitoring of glucose concentration in human epidermis by mid-infrared pulsed photoacoustic spectroscopy. *Anal Chem*. 2013; 85: 1013-1020.
- 6) Ibrahim M, Alaam M, El-Haes H, Jalbout AF, de Leon A. Analysis of structure and vibrational spectra of glucose and fructose. *Eclat Quim*. 2006; 31: 15-21.
- 7) Yoshioka K, Kino S, Matsuura Y. Blood glucose measurement with multiple quantum cascade lasers using hollow optical fiber-based ATR spectroscopy. *Proc SPIE*. 2018; 10488: 1048812-1-6.
- 8) Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederick LA, Carter W, Pohl SL. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care*. 1987; 10: 622-628.
- 9) Kasahara R, Kino S, Soyama S, Matsuura Y. Noninvasive glucose monitoring using mid-infrared absorption spectroscopy based on a few wavenumbers. *Biomed Opt Express*. 2017; 9: 289-296.

著者紹介

吉岡希利子 (Kiriko Yoshioka)

2018 年東北大学大学院工学研究科博士前期課程修了。現在は (株) 日立ハイテクノロジーズに勤務。在学時は光学的手法による無侵襲血糖値測定の研究に従事。応用物理学会, レーザー学会会員。

小山 卓耶 (Takuya Koyama)

2018 年東北大学大学院医工学研究科博士前期課程修了。現在は同研究科博士後期課程に在学。光音響法による生体計測や赤外分光法による生体組織分析の研究に従事。応用物理学会, レーザー学会会員。

木野 彩子 (Saiko Kino)

1996 年東北大学大学院理学研究科博士前期課程修了。2006 年より東北大学にて学術研究員として勤務。赤外分光法に依る生体組織分析の研究に従事。レーザー学会会員。

松浦 祐司 (Yuji Matsuura)

1988 年東北大学工学部通信工学科卒, 1992 年東北大学大学院工学研究科修了, 博士 (工学)。1993 年住友電気工業横浜研究所研究員, 1994 年米国ラトガース大学セラミック工学科研究員として勤務の後, 1996 年東北大学大学院工学研究科助教授。2008 年東北大学大学院医工学研究科教授。X 線から遠赤外にわたる電磁波伝送路とその医療応用に関する研究に従事。レーザー学会, 電子情報通信学会, 応用物理学会, 電気学会, SPIE 会員。平成 17 年度文部科学省若手科学者賞受賞。レーザー学会東北・北海道支部長。