

No.5

脳活動に伴う二次信号の高精度計測技術の開発研究

アキタ電子株式会社（日立製作所中央研究所）

報 告 要 旨

研究委託の名称	脳活動に伴う二次信号の高精度計測技術の開発研究
企業名	アキタ電子株式会社、株式会社日立製作所
研究委託の目標	
計測波長数：2波長 8波長 計測精度：20 μ m・mm 7 μ m・mm（従来比3倍） （ヘモグロビン濃度誤差）	
実施項目	
計測波長数増加	8波長同時計測システムの開発
計測精度の向上	8波長を用いた高精度データ解析法の研究
結 果	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 多重変調 - ロックイン検出法による、9波長×2チャンネルの、高感度同時分光計測システムを開発した。 ・ 指運動に伴う脳活動計測に、今回開発したデータ解析法を適用した結果、脱酸素化ヘモグロビンについては従来比6.7倍、酸素化ヘモグロビンについては従来比3.2の精度向上を得た。 	
取得物件の利用計画	
<p>科学技術振興事業団の本体研究「脳活動に伴う二次信号の計測とその発生機序に関する研究の一環として、今後2年間は日立製作所中央研究所において計測技術・データ解析の改良を行い、その後、秋田脳研などで二次信号発生機序への応用を行う。</p>	

1. 新技術の概要

1.1 研究委託内容

脳活動に伴う二次信号の発生機序を解明するためには、二次信号を高精度に無侵襲計測することが不可欠である。㈱日立製作所中央研究所が開発した「光トポグラフィ」技術では、この二次信号としての酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化を光を用いて無侵襲に分離計測することが可能である。しかし、従来二次信号の発生機序を解明する上で十分な計測精度が得られなかった。そこで、これらヘモグロビン濃度変化を高精度で計測する技術を研究開発する。具体的には、従来2波長で行っていた計測の波長数を増加させる事で高精度化を図る。

本研究により、二次信号としての酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化を高精度で計測する技術が確率されれば、共同研究の主な課題である二次信号の計測とその発生機序の解明についてさらに詳細な研究が可能となる。また、この技術は、ヘモグロビン計測に加えて細胞内に含まれるチトクローム aa3 酸化還元状態(二次信号の一つ)の計測にも今後有効であり、より多角的な二次信号の解析に利用可能である。

なお、本研究によって開発された技術は、共同研究参加機関だけでなく脳科学及び医療・福祉分野に關与する他の多くの研究機関、企業等に対しても広く供給され得るものである。

1.2 工業所有権等

なし。

2. 実施期間

平成8年1月16日～平成8年12月31日

3. 実施場所

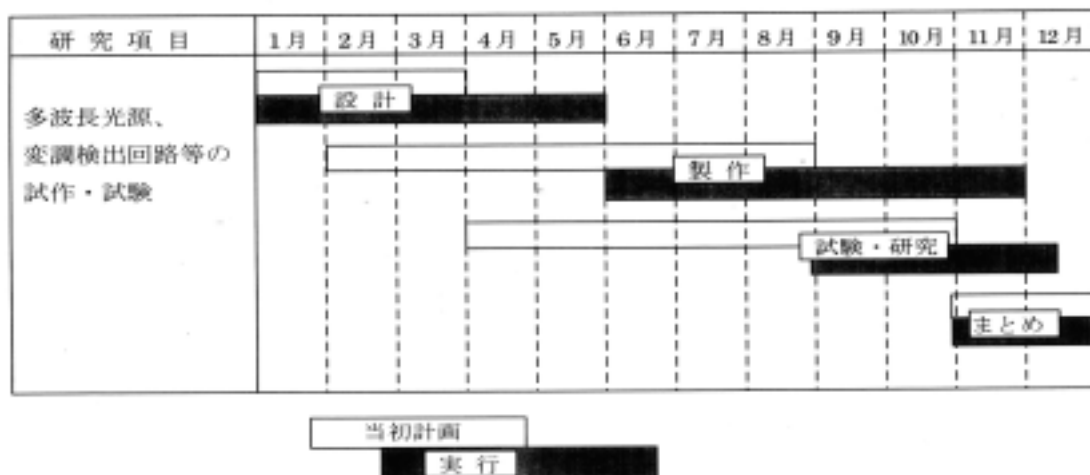
アキタ電子株式会社 ソフトウェア開発センター

所在地：秋田県河辺郡雄和町相川字後野 85

株式会社日立製作所 中央研究所

所在地：東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 280 番地

4. 実施経過



5 . 研究委託の実施結果

5.1 研究実施項目

(1) 計測波長数増加：2 波長 8 波長

(2) 計測精度向上（ヘモグロビン濃度誤差低減） : 20 $\mu\text{M} \cdot \text{mm}$ 7 $\mu\text{M} \cdot \text{mm}$
(従来比 3 倍の精度向上)

5.2 実施結果

5.2.1 研究の目的

脳活動に伴う二次信号の一つとして、脳内の血液量変化もしくは血液中に含まれるヘモグロビン濃度変化が挙げられる。このヘモグロビンは、図 1 に示されるように、酸素との結合の有無により光吸収スペクトルが変化する [1 , 2]。この光吸収特性を利用することで、脳活動に伴う酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンの濃度変化を、近赤外付近の波長領域で無侵襲に計測することが可能である [3 , 5]。従来、半導体レーザの入手が非常に容易な、780 , 830nm の 2 波長を用いて酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化を計測していた。しかし脳活動時においては、脱酸素化ヘモグロビン濃度変化は酸素化ヘモグロビンの濃度変化よりも小さく、計測システムによる誤差等も考慮すると計測精度は現状では充分とは言えない。

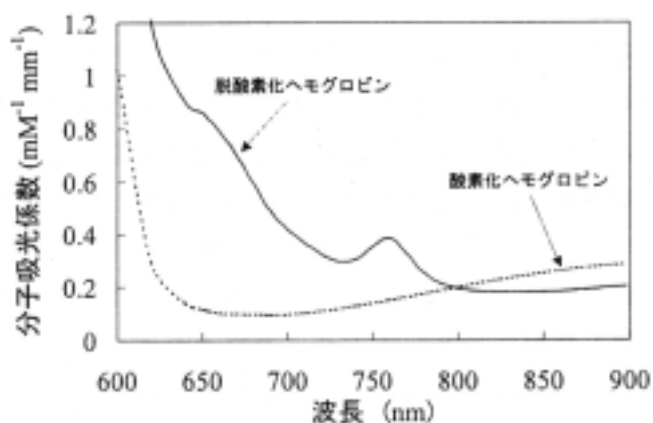


図1 ヘモグロビンの光吸収スペクトル

そこで今回は、赤色から近赤外の広い波長領域でのヘモグロビンの光吸収スペクトルに注目し、近年普及が進んでいる高性能赤色半導体レーザ（630-700nm）を利用して計測の高精度化を試みる。一般に、光吸収体の濃度を 2 波長で高精度計測するには、2 波長間の吸収係数差が大きい波長で計測することが望ましい。酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンに対しては、波長 650nm 付近と波長 800nm 付近で吸収係数差が大きくなっている（波長 620nm 以下になると、吸収係数が非常に大きくなるため脳内に光が到達しなくなり、無侵襲計測には適さない）。そこで、波長 635nm から波長 848nm の範囲の 8 波長（予備波長を含めると 9 波長）を計測に用い、ヘモグ

ロビン吸収係数差の大きい2波長の組み合わせを複数設定する。このことにより、ヘモグロビン濃度変化を光吸収スペクトルの特性を利用して高精度で計測する。さらに、2波長の組み合わせごとに求めたヘモグロビン濃度変化を加算平均することによっても、計測光学系由来のランダムノイズを低減させる。

5.2.2 計測システム

今回の研究開発では、予備を含めた9波長を同時に高感度分光計測するため、多重変調 - ロックイン検出を用いた。この方法では、半導体レーザごとに異なる変調周波数で強度変調を加える。今回用いた半導体レーザの分光特性を図2に、さらに各半導体レーザの中心波長及び変調周波数を表1に示す。

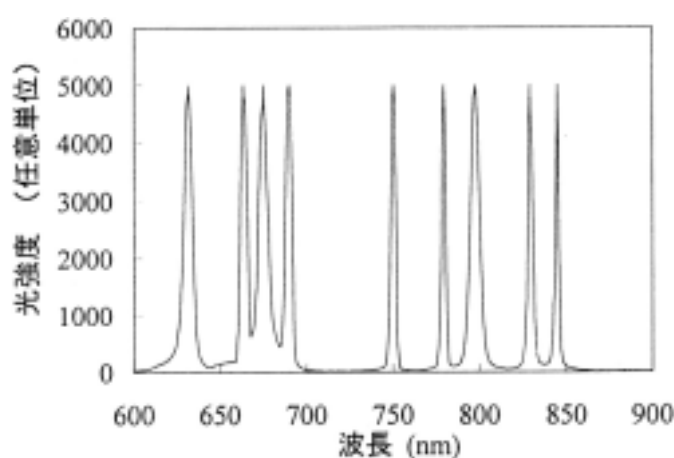


図2 光源（半導体レーザ）の分光特性

表1 各半導体レーザの中心波長及び変調周波数

波長 (nm)	635	664	682	692	752	782	799	830	848
変調周波数(kHz)	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.1	2.3	2.7	3.3

これらの半導体レーザからの光は、取り扱いを容易にするためにFC型の光ファイバコネクタからの出力とした。図3にシステムの全体構成図を示す。各周波数で強度変調された光を、光ファイバカプラーで混合した後、2本の照射光ファイバに分配して被験者頭部の2ヶ所（例えば右半球と左半球）に照射する。それぞれの照射位置から30mm離れた位置に配置した検出光ファイバを介して、頭部反射光を2台の高感度アバランシェフォトダイオードで検出する。アバランシェフォトダイオードからの出力は、それぞれ9台のロックインアンプに並列に入力する。これらのロックインアンプは半導体レーザの変調周波数を参照信号としており、それぞれのロックインアンプでは一つの変調周波数のみを、すなわち一つの波長の検出信号のみを選択的に検出する。そのため、9波長の信号の分光計測を実現している。こ

の方法では、信号光以外の迷光を変調信号によるフィルタリングで除去することで微弱な生体反射光の高感度計測を実現するとともに、光学的に無損失な同時分光計測（回折格子や光学フィルタ板等は、現実的には光の損失を伴う）が実現できる。これらのロックインアンプからの出力信号は、A/D 変換された後、コンピュータで0.5秒のサンプリング間隔で計測される。

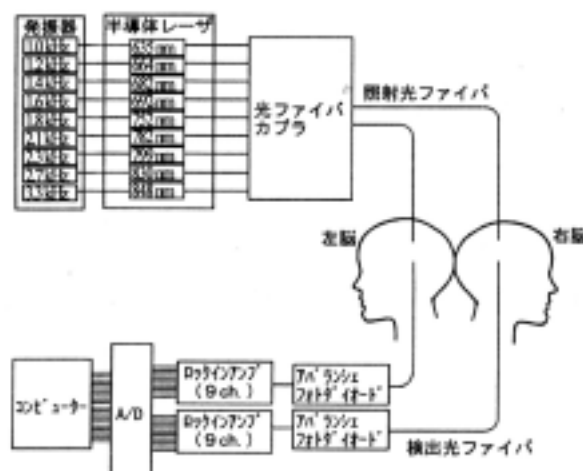


図3 システム構成図

5.2.3 脳機能計測

このシステムによる高精度化の効果を確認するために、指運動に伴う脳活動を計測した。被験者は55歳の右利きの健康な男性ボランティアで、光の照射・検出位置は、図3に示されている左右頭部の前頭 - 頭頂領域に設定した。この計測位置は、同一被験者の脳の形態を示すMRI画像を参照することで運動野付近の中心溝近傍であることが確認されている[5]。計測中は閉眼状態で安静仰臥し、脳への刺激として手指のランダムタッピング(親指と他の指とをランダムに触れあう)の運動を、右手及び左手それぞれについて30秒ずつ、それぞれ交互に10回繰り返した。この脳機能計測では、波長682nmを予備波長とし、他の8波長で計測を行った。

5.2.4 データ解析方法

波長 λ において、安静時での反射光量 $R(\lambda)$ 及び運動刺激時での反射光量 $R^{sti}(\lambda)$ の計測から、脳活動に伴う酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化 C_{oxy} 及び C_{deoxy} は以下の式に示される[3, 4]。

$$-\log_e \left[\frac{R^{sti}(\lambda)}{R(\lambda)} \right] = \varepsilon_{oxy}(\lambda) \Delta C_{oxy} + \varepsilon_{deoxy}(\lambda) \Delta C_{deoxy} \dots\dots\dots (1)$$

ここで、 $\varepsilon_{oxy}(\lambda)$ と $\varepsilon_{deoxy}(\lambda)$ は波長 λ における酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン

の分子吸収係数を示す。この式には C_{oxy} 及び C_{deoxy} の 2 変数を含むため、2 波長計測により(1)式の連立方程式を解くことで C_{oxy} 及び C_{deoxy} を求めることができる。なお、大脳の活動領域での実効的な光路長を求めることは現実的に困難なため、これらの濃度変化を単位 $mM \cdot mm$ で求める。

今回用いた 8 波長において、まず比較基準のために、従来用いていた 782, 830nm の 2 波長を用いて酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンの濃度変化を求める(2 波長解析)。次に、8 波長を利用した高精度化のめために、以下の方法に従って 2 波長の 4 つの独立な組み合わせを選択する。波長 782, 830nm の 2 波長解析よりも精度を向上させるには、酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンの分子吸光係数の波長差の絶対値(それぞれ ϵ_{oxy} 及び ϵ_{deoxy} と記す)が、各 2 波長の組み合わせにおいて、波長 782, 830nm の 2 波長間の値以上の必要がある。波長 782, 830nm の 2 波長間では、 ϵ_{oxy} 及び ϵ_{deoxy} の値は、それぞれ $0.05, 0.07 mM^{-1}mm^{-1}$ である。そこで今回は、635-830nm, 664-799nm, 692-782nm, 及び 752-848nm の 4 組み合わせを用いた。これら各 2 波長間における ϵ_{oxy} 及び ϵ_{deoxy} を表 2 に示す。

表 2 各波長間でのヘモグロビン分子吸光係数差

2 波長組み合わせ (nm)	635 - 830	664 - 799	692 - 782	782 - 848
ϵ_{oxy} ($mM^{-1}mm^{-1}$)	0.05	0.10	0.08	0.11
ϵ_{deoxy} ($mM^{-1}mm^{-1}$)	0.80	0.56	0.23	0.18

上記の 2 波長の 4 つの独立な組み合わせごとに得られた酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンの濃度変化の平均を、8 波長解析によるヘモグロビンの濃度変化とする。

5.2.5 脳機能計測結果

波長 782, 830nm の 2 波長解析から求めた酸素化及び脱酸素化ヘモグロビン濃度変化を図 4 - 図 7 に示す。右手刺激時での左脳計測及び左手刺激時での右脳計測(対側計測)において、刺激期間中での酸素化ヘモグロビンの増加及び脱酸素化ヘモグロビンの減少が示されているが、微少な変化はノイズにより計測困難なことがわかる。一方、8 波長解析では(図 8 - 図 11)、高精度化の効果が明瞭に確認でき、対側計測における酸素化ヘモグロビンの増加及び脱酸素化ヘモグロビンの減少が顕著に示されている。

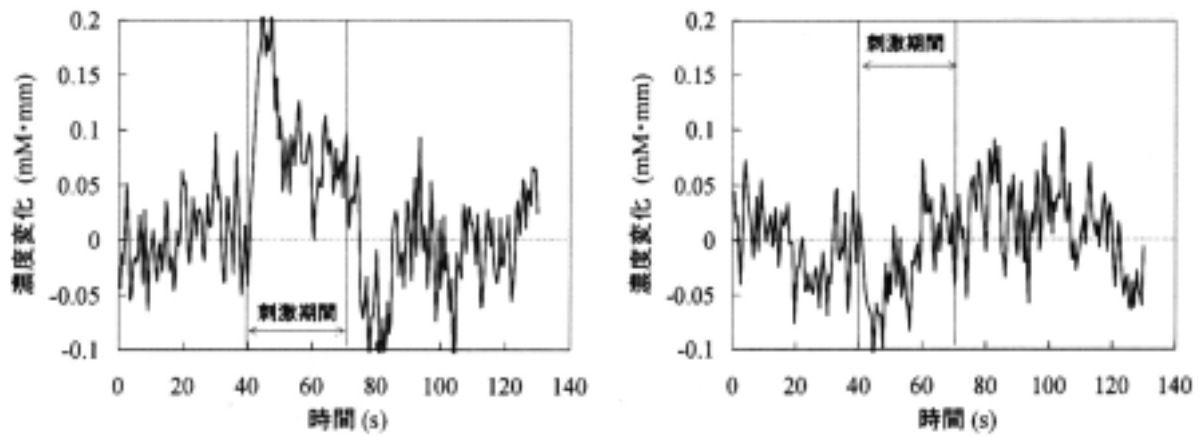
この 8 波長解析による高精度化を定量的に示すために、2 波長解析及び 8 波長解析結果におけるヘモグロビン濃度変化の計測誤差をノイズレベルとして評価した。ノイズ評価方法は、図 4 - 図 11 に示されている結果のフーリエ解析からパワースペクトル密度を求め、0.2Hz 以上の周波数(刺激による変動及び生体由来と考えられる低周波揺らぎを除去)でこのパワースペクトル密度を積分する。この方法により

求めた計測誤差を表3に示す。

表3 計測誤差評価

	2波長解析	8波長解析	精度向上比
酸素化ヘモグロビン計測誤差 (mM・mm)	28	8.7	3.2
脱酸素化ヘモグロビン計測誤差(mM・mm)	26	3.9	6.7

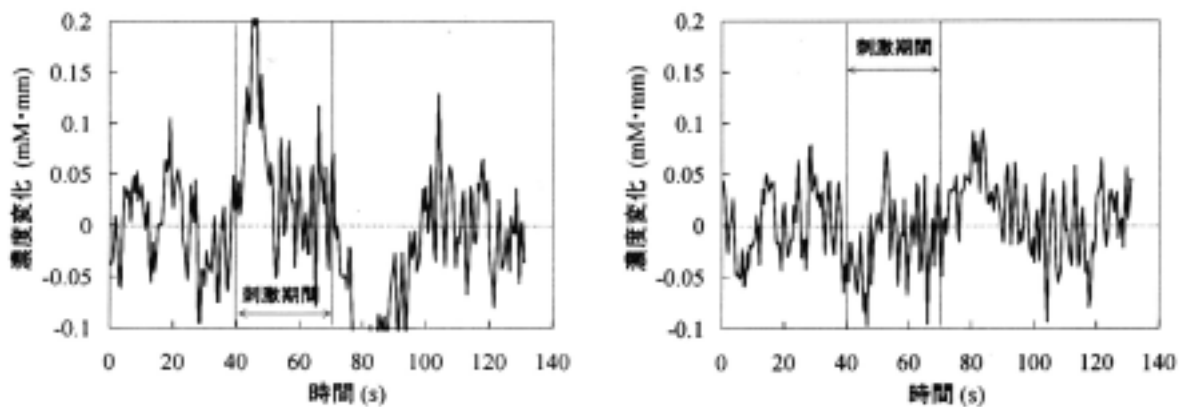
この誤差評価により、脱酸素化ヘモグロビンについては精度向上比及び誤差ともに目標(精度向上3倍、誤差7mM・mm)を大きく上回る結果を得ていることが示された。また、酸素化ヘモグロビンについては、精度向上比については目標を上回り、誤差については目標レベルに達していることがわかる。



(a) 酸素化ヘモグロビン

(b) 脱酸素化ヘモグロビン

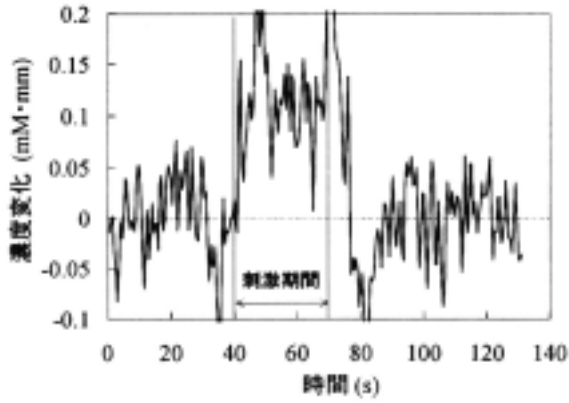
図4 2波長解析による右手刺激による左脳ヘモグロビン濃度変化



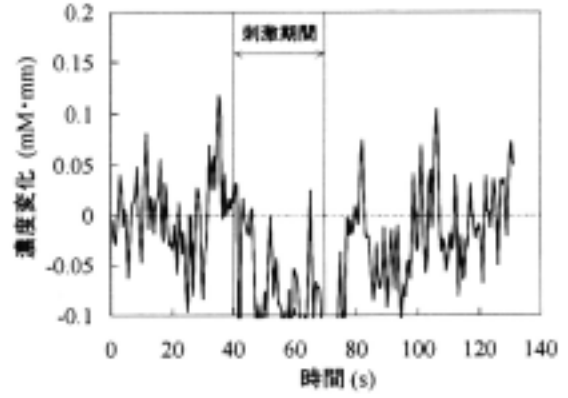
(a) 酸素化ヘモグロビン

(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図5 2波長解析による左手刺激による左脳ヘモグロビン濃度変化

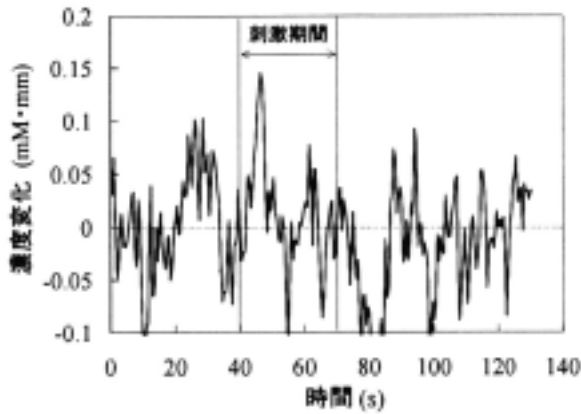


(a) 酸素化ヘモグロビン

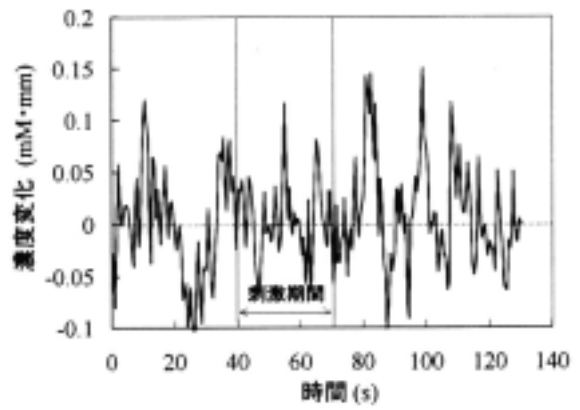


(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図6 2波長解析による左手刺激による右脳ヘモグロビン濃度変化

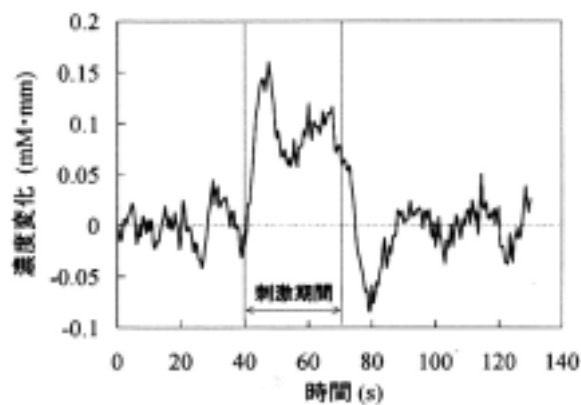


(a) 酸素化ヘモグロビン

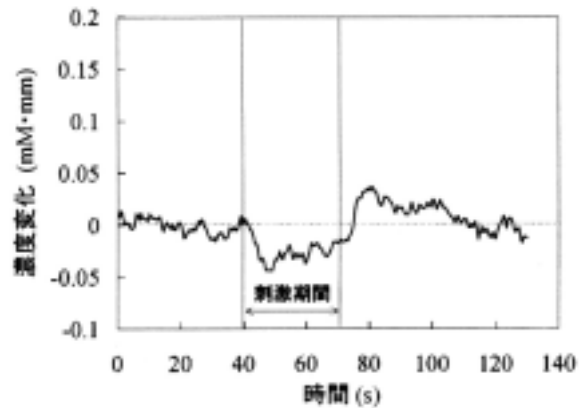


(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図7 2波長解析による右手刺激による右脳ヘモグロビン濃度変化

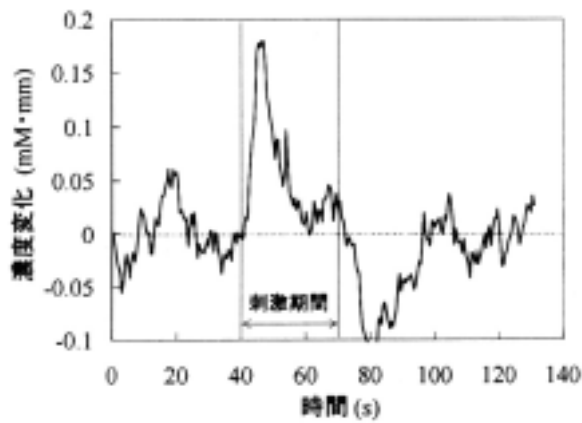


(a) 酸素化ヘモグロビン

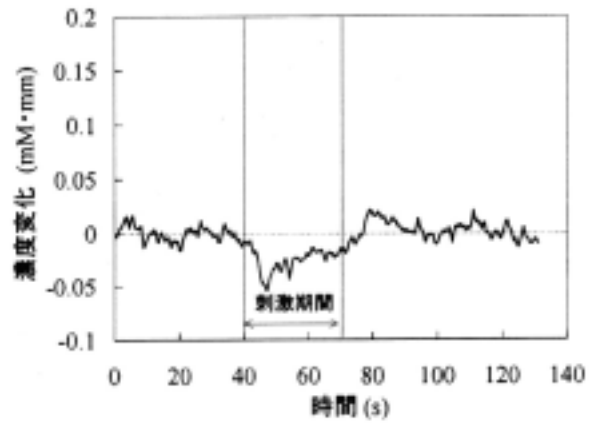


(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図8 8波長解析による右手刺激による左脳ヘモグロビン濃度変化

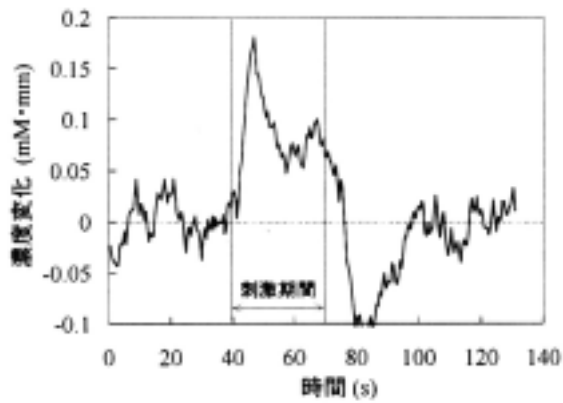


(a) 酸素化ヘモグロビン

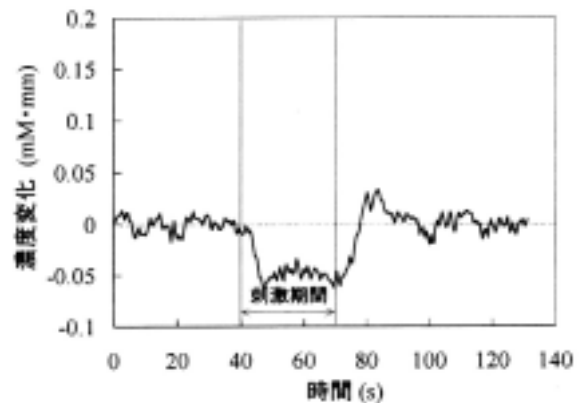


(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図9 8波長解析による左手刺激による左脳ヘモグロビン濃度変化

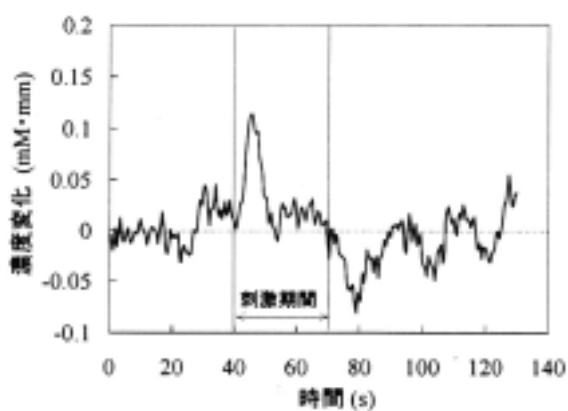


(a) 酸素化ヘモグロビン

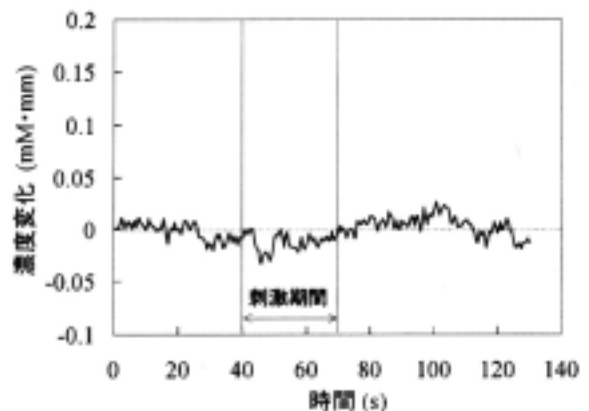


(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図10 8波長解析による左手刺激による右脳ヘモグロビン濃度変化



(a) 酸素化ヘモグロビン



(b) 脱酸素化ヘモグロビン

図11 8波長解析による右手刺激による右脳ヘモグロビン濃度変化

今回の精度向上の結果、右手刺激時での右脳計測及び左手刺激時での左脳計測（同側計測）において、対側計測に比べて小さいながらも酸素化及び脱酸素化ヘモグロビンの濃度変化が明確に検出されている（現在ではまだこのメカニズムは未解明）。従って、今後、この高精度計測方法を脳機能計測に幅広く応用することにより、従来では検出が困難であった微少な変化が検出可能となり、脳活動に伴う二次信号の解明に大きく寄与するものと思われる。

5.3 まとめ

以上、脳活動に伴う二次信号としての脳内ヘモグロビン濃度変化を高精度で計測する技術の研究開発を行った。この目的のために、まず8波長（予備波長を含めると9波長）を高感度で同時に計測できるシステムを開発した。このシステムを用いて、指運動に伴う脳活動を計測することで計測誤差を評価した結果、脱酸素化ヘモグロビンについては目標を大きく上回る効果が確認され、また、酸素化ヘモグロビンについては目標レベルの効果を確認した。

参考文献

1. S.Wray, M.Cope, D.T.Delpy, J.S.Wyatt, and E.O.R.Reynolds, " Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome aa3 and hemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation, " *Biochim. Biophys. Acta.*933,184-192 (1988)
2. O.W.van assendelft, " Spectrophotometry of hemoglobin derivatives " *Royal Vangorum, Netherlands*, (1970)
3. A.Maki, Y.Yamashita, Y.Ito, E.Watanabe, Y.Mayanagi, and H.Koizumi, " Spatial and Temporal analysis of human motor activity using noninvasive NIR topography, " *Med.Phys.*,22,1997-2005(1995)
4. Y.Yamashita, A.Maki, Y.Ito, E.Watanabe, Y.Mayanagi, and H.Koizumi, " Noninvasive near-infrared topography of human brain activity using, intensity modulation spectroscopy, " *Opt,Eng.*,35,1046-1049(1996)
5. E.Watanabe, Y.Yamashita, A.Maki, Y.Ito, and H.Koizumi, " Non-invasive functional mapping with multi-channel near infra-red spectroscopic tomography in humans, " *Neurosci. Lett.*,205,41-44(1996)