

皮膚の光音響学的診断法の開発

防衛医科大学校防衛医学研究センター情報システム研究部門

佐藤 俊一

Chromophores in skin tissue, such as melanin and hemoglobin, can be excited by irradiation with short pulsed light, by which adiabatic expansion occurs in the chromophores and as a result, photoacoustic waves are emitted in the tissue. By detecting the photoacoustic waves on the skin surface, we can obtain information on the distributions of chromophores in the skin, which is an important factor for determining cosmetic characteristics of the skin. The objective of this study was to develop a new modality for skin diagnosis, based on the photoacoustic technique. To investigate the validity of this technique, we performed multiwavelength measurements of photoacoustic signals induced in rat skins and human skins under the various experimental conditions. We used a transducer which consisted of an annular P(VdF/TrFE) (vinylidene fluoride trifluoroethylene copolymer) film and a quartz fiber; the film and fiber were coaxially arranged. Output pulses from an OPO (optical parametric oscillator) were coupled to the fiber and transmitted pulses irradiated skins. Photoacoustic signals induced were recorded in a high-speed digital oscilloscope. For human forearm skins, photoacoustic signal peaks appeared in the depth range of 0.1 - 0.2 mm, which were thought to be originated from melanin in the epidermis. The signal amplitude for the forearm outside skin was higher than that for the inside skin, indicating the higher melanin content in the outside skin due to exposure to larger amount of sunlight. For human palm skin, no clear signal originating from melanin was observed, while signal peaks which were thought to be originated from hemoglobin were observed in the three depth ranges: 0.3 - 0.4 mm, 0.75 - 0.8 mm, and 1.1 - 1.2 mm. These results suggest the validity of this method for depth-resolved skin diagnosis.

1. 緒言

コスメトロジー分野において、皮膚の色調や組織の吸収・散乱係数などの光学特性を評価する技術は非常に重要である。皮膚の色については、近年、マルチスペクトルイメージング技術の進歩により客観的評価技術が確立しつつあるが、これにより色を決定する各種色素（メラニン、ヘモグロビンなど）の深さ方向分布に関する定量的情報を得ることはできない。そこで本研究は、光音響学的アプローチにより、皮膚組織中（一部皮下組織を含む）の色素の深さ方向分布をリアルタイムで計測する新しい診断技術を開発することを目的とした。

光音響学的診断法（以下、単に光音響法と呼ぶ）の原理については次項で述べるが、簡単には、組織に光を照射し、吸収体（chromophore）が発生する音響波を検出する診断法である。光診断と超音波診断の両方の特徴を併せ持ち、検出対象が音波であるために、光診断の最大の問題である散乱による信号の減衰の影響を直接的には受けない。このため、比較的深い組織を高い空間分解能で観測することができ、ヒトの皮膚や皮下組織の診断に十分な能力を有する。



Development of photoacoustic skin diagnostics

Shunichi Sato

Division of Biomedical Information Sciences, National Defense Medical College Research Institute

歴史的にみると、光音響効果は1880年 Bellにより報告され¹⁾、その後一般科学技術分野、産業分野において様々な応用技術が開発されてきた。しかし、生体・医学分野において研究が盛んになってきたのは2000年代に入ることである。ここ1～2年の技術的進展は著しく、診断の対象は全身のほぼ全ての組織と言ってよいが、皮膚科学分野の応用は特に重要な位置づけにある。

2. 原理

簡単のため、図1に示すような深さ $z = z_0$ に吸収係数 μ_a の層が存在する半無限透明媒質（散乱係数 $\mu_s = 0$ ）の表面に、時刻 $t = 0$ でパルス幅 τ_p 、フルエンス F_0 のビーム径の大きいレーザー光を照射することを考える。レーザー光は吸収層で吸収されて熱に変換されるが、応力の閉じ込め条件（ $\tau_p \ll 1/\mu_a v_s$ 、 v_s は音速）が満たされると、熱弾性過程により次式で示される圧力波が効率的に放出され、これを光音響波と呼ぶ。

$$p(z) = (\beta v_s^2 / c_p) \mu_a F_0 \exp(-\mu_a z) \quad (1)$$

ここで β は体積膨張率、 c_p は定圧比熱、 $\beta v_s^2 / c_p = \Gamma$ は Grüneisen 係数と呼ばれる無次元数で、光から熱弾性波への変換効率を表す。上記の応力閉じ込め条件は、多くの生体応用において、ナノ秒オーダー（ $10^{-9} - 10^{-8}$ s）のパルス光を使用することで満たされる。

(1) 式で示される圧力波（光音響波）は二分され、それぞれ媒質の表面方向と裏面方向に伝搬する。前者を媒質表面（ $z = 0$ ）に配置した検出器（図の transducer #1）で検出すると、その振幅ないし指数関数的スロープより μ_a

に関する情報を、また伝搬時間と音速 v_s の積より吸収層の深さ z_0 を知ることができる（後方または反射型検出方式）。検出器を媒質裏面に配置する形式（図の transducer #2）でも同様の計測が可能であるが（前方または透過型検出方式）、皮膚を対象とする場合は反射型検出方式が用いられる。複数の吸収層がある場合も、観測した光音響波を各層で発生する光音響波の合成と考えればよく、この方法により、吸収体の深さ方向分布計測（depth profiling）が可能となる。検出器を走査すれば吸収体の二次元断層情報を得ることができ、これを光音響トモグラフィー（PAT: photoacoustic tomography）などと呼ぶ。

本研究では、皮膚の光音響診断を行うための実験系を構築し、まず動物（ラット）の皮膚を対象とした実験により

基礎データの収集を行った。次に、これに基づいてヒト皮膚の光音響信号の取得を試み、本診断法の有用性について検討を行った。

3. 実験

光音響波計測においては、照射光の波長とパルスエネルギーが重要なパラメータとなる。光音響波は光が組織中の chromophore に吸収され、断熱的に膨張することにより発生するため（熱弾性過程）、観測したい吸収体の吸収スペクトルに合った波長の光を照射する必要がある。皮膚の代表的な吸収体であるメラニン^{2, 3)}とヘモグロビン⁴⁻⁶⁾の吸収スペクトルを図2にまとめた。メラニンの吸収係数は波長が短くなるに従い単調に増大するのに対し、ヘモグ

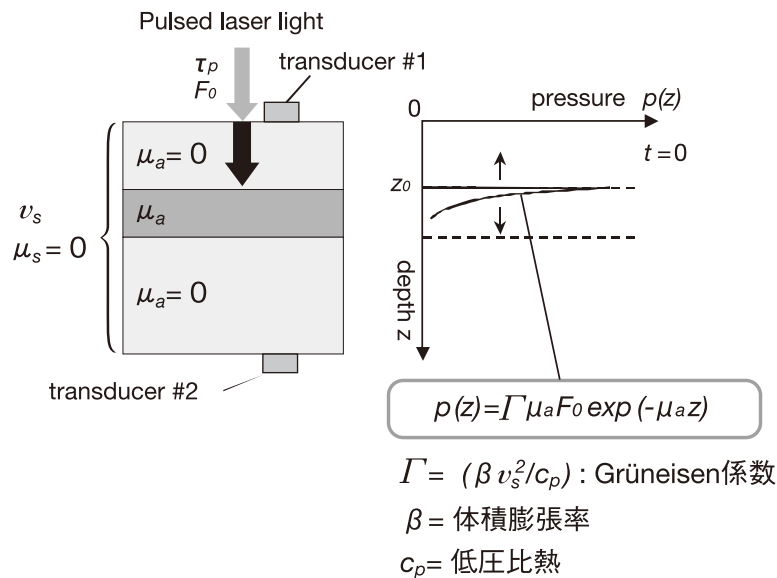


図1 光音響法の原理図

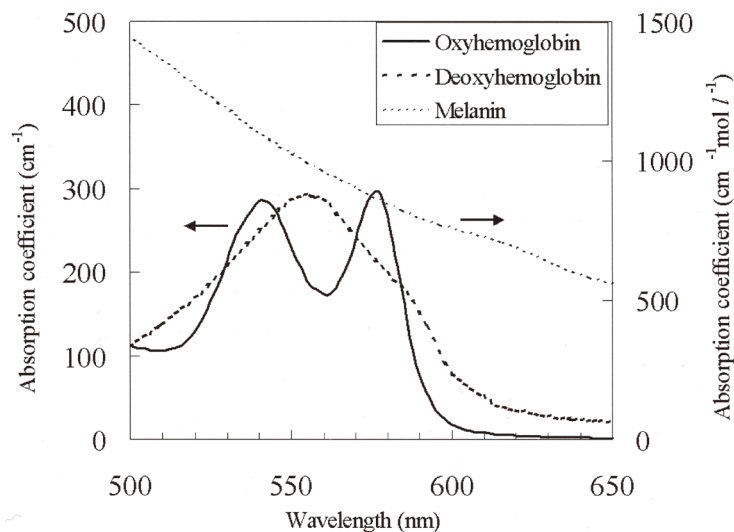


図2 メラニン、ヘモグロビンの吸収スペクトル（文献2-6のデータより作成）

ロビン、特に酸素化ヘモグロビンは複雑な吸収スペクトルを示し、わずか数 nm 程度の波長の違いが光音響波の発生に大きな影響を与えうる。逆にこの点を利用して、皮膚組織中のヘモダイナミクスを評価することも可能である。また適切な波長を選定しても、光エネルギーが不十分であると検出に十分な信号を得られない。一般に光は、生体組織中で吸収と散乱を受けて大きく減衰するため、特に深部の吸収体を観測するためには高いエネルギーが必要となる。ただし、エネルギーを高くしすぎると皮膚損傷を招くおそれがあるため、一定の制限を受ける。以上の観点より、本研究ではまずラット皮膚を対象に、照射光パラメータが光音響信号にどのような影響を与えるかについて調べた。

実験に用いた検出器と装置の構成を図3に示す。光音響波の検出に用いた圧電素子は外径 5.5 mm、内径 1.5 mm、厚さ 30 μ m のリング形 P(VdF/TrFE) (フッ化ビニリデン/三フッ化エチレン共重合体) フィルム (東レ製) で、周波数帯域 (-6 dB 帯域) は 13.6 - 39.2MHz である。この素子の中心部に光音響波の励起光を伝送するための石英光ファイバー (コア径 600 μ m) を配置した。これら素子とファイバー出射端の下面には、皮膚からの反射光を減弱させるため、厚さ 6 mm の PMMA (ポリメチルメタクリレート) のスペーサを設けた。ファイバー出射光はこのスペーサを透過して皮膚に照射され、発生した光音響波もこのスペーサを伝搬して素子に到達する。光音響波励起用の

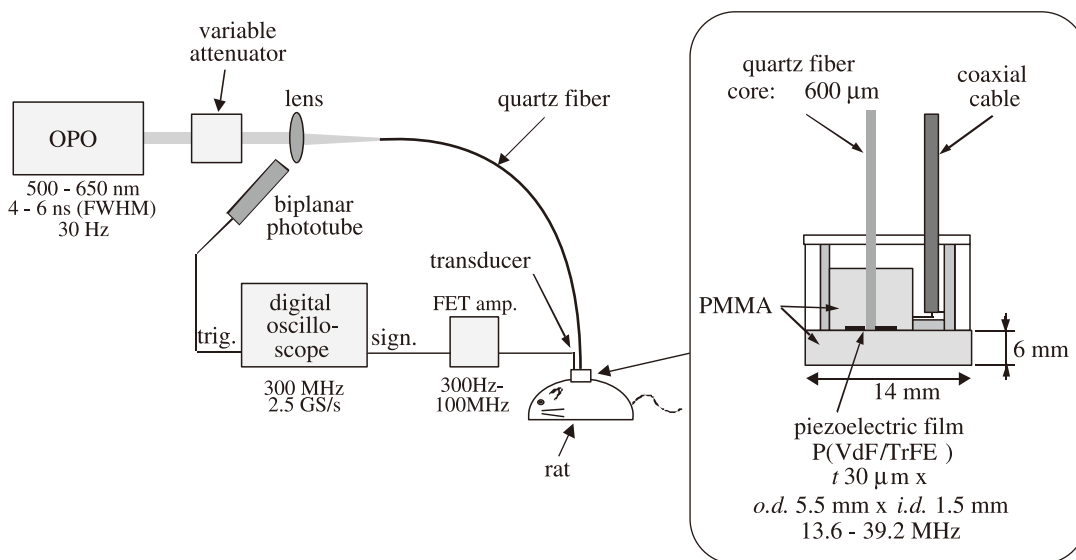


図3 実験装置の構成 (左) と検出器の構造 (右)

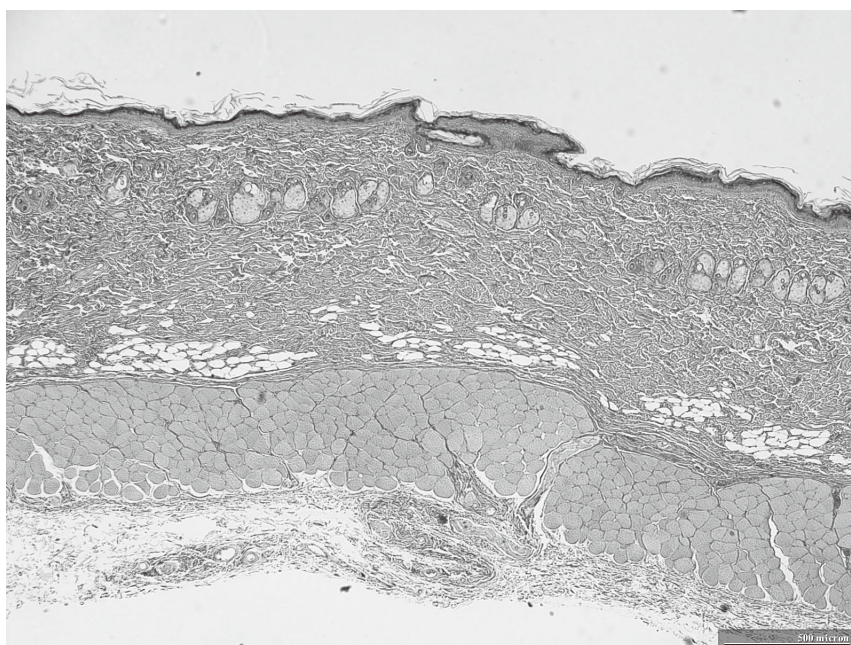


図4 ラット背部皮膚の組織画像 (HE 染色)。スケールバー 500 μ m

光源には出力波長可変の光パラメトリック発振器 (OPO : optical parametric oscillator) を用いた。OPO の出力光は可変アッテネータを介して前記ファイバーに導入した。圧電素子の出力信号 (電圧信号) は同軸ケーブルを介して FET (電界効果トランジスタ) 増幅器で増幅後、デジタルオシロスコープで記録した。

ラットを用いた実験は、Wistar 系ラットオス、体重約 400 g の背部および腹部の皮膚を計測対象とした。図 4 に背部皮膚の組織画像を示す。表皮および真皮の厚さはそれぞれ 70 - 80 μm 、約 1 mm であった。全身麻酔下 (ペントバルビタール 50 mg/kg) で皮膚を剃毛、除毛し、約 1 時間経過後に計測を行った。計測の状況を図 5 に示す。ヒト皮膚の計測は、著者 (47 歳、男性) の前腕皮膚 (内側、外側) と手掌部を対象に行った。計測部位の写真を図 6 に示す。全ての計測において、検出器は超音波ゼリーを塗布して皮膚に接触させた。

4. 結果および考察

4.1 ラット皮膚の光音響波計測

ラット背部皮膚を対象に、波長 532, 560, 600 nm の 3

条件において、照射パルス光エネルギーを最大 500 μJ まで変化させて光音響信号を取得した。図 7 に波長 532 nm の場合 (酸化ヘモグロビンと脱酸化ヘモグロビンのほぼ等吸収点) の信号波形を示す。ここで、時間波形を音速 1500 m/s を用いて深度分布に変換した。信号は照射エネルギーが大きくなるに従い増大し、深さ約 0.1 mm 付近、0.7 mm 付近、1.3 mm 付近の三箇所に顕著なピークが認められる。組織画像 (図 4) より、これらの深度はそれぞれ、表皮深部ないし真皮最上部、真皮深部、皮下組織 (筋層) に相当することがわかる。

図 8 に各波長における最大ピーク信号 (振幅) の照射パルスエネルギー依存性を示す。(1) 式より、発生する光音響波の圧力は吸収エネルギーすなわち照射光エネルギーに比例するが、同図は 450 μJ 付近までその関係が成立していることを示している。また信号の大きさは、波長 600 nm < 560 nm < 532 nm の順に大きくなっており、これは酸化ヘモグロビンの吸収係数の順に対応している (図 2)。これより、これらの波長における計測においては、上記各深度領域における酸化ヘモグロビンが主な吸収体として働いていることが推察される。ただし 600 nm においては、



図5 ラット皮膚の光音響波計測状況

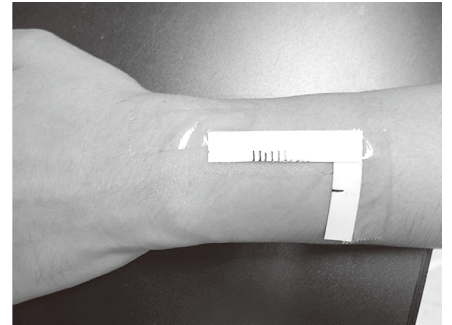
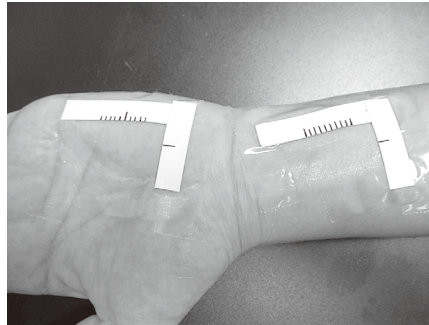


図6 ヒト皮膚の光音響波計測部位。手掌部および前腕内側 (左), 前腕外側 (右)

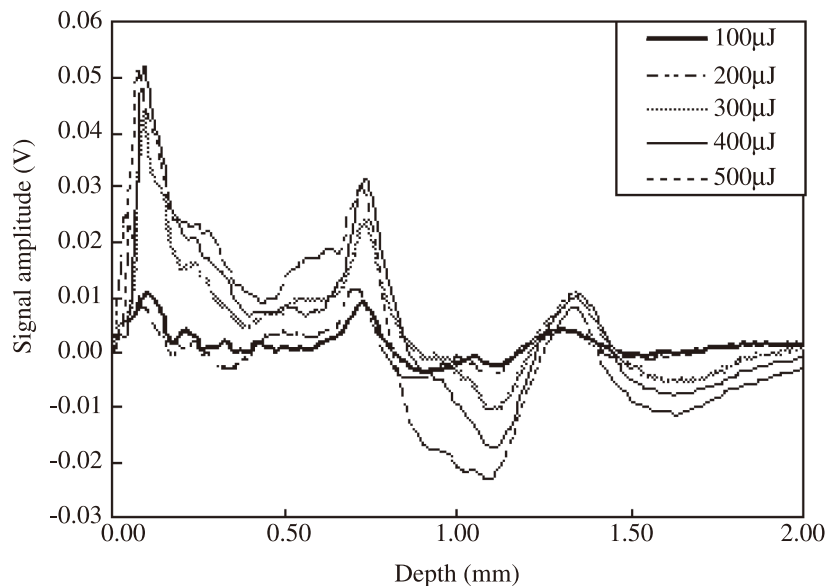


図7 照射光パルスエネルギーを変化させた場合のラット背部皮膚の光音響信号波形。波長 532nm

脱酸素化ヘモグロビンの吸収係数が酸素化ヘモグロビンの吸収係数より4倍以上高いことから、他の波長と比較して、脱酸素化ヘモグロビンの寄与が大きくなっていると考えられる。

図9に波長500 - 665nmの帯域における、上記の三つのピーク信号の波長依存性(光音響スペクトル)を示す。第二の(真皮深部の)信号ピークのスペクトルは明確な双峰性を示し、酸素化ヘモグロビンの吸収スペクトルと同様の傾向を示している。これに対し、第一の(表皮から真皮最上部の)信号ピークのスペクトルは500nmにおいて最大となっており、ヘモグロビンの吸収スペクトルと大きく異なっている。これは表皮中のメラニン等が主要な吸収体

となっていることを示唆するデータである。一方、第三の(皮下組織の)信号ピークのスペクトルは、長波長側で低下がみられないことが特徴的である。これは、長波長の光の組織内減衰が小さく、比較的大きな光エネルギーが皮下組織に到達していることによると考えられる。

以上は全て同一ラットの同一部位(背部)のデータであるが、図10に二匹のラットのそれぞれ背部と腹部を対象に計測した光音響信号の比較を示す。これより、背部および腹部同士の信号の個体差は大きくないが、背部と腹部の信号には大きな違いがあることがわかる。すなわち腹部皮膚の信号には、背部皮膚の表層付近に観測された顕著なピークがみられない。用いたラットにおいては、背部皮膚表

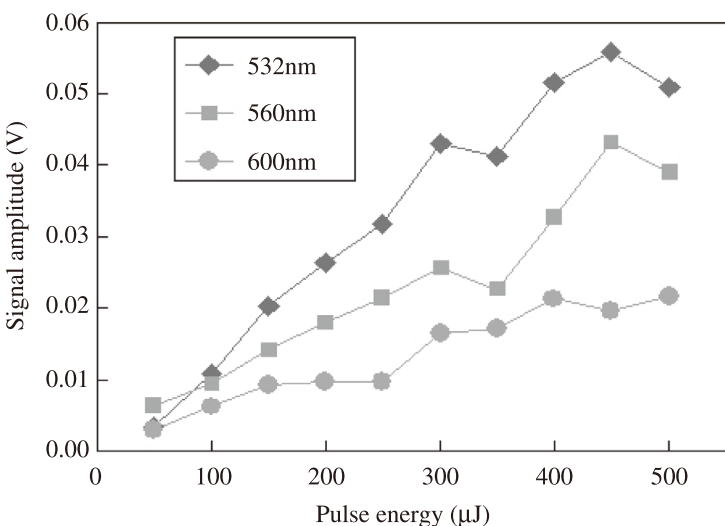


図8 波長532nm, 560nm, 600nmにおけるラット背部皮膚の最大光音響信号の照射光エネルギー依存性

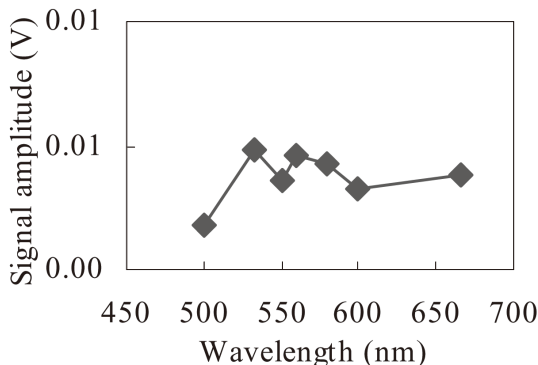
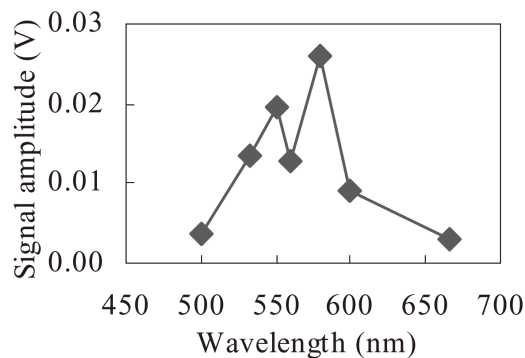
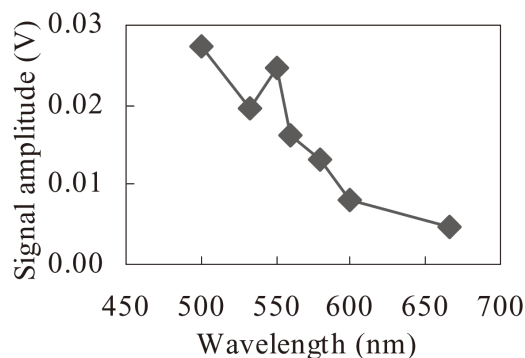


図9 ラット2匹のそれぞれの背部皮膚、腹部皮膚の光音響信号波形。照射光波長532nm, パルスエネルギー300μJ

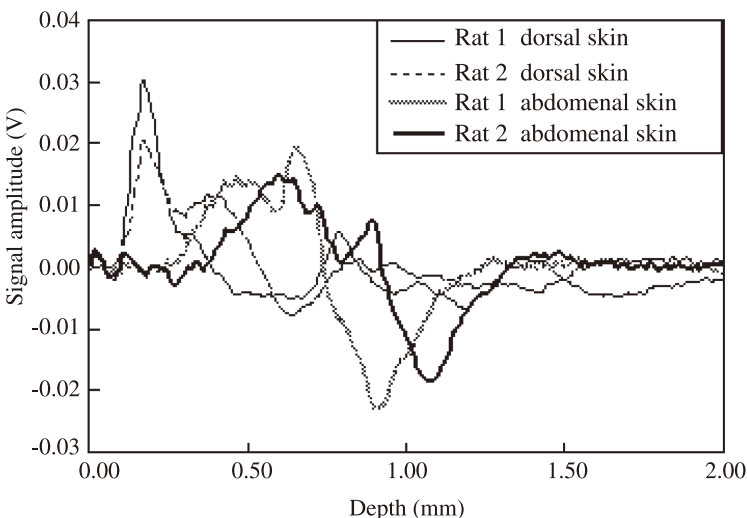


図10 ラット背部皮膚の光音響信号の波長依存性(光音響スペクトル)。第1ピーク(上段), 第2ピーク(中段), 第3ピーク(下段)

面に淡褐色の色素沈着が認められたのに対し、腹部ではこれがなかった。この色素沈着は、剃毛、除毛の過程で目視上は消失したが、背部皮膚においては残留色素成分に起因する光音響信号がピークとして表れたものと考えられる。この結果は、本光音響診断法の感度の高さを示すものである。

4.2 ヒト皮膚の光音響波計測

著者（47歳、男性）の前腕皮膚（内側、外側）と手掌部の直線2cm区間において、検出器を2mm間隔で走査して光音響波の計測を行った（図6）。パルスエネルギーは200 μ Jで一定、測定波長は532nm（酸素化・脱酸素化ヘモグロビン等吸収点）、556nm（脱酸素化ヘモグロビンによる吸収が優勢）、576nm（酸素化ヘモグロビンによる吸収が優勢）、600nm（脱酸素化ヘモグロビンによる吸収が支配的）の4波長とした。前述したようにメラニンの吸収係数は波長が短くなるに従って大きくなることから、上記4波長の中では532nmにおいて最大になると考えられる。

図11, 12, 13にそれぞれ前腕皮膚内側、同外側および手掌部の各波長における10計測点の光音響波形を示す。各波形において、深さ0.1 - 0.2mm付近にある信号ピークは、表皮中のメラニンに由来すると考えられる。いま同深度領域にある波長532nmの信号ピークに着目すると、前腕内側で0.04 - 0.1Vであるのに対し、前腕外側で0.06 - 0.15Vと高くなっている。これは紫外線暴露量が多い後

者の部位において、メラニン濃度が高くなっていることを示している。また手掌部はメラニン濃度が低いことが知られているが、同部位の信号ピーク（深度0.1 - 0.2mm、波長532nm）は0.02V以下と低い値を示している。このように、光音響信号ピークとメラニン量の間には明確な相関が認められた。

前腕内側および外側の深度0.2 - 0.4mm付近の信号ピークは、メラニンと真皮上部のヘモグロビンの両方に由来していると考えられる。今回取得したデータから両因子の寄与率を見積もることは困難であるが、同一点、同一深度の信号の振幅の波長依存性を詳しく調べることにより、ある程度の定量化は可能であると考えられる。一方、手掌部の0.2mmより深い領域の信号は、酸素化・脱酸素化何れかのヘモグロビンに由来すると考えられる。532nm（等吸収点）、556nm（脱酸素化ヘモグロビン優勢）、576nm（酸素化ヘモグロビン優勢）の各波長の波形によると、深さ0.3 - 0.4mm付近、0.75 - 0.8mm付近、1.1 - 1.2mm付近に信号ピークが認められ、これら深度領域に血液層が存在していることを示している。脱酸素化ヘモグロビンによる吸収が支配的な600nmの信号において顕著な信号ピークが認められないことから、上記の各信号ピークは酸素化ヘモグロビンによる吸収の寄与率が高いと考えられる。600nmの信号においては、深さ1.3 - 1.4mm付近に小さな信号ピークが認められ、この深度領域において脱酸素化ヘモグロビンの濃度が高くなっている可能性を示唆してい

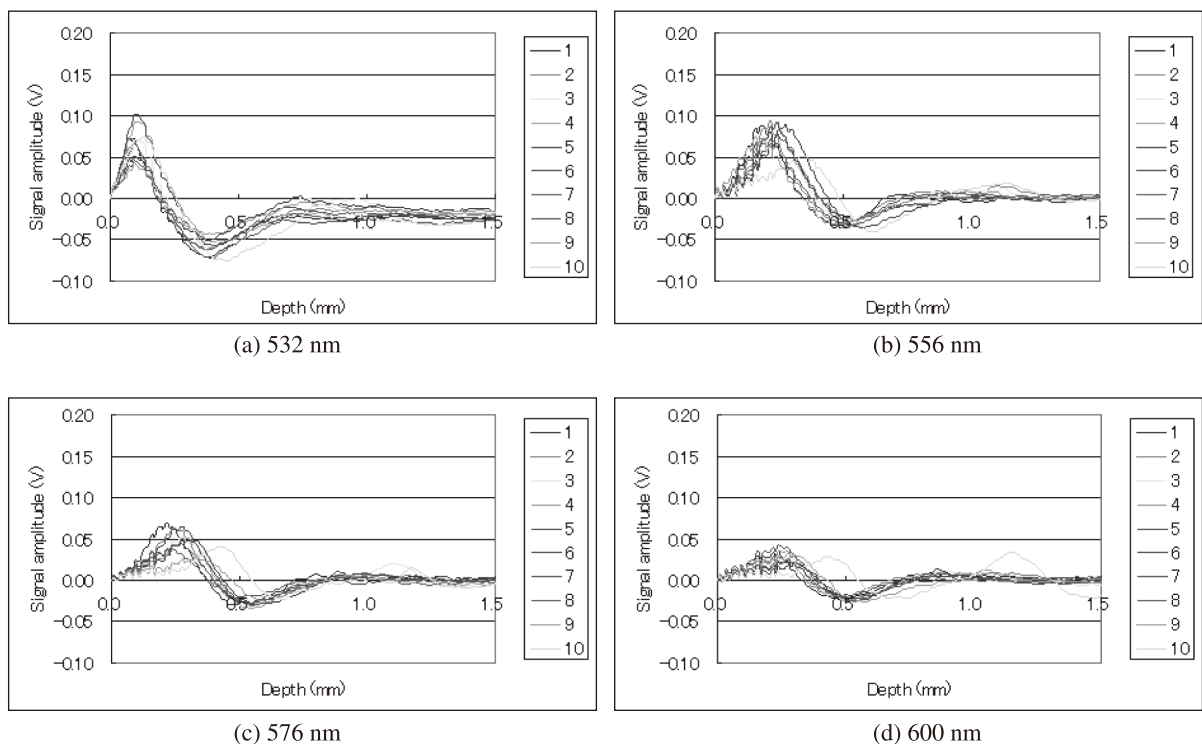


図11 各波長におけるヒト前腕内側皮膚10点の光音響信号波形。パルスエネルギー 200 μ J

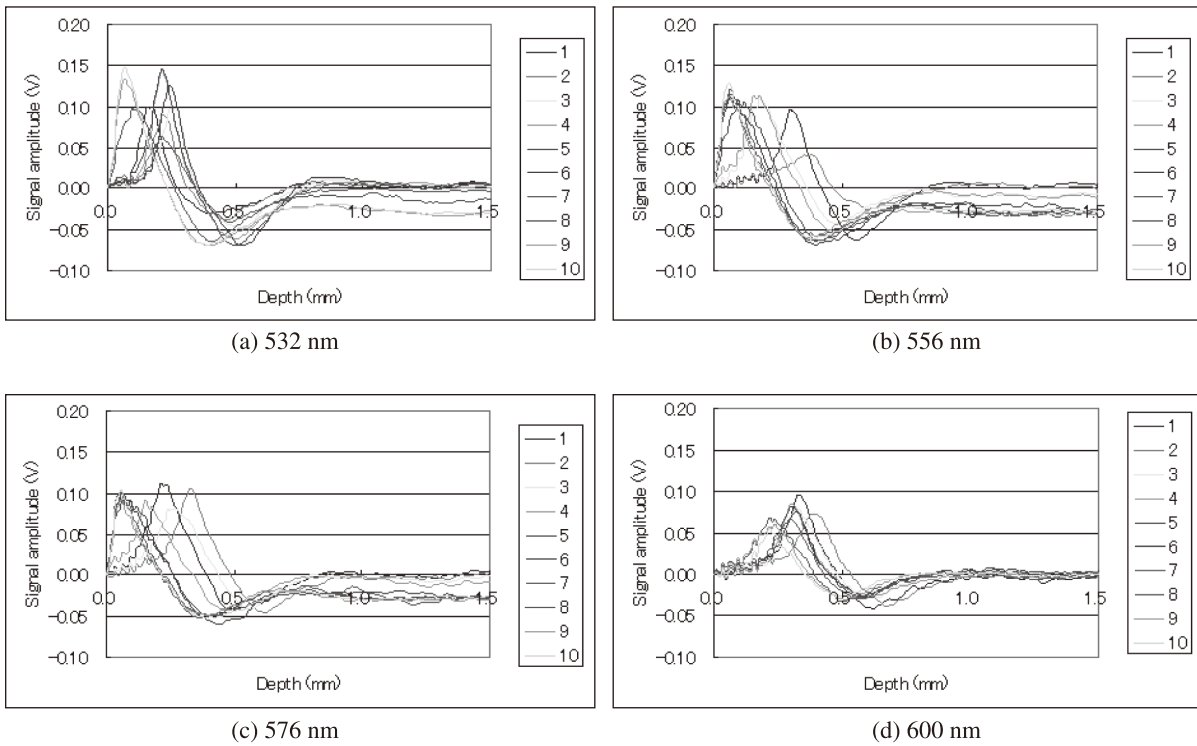


図 12 各波長におけるヒト前腕外側皮膚 10 点の光音響信号波形。パルスエネルギー 200 μ J

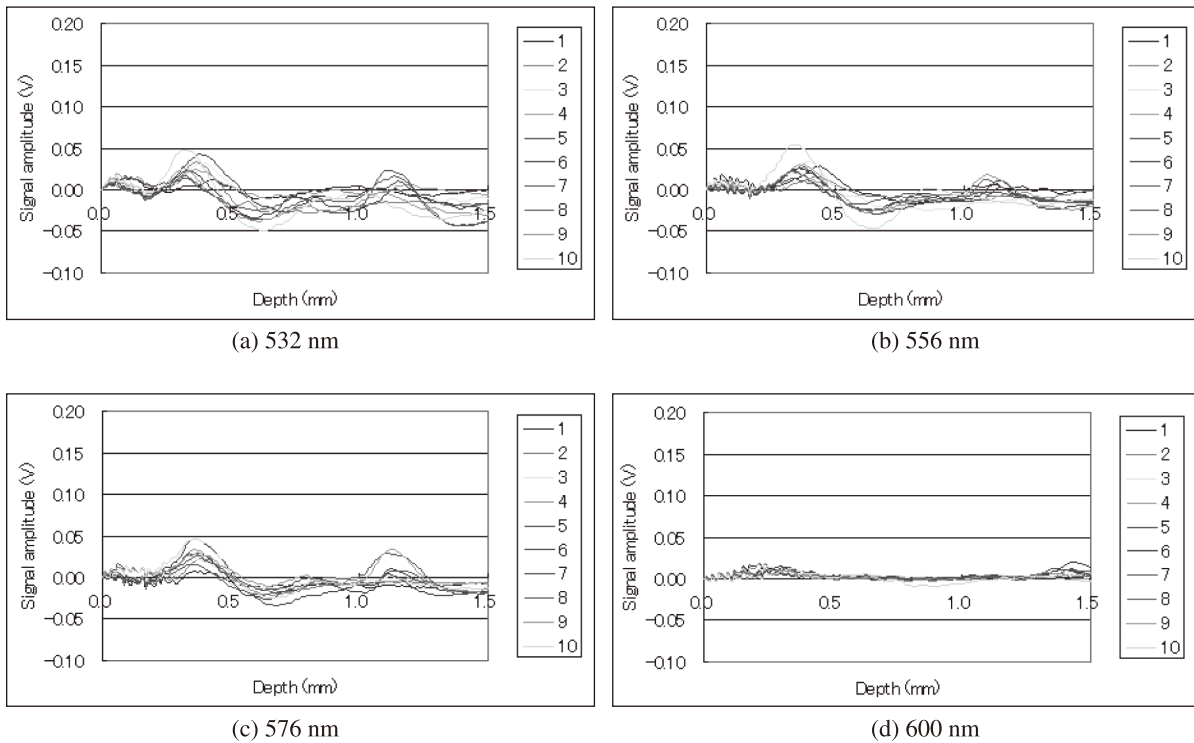


図 13 各波長におけるヒト手掌部皮膚 10 点の光音響信号波形。パルスエネルギー 200 μ J

る。

図 11, 12, 13 の各点のデータより信号の二次元分布を求めた結果（光音響トモグラム）を図 14 に示す。上述した傾向を視覚的に捉えることができる。

今回の実験は、波長毎に三部位の計測を行ったことから、同一部位の各波長のデータ取得時間には数 10 分の時間差がある。この間の信号の時間変動が無視できれば、各波長の信号の比を取り、例えば、556nm/532nm, 576nm/532nm が一定値以上の領域を、それぞれ静脈と動脈として表示することも可能であろう。また波長を高速で走査してメラニンの光音響信号スペクトルを得ることによ

り、黒色メラニンと黄色メラニンの分布を診断できる可能性もある。

5. 総括

光音響法が皮膚組織中のメラニン、ヘモグロビンなどの深さ分布を診断するのに有効であることがわかった。本方法は無侵襲かつリアルタイムの皮膚診断が可能であり、皮膚診断用ツールとして有望である。今後、装置の小型・軽量化および上述した高機能化に取り組み、コスメトロジー分野での実用化を目指したい。

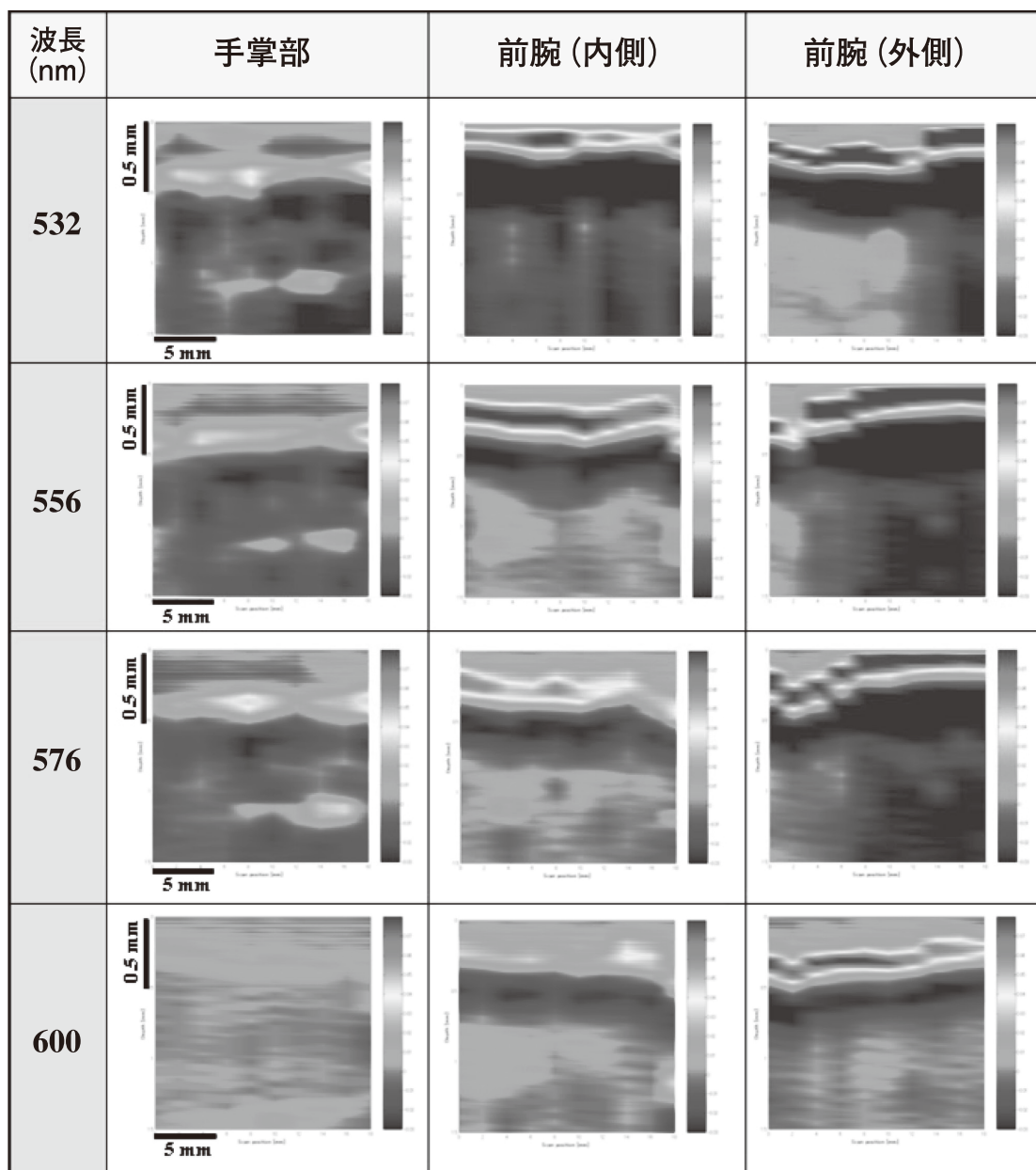


図 14 各波長における手掌部, 前腕内側, 前腕外側の光音響トモグラム。カラーバーにおいて、青色から赤色に行くに従い光音響信号（振幅）が大きくなる。パルスエネルギー 200 μ J

(参考文献)

- 1) Bell AG, :The production and reproduction of sound by light, Am. J. Sci., 20, 305, 1880.
- 2) Sarna T and Sealy RC, :Photoinduced oxygen consumption in melanin systems. Action spectra and quantum yields foreumelanin and synthetic melanin, Photochem. Photobiol., 39, 69-74, 1984.
- 3) Crippa RP, Cristofolletti V, and Romeo N, :A band model for melanin deduced from optical absorption and photoconductivity experiments, Biochim. Biophys. Acta., 538, 164-170, 1987. 4) Schmitt JM, :Optical measurement of blood oxygenation by implantable telemetry, Technical Report G558-15, Stanford.
- 5) Moaveni MK, :A multiple scattering field theory applied to whole blood, Ph.D. dissertation, Dept. of Electrical Engineering, University of Washington, 1970.
- 6) Takatani S and Graham MD, :Theoretical analysis of diffuse reflectance from a two-layer tissue model, IEEE Trans. Biomed. Eng., BME-26, 656-664, 1987.