

修 士 論 文 の 和 文 要 旨

研究科・専攻	大学院 情報理工学研究科 機械知能システム学専攻 博士前期課程		
氏 名	鈴木 崇弘	学籍番号	1732060
論 文 題 目	誤嚥防止のための近赤外蛍光を用いた咽頭残留検出法の開発		
<p>要 旨</p> <p>加齢に伴い低下する身体機能の一つに摂食機能がある。摂食とは食物を口に入れ噛み砕いて飲み込む一連のプロセスのことを言う。このプロセスの中でも特に重要なのが、嚥下と呼ばれる飲み込みの動作である。摂食嚥下障害と呼ばれる摂食機能が低下し嚥下が正常に行われにくい状態になると、雑菌を含んだ食物や唾液などが食道ではなく気道に入り込む誤嚥が引き起こされ、肺に炎症をきたすことがある。これを誤嚥性肺炎と言い、日本人高齢者の死因 3 位である肺炎の内 70 %以上を占めている。現在のところ、医療現場では誤嚥を検出する方法として、嚥下造影検査や嚥下内視鏡検査が主に用いられているが、X 線被曝の危険や操作が複雑であるといった問題がある。そこで我々は、嚥下反射後に発生する、食道と気道の分岐部にあたる咽頭腔に食物が残留する咽頭残留をきっかけに、食物が気道に入り込む嚥下後誤嚥について、被験者が摂取した蛍光剤入りの食物を体外から発光させ、その蛍光の程度で残留食物の有無を評価できる蛍光計測法を提案する。本蛍光計測法は、生体を透過しやすい波長領域を持つ近赤外光を照射および検出しており、非侵襲かつ安全性が高く、従来法よりも装置の小型化が可能である。本蛍光計測法により、より安全かつ簡易に咽頭残留を検出することができれば、誤嚥の危険性を早期に検知することが可能となり、誤嚥の予防と誤嚥リスクの早期発見が期待できる。本研究では、以下の項目について検討を行った。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 生体模擬試料を用いた計測実験による最大検出可能深さの検討 ・ 食肉を用いた計測実験による最大検出可能深さ向上のための影響因子の検討 ・ 臨床試験による蛍光計測システムの有用性評価 <p>その結果、以下の知見を得た。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 本蛍光計測システムは生体を模擬した食肉に対して 20 mm 前後の深さまで蛍光食物の検出が可能であり、食肉と比較してバックグラウンド蛍光が小さい生体に対してはより深い位置まで検出が可能であると考えられる。 ・ 近赤外光の照射点近傍で強く発生するバックグラウンド蛍光の影響を低減するため、蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバを、蛍光剤に起因する蛍光の蛍光強度自体が取得できる間隔内で可能な限り間隔を離して計測することで、高 SN 比での検出が可能である。 ・ 咽頭腔の梨状窩への食物残留状況が反映された蛍光を計測することができたため、本蛍光計測システムによって梨状窩に残留する蛍光食物の検出が可能である。 			

平成 30 年度 修士論文

誤嚥防止のための近赤外蛍光を用いた 咽頭残留検出法の開発

電気通信大学大学院 情報理工学研究科

機械知能システム学専攻 小池研究室

1732060 鈴木 崇弘

主指導教員 小池 卓二 教授

指導教員 横井 浩史 教授

提出日 2019 年 02 月 04 日

目次

第 1 章	緒言	1
第 2 章	摂食のメカニズムと誤嚥	2
2.1	摂食の正常メカニズム	2
2.2	摂食機能の加齢変化	6
2.3	誤嚥	6
2.4	咽頭残留	8
2.5	既存の嚥下機能の検査方法	11
2.5.1	嚥下造影検査	11
2.5.2	嚥下内視鏡検査	11
第 3 章	蛍光計測システム	12
3.1	蛍光計測法の提案	12
3.2	蛍光のプロセス	13
3.3	蛍光剤	15
3.4	蛍光計測装置	17
3.4.1	装置の構造	17
3.4.2	近赤外光	18
3.4.3	蛍光光子の検出原理	18
3.5	生体内の光伝播	22
3.6	バックグラウンド蛍光	23
第 4 章	生体模擬試料を用いた最大検出可能深さの検討	24
4.1	概要	24
4.2	計測方法	24
4.3	結果および考察	25
第 5 章	食肉を用いた検出可能深さ向上と残留量定量化のための関連因子の影響評価	27
5.1	概要	27
5.2	気道の影響評価	27
5.2.1	概要	27
5.2.2	計測方法	27
5.2.3	結果および考察	28
5.3	食品試料サイズの影響評価	30
5.3.1	概要	30
5.3.2	計測方法	30
5.3.3	結果および考察	31
5.4	ICG 濃度の影響評価	37

5.4.1	概要	37
5.4.2	計測方法.....	37
5.4.3	結果および考察.....	37
5.5	蛍光計測装置機構の影響評価.....	39
5.5.1	概要	39
5.5.2	計測方法.....	39
5.5.3	結果および考察.....	40
5.6	咽頭残留量の定量化の検討.....	44
第 6 章	均一媒体物質を用いたファイバ間隔の最適化検討.....	45
6.1	概要	45
6.2	方法	45
6.2.1	光学ファントムの調製.....	45
6.2.2	計測方法.....	45
6.3	結果および考察.....	46
6.3.1	実験結果.....	46
6.3.2	モンテカルロ・シミュレーション.....	47
6.3.3	実験結果とシミュレーション結果の比較.....	47
第 7 章	健常者を対象にした嚥下実験による蛍光計測システムの有用性評価.....	53
7.1	概要	53
7.2	計測方法	53
7.3	結果および考察.....	54
第 8 章	結言	59
第 9 章	今後の展望・課題.....	60
付録 A	摂食・嚥下障害チェックシート.....	61
付録 B	光拡散の可視化のための蛍光写真撮影.....	62
B.1	概要	62
B.2	方法	62
B.3	結果および考察.....	63
付録 C	ICG 希釈溶媒の影響評価.....	66
C.1	概要	66
C.2	計測方法	66
C.3	結果および考察.....	67
付録 D	残留 ICG の光退色を促進する LED アレイ作製.....	68
付録 E	プローブ形状の種類.....	69
参考文献	71
謝辞	74

学会発表	75
------------	----

List of Figures

Fig. 2.1	Structure of the pharynx and the larynx	4
Fig. 2.2	Process of eating	5
Fig. 2.3	Classification of aspiration.....	7
Fig. 2.4	Normal pharyngeal cavity image photographed with endoscope camera	9
Fig. 2.5	MRI normal neck image (87 year-old man).....	10
Fig. 3.1	Fluorescence measurement system for detecting aspiration risk	12
Fig. 3.2	Jablonski diagram	14
Fig. 3.3	Structural formula of ICG	15
Fig. 3.4	Powdery ICG before dilution.....	15
Fig. 3.5	ICG water solution of different ICG concentration.....	16
Fig. 3.6	Excitation and emission spectrum of ICG in water.....	16
Fig. 3.7	Picture of fluorescence measurement device	19
Fig. 3.8	Schematic of fluorescence measurement device	19
Fig. 3.9	Optical probe head	19
Fig. 3.10	Front panel of control box.....	20
Fig. 3.11	Biological optical window	20
Fig. 3.12	Photon counting detector	20
Fig. 3.13	Structure and principle of photon counting detector.....	21
Fig. 3.14	Linearity of photon counting detector.....	21
Fig. 3.15	Light propagation in tissues	22
Fig. 3.16	Fluorescence emission spectra of various endogenous tissue fluorophores.....	23
Fig. 4.1	Experimental set up for acquiring maximum detectable depth in beef phantom	26
Fig. 4.2	Food sample encapsulated in straw with paraffin film.....	26
Fig. 4.3	Relationship between depth and fluorescence intensity for acquiring maximum detectable depth in beef phantom.....	26
Fig. 5.1	Experimental set up for clarifying effect of the trachea.....	29
Fig. 5.2	Plastic tube that imitate thee trachea	29
Fig. 5.3	Effects of tube on fluorescence intensity	29
Fig. 5.4	Experimental set up for clarifying effects of volume and projected area of food sample	32
Fig. 5.5	Food samples with different volume	32
Fig. 5.6	Food samples with different projected area	32
Fig. 5.7	Relationship between depth and fluorescence intensity.....	33
Fig. 5.8	Relationship between volume and fluorescence intensity.....	34

Fig. 5.9	Relationship between projected area and fluorescence intensity	35
Fig. 5.10	Experimental setup for clarifying effect of ICG concentrations	38
Fig. 5.11	Relationship between ICG concentration and fluorescence intensity with different depths	38
Fig. 5.12	Experimental setup for clarifying effect of span between excitation fiber and detection fiber	40
Fig. 5.13	Relationship between depth and fluorescence intensity.....	41
Fig. 5.14	Relationship between span and fluorescence intensity	42
Fig. 5.15	Relationship between span and signal to background.....	43
Fig. 6.1	Experimental set up for optimizing span between excitation fiber and detection fiber using optical medium solution	48
Fig. 6.2	Relationship between span and fluorescence intensity	49
Fig. 6.3	Relationship between span and signal to background ratio	50
Fig. 6.4	Schematic of Monte Carlo simulation.....	51
Fig. 6.5	Injection points in simulation.....	51
Fig. 6.6	Relationship between SD position and fluorescence intensity.....	52
Fig. 6.7	Relationship between SD distance and contrast.....	52
Fig. 7.1	Marked position	55
Fig. 7.2	Positional relationship between mark and optical points.....	55
Fig. 7.3	Field angle of endoscopic image.....	55
Fig. 7.4	Endoscopic image of empty oral cavity	56
Fig. 7.5	Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M1, water, 2nd trial).....	56
Fig. 7.6	Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M1, ICG milk, 2nd trial)	56
Fig. 7.7	Endoscopic image on measuring M1	57
Fig. 7.8	Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M2, ICG milk, 1st trial).....	57
Fig. 7.9	Endoscopic image (M2, ICG milk, 1st trial).....	58
Fig. 7.10	Positional relationship between mark and piriform sinus on MRI normal neck image (87 year-old man).....	58
Fig. B.1	Photographed scene.....	64
Fig. B.2	Photographed angle.....	64
Fig. B.3	Pictures taken with IR scope and digital camera.....	65
Fig. C.1	Experimental set up for clarifying effect of kind of ICG solvents	67
Fig. C.2	Difference in fluorescence intensities between milk and egg white	67

Fig. D.1	LED array for promoting photobleach.....	68
Fig. E.1	Optical probe head	70

List of Table

Table 2.1	Classification of pharyngeal residue (solids, semisolids)	9
Table 2.2	Classification of pharyngeal residue (liquid)	9
Table 3.1	Optical parameters of body tissues in near-infrared wavelength	22
Table 5.1	Fluorescence intensities of food samples with different volume and projected area	36
Table 6.1	Optical properties of medium solution and detection object in experiment.....	48
Table 6.2	Optical properties of medium solution and detection object in simulation.....	51

第 1 章 緒言

日本における 65 歳以上の高齢者人口の割合を示す高齢化率は 27.7 %と世界で最も高く、その割合は今後もさらに上昇すると見込まれている [1]。加齢に伴い身体機能や認知能力の低下が進行すると、怪我や病気といったリスクが高まることから、高齢者が安心かつ安全に暮らせるための環境づくりを社会全体で構築する必要がある。

加齢に伴い低下する身体機能の一つに摂食機能がある。摂食とは食物を口に入れ噛み砕いて飲み込む一連のプロセスのことを言う。このプロセスの中でも特に重要なのが、嚥下と呼ばれる飲み込みの動作である。摂食嚥下障害と呼ばれる摂食機能が低下し嚥下が正常に行われにくい状態になると、雑菌を含んだ食物や唾液などが食道ではなく気道に入り込む誤嚥が引き起こされ、肺に炎症をきたすことがある。これを誤嚥性肺炎と言い、日本人高齢者の死因 3 位である肺炎の内 70 %以上を占めている [2]。その他にも摂食嚥下障害による影響は、栄養状態の悪化による体力・免疫力の低下や、食物が正常に摂取できないことによる精神的ストレスの増大などが挙げられる。したがって、健康寿命の延伸や生活の質の向上といった観点から、摂食嚥下障害の予防と摂食機能の維持・改善は喫緊の課題といえる。

しかしながら、摂食機能に関わる客観的データの蓄積および分析が少ないことから、現在のところ摂食嚥下障害の有無や症状の程度を的確に患者にフィードバックするのが困難であり、診断も医師の主観に依るところが大きい。また、誤嚥を体外から検出する方法として、嚥下運動を X 線透視画像で観察する嚥下造影検査 (VideoFluoroscopic examination of swallowing : VF) が使用されているが、X 線被曝の問題や装置が大掛かりであるといったことから頻繁に行うことはできない。内視鏡を使用して患者の咽頭部を観察する嚥下内視鏡検査 (VideoEndoscopic examination of swallowing : VE) についても診断の補助として用いられているが、内視鏡挿入に伴う鼻出血と痛みと嘔吐のリスクがあり、患者への負担が大きいという問題がある。さらに、筋肉の電位や機械的振動を計測し、頸部の筋活動を定量化することで摂食機能を評価する方法が提案されているが、頸部の筋構造の複雑さにより定量化が困難であり、実用化には至っていない [3]。

そこで、我々は嚥下反射後に発生する、食道と気道の分岐部にあたる咽頭腔に食物が残留する咽頭残留をきっかけに、食物が気道に入り込む嚥下後誤嚥について、患者が摂取した蛍光剤入りの食物を体外から発光させ、その蛍光の程度で残留食物の有無を評価できる蛍光計測法を提案する。本蛍光計測法は、生体を透過しやすい波長領域を持つ近赤外光を照射および検出しており、非侵襲かつ安全性が高く、従来法よりも装置の小型化が可能である。本蛍光計測法により、より安全かつ簡易に咽頭残留を検出することができれば、誤嚥の危険性を早期に検知することが可能となり、誤嚥の予防と誤嚥リスクの早期発見が期待できる。本研究では、生体模擬試料 (ファントム) を用いた計測実験を通じて、蛍光計測システムの最大検出可能深さの評価及びその向上のための影響因子の検討を行った。さらに、ヒトを対象にした臨床実験を通じて、本蛍光計測システムの有用性を検討した。

第 2 章 摂食のメカニズムと誤嚥

2.1 摂食の正常メカニズム

摂食が行われる咽頭 (pharynx)・喉頭部 (larynx) の構造を Fig. 2.1 [4]に示す. 摂食とは食物を認識して口に入れ, 咀嚼して飲み込むという一連のプロセスである (Fig. 2.2). このプロセスは, 食物の認識を行う認知期 (cognitive stage), 咀嚼を行う準備期 (preparatory stage), 咽頭への送り込みを行う口腔期 (oral stage), 咽頭を通過させて食道 (esophagus) への送り込みを行う咽頭期 (pharyngeal stage), 食道を通過させる食道期 (esophageal stage) という 5 期の段階に分けられる [5].

● 認知期

認知期とは, 感覚や記憶に基づき目の前の食物を認識し, 最適な処理方法を判断する過程である. 視床下部の摂食中枢や大脳皮質の前頭葉などが関与する.

● 準備期

準備期とは, 食物を口腔 (oral cavity) 内に取り込み咀嚼し, 嚥下に適した状態 (食塊) に加工する過程である (Fig. 2.2 (1)). 食物の認知後, 口唇・歯列・顎の運動を利用して, 口腔内に取り込む. 食物は舌により上下歯列間に置かれ, 下顎の運動により粉碎・臼磨される. 歯列外側と頬粘膜との密着により食物の口腔前庭 (oral vestibule) への流出が防がれ, 口唇閉鎖により口腔外への脱出が防がれる. 舌根 (root of tongue) と軟口蓋 (soft palate) が離れるため, 食物の一部が中咽頭 (oropharynx) に入り込む場合もあるが, 咀嚼中には反射は起こらない. 唾液が食物と攪拌され, 食塊が形成される. 食塊は, 舌尖 (apex of tongue) と舌側縁 (lingual border) が硬口蓋に密着してできた舌中央の陥凹部に集められる.

● 口腔期

口腔期とは, 食物を咀嚼後, 舌の随意運動により口腔から咽頭へ食塊が移動する過程である (Fig. 2.2 (2)). 咀嚼後, 舌背 (back of tongue) 中央に食塊を置き, 舌尖・舌側縁は硬口蓋に密着し食塊を包む. 舌根の拳上とともに軟口蓋と接し, 舌口蓋弓 (palatoglossal arch) が収縮すると口峡部 (口腔・中咽頭間) が遮断される. また, 口唇, 頬部も緊張する. 舌背のくぼみの前端から順次硬口蓋に押し付けられるように舌が拳上し, 食塊は後方部へ移動し咽頭に押し出される. このとき舌骨と喉頭がわずかに拳上する. 食塊の後方移動終了と同時に舌根部は前上方に移動し, 軟口蓋は後上方へ拳上して上咽頭 (epipharynx) が遮断, 口峡部が開放され食塊は咽頭へ送り込まれる. なお, 喉頭は喉頭蓋 (epiglottis) により閉鎖され, 食塊が気管 (trachea) に流れ込むのを防ぐ.

● 咽頭期

咽頭期とは、嚥下反射によって誘発される不随意運動で、咽頭に入った食塊の後端が食道入口部を通過する過程のことである (Fig. 2.2 (3))。食塊が舌により口腔後方へ移動するとき、舌背の大部分は硬口蓋に密着し口腔が遮断される。軟口蓋は拳上し、咽頭後壁に生じる隆起 (パッサーバン隆起) に接して鼻咽腔 (rhinopharynx) は遮断される。口腔、鼻咽腔遮断と同時に口峽部が開放されると食塊は中咽頭に送り込まれ、不随意運動である嚥下反射が誘発される。咽頭が収縮することで蠕動様運動波が生じ、食塊が食道入口部に到達する。ここで同時に、輪状咽頭筋の弛緩および喉頭の前上方への拳上により、食道入口部が拡大して食塊は食道へ送り込まれる。なお、嚥下反射は食塊が咽頭・喉頭にある知覚受容体を刺激し、舌咽神経や迷走神経を介して情報が延髄網様体の孤束核に入力することで始まる。そして、網様体内の嚥下中枢にプログラムされているパターン運動が疑核、三叉神経核、顔面神経核、舌下神経核などの運動核より出力される。これらはパターン化された極めて再現性の高い運動であるが、食塊の量や粘度により微調整がおこなわれる。

● 食道期

食道期とは、蠕動運動と重力により食塊が食道入口部から胃まで移動する過程のことである (Fig. 2.2 (4))。食道入口部を通過した食塊は、咽頭収縮筋の蠕動様運動に引き続く第一次蠕動波と重力により胃へ送り込まれるが、通過時に食道の感覚受容器が刺激され第二次蠕動波が起こり、移動は促進される。食塊後端が食道入口部を通過後、咽頭は急速に下降し、輪状咽頭筋は再び収縮する。

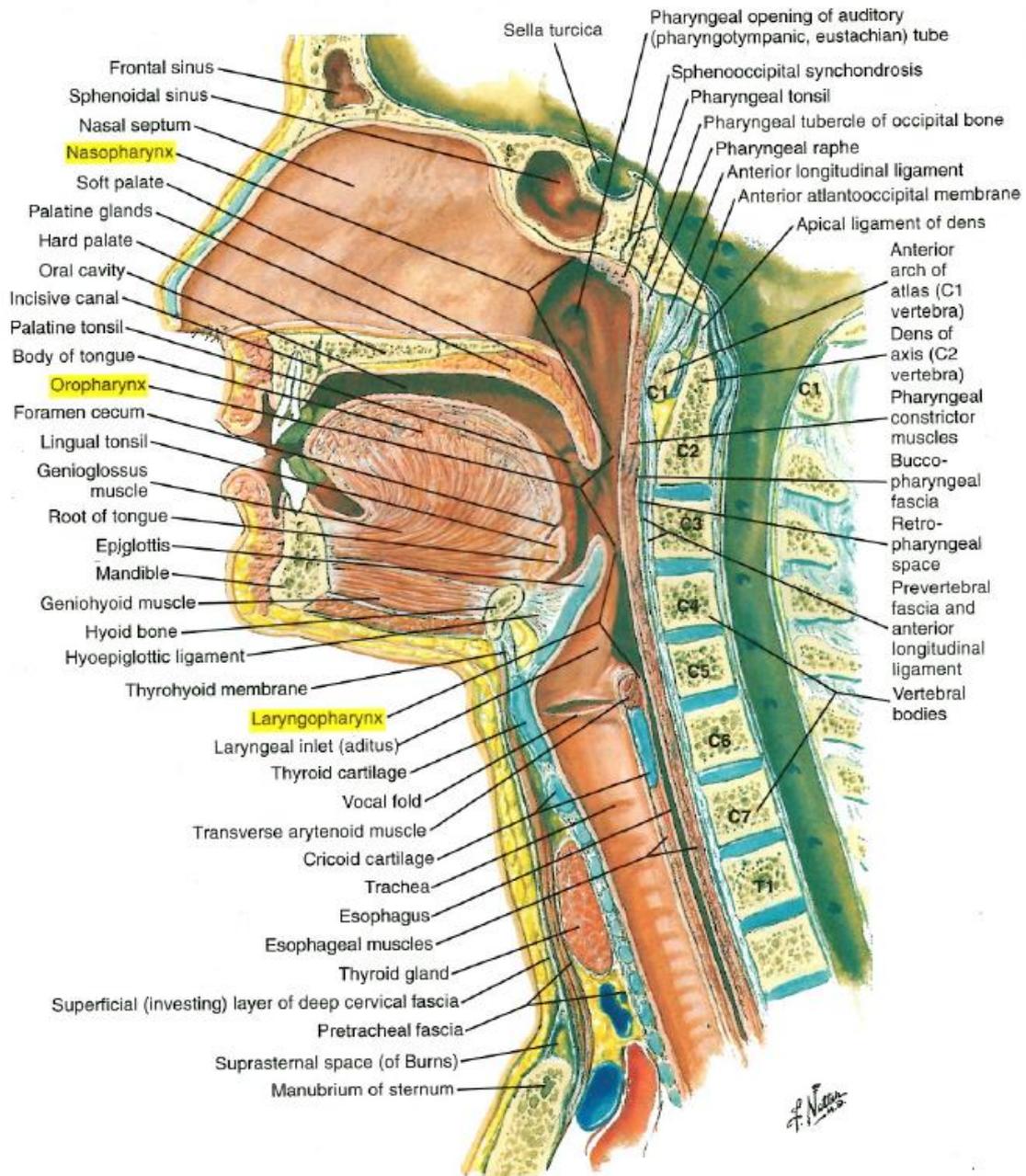


Fig. 2.1 Structure of the pharynx and the larynx [4]

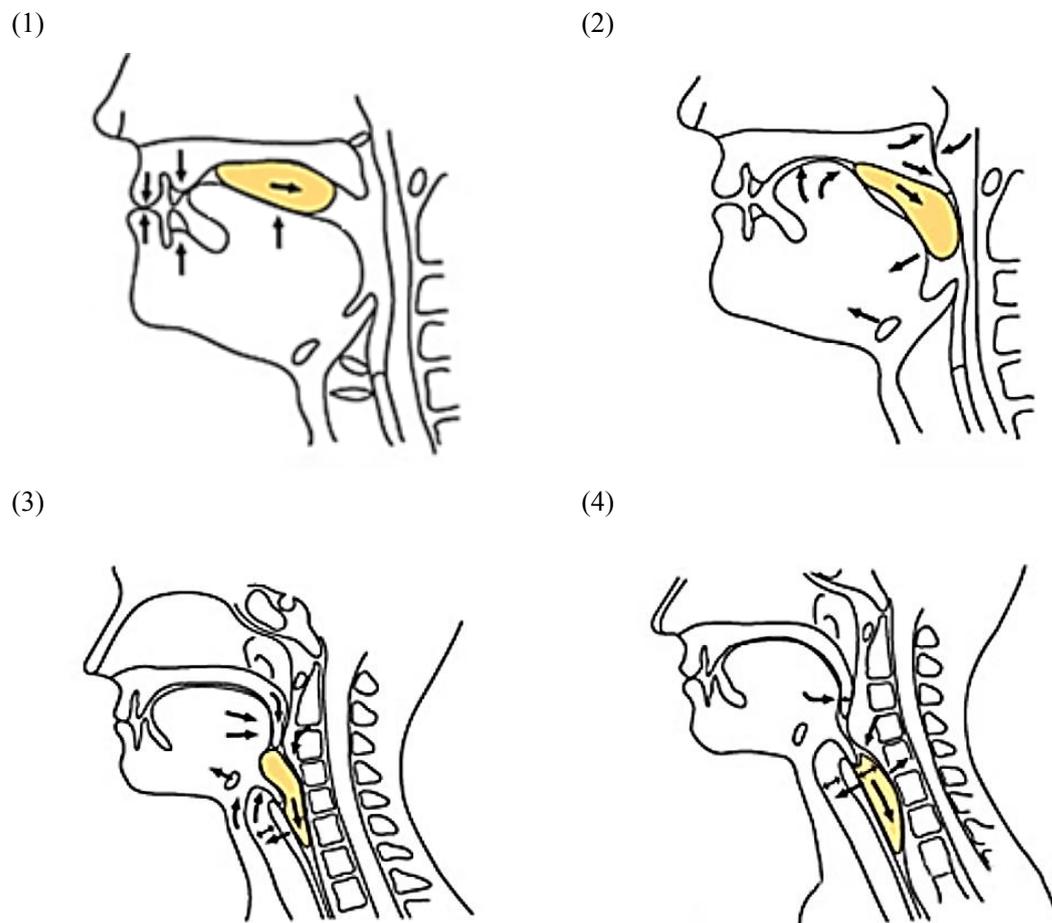


Fig. 2.2 Process of eating

(1) Preparatory stage, (2) oral stage, (3) pharyngeal stage, (4) esophageal stage.

2.2 摂食機能の加齢変化

身体機能の一つである摂食機能は他の機能と同様に、老化に伴い低下する。咀嚼にあたる準備期では、歯牙の喪失などにより、咀嚼回数の増加や咀嚼時間の延長が認められる。また、嚥下に必要な口唇圧や舌圧は保たれるが、最大圧は低下し予備能の低下が生じる [6]。口腔期では、味覚低下、唾液分泌能低下、舌運動の低下などが認められる。咽頭期では、神経系の機能低下、嚥下関連筋群の筋緊張の低下、靭帯の緩みなどから、嚥下反射の遅延や安静時の喉頭下垂、喉頭挙上量の低下などが生じるため、気道閉鎖や食道入口部の開大が阻害される。さらに、収縮速度の早い速筋線維の割合が減少し、遅筋線維の割合が増加することで筋収縮速度や収縮力が低下する。その結果、嚥下において喉頭挙上速度の低下による喉頭挙上の遅れや食塊駆動力の低下につながり、摂食嚥下障害が起こりやすくなる [7]。

2.3 誤嚥

誤嚥は摂食嚥下障害の中で最も深刻な症状である。誤嚥とは食道に送り込まれるべき食塊や水分が声門を越えて気管や気管支に入ってしまった状態を意味する。誤嚥に陥った場合、通常は激しくむせて誤嚥物を喀出しようとする防御機構が働くが、気管の感覚低下などによりむせや咳嗽などの反応がない場合もある。また、外見上で誤嚥の有無の判断が困難なため、誤嚥性肺炎のリスクが高まる [8]。

誤嚥は先に述べた摂食のいずれの段階に問題が生じても起こる。しかし、それらは連続した一連の流れであることから、ある段階にのみ障害が生じるのではなく、実際には複数の段階に重なって生じる場合が多い。また、前の段階が適切にできていないために、次の段階で適切な動きができないということもある [9]。誤嚥の生じる時期によって、しばし嚥下前誤嚥 (aspiration before swallowing)、嚥下中誤嚥 (aspiration during swallowing)、嚥下後誤嚥 (aspiration after swallowing) に分類分けがされる場合がある (Fig. 2.3)。しかしながら、その定義は明確ではなく、Logemann [10]は嚥下反射開始前を嚥下前誤嚥、喉頭が下降してから後の誤嚥を嚥下後誤嚥と定義しているが、Murray [11]は嚥下中の舌骨挙上を終了したときから、喉頭が安静時の位置に戻るまでの間に生じた誤嚥を嚥下中誤嚥、それ以後を嚥下後誤嚥と定義している。

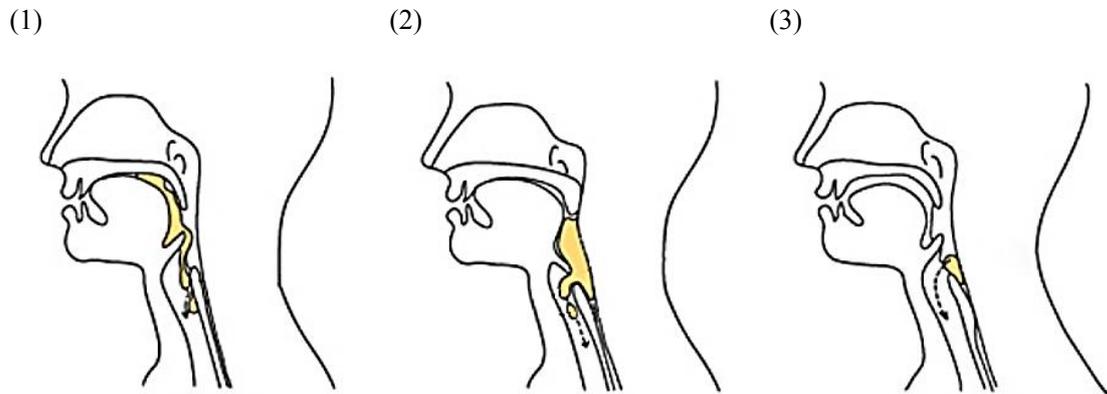


Fig. 2.3 Classification of aspiration

(1) Aspiration before swallowing, (2) aspiration during swallowing, (3) aspiration after swallowing [12].

2.4 咽頭残留

分類分けがされている誤嚥の中で最も頻度が高いのが嚥下後誤嚥である [13]. その嚥下後誤嚥が生じる主な原因が、嚥下したものが食道に入り込まずに咽頭に残ってしまう状態のことを指す咽頭残留であるとされている [14]. 咽頭残留は、加齢による喉頭降下に伴い、咽頭の舌根と喉頭蓋 (epiglottis) の間にある窪みにあたる喉頭蓋谷や食道の入り口にある左右の袋状の溝にあたる梨状窩 (piriform sinus) (Fig. 2.4, Fig. 2.5) などに起こりやすくなる [15]. 健常者であっても咽頭残留が発生する場合があるが、そのほとんどが自覚されることが多く、唾を飲み込むこと (空嚥下) によって自然と解消される. 一方、摂食嚥下障害の患者は、咽頭残留が生じていても感覚低下のために自覚されないことが多く、空嚥下が行われないために残留したものが誤嚥されやすい傾向にある [16]. あるいは、筋力が低下している患者については、空嚥下を行っても咽頭残留が解消されずに、残留量が増加することによって梨状窩から溢れ出し、残留物が気道へと流入する誤嚥が生じることがある. 咽頭残留の程度は食塊の性状によって、しばしば Table 2.1, Table 2.2 の通り分類されるが、構造上、同量の残留でも、喉頭蓋谷よりも梨状窩で生じる方が誤嚥の危険度が高いとされる [15].

Table 2.1 Classification of pharyngeal residue (solids, semisolids)

なし	全く残留がない
軽度	残留は 1 カ所でごく少量 (かけら)
中等度	残留は 2 カ所以内, 中等度の塊となったものが残留
高度	残留は 3 カ所以上, ないし大きな塊となったものが残留

Table 2.2 Classification of pharyngeal residue (liquid)

なし	全く残留がない
軽度	膜状 (コーティング状) に少量残留
中等度	残留は 2 カ所以内, 膜状より厚みをもって残留
高度	残留は 3 カ所以上, ないし量的に多量に残留

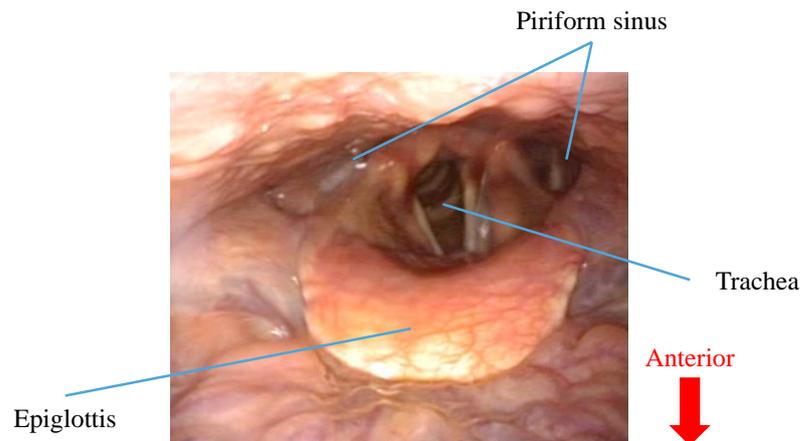


Fig. 2.4 Normal pharyngeal cavity image photographed with endoscope camera (61 year-old man)

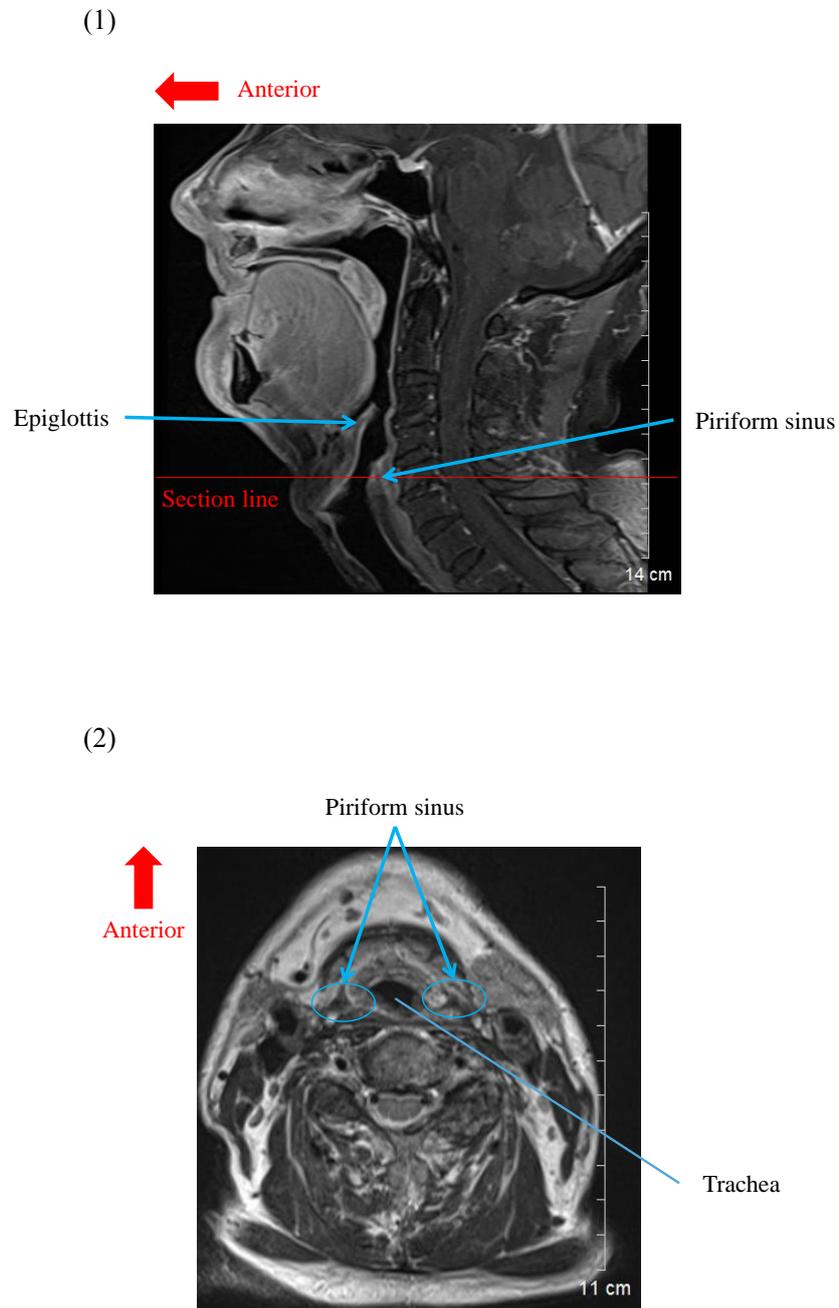


Fig. 2.5 MRI normal neck image (87 year-old man)

(1) Sagittal view, (2) transverse view.

2.5 既存の嚥下機能の検査方法 [15]

2.5.1 嚥下造影検査

嚥下造影検査 (VideoFluoroscopic examination of swallowing : VF) は口腔, 咽頭, 食道内での食塊の動きの評価を行い, 特に誤嚥の有無の評価に関しては現在のところ最も有効な検査法で, 嚥下障害の評価にとって必要不可欠な検査である. 咽頭, 食道造影による従来の診断的検査と異なり, 体位や食物形態をいろいろ変えて, いかに誤嚥しにくい条件, 残留しにくい条件, 食塊が通過しやすい条件などを探すか, という治療的検査の意味合いが強い. あらかじめ患者の嚥下能力に関する情報を多く持っているほど, 効率よく検査が進められるが, 以下のような欠点が挙げられる.

- 撮影部位の構造物が重なる場合や造影剤のない状態では構造を判別しにくい.
- 患者の体位を調節する必要がある, 撮影技術は放射線技師のカメラワーク技術に依るところが大きい. また, 実際の食事場面に近づけるため, 自然な状態で検査しなければならない.
- 被曝量を少なくするために 1 回の検査時間は 1 人 30 分以内で行う必要がある.
- 検査手順が患者の障害の程度によって大きく異なる.

2.5.2 嚥下内視鏡検査

嚥下内視鏡検査 (VideoEndoscopic examination of swallowing : VE) の目的は咽頭期の機能的異常の診断のほかに, 器質的異常の評価, 代償的方法, リハビリテーション手技の効果確認, 患者やその家族・スタッフへの教育指導などが挙げられる. 検査の適応可能期間は広く, 嚥下障害が疑われた場合のスクリーニングから嚥下訓練前, 訓練中, 訓練後またその後の経過観察においても随時施行される. VF と比較して咽頭残留の検出に優れており, VE 単独施行だけではなく, VF 施行前後に VE を組み合わせることで, より詳細な情報を得ることができる. 一方で, 以下に示すような欠点が挙げられる.

- ファイバースコープを患者の鼻腔に挿入する前後や咽頭の撮影時に, 接触による誤嚥や負傷のリスクが伴う.
- ファイバースコープの衛生管理や持ち方, 挿入方法などに専門知識が必要である.
- 気管後壁, 特に声門直下の後壁は観察が難しい.
- 嚥下の瞬間は, 画面全体が真っ白になる現象である「White out」が発生するため, 観察できない.
- ファイバースコープ挿入時の摂食・嚥下は患者にとって誤嚥や負傷のリスクが大きく, 検者の技量により自然な状況下での評価ができない場合がある.

第 3 章 蛍光計測システム

3.1 蛍光計測法の提案

我々が提案する蛍光計測法の概要図を Fig. 3.1 に示す。本計測法では、蛍光計測プローブを頸部に押し当てた状態で、患者に蛍光剤入りの食品試料を嚥下してもらい、咽頭の梨状窩に残留する試料を体外から発光させ、その蛍光を計測することで残留食物の有無を評価する。本蛍光計測法により、咽頭残留を検出することができれば、誤嚥の危険性を早期に検知することが可能となり、誤嚥の予防と誤嚥リスクの早期発見が期待できる。

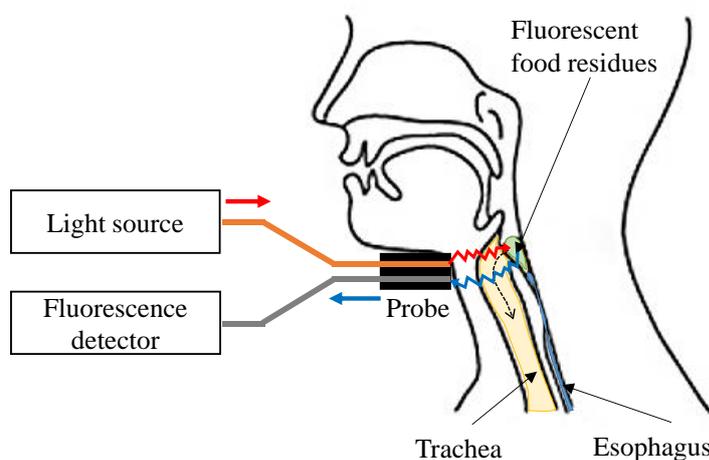


Fig. 3.1 Fluorescence measurement system for detecting aspiration risk

3.2 蛍光のプロセス [17] [18] [19]

光の吸収と発光過程におこる変化は、Fig. 3.2 に示すジャブロンスキーダイアグラム (Jablonski diagram) で記述される。分子を構成している電子のエネルギーレベルはとびとびの値をとっており、分子が基底状態にあるとき、その電子は S_0 と呼ばれる一重項のエネルギーレベルにある。基底状態の蛍光分子は、比較的低エネルギーで、安定した構造をしており、蛍光を発しない。一方、基底状態よりも高いエネルギーレベルにある状態を励起状態と呼び、そのうち最もエネルギーレベルの低い状態を第一励起状態 S_1 と呼ぶ。基底状態から励起状態への遷移は、蛍光分子が光を吸収 (absorption) することによって起こる。溶液中にある蛍光分子は、ブラウン運動により周囲の溶媒分子などと衝突しながら絶えずエネルギーのやり取りをしているが、この程度のエネルギー量では、分子が励起されることはない。

蛍光分子が光を吸収すると、ある励起状態の、ある振動レベルに向かって励起される。この過程に要する時間は、約 10^{-15} s である。電子のこの時の状態はフランク・コンドン状態と呼ばれる不安定な状態で、過剰な振動エネルギーは周りの分子との衝突、分子内振動などにより散逸し、 $10^{-13} \sim 10^{-11}$ s 程度の間、第一励起状態 S_1 の最低次の振動レベルまで落ちる。この過程を分子内緩和 (internal conversion) 過程と呼ぶ。 S_1 の最低次の振動レベルは励起状態の中では最も安定な状態であり、電子の滞在時間が最も長い。通常の蛍光分子では $10^{-9} \sim 10^{-8}$ s 程度で、高次の励起状態にある時間の 100 倍以上であるから、励起状態全体としての滞在時間はほとんどこの値で近似することができる。また、 S_1 の最低次の振動レベルから基底状態へと落ちる遷移には、発光過程と無輻射過程が存在し、前者が蛍光 (fluorescence) である。上述のように分子内緩和過程により蛍光分子のエネルギーが失われるので、蛍光のピーク波長は、吸収のピーク波長よりも長波長側にシフトする。この、 $(h\nu_A - h\nu_F)$ で表されるエネルギー、もしくは波長の違いは、ストークスシフトと呼ばれる。光の放出を終えた蛍光分子は基底状態に戻り、再び光を吸収することによって全プロセスを繰り返す。後者の発光を伴わない無輻射過程では、分子内振動により熱エネルギーへと変換される。また、第 n 励起状態から三重項状態 (triplet state, T_n) へとといった、異なるスピン多重度へと遷移する過程も存在し、 T_1 から直接基底状態への発光遷移は燐光 (phosphorescence)、通常の遷移ルールに従わない禁制遷移 ($T_1 \rightarrow S_1 \rightarrow S_0$) とどった蛍光分子の発光は遅延蛍光と呼ばれ、普通の蛍光よりも持続時間が長い。いずれも発光強度は弱く、持続時間は T_1 の寿命で決定される。

蛍光の強さを示す蛍光強度は励起光の関数として表現され、励起光の波長や強度、蛍光物質の存在量に依存する。サンプルへの励起光量を上げていくと、励起される蛍光色素が増加していく。同時に放出される光子数が増加し、蛍光強度の上昇として観察される。入射光量を上げすぎると、全ての蛍光物質が常時励起状態になり、蛍光強度との相関性は失われる。光源として制御可能なレーザー光を使用するなど、入射光の波長と強度を一定にした場合、放出される蛍光の光子数は蛍光物質の量と正比例する [20]。

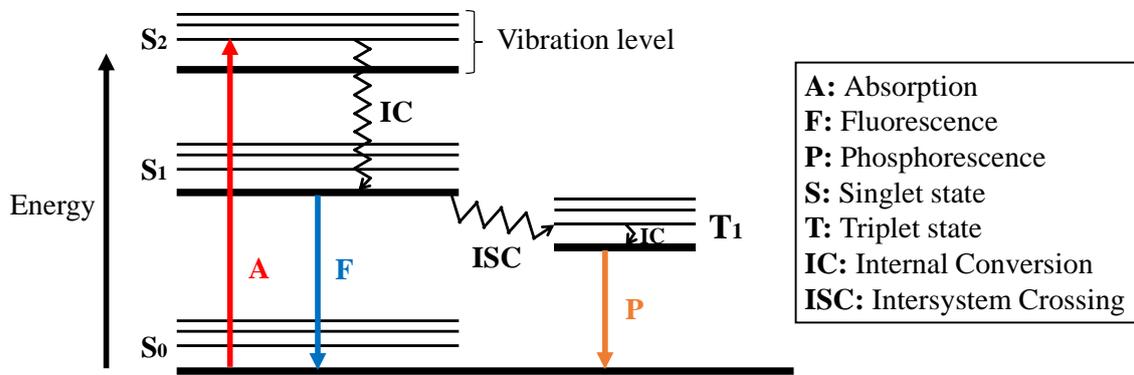


Fig. 3.2 Jablonski diagram

3.3 蛍光剤

蛍光分子を含む蛍光剤には、肝機能検査や眼底検査に用いられ、検査用医薬品として薬事承認されている [21]インドシアニングリーン (indocyaninegreen, 以下, ICG) を用いる. ICG の分子量は 775 で構造式は Fig. 3.3 に示すとおりである. 本研究では, Fig. 3.4 に示す第一三共製の暗緑青色の粉末状の ICG を使用した. ICG は水またはエタノールに溶けやすいが, 水溶液中では不安定である. しかし, タンパク質を含む溶液中では安定であることから, 本研究では経口摂取にあたり, Fig. 3.5 のように ICG を水で希釈した後, タンパク質を含む食品に混ぜて使用する. 経口摂取した ICG は消化管で吸収されることはなく, 消化管を通じて排泄されることは確かめられており [22], 副作用の発生確率は低いとされている. ICG の光学特性として, Fig. 3.6 に分光光度計 (FP-6500, JASCO) にて測定した純水で $1\ \mu\text{M}$ に希釈した ICG の吸収スペクトルと蛍光スペクトル (励起光波長 $780\ \text{nm}$) の例を示す. $1\ \mu\text{M}$ の ICG の吸収のピーク波長は約 $780\ \text{nm}$, 蛍光のピーク波長は約 $810\ \text{nm}$ であり, 吸収波長である近赤外光で励起すると, より長波長の近赤外光を蛍光発光する現象 (ストークスシフト) が見られる.

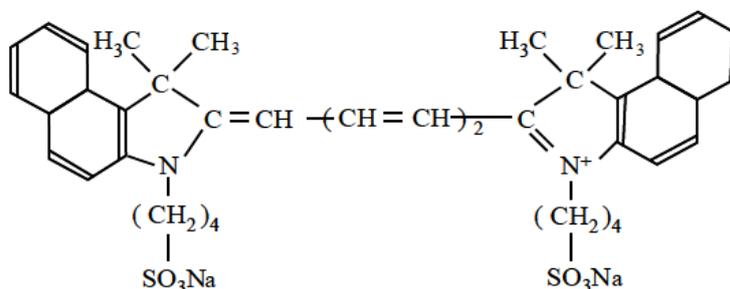


Fig. 3.3 Structural formula of ICG



Fig. 3.4 Powdery ICG before dilution

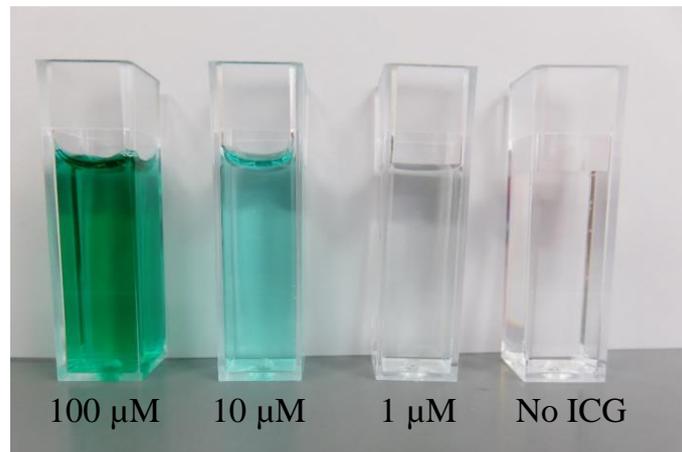


Fig. 3.5 ICG water solution of different ICG concentration

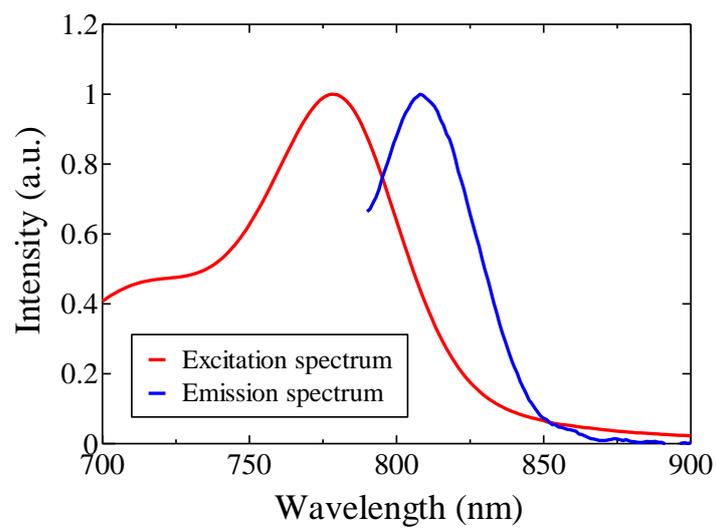


Fig. 3.6 Excitation and emission spectrum of ICG in water

3.4 蛍光計測装置

3.4.1 装置の構造

本蛍光計測システムで使用する蛍光計測装置 (HN2 号, 北海道大学) の写真を Fig. 3.7 に, 概要図を Fig. 3.8 に示す. 本蛍光計測装置は, 蛍光剤を励起する近赤外光を射出する半導体レーザー (Laser Diode, LD) (L785P090, Thorlabs), LD からの近赤外光を対象物表面まで導く照射ファイバ (optical fiber for excitation) (M25L02, Thorlabs), 対象物表面から受光部に入射する近赤外光を検出器に導く蛍光検出ファイバ (optical fiber for detection) (BF13LSMA, Thorlabs), 蛍光検出器 (photon counting detector) (C13366-1350GD, 浜松ホトニクス), および LD と検出器の制御器から構成されている. 照射ファイバと検出ファイバはプラスチック樹脂製の蛍光計測プローブ (optical probe head) (Fig. 3.9, 付録 E) に格納されており, プローブ端面を対象物表面に設置して近赤外光の照射および検出を行う.

LD の電源には変調器 (controller) が接続され, on と off がそれぞれ 5 ms で繰り返される. off のときの検出器の信号は装置のノイズである. on のときの信号から off のときの信号を引いて検出信号としている. LD の射出端には波長 785 ± 10 nm の励起フィルタ (excitation filter) (LD01-785/10, Semrock) が設置されている. フィルタを通過した光は直径 0.2 mm の照射ファイバに入り, 照射ファイバの他端は対象物に接触して励起光が照射される. 一方, 直径 1.0 mm の検出ファイバに入った光は, 励起光を除去するための波長 845 ± 28 nm の蛍光フィルタ (fluorescence filter) (ET845/55m, Chroma Technology) を介して蛍光検出器に導かれる. 蛍光検出器は光子計数方式 (フォトンカウンティング) であり, 励起光の on と off に同期して on のときと off のときの信号を検出させるための同期回路 (synchronizer) と演算回路 (counter) に接続されている. 演算回路では, 約 1.6 秒ごとにその間の on と off の信号の積算値をそれぞれ算出し, また, on のときの信号の積算値から off のときの信号の積算値を引いて蛍光強度を算出している. 演算回路で求められた on と off の信号の積算値および蛍光強度が約 1.6 秒ごとにフロントパネル (Fig. 3.10) に表示されるのと同時に, シリアル端末ソフト (TeraTerm, TeraTerm Project) を用いて USB 接続したコンピュータ (computer) に取り込まれ, 記録される.

レーザー光は蛍光計測プローブの皮膚接触部にあたる端面の接触スイッチの制御によって, 蛍光計測プローブが皮膚に接触しているときだけ照射され, 皮膚から離れるとレーザー発振が遮断される構造となっており, レーザー製品の安全基準 (JIS C6802:2014) ではクラス 1C に分類され, ヒトの皮膚に照射しても安全である.

3.4.2 近赤外光

生体組織の吸収スペクトルは、光の透過を妨げる主要な生体物質ヘモグロビン、オキシヘモグロビン、デオキシヘモグロビン、さらに水による光吸収の和として求められる。Fig. 3.11 にヘモグロビンと水の吸収スペクトルを示す。紫外光や青い光は主にヘモグロビンにより強く吸収されるため、エネルギーが大きく減衰する。一方、近赤外光の波長域 (600 ~ 900 nm) はヘモグロビンや水の吸収が小さく、生体組織による吸収が小さいため、光を良く透過する。そのため、分光学的な観点から近赤外光の波長域は「生体の窓」とも呼ばれている (Fig. 3.11)。この波長域は嚥下造影検査などに用いられる X 線とは異なり、電離放射線を含まないため、被爆の心配がなく、大掛かりな装置も不要である。

3.4.3 蛍光光子の検出原理

本蛍光計測装置で使用されている蛍光検出器を Fig. 3.12 に、光子の検出原理を Fig. 3.13 に示す。光には、粒子と波の 2 重性があり、光量が極端に少なくなると、光はフォトン (光子) として離散的になり、その数を数えることができるようになる。検出器はフォトダイオードとクエンチング抵抗を組み合わせたものを基本単位 (1 ピクセル) とし、多数のピクセルを 2 次元に電氣的接続をした構造をしている。各ピクセルが光子の検出時に同じパルスを出し、複数のピクセルで発生したパルスは、重ね合わされて出力される。各ピクセルからの出力パルス数は 1 つであり、入射光子数によって変化しない。1 ピクセルに 1 フォトンが入った場合も、2 フォトンが同時に入った場合も出力パルスは 1 つだけである。したがって、検出器に入射する光子数が増え、1 ピクセルに入射する光子数が複数になった場合、入射光子数に対する検出器の直線性が悪化する (Fig. 3.14)。検出器が検出した光子の数は、パルスを観測することや出力電荷を計測することによって見積もることができる。このように、光子を 1 個ずつ計数する方式のことをフォトンカウンティングといい、本研究では蛍光を光子数として定量的にカウントしている [23]。

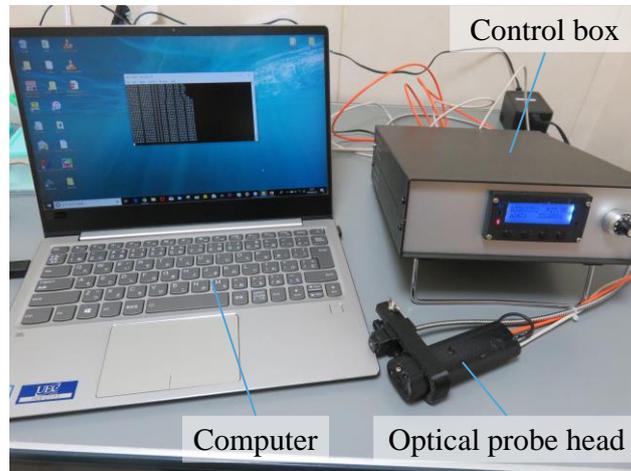


Fig. 3.7 Picture of fluorescence measurement device

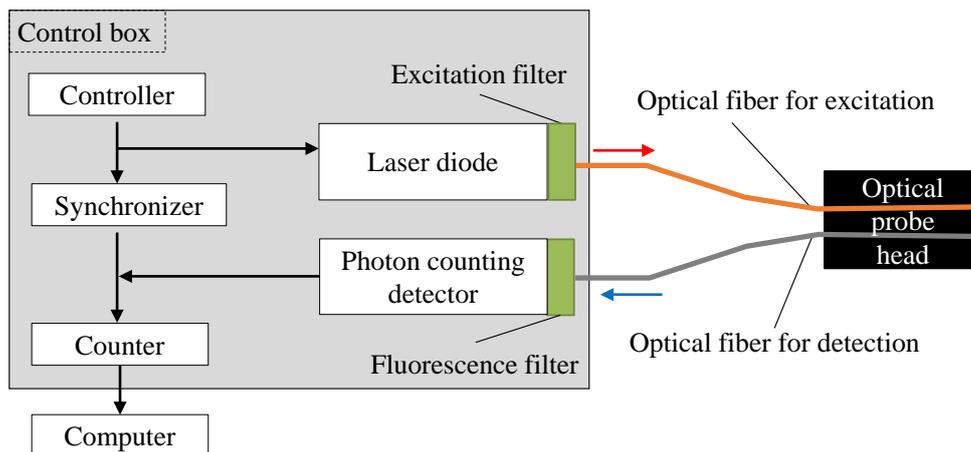


Fig. 3.8 Schematic of fluorescence measurement device

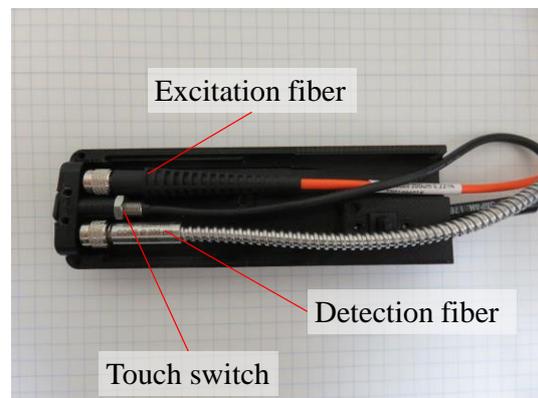
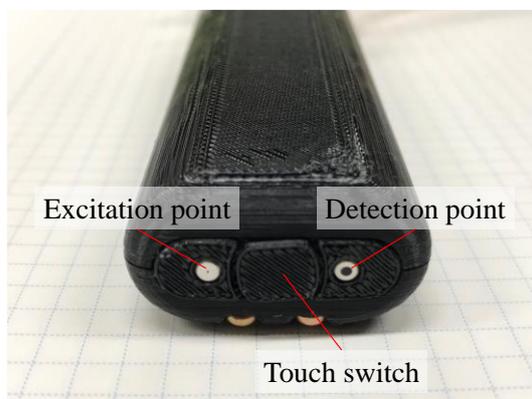


Fig. 3.9 Optical probe head

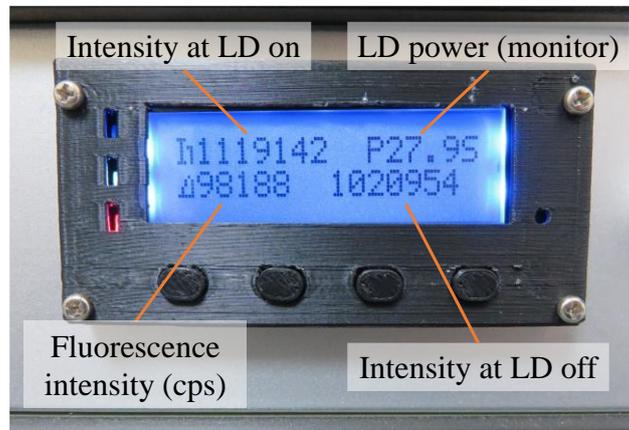


Fig. 3.10 Front panel of control box

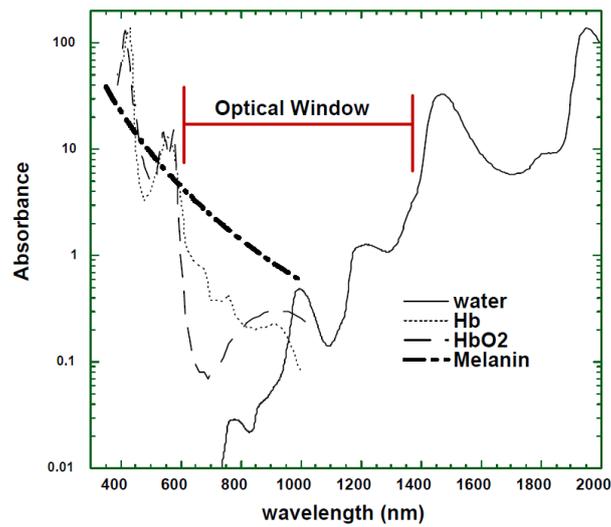


Fig. 3.11 Biological optical window [24]



Fig. 3.12 Photon counting detector [25]

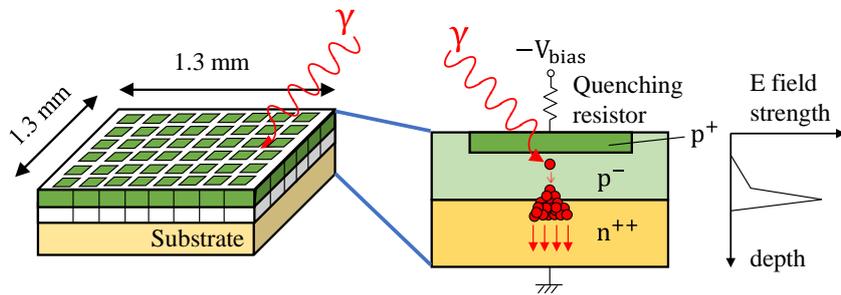


Fig. 3.13 Structure and principle of photon counting detector [26]

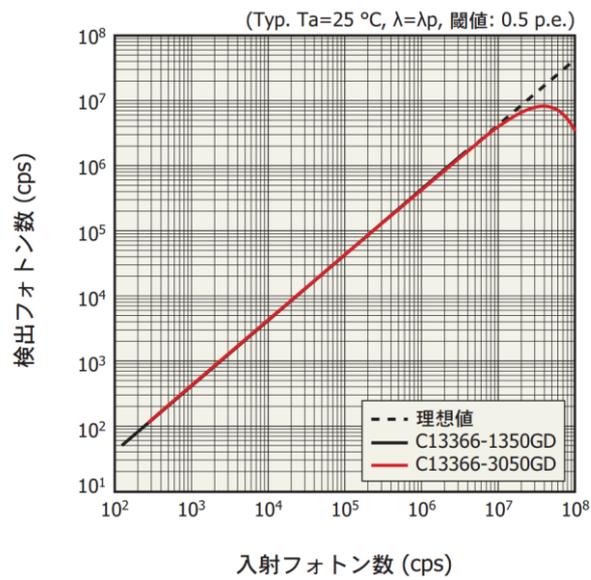


Fig. 3.14 Linearity of photon counting detector [25]

3.5 生体内の光伝播

Table 3.1 に生体組織の光学特性値を示す. なお, 表中の μ_a , μ_s , μ'_s はそれぞれ吸収係数, 散乱係数, 換算散乱係数である [27] [28] [29]. これらの数値から生体組織は近赤外光を弱く吸収し, 強く散乱する媒体であることが分かる. 特に, 散乱については強い前方散乱であるが, ある程度の厚さの生体組織を散乱して進んだ光は散乱を繰り返すことにより, 干渉性や偏光特性を失うだけでなく, 初期の方向性も失い, 散乱はマクロに見ると前方散乱ではなく, 等方散乱として扱うことができる [30]. したがって, 生体組織内における励起光の伝播と ICG に起因する蛍光の伝播は Fig. 3.15 のようになる.

Table 3.1 Optical parameters of body tissues in near-infrared wavelength

μ_a (mm^{-1})	μ_s (mm^{-1})	μ'_s (mm^{-1})
0.002 ~ 0.1	10 ~ 100	0.5 ~ 3.0

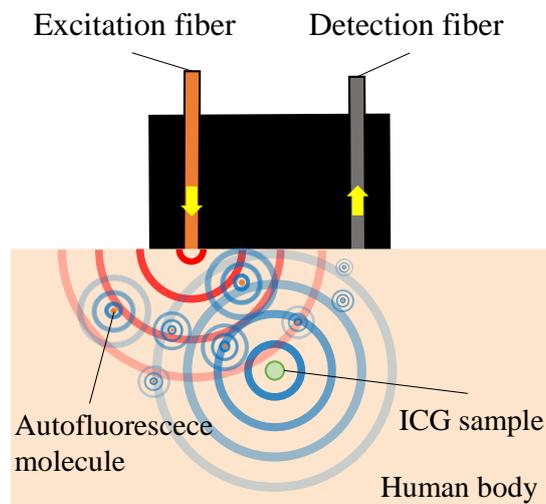


Fig. 3.15 Light propagation in tissues

3.6 バックグラウンド蛍光 [19]

励起光を照射した際に、ICG などの蛍光剤に由来する蛍光以外で発生する蛍光シグナルはノイズとして扱われ、バックグラウンド蛍光と呼ばれる。生体組織をはじめとする媒体を対象としたバックグラウンド蛍光の起源は、媒体の自家蛍光が主に挙げられる。自家蛍光とは、媒体中の内因性組織が装置からの照射光、あるいは太陽光をはじめとする周囲光などに含まれる光を吸収して発光することによる蛍光である。Fig. 3.16 に内因性の蛍光分子の蛍光スペクトルの例を示す。図中のポルフィリン (porphyrins) のように、内因性の蛍光分子のスペクトルのピーク値は近赤外領域よりも短い波長に存在するが、スペクトルの裾野の部分が近赤外領域まで延長する分子も存在するため、近赤外光の照射によりバックグラウンド蛍光として発光される。実験では照射光を吸収することによって生じるバックグラウンド蛍光の影響がほとんどだが、周囲光を吸収することによって生じるバックグラウンド蛍光を低減するため、暗室で行うことが望ましいとされる。

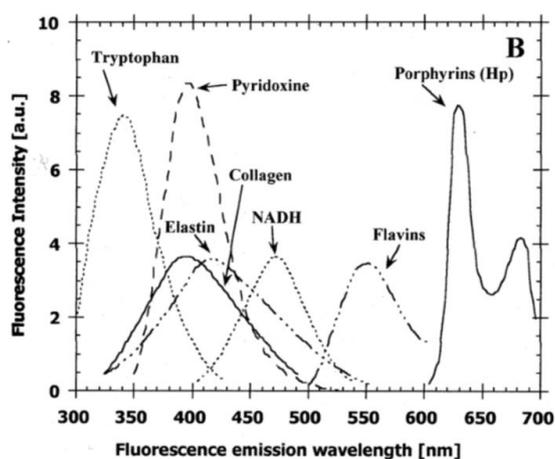


Fig. 3.16 Fluorescence emission spectra of various endogenous tissue fluorophores [31]

第 4 章 生体模擬試料を用いた最大検出可能深さの検討

4.1 概要

本章では、ヒトを対象に計測実験を行う前段階として、生体の光学特性を模擬した試料、すなわち生体模擬試料（以下、ファントム）を用いて、蛍光計測システムの最大検出可能深さを求めた。実験では、生体組織の中で最も近赤外光を透過しにくいとされている筋肉を模擬した試料として、生体の筋肉の吸収係数に近いとされている牛肉を使用し、本蛍光計測システムの検出可能深さの上限、すなわち最大検出可能深さの検討を行った。

4.2 計測方法

Fig. 4.1 に示すように、縦 144 mm、横 144 mm、高さ 35 mm のプラスチックケースに手で十分にこねた牛肉ミンチを敷き詰め、厚さ 25 mm の土台にした。残留食物を模擬した食品試料を牛肉ミンチの表面中央部に設置し、試料を覆うように任意の厚みの牛肉ミンチを上から重ねていった。上記の操作により作製した生体模擬試料を食肉ファントムと呼称した。ファントム内の食品試料の長手方向の中心軸が、照射孔と検出孔を結ぶ直線に直交になるように、かつ両孔の中心線上に食品試料が位置するように蛍光計測装置のプロープ端面を食肉ファントムの上部表面に押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 23 mW、照射ファイバと検出ファイバの間隔は 20 mm とした。また、食品試料については、ICG を水で希釈し、タンパク質を含む溶媒である牛乳に入れ攪拌したものを試料 A として使用した。なお、試料中の ICG 濃度は 8000 倍希釈に相当する 0.81 $\mu\text{mol/L}$ （以下、 μM ）とした。また、比較のため ICG を含まない牛乳のみのものを試料 B として計測に使用した。試料はいずれも直径 6 mm、長さ 20 mm のストロー（0.57 ml）に封入し、試料が漏れ出さないように両端をパラフィンフィルムで密閉して使用した（Fig. 4.2）。

計測の手順としては、はじめに試料 A を使用して重ねる牛肉ミンチの厚みを 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 mm を目安に変化させながら蛍光強度を計測し、次に試料 B については牛肉ミンチの厚みを 0, 10, 20 mm を目安に変化させながら蛍光強度の計測を行った。なお、試料 A については、再現性の確認のため上記に加え、重ねた牛肉ミンチを 5 mm ずつを目安に減少させながら蛍光強度を計測した。プロープと食品試料上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。

4.3 結果および考察

試料深さと蛍光強度の関係を Fig. 4.3 に示す。試料 A の結果における“*”で示した蛍光強度 10^3 keps 以上の値については、蛍光検出器の出力値が入力値に対して飽和しているため、参考値として表示しており、近似曲線については、深さ 10, 15, 20 mm の結果を使用し、書き表している。試料 A を用いた場合は、深さ 0 ~ 20 mm の間では、深さの増加に伴い蛍光強度が減少し、深さ約 22 mm 以降は深さの増加に依らず蛍光強度は一定である。深さの増加に伴う蛍光強度の減少については、深さに応じて吸収や散乱、拡散の影響により、検出ファイバで得られる試料 A 中に含まれる ICG に起因する蛍光が、減衰したためであると考えられる。一方、試料 B を用いた場合は、深さの増加に依らず蛍光強度は一定で低い値をとっている。よって、食品試料に起因する蛍光ではなく、主に牛肉ミンチ自体の自家蛍光に起因するバックグラウンド蛍光であると考えられる。バックグラウンド蛍光は試料 B を用いた場合に限らず、試料 A の場合にも発生しているため、試料 A の結果は ICG に起因する蛍光とバックグラウンド蛍光が足し合わされた蛍光強度を示している。ICG に起因する蛍光については、蛍光の光源である試料 A からの距離が大きくなるにつれて蛍光強度が減少し、検出限界の深さに達すると ICG に起因する蛍光が検出できなくなるため、その深さを境にバックグラウンド蛍光のみが反映された蛍光強度となる。したがって、試料 A の結果の近似曲線と、バックグラウンド蛍光の蛍光強度を示す試料 B の結果の近似曲線の交点が最大検出可能深さであると考えることができる。そこで、Fig. 4.3 の交点に着目すると、最大検出可能深さは約 22 mm であるといえる。本実験で使用した頸部ファントムを構成する牛肉ミンチは、頸部の生体組織の大部分を占める筋肉の光学特性を考慮し選択している。また、実際の頸部は、近赤外光の減衰の影響が筋肉と比較して小さい気道や軟骨といった組織があることやバックグラウンド蛍光の蛍光強度が小さいといった違いがあることから、生体に対して使用することで、20 mm 以上の深さにある残留食物の蛍光検出が期待できる。

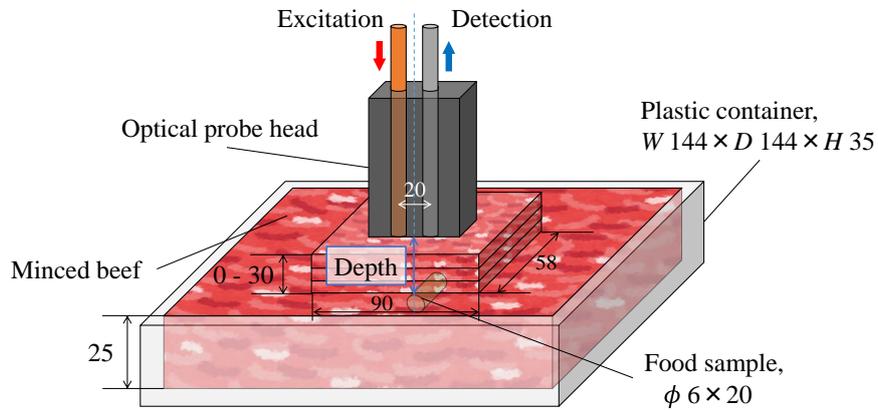


Fig. 4.1 Experimental set up for acquiring maximum detectable depth in beef phantom

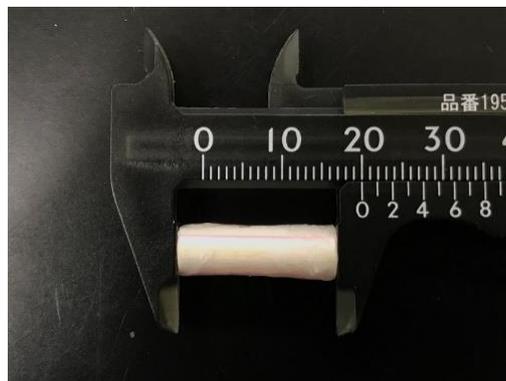


Fig. 4.2 Food sample encapsulated in straw with paraffin film

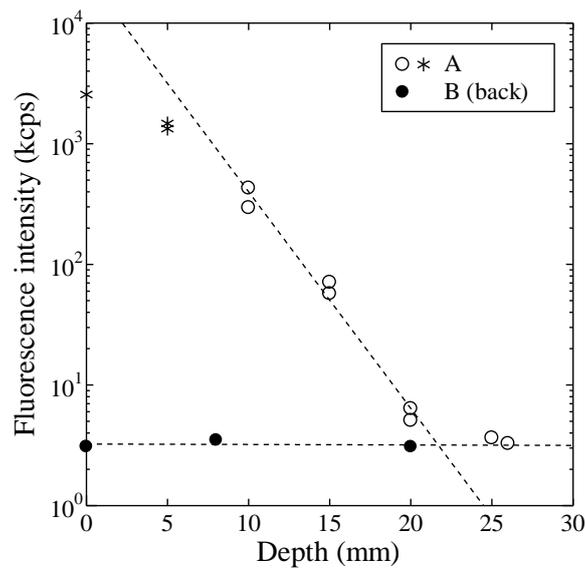


Fig. 4.3 Relationship between depth and fluorescence intensity for acquiring maximum detectable depth in beef phantom

第 5 章 食肉を用いた検出可能深さ向上と残留量定量化のための関連因子の影響評価

5.1 概要

第 4 章にて、本蛍光計測システムを生体に対して使用することで、20 mm 前後の深さにある残留食物の蛍光検出が期待できることが明らかになった。しかしながら、Fig. 2.5 より頸部表面から梨状窩までの最短距離は 25 mm と推算されることに加え、筋肉量や脂肪量などの違いにより、最短距離には個人差があることから、より多くのヒトを対象にした検査を行う上では、本蛍光計測システムの最大検出可能深さを向上させる必要がある。また、咽頭残留は、その残留量によって重症度が異なることから、実用的な蛍光計測法を構築するにあたり、残留量を定量化し評価できるようにすることが望ましい。そこで本章では、蛍光計測システムの最大検出可能深さの向上と、残留量の定量的評価に向けて、蛍光検出に関連する因子として、気道・食品試料サイズ・ICG 濃度・蛍光計測装置機構の影響を明らかにする。

5.2 気道の影響評価

5.2.1 概要

最大検出可能深さを向上するにあたり、頸部を構成する生体組織の光学特性を考慮した近赤外光の入射および検出が重要になるものと考えられる。そこで本節では、梨状窩の前側に存在する気道に着目し、食肉ファントム内に気道を模擬した材料を埋め込み、気道の有無による最大検出可能深さの違いを比較し、気道の影響の検討を行った。

5.2.2 計測方法

Fig. 2.4 を参考に、気道を模擬したファントムを作製した。Fig. 5.1 に示すように、4.2 節と同様に食肉ファントムを組み立て、内部に食品試料を埋め込んだ。新たに食品試料直上に実際の気道の形状 [32] を考慮し、外径 21 mm、内径 20 mm のポリエチレン製シリンジ (Fig. 5.2) を設置した。蛍光計測装置のプロープ端面を食肉ファントムの上部表面にあたるポリエチレン製シートに押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 23 mW、照射ファイバと検出ファイバの間隔は 15 mm とした。また、食品試料については 4.2 節と同様に調製し、ICG を含む牛乳を試料 A、ICG を含まない牛乳のみのもを試料 B として直径 6 mm、長さ 20 mm のストロー (0.57 ml) に封入し、計測に使用した。なお、試料中の ICG 濃度は 0.81 μM とした。

計測の手順としては、はじめに試料 A を使用して重ねる牛肉ミンチの厚みを 25, 30, 35, 40, 45, 50 mm と変化させながら蛍光強度を計測し、次に試料 B についても同様に計測を行

った。なお、再現性の確認のため上記に加え、重ねた牛肉ミンチを 5 mm ずつ減少させながら蛍光強度を計測した。さらに、比較のためポリエチレン製シリンジを埋め込まない状態でも同様に、重ねる牛肉ミンチの厚みを 5, 10, 15, 20, 25, 30 mm と変化させながら試料 A と試料 B について蛍光強度を計測した。プローブと食品試料上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。

5.2.3 結果および考察

試料深さと蛍光強度の関係を Fig. 5.3 に示す。試料 A の結果における“*”で示した蛍光強度 10^3 keps 以上の値については、蛍光検出器の出力値が入力値に対して飽和しているため、参考値として表示している。試料 A を用いた場合は、シリンジの有無にかかわらず、ICG に起因する蛍光の影響により深さの増加に伴い蛍光強度が減少し、それぞれある深さ以上で蛍光強度は一定になっている。ICG に起因する蛍光が取れている範囲内において、同じ深さでのシリンジ有無の蛍光強度を比較すると、シリンジがある時の方が無い時と比較して蛍光強度は高い値を示していることがわかる。要因としては、シリンジがあることで牛肉ミンチと比較して吸収と散乱の影響の小さい空気が光路内に存在することによって、照射光と蛍光が強度を保ったまま進んだことが考えられる。一方、試料 B を用いた場合については、シリンジが無い方では深さの増加に依らず蛍光強度は一定であるが、シリンジがある方では深さ 25 mm と 30 mm でやや低い値を示し、それ以降の深さではおおよそ一定の蛍光強度を示している。深さ 25 mm と 30 mm でやや低い値を示している要因は、シリンジが無い方と比較してシリンジがある分、自家蛍光分子を有する牛肉ミンチの量が少なかったことが挙げられる。自家蛍光は、励起光強度に依存することから照射点近傍で強く発生すると考えられるため、ファイバ近傍において牛肉ミンチが少ない状態である深さ 25 mm と 30 mm の時に蛍光強度が相対的にやや低い値を示したことが考えられる。いずれにしても、試料 B を用いた場合の蛍光強度については、食品試料に起因する蛍光ではなく、主に牛肉ミンチ自体の自家蛍光に起因するバックグラウンド蛍光であるとみなすことができる。そこで、最大検出可能深さを示す、試料 A を用いた場合の結果の近似曲線とバックグラウンド蛍光の蛍光強度を示す試料 B を用いた場合の結果の近似曲線の交点を求めると、シリンジが無い方では深さ約 17 mm、シリンジがある方では深さ約 31 mm である。両者の差は約 14 mm であることから、シリンジがある時の方が無い時と比較して約 14 mm 深い位置まで ICG に起因する蛍光を検出できるといえる。したがって、生体において頸部の気道空間は蛍光を検出する上で有利にはたらくと考えられる。

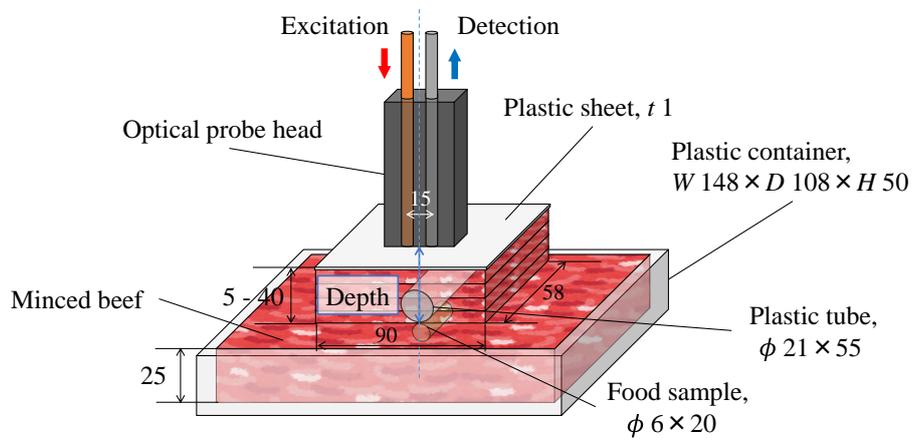


Fig. 5.1 Experimental set up for clarifying effect of the trachea



Fig. 5.2 Plastic tube that imitate thee trachea

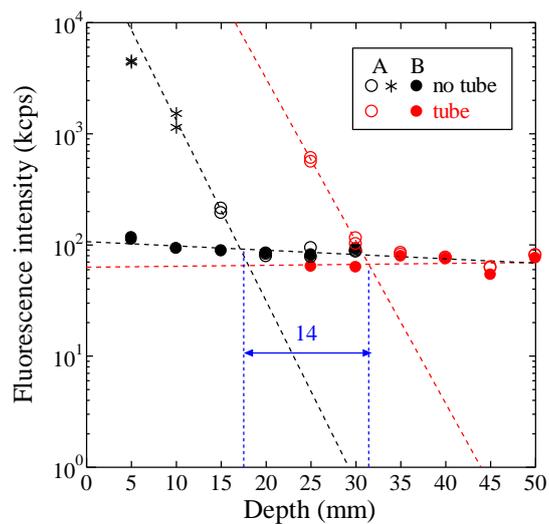


Fig. 5.3 Effects of tube on fluorescence intensity

5.3 食品試料サイズの影響評価

5.3.1 概要

蛍光検出に影響する因子として、ICG を含む食品試料のサイズが挙げられる。そこで本節では、サイズを表す指標として、「容量」と近赤外光が照射される面積のことを指す「投影面積」を採用し、食品試料の容量と投影面積の違いによる最大検出可能深さの違いと同じ深さにおける蛍光強度の違いの比較により、食品試料サイズの影響の検討を行った。

5.3.2 計測方法

Fig. 5.4 に示すように、縦 144 mm、横 144 mm、高さ 35 mm のプラスチックケースに手で十分にこねた豚肉ミンチを敷き詰め、厚さ 25 mm の土台にした。なお、豚肉は牛肉と比較して近赤外光を透過しやすく、広範囲の深さにおいて影響因子の傾向を観察できるため、採用している。残留食物を模擬した食品試料を豚肉ミンチの表面中央部に設置し、試料を覆うように任意の厚みの豚肉ミンチを上から重ねていき、食肉ファントムを作製した。食品試料直上のファントム上部表面に蛍光計測装置のプロープ端面を押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 23 mW、照射ファイバと検出ファイバの間隔は 20 mm とした。また、食品試料については、ICG を水で希釈した後、タンパク質を含む溶媒である牛乳に入れ攪拌したものを使用した。なお、試料中の ICG 濃度は 0.81 μM とした。試料容量の影響を観察するために、容量の異なるポリエチレン製の容器を 3 種類用意した (Fig. 5.5)。容器の形状は 3 種類とも直径 21 mm であり、高さを 3.0, 6.4, 12.7 mm とした。高さが小さい順に容量は 1.0, 2.2, 4.4 ml となる。また、試料形状の影響を観察するため、投影面積の異なるポリエチレン製の容器を 2 種類用意した (Fig. 5.6)。容器の容量は 2 種類とも 2.2 ml であり、形状は一方が直径 21 mm、高さ 6.4 mm、もう一方は直径 26 mm、高さ 4.6 mm とした。投影面積は食品試料上面の面積に相当すると考えられるため、外径が小さい順に 346, 531 mm^2 となる。上記の容器に食品試料を封入し、試料が漏れ出さないよう、パラフィンフィルムで密閉して使用した。さらに、比較のため ICG を含まない牛乳のみを直径 21 mm、高さ 6.4 mm の容量 2.2 ml、投影面積 346 mm^2 となる容器に封入したのもを使用した。

計測の手順としては、ひとつの容器を使用して重ねる豚肉ミンチの厚みを 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 mm と変化させながら蛍光強度を計測した。なお、再現性の確認のため上記に加え、重ねた豚肉ミンチを 5 mm ずつ減少させながら蛍光強度を計測した。その後、容器を埋め換え、同様に蛍光強度を計測した。プロープと食品試料上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。

5.3.3 結果および考察

試料深さと蛍光強度の関係を Fig. 5.7 に示す. (a) は容量, (b) は投影面積の違いによって色分けをしており, (c) は (a) と (b) を重ね合わせたものを示している. また, 深さ 20, 25, 30 mm のときの食品試料の容量と蛍光強度の関係を Fig. 5.8, 食品試料の投影面積と蛍光強度の関係を Fig. 5.9 に示す. さらに, 上記のグラフにおける実際の蛍光強度の値を Table 5.1 に示す. 図中に “*” で示した蛍光強度 10^3 keps 以上の値については, 蛍光検出器の出力値が入力値に対して飽和しているため, 参考値として表示している. ICG を含まない食品試料を使用した場合は深さの増加に依らず蛍光強度は一定であるため, 豚肉ミンチ自体の自家蛍光に起因するバックグラウンド蛍光であると考えられる. 一方, ICG を含む食品試料を使用した場合は, 食品試料のサイズに関わらず深さの増加に伴い, ICG に起因する蛍光強度は減少する. 各深さにおける食品試料の容量と蛍光強度に着目すると, 深さ 20, 25 mm では, 容量 1.0~2.2 ml 間で蛍光強度の上昇が認められ, 2.2~4.4 ml 間では僅かな上昇か頭打ちになり, 深さ 30 mm では, 容量に関わらず蛍光強度は等しいことが分かる. このように, 浅い位置では, ある程度までは容量の増加に伴って蛍光強度が上昇する要因としては, 容量の増加に伴って, 蛍光強度が依存する蛍光物質の存在量が増加したことが考えられる. また, 一定の容量以降, 蛍光強度が頭打ちになる要因としては, 食品試料が深さ方向に長くなった, すなわち食品試料中の光路長が長くなったことにより, 蛍光性物質の蛍光スペクトルの短波長側が吸収スペクトルの長波長側とオーバーラップすることで削り取られることで, 蛍光強度が蛍光物質の存在量に依存しなくなる再吸収という現象が生じたことが考えられる. 一方, 深い位置で容量に関わらず蛍光強度が等しい要因としては, 豚肉ミンチの影響により, 励起光が散乱と吸収を受けて強く減衰し, 同じく光が食品試料の深部まで届かず, 表面のみが励起され蛍光発光したことが考えられる.

各深さにおける食品試料の投影面積と蛍光強度に着目すると, 投影面積が大きい方が蛍光強度も大きくなるが, 深さが増加するにつれて蛍光強度の増加率は減少することが分かる. このように投影面積が大きい方が蛍光強度も大きくなる要因としては, 励起光が当たる面が増えることによって, 食品試料表面でより多くの蛍光物質が蛍光発光することが考えられる. 一方, 浅い位置と比較して深い位置の方が蛍光強度の増加率が小さい要因としては, 豚肉ミンチの影響により, 励起光が散乱と吸収を受けて強く減衰し, 励起光が食品試料の深部まで届かず, 表面のみが励起され蛍光発光したことが考えられる.

以上のことから, 梨状窩のように頸部表面から深い位置で残留する蛍光食物を検出することを考慮すると, 食品試料のサイズの指標の中でも, 投影面積の影響が大きいと考えられるため, 最大検出可能深さを向上させる上では, 投影面積が大きい箇所から近赤外光の照射および検出を行うことが有効であると考えられる.

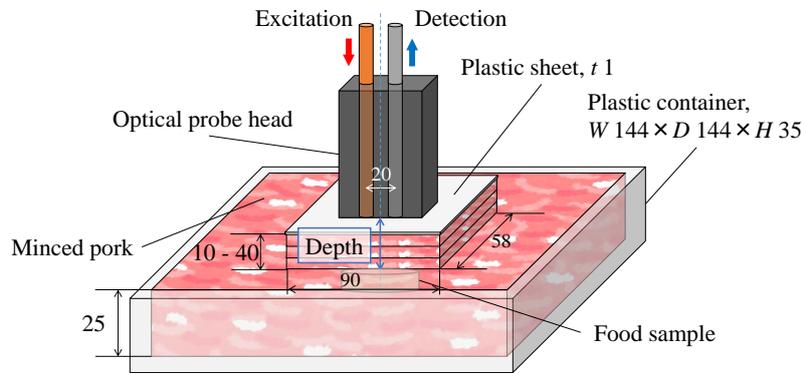


Fig. 5.4 Experimental set up for clarifying effects of volume and projected area of food sample

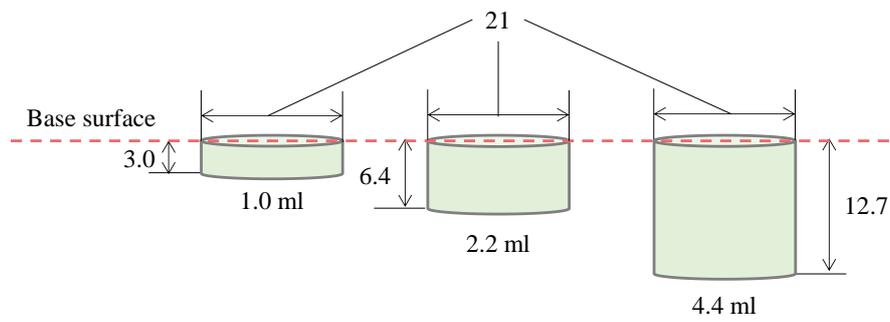


Fig. 5.5 Food samples with different volume

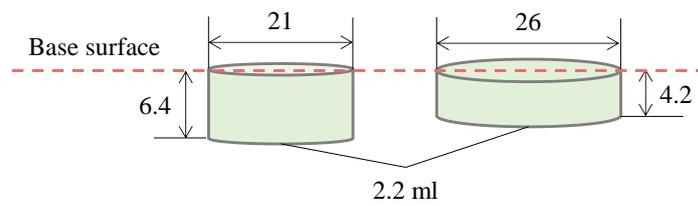


Fig. 5.6 Food samples with different projected area

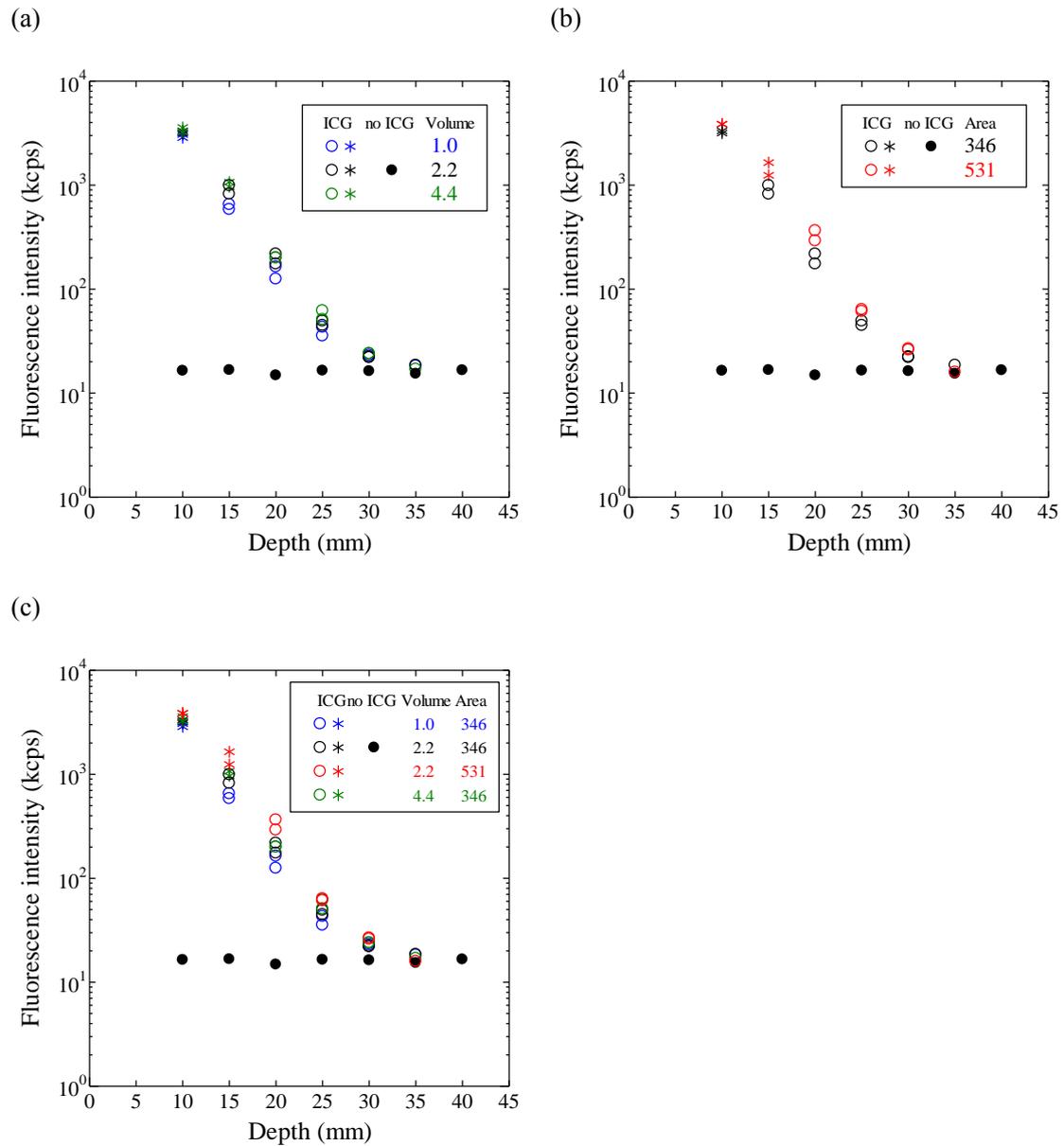


Fig. 5.7 Relationship between depth and fluorescence intensity

(a) Difference in volume, (b) difference in projected area, (c) superposition of (a) and (b).

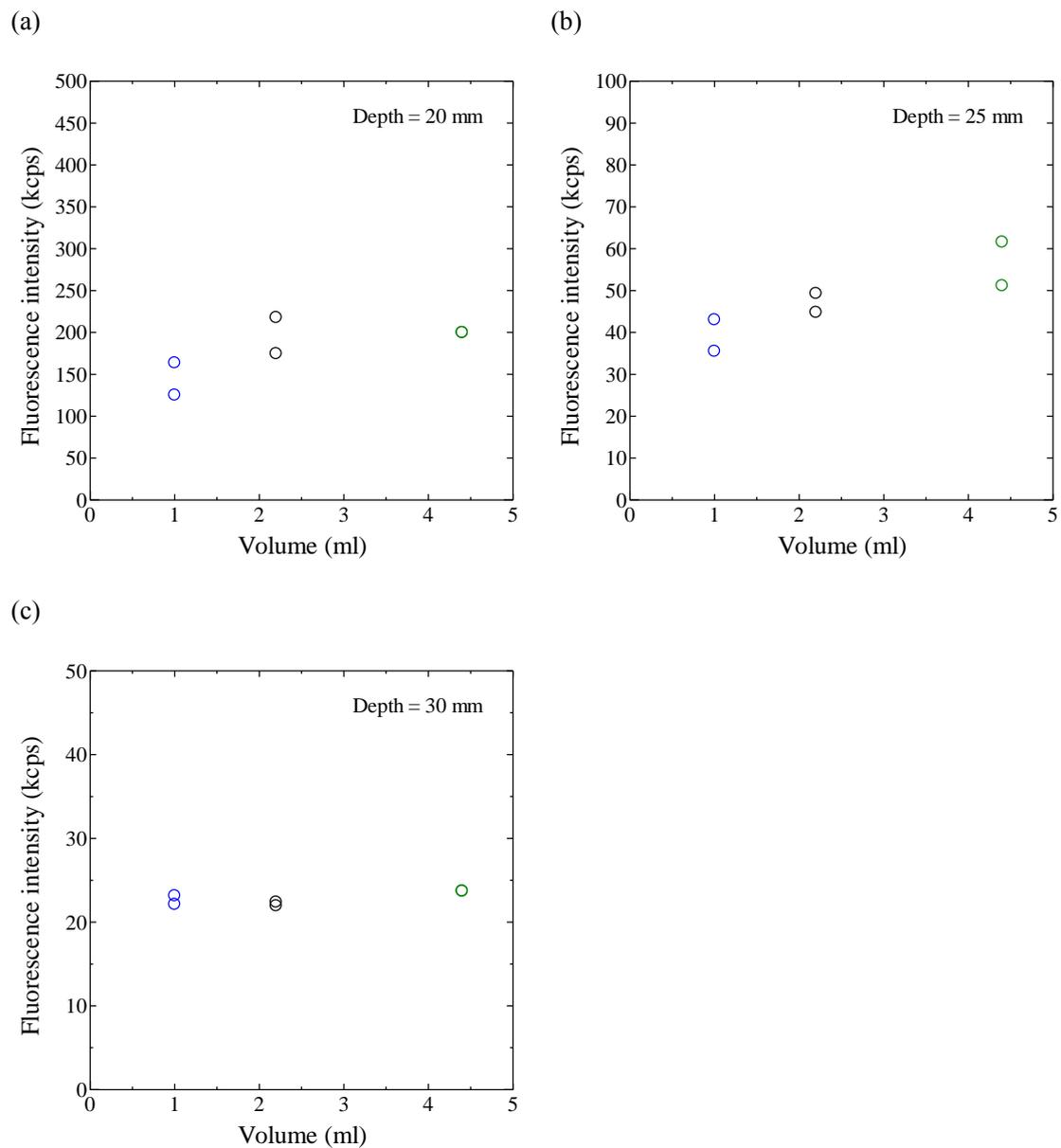


Fig. 5.8 Relationship between volume and fluorescence intensity
(a) Depth is 20 mm, (b) 25 mm, (c) 30 mm.

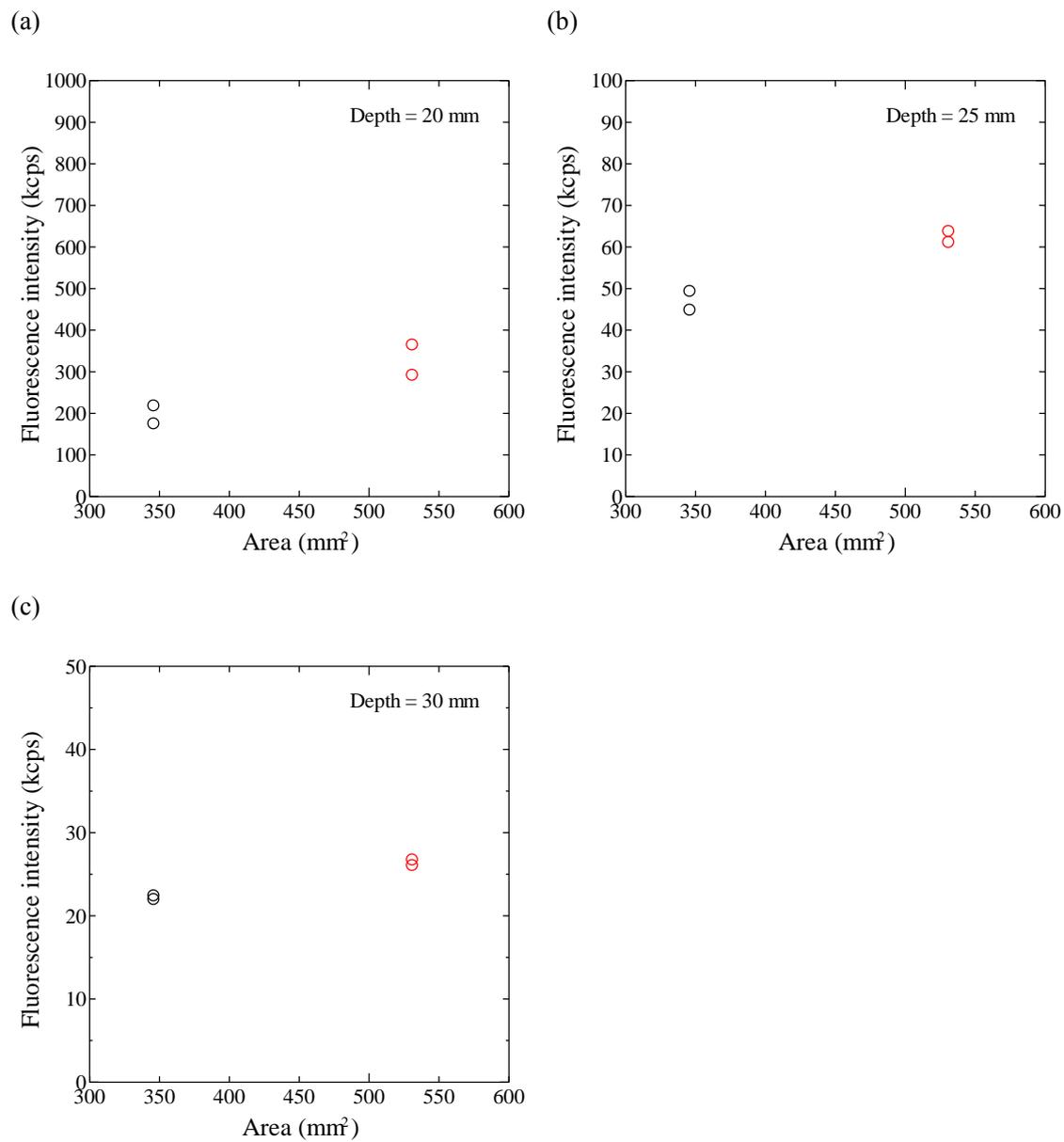


Fig. 5.9 Relationship between projected area and fluorescence intensity

(a) Depth is 20 mm, (b) 25 mm, (c) 30 mm.

Table 5.1 Fluorescence intensities of food samples with different volume and projected area

Depth (mm)	Volume (ml)			Projected area (mm ²)	
	1.0	4.4	2.2	346	531
20	144.5	199.9	196.4		327.9
25	39.3	56.4	47.1		62.4
30	22.6	23.7	22.2		26.4

(kcps)

5.4 ICG 濃度の影響評価

5.4.1 概要

蛍光強度は蛍光物質の存在量に依存する一方、ある濃度以上になると蛍光強度が低下することが知られている [33]. そこで本節では、食肉ファントム内に埋め込む食品試料中の ICG の濃度と蛍光強度の関係を求め、最適な ICG 濃度の検討を行った。

5.4.2 計測方法

Fig. 5.10 に示すように、4.2 節と同様に食肉ファントムを組み立て、内部に食品試料を埋め込んだ。蛍光計測装置のプロープ端面を食肉ファントムの上部表面にあたるポリエチレン製シートに押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 20 mW、照射ファイバと検出ファイバの間隔は 30 mm とした。食品試料については、ICG を水で希釈した後、タンパク質を含む溶媒である牛乳に入れ攪拌したものを使用した。食品試料中の ICG 濃度は 0.40, 0.81, 1.6, 4.0, 8.1, 12.1 μM の計 6 種類にそれぞれ調製した。試料はいずれも直径 6 mm、長さ 20 mm のストロー (0.57 ml) に封入し、試料が漏れ出さないように両端をパラフィンフィルムで密閉して使用した。

計測の手順としては、はじめに ICG 濃度が最も小さい 0.40 μM の食品試料を使用して食肉ファントムの内部に埋め込み、重ねる牛肉ミンチの厚みを 0, 5, 10, 15, 20, 25 mm と変化させながら蛍光強度を計測した。以降、ICG 濃度が小さい順に食品試料を入れ替えて、同様に蛍光強度を計測した。プローブと食品試料上面までの距離を食品試料の深さと定義した。なお、再現性を確認するため、各 ICG 濃度および各深さに対して蛍光強度を記録した後でプローブをファントム表面から離して、再度同じ箇所を押し当てて蛍光強度を記録する作業を 2 回行い、同じ深さで計 3 回の計測を行った。

5.4.3 結果および考察

ICG 濃度と蛍光強度の関係を Fig. 5.11 に示す。深さ 0, 5, 10, 15 mm の明確に食品試料中の ICG に起因する蛍光が検出されている範囲内では、ICG 濃度が 0.81 ~ 1.6 μM に蛍光強度のピークを持つことが分かった。一般的に、一定の濃度までは食品試料中の ICG 濃度の上昇とともに蛍光強度も増すことは知られており [33], 今回の結果においては 0.40 ~ 0.81 μM の間での蛍光強度の上昇に反映されていると考えられる。一方、高濃度の場合に蛍光強度が小さくなる要因については、励起分子と未励起分子との衝突による動的消光や、基底状態の分子同士の結合による静的消光などに起因する濃度消光 [17]が考えられる。本研究において、ICG に起因する蛍光の蛍光強度とバックグラウンド蛍光の蛍光強度の比が重要になることため、ICG に起因する蛍光の蛍光強度が最も高くなる ICG 濃度を選択することが有効である。したがって、ICG 濃度を 0.81 ~ 1.6 μM 程度とすることが最適であると考えられる。

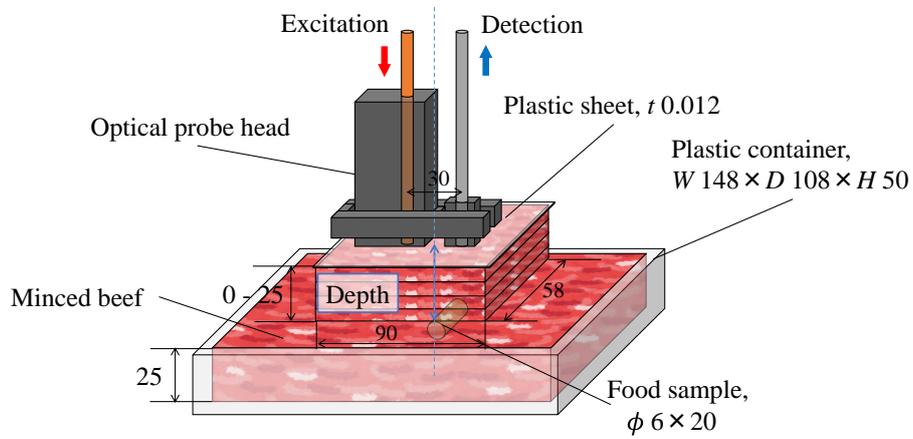


Fig. 5.10 Experimental setup for clarifying effect of ICG concentrations

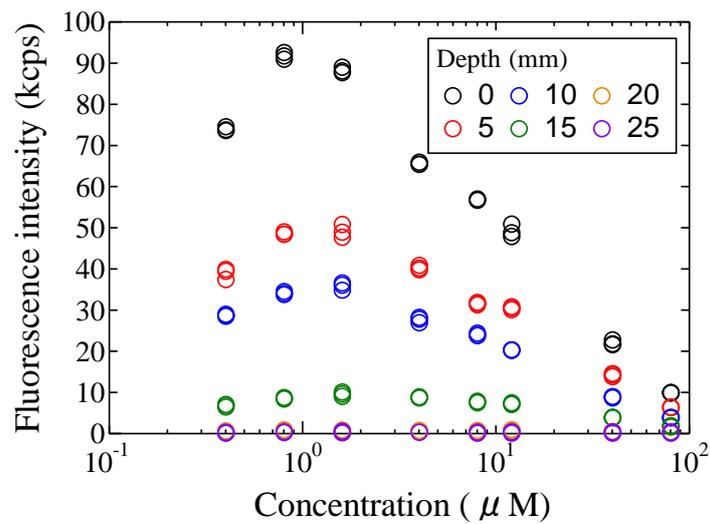


Fig. 5.11 Relationship between ICG concentration and fluorescence intensity with different depths

5.5 蛍光計測装置機構の影響評価

5.5.1 概要

本研究においては、ICG に起因する蛍光の蛍光強度とバックグラウンド蛍光の蛍光強度の比が重要になることから、最大検出可能深さを向上させるにあたり、バックグラウンド蛍光を下げるのが有効な方法のひとつであると考えられる。そこで本節では、照射光強度が大きい照射点近傍でバックグラウンド蛍光が強く発生することに着目し、蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバの間隔を変え、ICG に起因する蛍光の蛍光強度とバックグラウンド蛍光の蛍光強度の比を比較し、ファイバ間隔が最大検出可能深さに与える影響の検討を行った。

5.5.2 計測方法

Fig. 5.12 に示すように、4.2 節と同様に食肉ファントムを組み立て、内部に食品試料を埋め込んだ。蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバをプローブから取り外し、独立した状態で使用できるようにした。両ファイバの先端に片面粘着付きの NR スポンジを取り付け、両ファイバの照射孔および検出孔の中心線上に食品試料が位置するように食肉ファントムの上部表面にあたるポリエチレン製シートにファイバの先端を押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 23 mW とした。また、食品試料については 4.2 節と同様に調製し、ICG を含む牛乳を試料 A、ICG を含まない牛乳のみのものを試料 B として直径 6 mm、長さ 20 mm のストロー (0.57 ml) に封入し、計測に使用した。なお、試料中の ICG 濃度は 0.81 μM とした。

計測の手順としては、はじめに重ねる牛肉ミンチの厚みを 10 mm に固定した。試料 A を食肉ファントムの内部に埋め込み、照射ファイバと検出ファイバの間隔が 15 mm になるように食肉ファントム上部表面のポリエチレン製シートにファイバ先端の NR スポンジでファイバを固定した状態で蛍光強度を計測した。次に、ファイバ間隔を食品試料の中心線に対称に 15, 20, 25, 30, 35 mm と変化させながら蛍光強度を計測した。さらに、ファントム内部の食品試料を試料 A から試料 B に埋め変え、同様にファイバ間隔を変化させながら蛍光強度を計測した。重ねる牛肉ミンチの厚みを 5 mm 増やし、同様にファイバ間隔を変化させながら、また、試料の種類を変えながら蛍光強度を計測した。上記の操作を繰り返し、牛肉ミンチの厚み 15, 20, 25 mm にて計測を行った。ファイバの先端と食品試料上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。

5.5.3 結果および考察

ファイバ間隔ごとの試料深さと蛍光強度の関係を Fig. 5.13 に示す. また, ファイバ間隔と蛍光強度の関係を Fig. 5.14 に示す. 試料 A, 試料 B を用いた場合, どちらもファイバ間隔の増加に伴い蛍光強度が減少している. これは, 照射光および蛍光の光路長が増加したことで, 拡散, 散乱, 吸収による光強度の減衰が反映されているものと考えられる. 試料 B の結果については, 深さに依る蛍光強度の変化はなく, 媒体溶液自体が発するバックグラウンド蛍光と見なすことができる. そこで, 各ファイバ間隔において, 試料 A の蛍光強度とバックグラウンド蛍光の蛍光強度の差を取った値を試料 A が発した蛍光とし, バックグラウンド蛍光に対する試料 A が発した蛍光の比を SN 比としてプロットしたものを Fig. 5.15 に示す. 15 mm 以上の深さにおいてファイバ間隔の増加に伴い, SN 比が向上することが分かった. 試料 A が発した蛍光と比較してバックグラウンド蛍光の方がファイバ間隔の増加に伴う蛍光強度の減少率が大きかったためであると考えられる. 一方, 深さ 20 mm 以上, ファイバ間隔 30 mm 以上において, 各深さに対する蛍光強度および各ファイバ間隔に対する SN 比の値のばらつきが大きくなっていることから, ファイバ間隔が広いところでは再現性が低下する傾向にあることが分かった. 残留食物を検出する上で, SN 比は大きい方がより明確に検出可能といえるが, 再現性を考慮すると値のばらつきが低い方が望ましい. そのため, 最も効率のよい SN 比を得るためには値のばらつきとの兼ね合いを考慮したファイバ間隔の最適値をとる必要がある. 言い換えると, 最適なファイバ間隔とすることで, 深い位置まで十分な SN 比で残留食物を検出でき, 最大検出可能深さを増加させることが可能と考えられる.

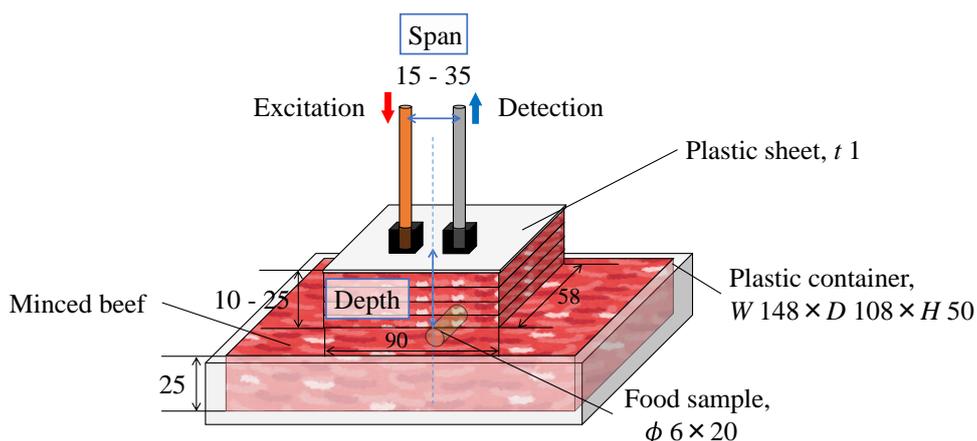


Fig. 5.12 Experimental setup for clarifying effect of span between excitation fiber and detection fiber

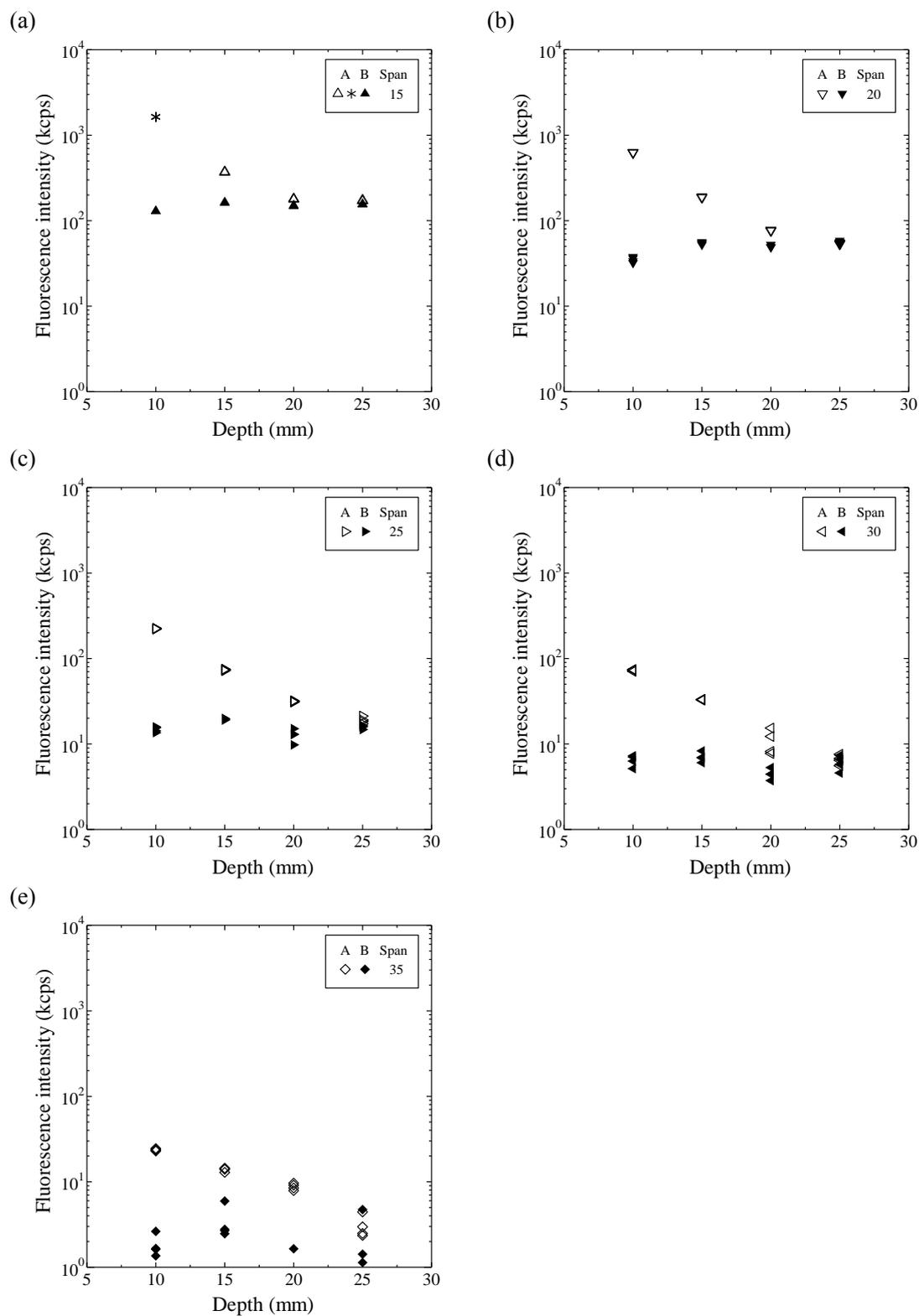


Fig. 5.13 Relationship between depth and fluorescence intensity

(a) Span is 15 mm, (b) 20 mm, (c) 25 mm, (c) 30 mm, (d) 35 mm.

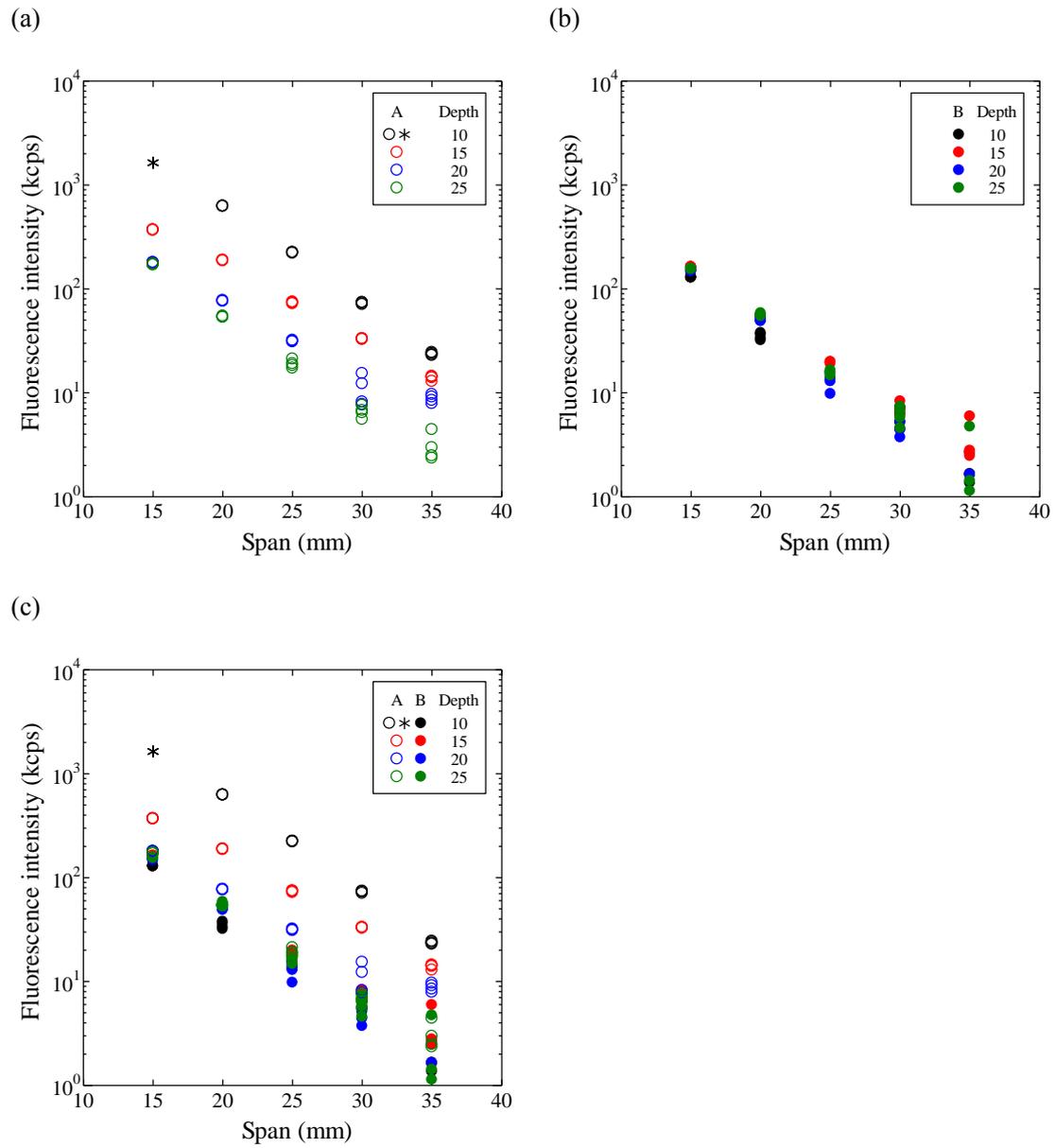


Fig. 5.14 Relationship between span and fluorescence intensity
(a) Object A, (b) object B, (c) superposition of (a) and (b).

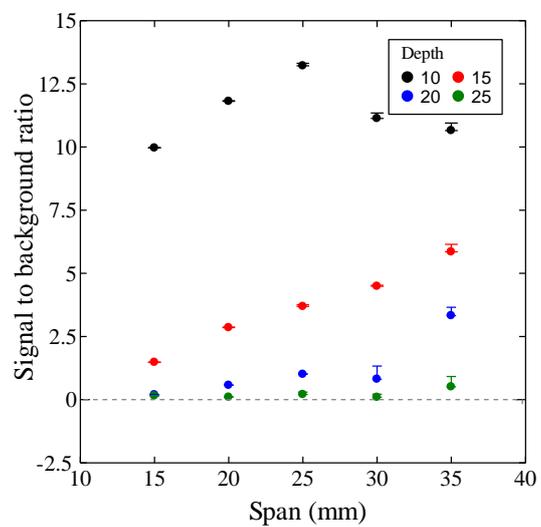


Fig. 5.15 Relationship between span and signal to background

5.6 咽頭残留量の定量化の検討

上述の蛍光検出の関連因子の影響をもとに、残留食物の定量化を検討すると、ファイバ間隔については、事前に最適ファイバ間隔を求め、固定することにより、変数として扱う必要がなくなる。一方、気道空間については、気道径に個人差がある。また、食品試料中の ICG 濃度についても、咽頭腔の粘膜などと食品試料が混ざることによって、残留時の ICG 濃度が低下することで蛍光強度が変化することが考えられるため、被験者間の水分量の違いに影響される可能性がある。残留食物の残留量と投影面積については、独立の因子としての評価が困難であるが、5.3 節で示したような大まかな傾向があることから、より多くのサイズの食品試料を用意し、また、試行回数を増やすことによって、ある深さにおける蛍光強度と残留量と投影面積の関係として定式化できる可能性が考える。以上を踏まえると、梨状窩までの距離が定められない被験者間での蛍光強度の比較による残留量の推定は困難であると考えられる。一方、同一被験者内で一定期間内において気道の形状や水分量が大きく変化しないと仮定することができれば、同一条件での蛍光計測結果を比較した際に、残留量と投影面積で定式化された関数を利用することによって、一定期間内での残留量の比較を定量的に行える可能性があると考えられる。

第 6 章 均一媒体物質を用いたファイバ間隔の最適化検討

6.1 概要

5.5 節にて、蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバの間隔を変えることによって最大検出可能深さの向上が期待できることが示唆された。一方、食肉ファントムは試行毎の値のばらつきが大きいことや光学特性が明確でないという問題点がある。そこで本章では、生体模擬試料として光学特性が既知の均一媒体溶液を新たに作製し、安定的かつ定量的条件のもとファイバ間隔と蛍光強度、および SN 比との関係を求め、最適なファイバ間隔の検討を行った。さらに、他の研究で行われているモンテカルロ法によるシミュレーション結果と比較を行い、本蛍光計測の妥当性を検討した。

6.2 方法

6.2.1 光学ファントムの調製

ヒトの軟組織の光学特性を模擬した媒体溶液と、残留食物を模擬した検出対象物で構成される光学ファントムには、散乱体としてイントラリポス（イントラリポス輸液 20%，大塚製薬）、吸収体として緑色色素（粉末食用色素 緑，私の台所）、蛍光剤として ICG を水と混ぜ合わせたものを使用した。各波長に対する光学特性値は Table 6.1 の通りである。なお、表中の μ'_s , μ_a^{green} , μ_a^{ICGm} , μ_a^{ICGd} はそれぞれ、イントラリポスの散乱係数、緑色色素の吸収係数、媒体溶液内濃度における ICG の吸収係数、検出対象物内濃度における ICG の吸収係数を示している。検出対象物は寒天粉を加え、固化した状態で直径 6 mm、長さ 6 mm のストロー（0.17 ml）に封入して作成した。また、比較のため ICG のみを含まない検出対象物を作成し、同様に固化した後ストローに封入し使用した。ICG を含む検出対象物を対象物 A、ICG を含まない検出対象物を対象物 B とした。

6.2.2 計測方法

Fig. 6.1 に示すように、直径 95 mm、高さ 120 mm のポリエチレン製の容器の内側面に、壁面での光子の反射を防ぐために表面を研磨した厚さ 1 mm の黒色のゴム板を貼り付けた。さらに同様の理由で底面には黒色の NR スポンジを敷いた。その容器の中に 6.2.1 節で調製した媒体溶液を側面のゴム板よりも約 2 mm 高い位置まで注いだ。対象物に釣り糸を通し、片方の端部に溶液内で対象物が浮き上がることを防ぐための重りとしてステンレス製のナットを括りつけた。媒体溶液の上面に配置する NR スポンジの中心から、対象物と重りを取り付けた釣り糸を吊るし、試料の中心線を対象に蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバが挿入できるように孔を開けた。ファイバは端面に溶液が付着することを防ぐために、透明なラップを介して孔に挿入した。さらに、ファイバには NR スポンジ表面と垂直の関係

を保つために、自作のファイバホルダを取り付けた。ファイバと対象物を取り付けた NR スポンジを、ファイバ端面が溶液表面に接触するように溶液上面に設置した状態で、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 20 mW とした。計測の手順としては、はじめにファイバ間隔を 15 mm に固定し、媒体溶液内の対象物 A の深さを 15, 20, 25 mm と変化させながら蛍光強度を計測した。ファイバ間隔 20, 25, 30, 35, 40, 45 mm に対しても、同様に対象物の深さを変えながら蛍光強度を計測した。また、対象物 A と対象物 B を入れ替えて、同様にファイバ間隔と対象物の深さを変えながら計測を行った。ファイバの先端と対象物上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。また、照射ファイバの照射点の中心から検出ファイバの検出点の中心までの水平方向の距離をファイバ間隔と定義した。

再現性を確認するため、各深さに対して蛍光強度を記録した後でプローブを溶液表面から離して、再度同じ箇所に接触させ蛍光強度を記録する作業を 2 回行い、同じ深さで計 3 回の計測を行った。

6.3 結果および考察

6.3.1 実験結果

ファイバ間隔と蛍光強度の関係を Fig. 6.2 に示す。対象物 A、対象物 B を用いた場合、どちらもファイバ間隔の増加に伴い蛍光強度が減少している。これは、光路長が増加したことで、拡散、散乱、吸収による光強度の減衰が反映されているものと考えられる。対象物 B の結果については、深さに依る蛍光強度の変化はなく、媒体溶液自体が発するバックグラウンド蛍光と見なすことができる。そこで、各ファイバ間隔において、対象物 A の蛍光強度とバックグラウンド蛍光の蛍光強度の差を取った値を対象物 A が発した蛍光とし、バックグラウンド蛍光に対する対象物 A が発した蛍光の比を SN 比としてプロットしたものを Fig. 6.3 に示す。検出可能領域であることが既に示されている深さ 15, 20 mm において、ファイバ間隔 30 mm まではファイバ間隔の増加に伴い SN 比が向上することが分かった。一方、ファイバ間隔 30 mm 以上は、SN 比の顕著な増加が見られず、頭打ちに近い状態になっている。したがって、特に深さ 20 mm 以上の位置において明確に蛍光を検出するためには、高い SN 比を有するファイバ間隔 30 mm 以上を選択することが有効であると考えられる。しかしながら、ファイバ間隔を広げすぎることによって、蛍光強度そのものが取れなくなるため、ファイバ間隔のさらなる最適化に向けては、生体における蛍光強度の減衰や値のばらつきを考慮した検討が必要である。

6.3.2 モンテカルロ・シミュレーション [34] [35] [36]

他の研究において、モンテカルロ法を用いて組織中にある蛍光体からの蛍光をシミュレーションし、励起光の入射と蛍光の検出位置と蛍光体からの信号のコントラストの関係が求められた。モンテカルロ法とは、コンピュータ上で発生させた乱数を用いて数値計算を行い、偶然現象の推移や結果を求める手法である。シミュレーションの概要図を Fig. 6.4 に示す。蛍光計測実験における検出対象物に相当する蛍光体としては、直径 6 mm の球体を仮定し、媒体溶液に相当する無限半平面の原点直下に配置された。無限半平面と蛍光体の光学特性値を Table 6.2 に示す。なお、表中の μ'_s , μ_a^{base-m} , μ_a^{base-d} , μ_a^{flu-m} , μ_a^{flu-d} はそれぞれ、無限半平面と蛍光体の散乱係数、無限平面体内の蛍光物質以外の物質の吸収係数、蛍光体内の蛍光物質以外の物質の吸収係数、無限平面内の蛍光物質の吸収係数、検出対象物内の蛍光物質の吸収係数を示している。シミュレーションでは、Fig. 6.5 に示す $y = x$ 上を、照射点と検出点 ρ を一定に保ちながら移動し、A, B, C, D, E, F, G の位置から $2 \sim 4 \times 10^{12}$ 個の励起光子の入射が行われ、蛍光物質に吸収され遷移することにより生じた蛍光光子が入射位置から ρ 離れた $1 \times 1 \text{ mm}^2$ の領域で検出されたものが計測された。

シミュレーションにより得られた照射点と検出点の中心位置に対する蛍光強度を Fig. 6.6 に示す。赤、緑、青、ピンク、シアンで示された曲線はそれぞれファイバ間隔 15, 20, 25, 30 mm の結果を示しており、ファイバ間隔を広く取ると、蛍光強度は減少することが分かる。蛍光体は無限半平面の原点直下にあることから、この蛍光強度分布の頂点にあたる Position = 0 mm のときの値は、蛍光体の蛍光強度 a とバックグラウンド蛍光の蛍光強度 b を足し合わせた $a+b$ とみなすことができる。また、Position = 20 mm 以降の蛍光体から離れた位置の蛍光強度の値はバックグラウンド蛍光の蛍光強度 b とみなせることから、バックグラウンド蛍光に対する蛍光体の蛍光の比 (SN 比) として、 a/b が求められた。その結果、ファイバ間隔と a/b の関係が Fig. 6.7 のように得られた。赤、緑、青で示された直線はそれぞれ蛍光体の深さ 11, 16, 21 mm の結果を示しており、ファイバ間隔を広く取ると、SN 比は大きくなる事が分かる。

6.3.3 実験結果とシミュレーション結果の比較

実験とシミュレーションの結果を比較すると、いずれもファイバ間隔の増加に伴い SN 比が増加しており、同じ深さにおける SN 比も近い値を取っていることが分かる。僅かな差が生じた要因としては、実験において、励起光と蛍光の波長における吸収係数が異なる吸収体と蛍光物質を使用していることから、シミュレーションの設定値と比較して励起光の波長における吸収係数はほとんど等しいのに対して、蛍光の波長における吸収係数が下回っていることがあげられる。また、検出体の形状の違いにより、投影面積はシミュレーションの方が 2 倍、体積は実験の方が 1.5 倍大きいという差があることも差の要因として考えられる。実験結果とシミュレーション結果で概ね同じ傾向が得られたことから、最適ファイバ間隔の検討方法の妥当性が示されたと考えられる。

Table 6.1 Optical properties of medium solution and detection object in experiment

Wavelength (nm)	μ'_s (mm ⁻¹)	μ_a^{green} (mm ⁻¹)	μ_a^{ICGm} (mm ⁻¹)	μ_a^{ICGd} (mm ⁻¹)
785	1.02	9.46×10^{-3}	16.5×10^{-6}	16.5×10^{-3}
845	0.93	5.05×10^{-3}	1.23×10^{-6}	1.23×10^{-3}

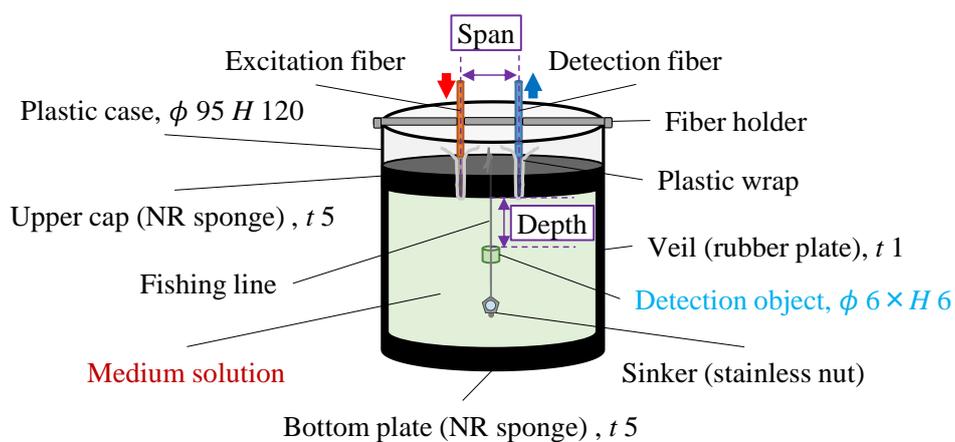


Fig. 6.1 Experimental set up for optimizing span between excitation fiber and detection fiber using optical medium solution

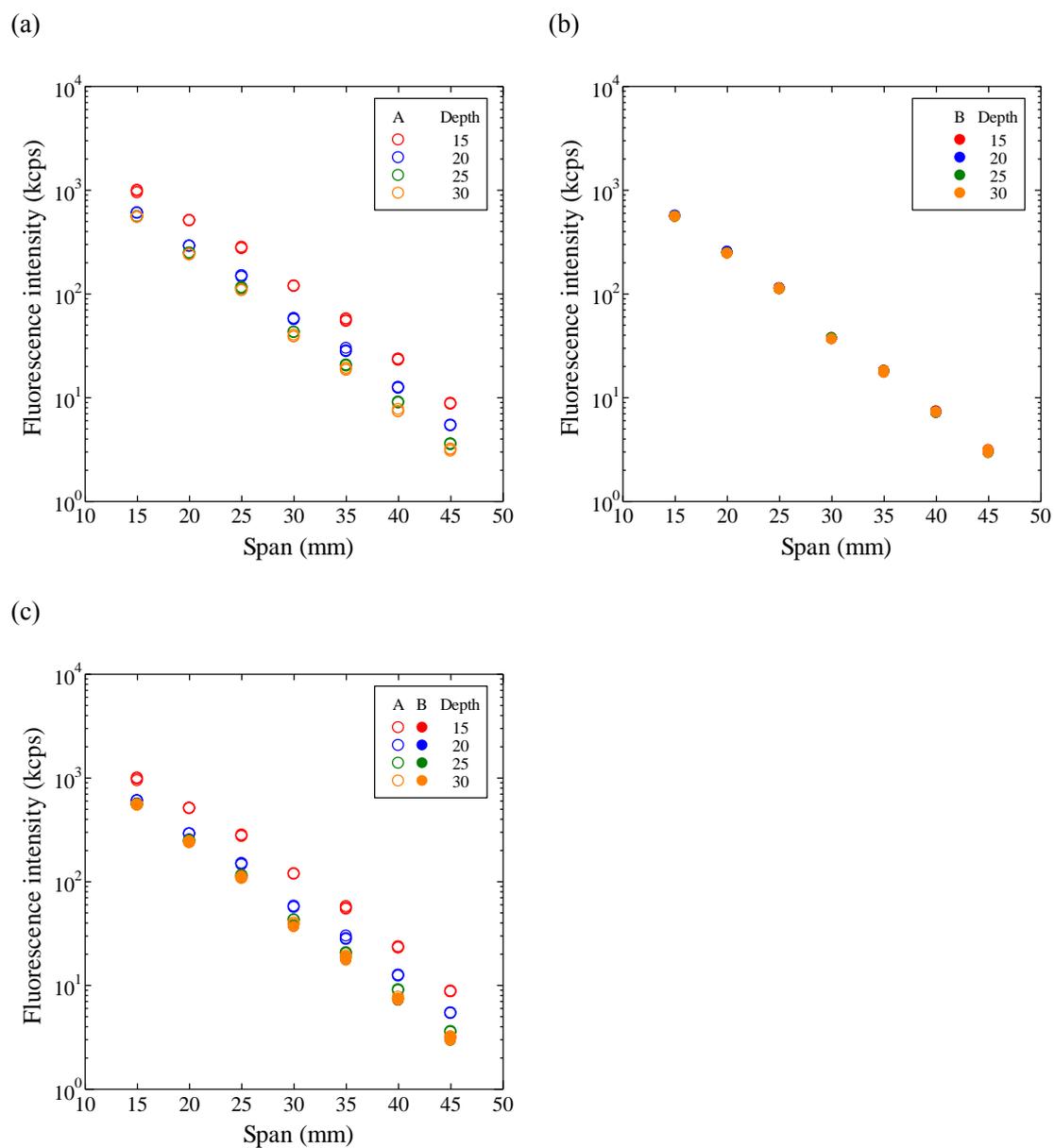


Fig. 6.2 Relationship between span and fluorescence intensity
(a) Object A, (b) object B, (c) superposition of (a) and (b).

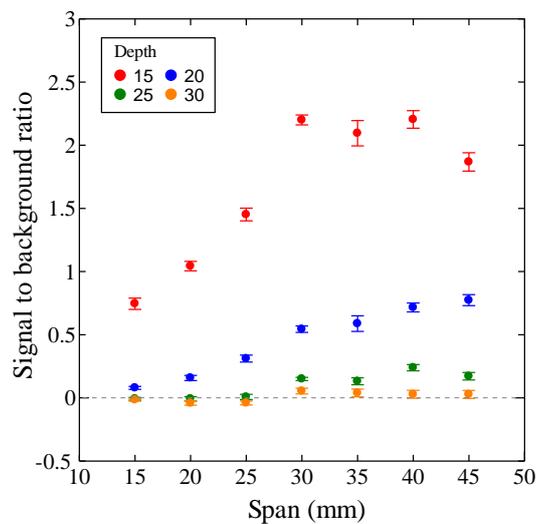


Fig. 6.3 Relationship between span and signal to background ratio

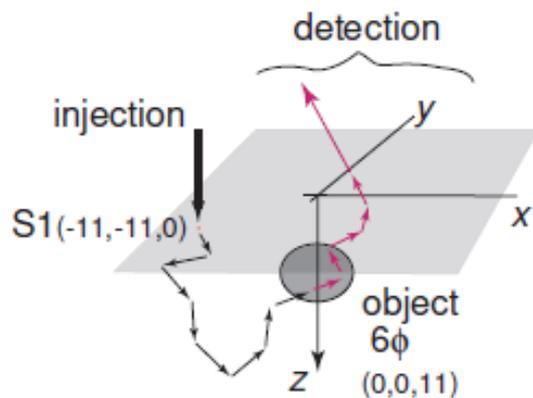


Fig. 6.4 Schematic of Monte Carlo simulation

Table 6.2 Optical properties of medium solution and detection object in simulation

μ'_s (mm ⁻¹)	μ_a^{base-m} (mm ⁻¹)	μ_a^{base-d} (mm ⁻¹)	μ_a^{flu-m} (mm ⁻¹)	μ_a^{flu-d} (mm ⁻¹)
1.0	9.98×10^{-3}	10.0×10^{-3}	17.0×10^{-6}	17.0×10^{-3}

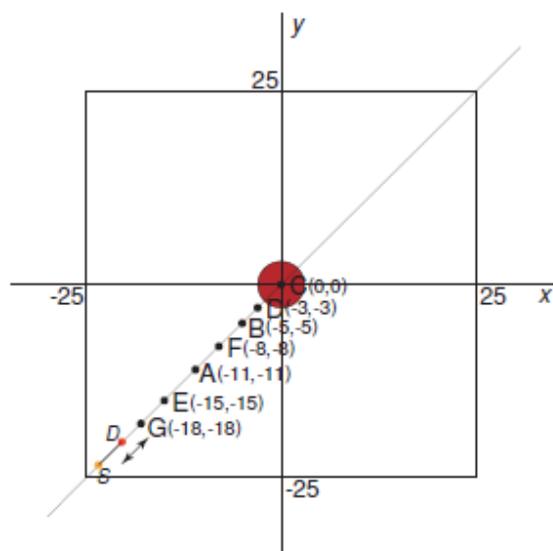


Fig. 6.5 Injection points in simulation

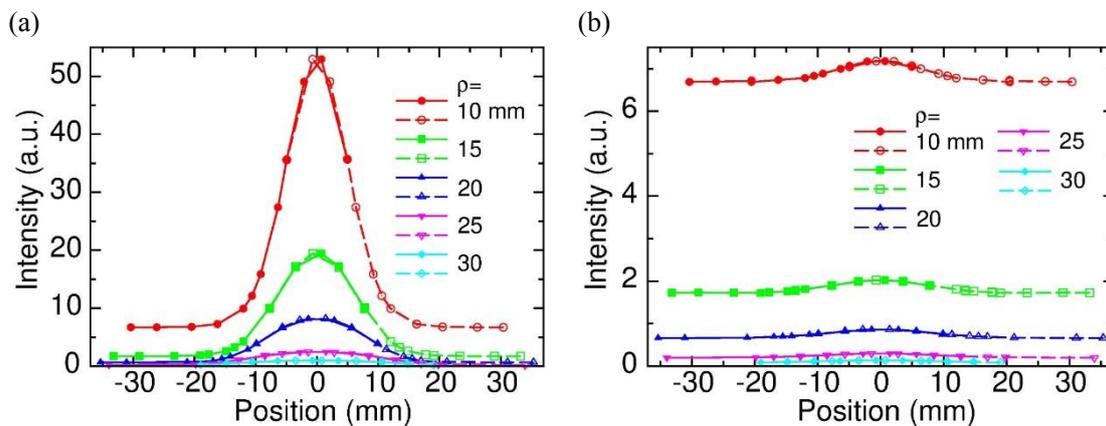


Fig. 6.6 Relationship between SD position and fluorescence intensity

(a) Depth is 11 mm, (b) 21 mm.

This figure is measurement result by Nishimura [35]

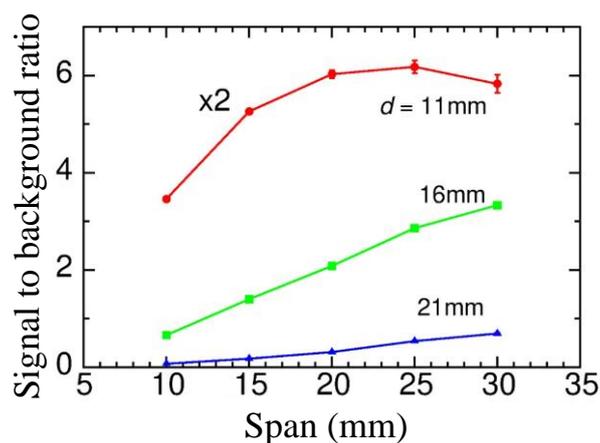


Fig. 6.7 Relationship between SD distance and contrast

(Contrast of 11 mm depth was scaled by 1/2)

This figure is measurement result by Nishimura [35]

第 7 章 健康者を対象にした嚥下実験による蛍光計測システムの有用性評価

7.1 概要

蛍光計測システムの有用性を評価することを目的とし、臨床試験にて食品試料嚥下時の蛍光計測を行った。健康被験者を対象に、咽頭の状態を内視鏡カメラにて撮影しながら食品試料嚥下時の蛍光計測を行うことにより、残留状況と蛍光強度の関係を求めた。

7.2 計測方法

本実験では、事前の摂食嚥下障害チェックシート（付録 A）にて障害の疑いがないことが確認されている 61 歳健康男性（頸囲 37.0 cm）を被験者として計測を行った。蛍光計測装置のプローブ設置位置を Fig. 7.1 に示す。本実験では、Fig. 2.5 (2) を参考に、頸部表面から梨状窩までの距離が最短である頸部右前方部にプローブを設置した。被験者の頸部表面の喉頭の凸部（甲状切痕最前方部）にあたる位置を原点と設定し、原点から 25 mm 後側、20 mm 上側の箇所を M1 とマークした。さらに、M1 から 15 mm 下側の箇所を M2 とマークした。マークと照射点および検出点の位置関係を Fig. 7.2 に示す。蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバの間隔を 30 mm に固定し、マーク位置から水平方向 5 mm 後側に照射点が当たるようにプローブを頸部に押し当てた。食品試料には、ICG を水で希釈した後、牛乳に入れ攪拌したもの（以下、ICG 牛乳）を使用した。なお、試料中の ICG 濃度は $0.81 \mu\text{M}$ とした。また、比較のため ICG を含まない水のみを試料についても計測を行った。計測の手順としては、はじめに安静着座状態の被験者の鼻腔から内視鏡を挿入した状態で食品試料を口内に含ませ、保持させた。先に示したマークの位置に手で保持したプローブを押し当て、蛍光強度の記録を開始した。PC 上に表示される 1.6 秒ごとの蛍光強度の積算値の更新に合わせてカウントダウンをし、嚥下と蛍光計測のタイミングを同期させた。その後、被験者は安静状態のまま待機してもらい、ICG 試料嚥下時は約 20 秒、水嚥下は約 10 秒蛍光強度の記録を継続した後、計測を終了した。はじめに位置 M1 で水→ICG 牛乳→水→ICG 牛乳の順番で、その後に位置 M2 で ICG 牛乳→水→ICG 牛乳の順番で各試料嚥下時の蛍光計測および内視鏡動画撮影を行った。なお、試料の経口摂取容量はいずれも 10 ml とした。また、咽頭に残留する ICG 牛乳の次の嚥下試料の蛍光強度への影響を減少するため、各 ICG 牛乳嚥下の蛍光強度の記録終了後は、10 ml の水で咽頭の洗浄を行い、その後、次の試料嚥下時の蛍光強度の記録を行った。

7.3 結果および考察

本実験における内視鏡画像の撮影時の画角を Fig. 7.3 に、咽頭腔に試料がない状態の内視鏡画像を Fig. 7.4 に示す。Fig. 7.4 中には、蛍光計測における近赤外光の照射方向を合わせて表示した。時間経過に対する蛍光強度の推移について、結果の一例として位置 M1 における水嚥下時の結果を Fig. 7.5 に、位置 M1 における ICG 牛乳嚥下時の結果を Fig. 7.6 に示す。Fig. 7.5 と Fig. 7.6 内に (a), (b), (c), (d) で示した蛍光強度を記録した時刻における内視鏡画像を Fig. 7.7 に示す。蛍光計測では、水嚥下時は嚥下の前後で蛍光強度の変化がなく、また、内視鏡画像では、嚥下後にあたる (a) からは ICG を含む試料が残留していないことがわかる。そのため、水嚥下時に得られる蛍光強度は、頸部の自家蛍光に起因するバックグラウンド蛍光が反映されていると考えることができる。一方、ICG 牛乳嚥下時は嚥下直後に蛍光強度が一時的に大きく上昇し、その後わずかに減少するも、嚥下前の蛍光強度よりも高い状態が続くことがわかる。ICG 牛乳嚥下時は水嚥下時と比較して蛍光強度の変動が大きいことや、内視鏡画像において嚥下前にあたる (b) と比較して ICG 牛乳嚥下後にあたる (c), (d) にて咽頭腔に ICG 牛乳がわずかに残っていることから、食品試料中に含まれる ICG に起因する蛍光を検出しているものと考えられる。位置 M2 における ICG 牛乳嚥下時の時間経過に対する蛍光強度の推移を Fig. 7.8 に示す。また、Fig. 7.8 内に (e), (f), (g), (h) で示した蛍光強度を記録した時刻における咽頭腔の内視鏡画像を Fig. 7.9 に示す。蛍光計測の結果から、嚥下直後に蛍光強度が一時的に大きく上昇し、その後自発的に行われた空嚥下後に嚥下前のレベルまで減少している。内視鏡画像を確認すると、ICG 牛乳嚥下直後にあたる (f) では、梨状窩に若干試料が残り、その後の 2 回の空嚥下直後にあたる (h) では、梨状窩の残留試料が除去されている。蛍光強度の推移と内視鏡で確認できる咽頭腔の状況から、ICG 牛乳嚥下時に見られる蛍光強度の変動は梨状窩に残留する ICG 牛乳からの蛍光を反映している可能性が高いと考えられる。それを裏付ける考察として、蛍光計測プローブの頸部設置位置と梨状窩の位置関係があげられる。87 歳健常男性の MRI 画像を参考に、位置 M1 と位置 M2 の梨状窩との上下方向の位置関係を Fig. 7.10 に示す。図より、位置 M1 と比較して位置 M2 は梨状窩に対して水平方向に位置していると考えられる。このことは、位置 M1 よりも位置 M2 の方がプローブ設置位置から梨状窩までの距離が短いことを示している。プローブ設置位置から蛍光食物までの距離が短いほど、得られる蛍光強度は大きくなることを踏まえ、位置 M1 と位置 M2 の ICG 試料嚥下後の蛍光強度の絶対値を比較すると、位置 M2 の方が大きい。蛍光強度が異なる要因としては、距離以外にも蛍光食物サイズにも由来するが、位置 M1 と位置 M2 の計測時の ICG 牛乳嚥下後にあたる (d) と (f) の内視鏡画像から、蛍光食物の残留状況は同じであるとみなせる。したがって、蛍光強度が異なる要因としては、プローブ設置位置から梨状窩までの距離が主に影響していると考えられるため、位置 M1 と位置 M2 で得られる ICG 牛乳嚥下後の蛍光強度は梨状窩に残留する ICG 牛乳からの蛍光を反映しているとみなせる。したがって、本蛍光計測システムは咽頭腔の梨状窩の残留食物を

検出する上で、有用である可能性が示されたといえる。さらに、参考として本実験の 61 歳被験者の頸囲は 37.0 cm であり、60 ~ 64 歳男性の頸囲の平均値と一致している [37] ことから、標準的な体型の被験者に対しての適用が可能であると考えられる。

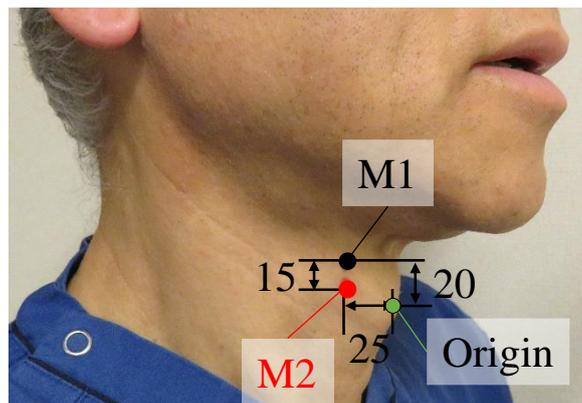


Fig. 7.1 Marked position

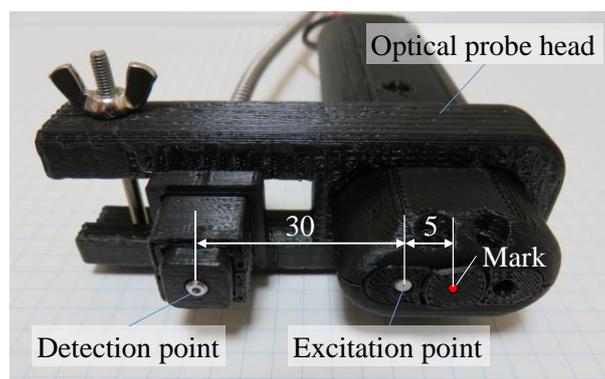


Fig. 7.2 Positional relationship between mark and optical points

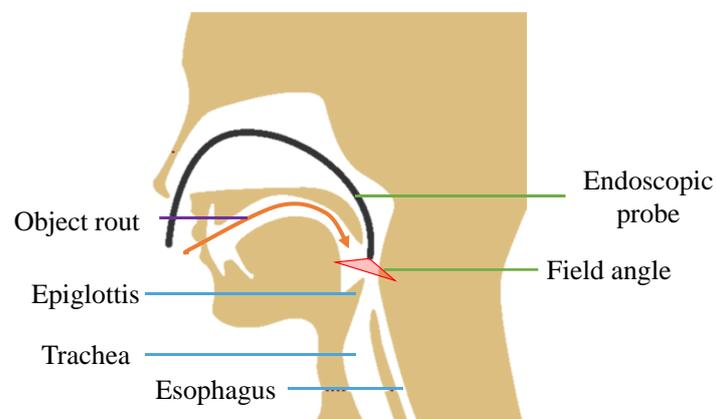


Fig. 7.3 Field angle of endoscopic image

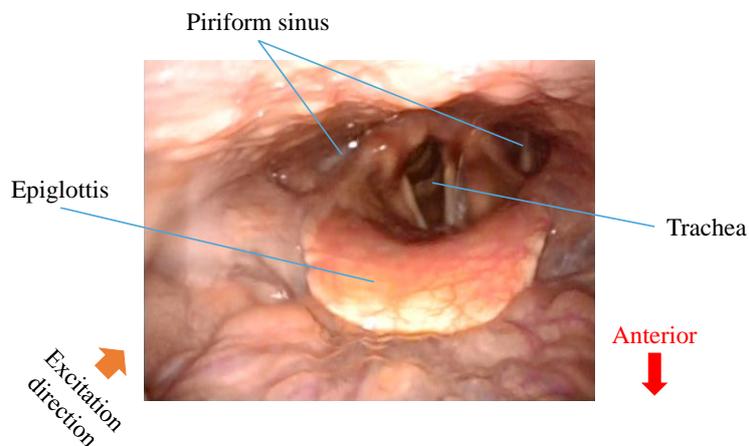


Fig. 7.4 Endoscopic image of empty oral cavity

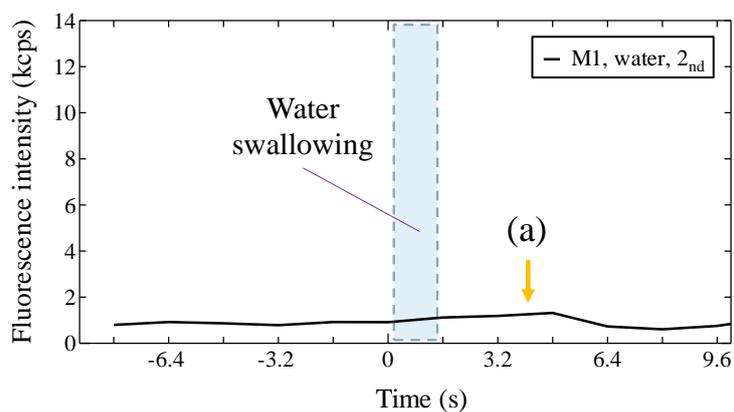


Fig. 7.5 Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M1, water, 2nd trial)

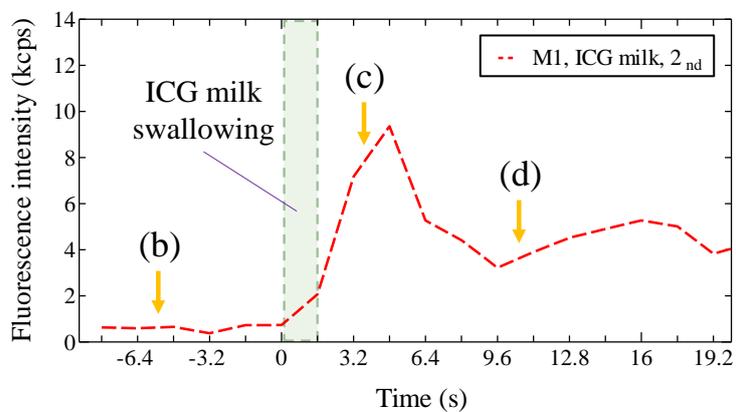


Fig. 7.6 Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M1, ICG milk, 2nd trial)

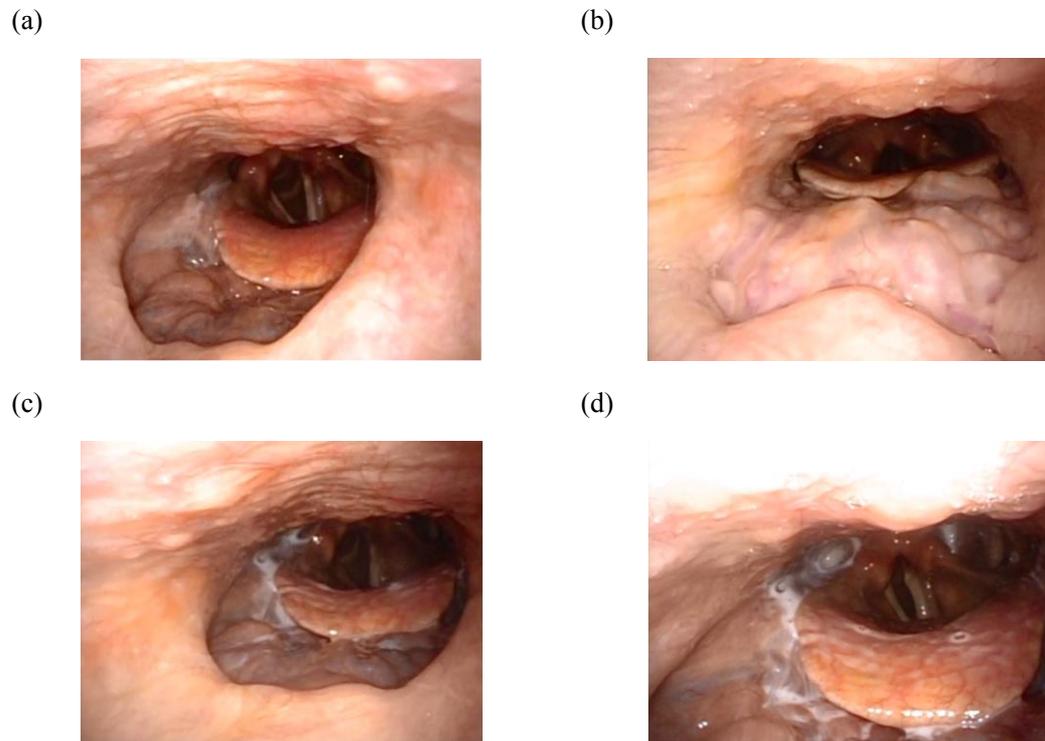


Fig. 7.7 Endoscopic image on measuring M1
(a) Water, 2nd trial, (b) (c) (d) ICG milk, 2nd trial.

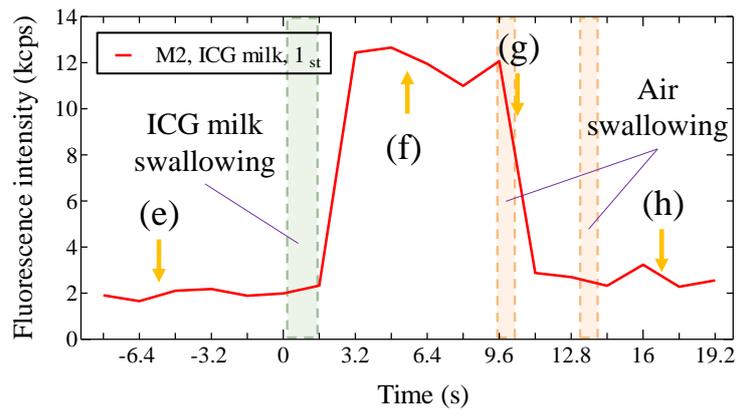


Fig. 7.8 Relationship between time course and transition of fluorescence intensity (M2, ICG milk, 1st trial)

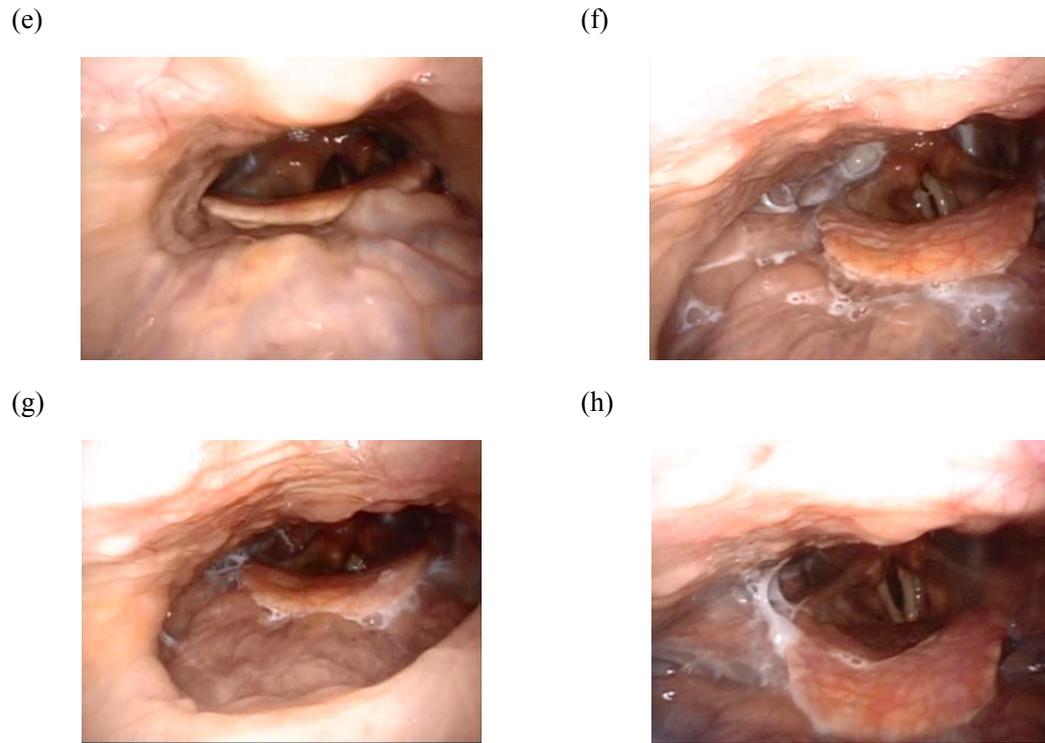


Fig. 7.9 Endoscopic image (M2, ICG milk, 1st trial)

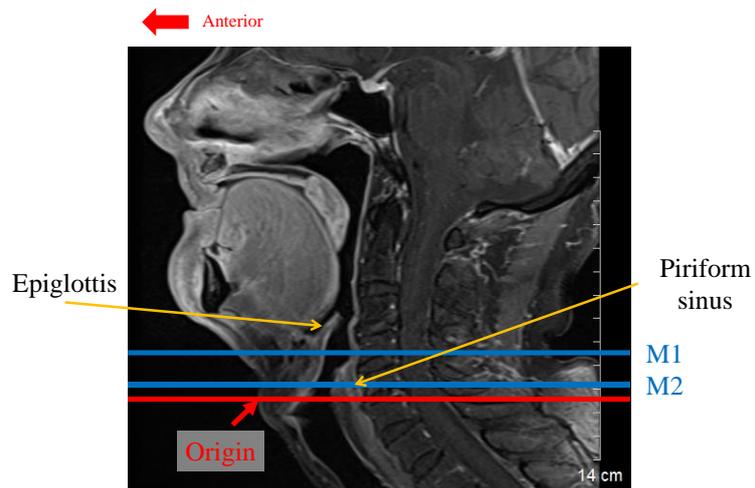


Fig. 7.10 Positional relationship between mark and piriform sinus on MRI normal neck image (87 year-old man)

第 8 章 結言

より安全かつ簡易な誤嚥検査の実現に向け、患者が摂取した蛍光剤入りの食物を体外から発光させ、その蛍光の程度で咽頭腔の残留食物の有無を判断し、嚥下後誤嚥の危険性を評価する蛍光計測法の検討を行った。

生体模擬試料を用いた計測実験による蛍光計測システムの最大検出可能深さの検討、食肉を用いた最大検出可能深さ向上と残留量定量化のための関連因子の影響評価、健常者を対象にした蛍光計測システムの有用性評価を行った。その結果、以下の知見を得た。

- ◆ 本蛍光計測システムは生体を模擬した食肉ファントムに対して 20 mm 前後の深さまで蛍光食物の検出が可能であり、食肉ファントムと比較してバックグラウンド蛍光が小さい生体に対してはより深い位置まで検出が可能であると考えられる。
- ◆ 咽頭腔の気道空間では近赤外光の減衰の影響が小さいため、気道を介して近赤外光の照射と検出を行うことで、最大検出深さの向上が可能である。
- ◆ 梨状窩に残留する蛍光食物に対して投影面積が大きくなる頸部表面上の位置において近赤外光の照射と検出を行うことで、最大検出可能深さを向上させることができる。
- ◆ ICG に起因する蛍光の蛍光強度は ICG 濃度が 0.81 ~ 1.6 μM のとき最も大きくなる。
- ◆ 近赤外光の照射点近傍で強く発生するバックグラウンド蛍光の影響を低減するため、蛍光計測装置の照射ファイバと検出ファイバを、ICG に起因する蛍光の蛍光強度自体が取得できる間隔内で可能な限り間隔を離して計測することで、高 SN 比での検出が可能である。
- ◆ 咽頭腔の梨状窩への食物残留状況が反映された蛍光を計測することができたため、本蛍光計測システムによって梨状窩に残留する蛍光食物の検出が可能である。

第 9 章 今後の展望・課題

咽頭残留検出のための蛍光計測法の確立を目指し、健常者と摂食・嚥下障害患者を対象にした蛍光食物嚥下時の蛍光計測実験と、蛍光計測システムの改良を中心に研究を進める。

蛍光食物嚥下時の蛍光計測実験においては、健常者と摂食・嚥下障害患者それぞれに対して被験者数を増やし、咽頭腔への蛍光食物の残留状況と蛍光強度の関係をより明確にする。また、実用化にあたっては、蛍光計測結果から健常者と摂食・嚥下障害者を判別できるような分析法の確立が必要となる。現在のところ、第 7 章にて示した蛍光計測結果より、蛍光強度の経時変化のパターンによって、症状を分類する手法が考えられる。例えば、空嚥下後の梨状窩の解消に伴い蛍光強度も減少したことに着目し、ICG を含む食品を嚥下した後で蛍光強度の値から残留が認められた場合に、その後の空嚥下による蛍光強度の減少率によって症状を判断する手法である。嚥下機能の低下が頸部の筋力の低下などに起因する被験者については、咽頭残留が生じた場合に空嚥下を行っても、残留食物の食道への送り込みが困難であることから、咽頭残留が継続する可能性が高い。その場合、蛍光強度は減少しないか、あるいは減少率が小さいと考えることができる。一方の健常者、あるいは嚥下機能の低下が筋力の低下などに起因しない被験者は、咽頭残留が生じた場合に空嚥下を行うことによって、咽頭残留が解消する可能性が高く、その場合、蛍光強度は ICG を含む食品を嚥下する前のレベルの蛍光強度まで減少すると考えることができる。したがって、残留時の空嚥下後の蛍光強度の減少率を分析することは、健常者と摂食・嚥下障害者を判別するひとつの指標になると考えることができる。また一方で、嚥下機能の低下が頸部の感覚の低下に起因する被験者もいることから、残留状況と蛍光強度の関係に加えて、被験者自身の自覚も組み合わせることができれば、蛍光強度の経時変化からさらに詳細な判別が見込めると考えられるため、今後の計測結果の蓄積を踏まえた検討事項とする。

蛍光計測システムの改良については、現在のところ、嚥下時の蛍光計測実験において被験者の頸部に押し当てる強度が一定にできていないこと、頸部構造を考慮した生体における最適ファイバ間隔の検討が不十分であること、といった再現性やより効果的な検出を考える上での課題がある。そのため、今後は臨床試験を通じて得られる知見を基に、照射ファイバと検出ファイバを格納するプローブの形状および機構をはじめとする計測システムを改良することで、再現性や効果的検出だけでなく、食物残留量の定量化も含めて実現を目指す。

付録 A 摂食・嚥下障害チェックシート

摂食・嚥下障害 チェックシート

- 肺炎を繰り返していますか
- ここ 3 ヶ月間で 5 k g 以上やせましたか
- 食事中に食べ物がのどにつかえますか
- 食事中によくむせますか
- 食事中や食後にのどがごろごろしますか
- 夜に咳で眠れなかつたりすることがありますか
- のどに物が溜っていると感じることは多いですか

回答日（西暦）： 年 月 日

回答者氏名：

説明者署名 _____

所属医療機関名 武蔵野赤十字病院

付録 B 光拡散の可視化のための蛍光写真撮影

B.1 概要

光拡散を可視化することによって、ファイバ間隔の最適化や近赤外光の照射および検出方向の選定などに活用できる可能性がある。そこで、赤外領域の光を可視化できる赤外線 (Infrared) スコープ (以下, IR スコープ) を使用し, 第一段階として, 空気中に設置した ICG を含む試料に対して近赤外光を照射したときの試料中の照射光と蛍光の拡散の様子を観察し, 蛍光写真撮影の可否を検討した。

B.2 方法

Fig. B.1 に示すように, 黒色の NR スポンジ上にラップを介して縦 20 mm, 横 20 mm, 高さ 5 mm の蛍光試料を置き, 試料上方から鉛直方向に任意の距離離れた位置に設置した蛍光計測装置の照射ファイバから励起光となる近赤外光を照射した。照射中の様子を, 試料から水平方向 30 cm 離れた位置から IR スコープ (C2250, 浜松ホトニクス) で観察し, また, IR スコープを介してデジタル一眼レフカメラ (D5300, ニコン) の長時間露光撮影により記録を行った。

本撮影における蛍光計測装置の励起光強度は 20 mW とした。蛍光試料については, ICG を水で希釈した後, タンパク質を含む溶媒である牛乳に入れ, さらに寒天粉で固化したものを使用した。比較のため, ICG を含まない試料についても, 同様の溶媒で固化したものを使用した。なお, 試料中の ICG 濃度は 0.81 μM とした。カメラの設定は, マニュアルモードで, f 値を 4.2, シャッタースピードを 60 s, ISO 感度を 100 とした。

計測の手順としては, 試料と照射ファイバ間の距離を 5 mm に固定し, はじめに励起光の拡散の様子を確認するため, (a) ICG を含まない試料について撮影を行った。次に, (b) ICG を含む試料について同様に撮影を行った。その後, 蛍光の撮影を行うため, 波長 800 nm 以下の励起光に相当する光をカットできる偏光フィルタ (785R-18-DL, オプトライン) を IR スコープのレンズに取り付け, 同様に (c) ICG を含まない試料と (d) ICG を含む試料について, 撮影を行った。さらに, ICG を含む試料については, 試料と照射ファイバ間の距離を (e) 10 mm, (f) 20 mm と変更した状態で同様に撮影を行った。

B.3 結果および考察

撮影の結果を Fig. B.3 に示す。なお、撮影した写真は拡散の様子を見やすくするため、撮影時から 40%明るさを増している。偏光フィルタの有無で比較すると、(a), (b) より、偏光フィルタがないときは ICG の有無に関わらず試料全体が励起光照射部を中心に明るく映っている様子が確認でき、励起光が試料を透過していることが可視化できているものとみなせる。一方、偏光フィルタがあるときは、(c), (d) より、ICG がいないときには試料が確認できないが、ICG があるときには励起光照射部で特に明るく映っている様子が確認できる。また、照射部以外の試料全体にわたっても周囲と比較して明るくなっている様子が確認でき、蛍光発光の様子を反映しているものと考えられる。さらに、試料とファイバの間隔を変更して比較したところ、(d), (e), (f) より、距離が大きくなるにつれて試料全体が均一の明るさで発光する様子が確認できるようになった。これは、照射孔から出た励起光が広がり角 12.7° で扇状に拡散する性質から、距離が増加したことで、試料に照射される励起光の面積が増加したためであると考えられる。今回、試料の厚みは 5 mm であったが、撮影した写真を見る限りでは厚み方向に対して均一の強度で蛍光発光していた。梨状窩の残留食物の厚み方向の長さも MRI 画像から判断するに 5 mm 程度であることから、照射された光に対して残留食物は均一に蛍光発光し、全方向に同程度の強度の蛍光が拡散され则认为られる。以上より、IR スコープとカメラを用いて、光拡散の様子を撮影できたため、今後さらに媒体物質中の光拡散の様子なども撮影できるようになれば、蛍光計測システムの改良やプローブの設置位置の選定に活用できると考えられる。



Fig. B.1 Photographed scene

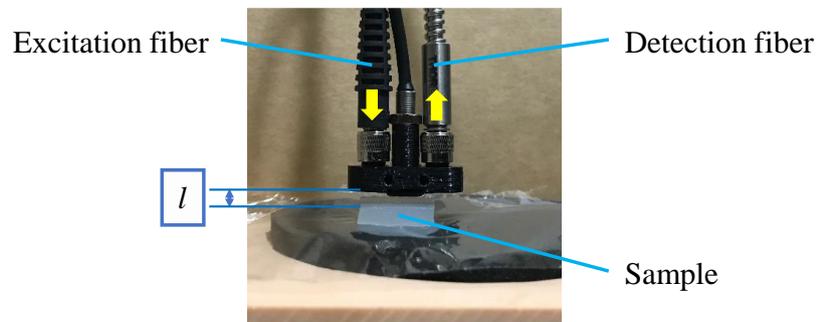


Fig. B.2 Photographed angle

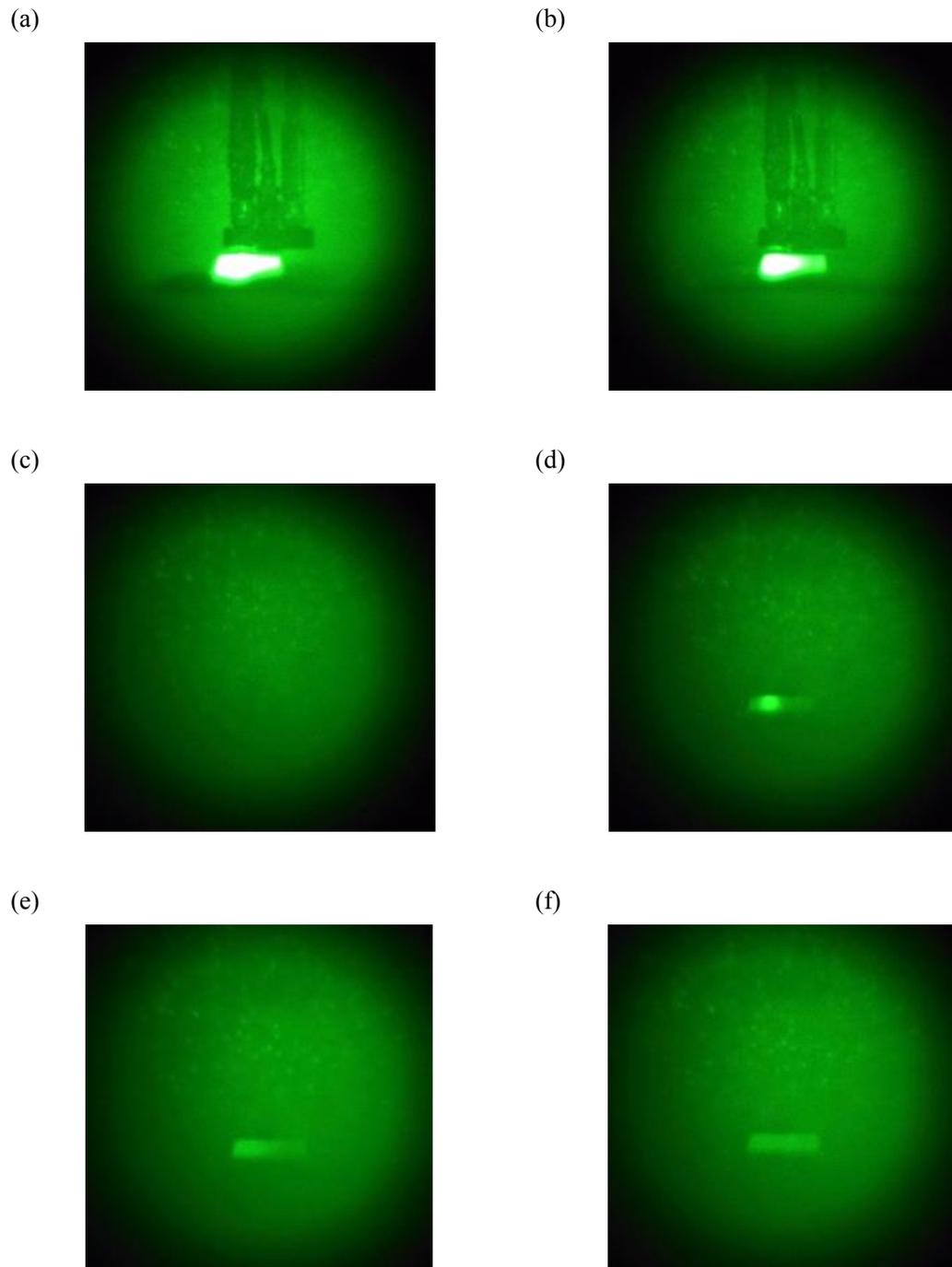


Fig. B.3 Pictures taken with IR scope and digital camera

(a) No ICG, no filter, $l = 5$ mm, (b) ICG, no filter, $l = 5$ mm, (c) no ICG, filtered, $l = 5$ mm,
(d) ICG, filtered, $l = 5$ mm, (e) ICG, filtered, $l = 10$ mm, (f) ICG, filtered, $l = 20$ mm.

付録 C ICG 希釈溶媒の影響評価

C.1 概要

ICG はタンパク質を含む溶液で希釈することで状態が安定化する。一方、溶液の種類による蛍光強度の違いについては明らかになっていないことから、本章では、ICG の希釈に用いる溶媒の種類による蛍光強度への影響を検討する。

C.2 計測方法

Fig. C.1 に示すように、縦 144 mm、横 144 mm、高さ 35 mm のプラスチックケースに手で十分にこねた豚肉ミンチを敷き詰め、厚さ 25 mm の土台にした。食品試料を豚肉ミンチの表面中央部に設置し、試料を覆うように任意の厚みの豚肉ミンチを上から重ねていった。ファントム内の食品試料の長手方向の中心軸が、照射孔と検出孔を結ぶ直線に直交になるように、かつ両孔の中心線上に食品試料が位置するように蛍光計測装置のプロープ端面を食肉ファントムの上部表面に押し当て、近赤外光の照射および蛍光検出を行った。

本実験における蛍光計測装置の励起光強度は 23 mW、照射ファイバと検出ファイバの間隔は 20 mm とした。また、食品試料については、ICG を水で希釈し、タンパク質を含む溶媒と混ぜ合わせたものを使用した。タンパク質を含む溶媒としては、牛乳と卵白をそれぞれ使用した。卵白については、粘性を考慮し、生理食塩水と 1:1 の割合で希釈してから使用した。なお、試料中の ICG 濃度は 0.81 μM とした。また、比較のため ICG を含まない牛乳のみのものと、ICG を含まない卵白と生理食塩水のみのものも試料としてそれぞれ使用した。試料はいずれも直径 6 mm、長さ 20 mm のストロー (0.57 ml) に封入し、試料が漏れ出さないように両端をパラフィンフィルムで密閉して使用した。

計測の手順としては、はじめに ICG を含む牛乳を使用して重ねる豚肉ミンチの厚みを 10, 20, 25, 30, 35 mm と変化させながら蛍光強度を計測し、次に ICG を含まない牛乳のみを使用して同様に豚肉ミンチの厚みを変化させながら蛍光強度の計測を行った。その後、溶媒として卵白を用いた試料に埋め変え、同様に蛍光強度の計測を行った。なお、ICG を含む試料については、再現性の確認のため上記に加え、重ねた豚肉ミンチを 5 mm ずつ減少させながら蛍光強度を計測した。プロープと食品試料上面までの鉛直方向の距離を食品試料の深さと定義した。

C.3 結果および考察

試料深さと蛍光強度の関係を Fig. C.2 に示す. ICG を含まない試料を用いた場合は, 深さの増加に依らず蛍光強度は一定で低い値をとっており, また, 溶媒の種類に関わらず蛍光強度は等しいとみなせる. よって, 食品試料に起因する蛍光ではなく, 主に豚肉ミンチ自体の自家蛍光に起因するバックグラウンド蛍光であると考えられる. 一方, ICG を含む試料を用いた場合は, 深さの増加に伴い蛍光強度が減少しているが, 同じ深さにおける蛍光強度の値に関しては, 溶媒の種類の違いに依る顕著な違いは見られない. したがって, ICG の希釈溶媒として, 牛乳と卵白を用いた場合は, 同程度の蛍光強度を得ることができるため, 実用化にあたっては, 被験者のアレルギーや好みに応じて ICG の希釈溶媒を使い分けることができる可能性があるといえる.

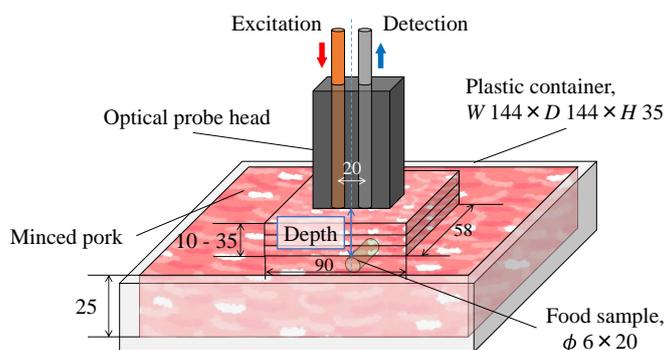


Fig. C.1 Experimental set up for clarifying effect of kind of ICG solvents

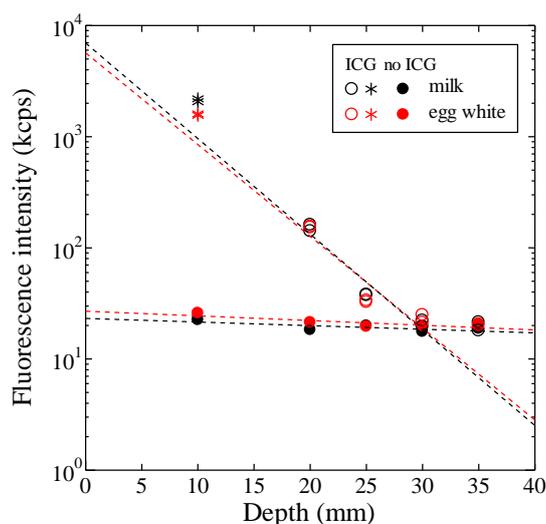


Fig. C.2 Difference in fluorescence intensities between milk and egg white

付録 D 残留 ICG の光退色を促進する LED アレイ作製

各種実験を行う際に、ICG を含む試料がファイバ端や実験用具に付着することがあり、次の実験に悪影響を及ぼす可能性がある。一方、ICG は励起光を当て続けると、蛍光分子が破壊される退色の原理によって蛍光を生じにくくなる性質がある。そこで、波長 760 nm に発光のピークを持つ砲弾型 LED (L760/850-05A, epitex) 36 個を格子状に並べた LED アレイを Fig. D.1 のとおり作成した。この LED アレイによる発光を ICG が付着した箇所数時間照射することによって退色を促進し、残留 ICG による蛍光発光の影響を減らすことができる。

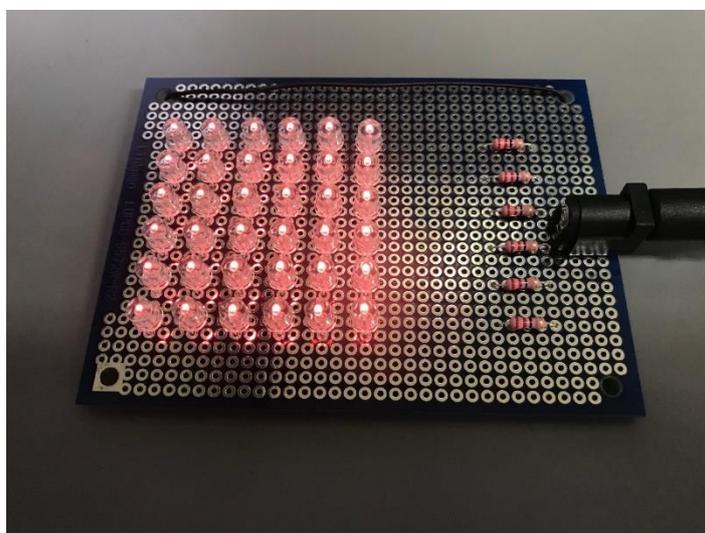


Fig. D.1 LED array for promoting photobleach

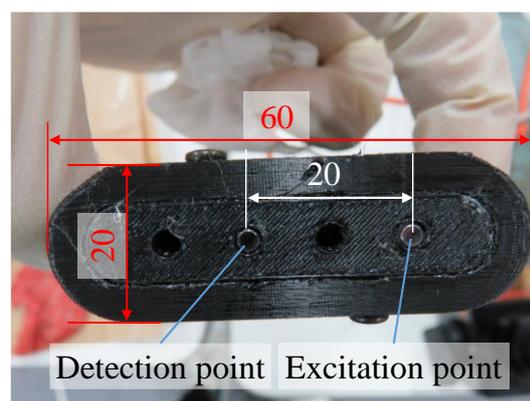
付録 E プローブ形状の種類

照射ファイバと検出ファイバを格納するプローブの形状を 3 種類作製した。これまでに作製したプローブ形状を以下に示す。バージョン 1 は初期タイプとして、照射ファイバと検出ファイバの間隔を 20 mm に設定しており、接触スイッチの機能は搭載されていない。バージョン 2 は対象物への接触面積を減らすことを目的とし、ファイバ間隔を 15 mm に設定し、新たにファイバ間の中央に接触スイッチを付加した。バージョン 3 はファイバ間隔が最大検出可能深さに影響を与えることが明らかになったことから、実験状況に応じてファイバ間隔を自在に変更できるようにした。バージョン 2 に新たにホルダを付加する形となっており、バージョン 2 のプローブから検出ファイバのみを取り外し、ホルダ側に移行することで独立して動かせるようになっている。

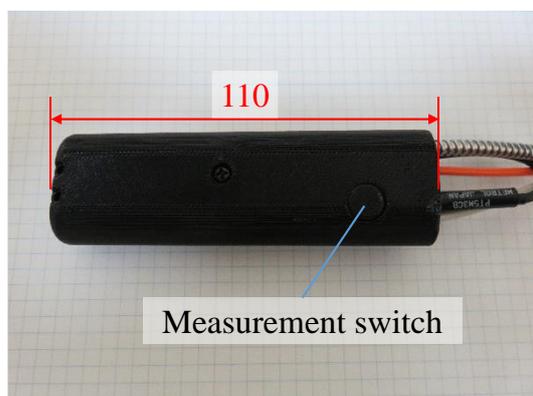
(a)



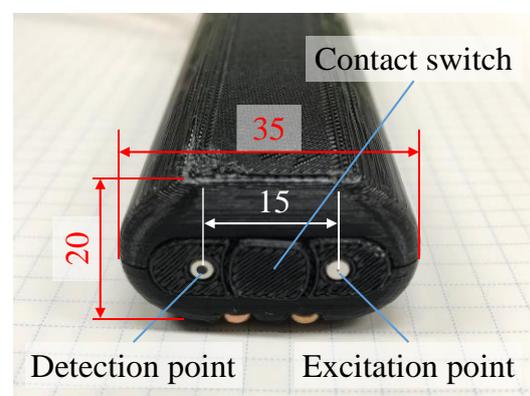
(b)



(c)



(d)



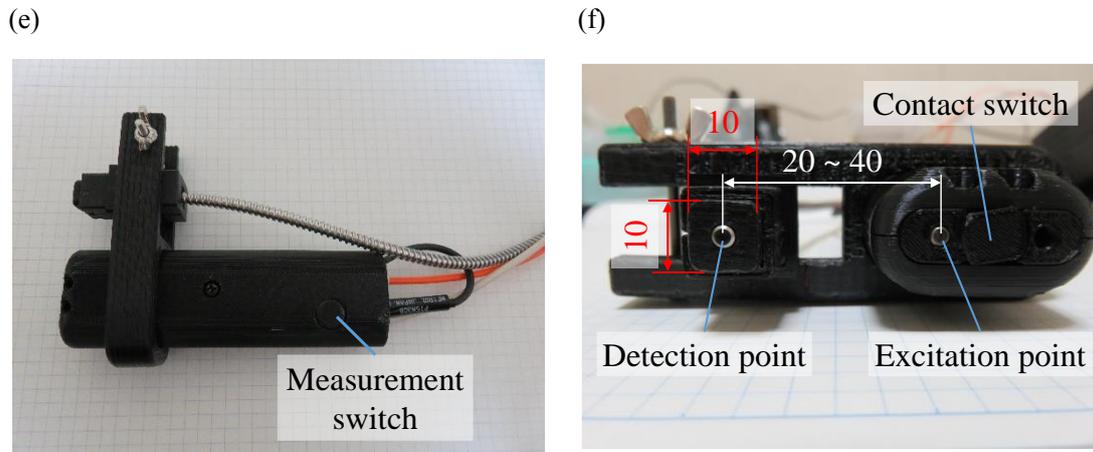


Fig. E.1 Optical probe head

(a) (b) Version is 1, (c) (d) 2, (e) (f) 3.

(a) (c) (e) Overall view, (b) (d) (f) front view.

参考文献

- [1] 内閣府, "平成 30 年版高齢社会白書 (全体版) ," 2018. [Online]. Available: https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2018/zenbun/30pdf_index.html. [Accessed 12 1 2019].
- [2] 大類孝, "超高齢社会における誤嚥性肺炎の現状," *日本老年医学会雑誌*, vol. 50, no. 4, pp. 458-460, 2013.
- [3] 鈴木崇弘, 小池卓二, "咀嚼・嚥下時の咽頭および喉頭部の振動計測," 電気通信大学 卒業論文, 2017.
- [4] D. H. McFarland, *Netter's Atlas of Anatomy for Speech, Swallowing, and Hearing*, Missouri: Mosby, 2008.
- [5] 田山二郎, "摂食・嚥下のメカニズムと病態," *日獨医報*, vol. 46, no. 1, pp. 7-16, 2001.
- [6] 田中加緒里, "加齢による嚥下障害のメカニズムと対応," *音声言語医学*, vol. 3, no. 56, pp. 257-261, 2015.
- [7] 兵頭政光, "嚥下のメカニズムと加齢変化," *日本リハビリテーション医学会誌*, vol. 45, p. S124, 18 5 2008.
- [8] 慶應義塾大学病院, "摂食・嚥下障害のリハビリテーション," 8 9 2014. [Online]. Available: <http://kompas.hosp.keio.ac.jp/contents/000270.html>. [Accessed 20 1 2017].
- [9] 藤島一郎, "嚥下障害のことがよくわかる本," 講談社, 2014, pp. 12-13.
- [10] L. E. J., "Evaluation and treatment of swallowing," College-Hill Press, San Diego, 1983.
- [11] J. Murray, "Manual of dysphagia assessment in adults," Singular Publishing, London, 1999.
- [12] 藤島一郎, 脳卒中の摂食・嚥下障害, 医歯薬出版株式会社, 2005, pp. 19-29.
- [13] S. E. Langmore, *Endoscopic evaluation and treatment of swallowing disorders*, New York: Thieme, 2000.
- [14] 野崎園子, "1. 摂食・嚥下障害について," テルモ株式会社, [Online]. Available: <http://www.terumo.co.jp/consumer/guide/symptom/enge/about/index.html>. [Accessed 12 1 2019].
- [15] 藤島一郎, 目でみる嚥下障害 (DVD 付) - 嚥下内視鏡・嚥下造影の所見を中心として, 医歯薬出版株式会社, 2006.
- [16] 藤島一郎, "嚥下障害と誤嚥・咽頭残留の病態及びその対処法," *日本バイオレオロジー学会誌*, vol. 20, no. 2, p. 56, 2006.
- [17] 矢野亮, "蛍光を用いた生体診断の基礎研究," 電気通信大学大学院 修士論文, 2009.

-
- [18] 三井陽平, "マウスを用いた蛍光トモグラフィーの研究," 電気通信大学大学院 修士論文, 2012.
- [19] Thermo Fisher Scientific, "Molecular Probes 蛍光教室," [Online]. Available: <https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/Documents/PDFs/jp/catalogs/molecular-probes-school.pdf>. [Accessed 16 1 2019].
- [20] 蛍光アプリケーション ~milestone, "蛍光検出の基礎知識①," 7 2003. [Online]. Available: <https://www.gelifesciences.co.jp/contact/imaging/pdf/211191.pdf>. [Accessed 24 1 2019].
- [21] 第一三共株式会社, ジアグノグリーン注射用 25 mg, 中央区, 2012.
- [22] S. Sou, T. Matsui, T. Yao, M. Naito, M. Yorioka, T. Beppu, T. Nagahama and K. Futami, "Differentiating enterocutaneous fistulae from suture abscesses complicating Crohn's disease using oral administration of indocyanine green," *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 21, no. 12, pp. 1850-1853, 27 10 2006.
- [23] 浜松ホトニクス株式会社, "Si APD, MPPC," [Online]. Available: https://www.hamamatsu.com/resources/pdf/ssd/03_handbook.pdf. [Accessed 14 1 2019].
- [24] M. R. Hamblin and T. N. Demidova, "Mechanisms for Low-Light Therapy," *SPIE*, vol. 6140, pp. 614001-3, 2006.
- [25] 浜松ホトニクス株式会社, "MPPC モジュール C13366-1350GD," [Online]. Available: <https://www.hamamatsu.com/jp/ja/product/type/C13366-1350GD/index.html>. [Accessed 16 1 2019].
- [26] 横山将志, 魚住聖, "Multi Pixel Photon Counter の研究開発," *高エネルギーニュース*, vol. 26, no. 3, 2007.
- [27] J. Mobley, T. Vo-Dinh, *Biomedical Photonics Handbook*, Boca Raton: CRC Press, 2003.
- [28] D. A. Boas, C. Pitris and N. Ramanujam, *Handbook of Biomedical Optics*, CRC Press, 2011.
- [29] S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review," *Physics in Medicine & Biology*, vol. 58, no. 11, 10 5 2013.
- [30] 山田幸生, 高橋修一, 谷川ゆかり, "散乱性媒質中の放射エネルギーの伝搬と生体医用光学," *光学*, vol. 26, no. 12, p. 650, 1997.
- [31] M. A. Mycek and B. W. Pogue, *Handbook of Biomedical Fluorescence*, New York: Marcel Dekker, 2003.
- [32] ナースフル, "第 1 章 解剖と生理," リクルート メディカル キャリア, [Online]. Available: https://nurseful.jp/nursefulshikkanbetsu/pulmonology/section_0_01/. [Accessed 6 1 2019].
- [33] 林秀樹, "蛍光色素を用いた生体イメージング," *画像電子学会誌*, vol. 38, no. 3, p. 310,
-

-
- 2009.
- [34] 西村吾朗, "生体組織中にある蛍光ターゲットの高感度検出 (2)," in *日本光学会年次学術講演会 (OPJ2018)*, 文京区, 2018.
- [35] G. Nishimura, *3D MC with fluorescence background with an object at 11, 16 and 21 mm*, 2018.
- [36] G. Nishimura, "Contrast improvement in indocyanine green fluorescence sensing in thick tissue using a time-gating method," *Biomedical Optics Express*, vol. 10, no. 3, pp. 1234-1249, 2019.
- [37] 独立行政法人製品評価技術基盤機構, "NITE 人間特性データブック," 3 2009. [Online]. Available: http://www.tech.nite.go.jp/human/jp/pdf/20FYdata/nite_humandatabook.pdf. [Accessed 29 1 2019].
- [38] R. Philip, A. Penzkofer, W. Bäuml, R. M. Szeimies and C. Abels, "Absorption and fluorescence spectroscopic investigation of indocyanine green," *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 96, no. 1-3, pp. 137-148, 31 5 1996.
- [39] 井上嘉明, 小泉政啓, 秋田恵一, "喉頭蓋の解剖学的特徴に基づく嚥下咽頭期における運動の実態—看護系教科書における記述への疑問と実態—," *東京有明医療大学雑誌*, vol. 6, pp. 7-11, 2014.
- [40] 林紘三郎, "生体軟組織の力学的性質," *日本ゴム協会誌*, vol. 62, no. 6, pp. 346-356, 1989.
- [41] G. R. Cherrick, S. W. Stein, C. M. Leevy and C. S. Davidson, "Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction," *The Journal of clinical investigation*, vol. 39, no. 4, pp. 592-600, 1960.
- [42] M. S. Patterson, B. Chance and B. C. Wilson. , "Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties," *OSA Publishing*, vol. 28, no. 12, pp. 2331-2336, 1989.
- [43] G. Nishimura, K. Awasthi and D. Furukawa, "Fluorescence lifetime measurements in heterogeneous scattering medium," *Journal of Biomedical Optics*, 075013, vol. 21, no. 7, 7 2016.
- [44] V. V. Tuchin, *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*, Second Edition, Bellingham, Washington: SPIE, 2007.
- [45] H. J. Van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marie, S. A. Prahl and M. J. C. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm," *Applied Optics*, vol. 30, no. 31, pp. 4507-4514, 1991.
-

謝辞

本研究の過程に限らず、公私にわたって親身なご指導ご鞭撻、励ましをいただいた機械知能システム学専攻の小池卓二教授に心より深く感謝申し上げます。

学位の審査や国外の学会参加にあたり大変お世話になりました機械知能システム学専攻の横井浩史教授に深く感謝いたします。

共同研究者として、終始懇切丁寧なご指導ご鞭撻を賜りました脳科学ライフサポート研究センターの山田幸生特任教授、丹羽治樹特任教授、武蔵野赤十字病院の道脇幸博先生、北海道大学の西村吾朗助教授、基盤理工学専攻の牧晶次郎准教授に深く御礼申し上げます。

武蔵野赤十字病院で実験を行うにあたり、機器の操作等でご協力いただいた武蔵野赤十字病院耳鼻咽喉科の先生方および病院関係者の方々に深く感謝いたします。また、臨床試験にあたり、快く被験者を引き受けてくださった皆様に深く感謝申し上げます。

実験器具をお貸しいただいた上に、大変貴重なご助言をいただきました基盤理工学専攻の牧研究室、平野研究室、機械知能システム学専攻の横井研究室、青山研究室、正本研究室の皆様に深く御礼申し上げます。

実験用品や旅費の清算等の事務面で大変お世話になりました末吉瑞枝様、矢吹佳子様にご深く感謝いたします。

公私にわたるサポートに加え、いつも明るく楽しい時間を過ごさせてくれた小池研究室の博士課程2年生、修士課程1年生、学部4年生、OB・OGの皆様に深く感謝いたします。

3年間切磋琢磨し、苦楽を分かち合った同期の海老根峻君、水戸健太君、和賀井洋平君に心から感謝いたします。

最後に、本研究および大学生活6年間で関わった全ての先生方と友人に心より深く感謝いたします。

本研究はJSPS 科研費 挑戦的研究(萌芽) JP18K18448 の助成を受けました。厚く御礼申し上げます。

学会発表

1. Takahiro Suzuki, Ryohei Saito, Nobuo Kitada, Takuji Koike, Shojiro Maki, Yukihiro Michowaki, Goro Nishimura, Haruki Niwa, Yukio Yamada, “Aspiration Risk Detection Using Oral Administration of Fluorescent Food --- Preliminary Experiments Using Meat Phantoms ---”, The 2017 IEEE International Conference on Cyborg and Bionic Systems, 61, Oct. 2017.
2. Takahiro Suzuki, Takuji Koike, “Simultaneous vibration measurement of hyoid muscle activity and swallowing sound”, The 4th Annual Meeting of the Society for Bioacoustics, P07, Dec. 2017
3. 鈴木崇弘, 山田幸生, 丹羽治樹, 牧昌次郎, 北田昇雄, 斉藤亮平, 小池卓二, 西村吾朗, 道脇幸博, “近赤外蛍光色素を用いた咽頭腔残留食物の非侵襲検出法の開発－食肉を用いた予備実験－”, 日本機械学会 第 30 回バイオエンジニアリング講演会, 1B12, 2017 年 12 月.
4. 鈴木崇弘, 山田幸生, 丹羽治樹, 牧昌次郎, 北田昇雄, 斉藤亮平, 小池卓二, 西村吾朗, 道脇幸博, “近赤外蛍光を用いた咽頭腔残留食物の非侵襲検出法の開発－誤嚥防止のための基礎研究－”, 第 9 回横幹連合コンファレンス, P-09, 2018 年 10 月.
5. 鈴木崇弘, 山田幸生, 丹羽治樹, 牧昌次郎, 北田昇雄, 斉藤亮平, 小池卓二, 西村吾朗, 道脇幸博, “誤嚥防止を目的とした近赤外蛍光による咽頭残留検出法の開発：検出可能深さ向上のための条件検討”, 日本光学会年次学術講演会, 31aB8, 2018 年 11 月.
6. 鈴木崇弘, 山田幸生, 丹羽治樹, 牧昌次郎, 北田昇雄, 斉藤亮平, 小池卓二, 西村吾朗, 道脇幸博, “近赤外蛍光色素を用いた咽頭腔残留食物の非侵襲検出法の開発－ファントムを用いた予備実験－”, 日本機械学会 第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 1C12, 2018 年 12 月.