

## 二次元分光画像解析装置による表皮表面での ヘモグロビンの観測

満苏尔 艾尔肯<sup>1)2)</sup>

久保田 里 英<sup>3)</sup>

金 澤 真 雄<sup>3)</sup>

會 沢 勝 夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医科大学生理学第二講座

<sup>2)</sup> 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市衛生防疫站

<sup>3)</sup> 東京医科大学内科学第三講座

(指導: 内野善生主任教授)

**【要旨】** 我々は表皮表面より RGB (red, green, blue) 再構築画像とスペクトル情報を同時に測定できる二次元分光画像装置を開発した。

血流存在下及び駆血状態における表皮表面の画像を RGB イメージに再構築することができた。両者を比較すると、後者の方が前者に比してやや黒ずんで観察された。

爪、指及び手の甲の皮膚表面上より毛細血管内のヘモグロビンの酸化・還元状態を区別できるスペクトル画像を得ることができた。正常状態で表皮上より観察されるスペクトル情報では 545 nm と 575 nm に吸収のピークが観察され、これは酸化ヘモグロビンの吸収スペクトルを示すものである。一方、駆血状態では、560 nm と 750 nm にピーク、660 nm に肩を有する還元ヘモグロビンのスペクトルが観察された。駆血から開放後 10 秒以内に還元ヘモグロビンから酸化ヘモグロビンの吸収スペクトルに変化した。

以上我々は、非観血的にヘモグロビンの動力学を観察することに成功した。本装置の臨床的応用の可能性について論じた。

### はじめに

現在癌診断の主要手段は、内視鏡画像を用いて肉眼で観察し癌の疑いのある生体組織を採取して細胞を病理学的に分析を行っている。しかし、採取による癌細胞検診はその手技によっては転移の恐れも多く出てくる危険性をもっている。そのため、細胞を採取しない無侵襲的な分光画像診断法は癌の早期診断方法として期待される。

今回は表在性の癌は組織として形態を取り始めるとおびただしく動脈の進入が認められる点に注目して研究を進めた。癌組織は動脈の進入により、多くの酸化ヘモグロビンが流入する状態が観測できる装置

を試作するのを目的とした。今までの分光測定装<sup>1-5)</sup>は表示される画像の中にある一点の酸化ヘモグロビンの分光スペクトルしか取れないために、正確な位置情報とスペクトル情報との関係が得にくい難点があり、さらにある一点の分光スペクトル情報は診断として情報が不十分であった。

赤血球中のヘモグロビン<sup>6,7)</sup>は生体血液循環中、酸化と還元状態<sup>8,9)</sup>の二つの血球形式で存在している。この酸化・還元状態の情報を得るのは、血液 O<sub>2</sub> と CO<sub>2</sub> ガス分圧を測定すること<sup>10-12)</sup>が主な検査手段として現在用いられている。ヘモグロビンのスペクトルは血液を溶血させ、ヘモグロビンを抽出した後の酸化・還元可視波長帯域観測した情報<sup>13-15)</sup>しかない、また近赤外

2004年2月24日受付、2004年4月5日受理

キーワード: 二次元分光画像装置、ヘモグロビン、吸光度、表皮表面

(別冊請求先: 〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1 東京医科大学生理学第二講座 満苏尔艾尔肯)

線分光法を利用して OxyHb、Deoxy-Hb<sup>16,17)</sup>、一酸化窒素ヘモグロビン (HbNO)<sup>18,19)</sup> を検出する方法がとられている。このような生体から抽出して観測したヘモグロビンデータが生体内赤血球データの代表的なものとして使われているのが現状である。

この不備を克服するため本研究では多数点の生体組織の分光スペクトルと位置情報を同時にリアルタイムで測定して、画像化する二次元分光画像装置を試作し、皮膚表面より観測される酸化・還元ヘモグロビンの分布状態を計測した。

材料と方法

二次元分光画像装置

今回試作した二次元分光画像装置の概要を Fig. 1 に示した。本装置は受光器である CCD カメラの直前に透過型グレーティング ImSpector (Spectral Imaging Oulu Finland Led. company) を接続し、その先端にカメラレンズを配置させ受光部位を組み立てた。その直下に試料台を置き、波長 400~800 nm の範囲で均一に照明できる白色光源を配置した。試料台の上に手を静置させ、均一に白色光を照射して受光器部位をフレ

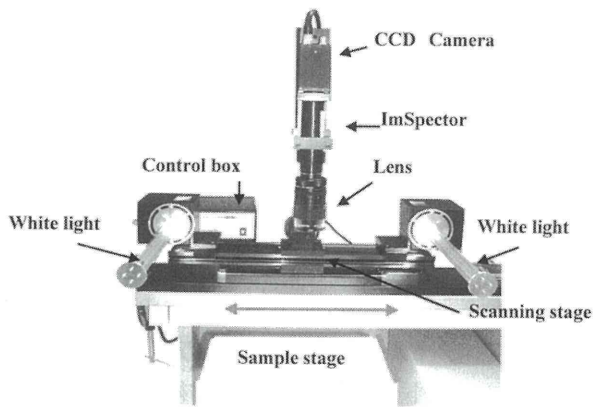


Fig. 1 Two-dimensional spectrum and image analyzer system. ImSpector: Spectral Imaging Led

ムメモリーの回転速度と同期を取って移動させて観測をおこなった。

試料の表面 (手) の直線 A、B よりきた観測光はスリットを通り、透過型グレーティング ImSpector で分光され、CCD カメラの 1 フレームに取り込み 1 次的位置情報を X 軸 (A と B) として観測し、その各点 (A・・・B) での波長情報を Y 軸に取得した (Fig. 2)。2 次元として画像情報を得るには測定対象サンプル上の受光部位と白色光源を一体化してステージをビデオのフレーム単位でコンピューター制御により 1 軸動作させて (測定時間: 0.2~2.1 sec/line、30 sec/frame) 駆動して観測した。この時、各フレームの Y 軸には各点でのスペクトルが取得されているために、観測された画像のそれぞれの点には 400~800 nm 範囲のスペクトル情報が備わっている。分光像は Image Intensifier (Luminance gain: 25,000、感度: 20 μlux、波長帯域: 400~800 nm、波長分解能: 2 nm) 付きの白黒 CCD カメラで検出する。イメージング像の X 線部位のビデオ Y 軸ラインのみの分光スペクトル (Fig. 3a) とビデオ X 軸 1 フレームイメージング像 (Fig. 3b) の測定ができた。また得られた 2 次元情報はコンピューター処理を用いて画像各点の 5 nm ごとの分光スペクトル強度から色彩値 x、y、z、R、G、B を求め、カラー RGB 画像として表示することもできる。さらに RGB 画像においては任意の点のスペクトルを表示すること、さらに 2 点のスペクトル及び差スペクトルの同時表示及び生データ、反射率 (透過率) などの表示もできる。指定された特定波長のスペクトル強度をモノクロ階調画像 (グレースケール) で表示する機能も備えている。

二次元分光画像装置による皮膚表面酸化・還元ヘモグロビンの観測法

観測 1

皮膚表面上より皮下のヘモグロビン状態を観測す

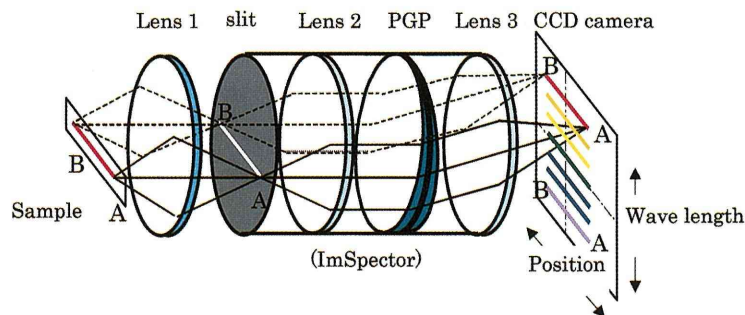


Fig. 2 An outline showing the light streams in the 2-dimensional spectrum and image analyzer system.

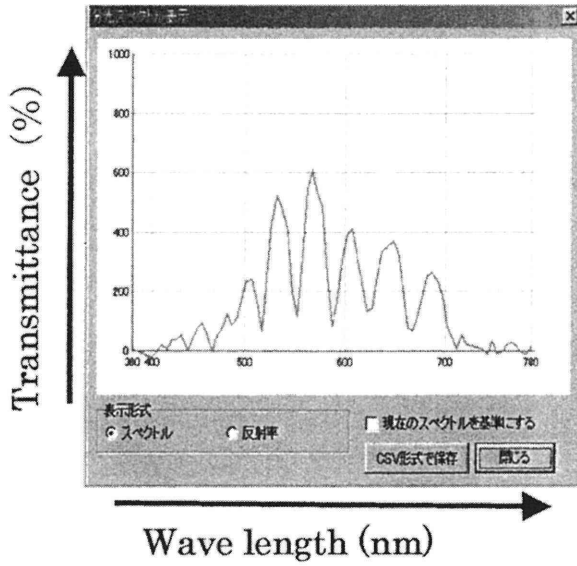


Fig. 3a

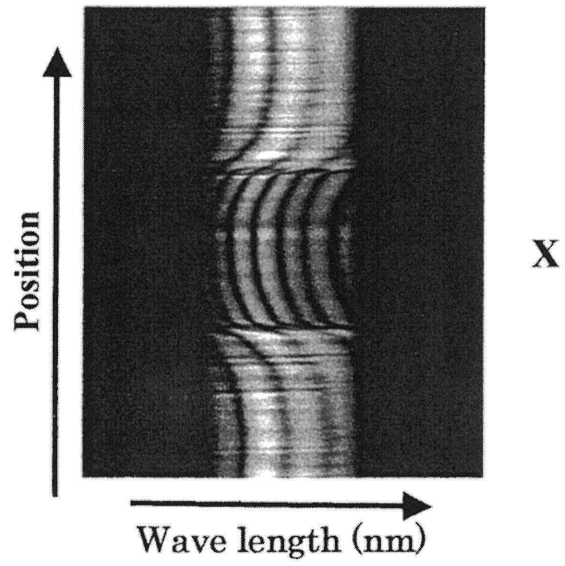


Fig. 3b

Fig. 3a An spectrum in a position of X on the sample were observed as a change in absorbance intensity on the Y shaft line in video frame memory.

Fig. 3b The spectrum image pattern of each point on sample were observed on the panel in video frame memory.

る目的で本装置を使用した。測定にあたり、本装置の白色光源を切った状態で暗電流を補正し‘0’とした。次にステージ上に標準白色版を置き白色光を均一に照射して各波長で‘100’となるように調節した。

対象者：一人、健康、日本人男性、血圧は 125-85 mmHg で、手の周辺の温度が 22°C であった。ステージに正常被検者の手の甲を上に向け置き 10 倍の対物レンズを装着した本装置 CCD カメラをフレームの回転速度と同期させて観測した。この時、0.5 秒毎に 1 ステップ移動させ、1 ステップ 0.45 mm 幅で 320 ステップかけて 140 mm 四方領域の手表面画像を 160 秒間かけて観測した。

観測したデータを基に爪、指、手の甲の 3 部位を選択して各部位それぞれ 10 点においてヘモグロビンのスペクトル分析を行った。

### 観測 2

皮膚表面より観測されるヘモグロビンの酸化・還元状態を計測した。被検者の上腕に血圧計で使用する駆血帯を巻き 200 mmHg の圧をかけ動脈流を 90 秒間停止した状態でステージに手の甲を上に向け置き観測した。その後駆血帯の圧を開放し継続して 70 秒間同一手の甲で観測を行った。

観測したデータを基に手の甲 Fig. 5 で示した部位を選択して動脈流の停止している部位と流れている部位でそれぞれ代表的な 1 点においてヘモグロビンのスペクトル分析を行った。

### 観測 3

上腕圧迫による動脈流を停止した状態から圧迫開放による指の甲に動脈流の到達する時間経過を観測した。ステージに正常被検者の指の甲を上に向け置き本装置の駆動を 10 秒間で 1 画像を撮る方式で反復を繰り返して経時的に観測した。この時、最初の 3 画像 (30 秒間) は上腕に血圧計で使用する駆血帯を巻き 200 mmHg の圧をかけ動脈流を 1 分間停止した後の 30 秒間で 3 画像を観測した。この後、駆血帯の圧を開放し継続して 10 画像を (100 秒間) 継続して同一領域で経時的に観測した。

観測したデータを基に爪の部位、第一関節と第二関節間の部位及び第二関節と第三関節に部位の各領域でスペクトルを経時的に観測した。

## 結 果

### 観測 1

本装置の白黒 CCD カメラで観測した画像各点に存在する波長 5 nm ごとの分光スペクトル強度から色彩値 x、y、z、R、G、B を求めて手の皮膚表面画像をカラー化して再現した (Fig. 4A)。この画像は爪の部位 (Fig. 4A.a)、指の部位 (Fig. 4A.b) 及び甲の部位 (Fig. 4A.c) を示した。この各部位でのそれぞれ 10 観測点での平均吸収スペクトルを示した (Fig. 4B)。各部位とも酸化ヘモグロビン特有の波長 545 と 575 nm に吸収ピークを持つスペクトルが観測された。この Fig. 4B.a、



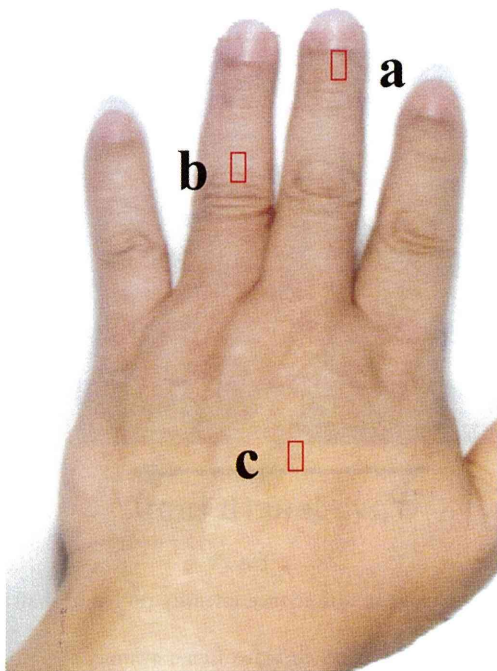


Fig. 4a RGB reconstitution image at three positions in normal subject. a: nail, b: finger, c: back of hand.

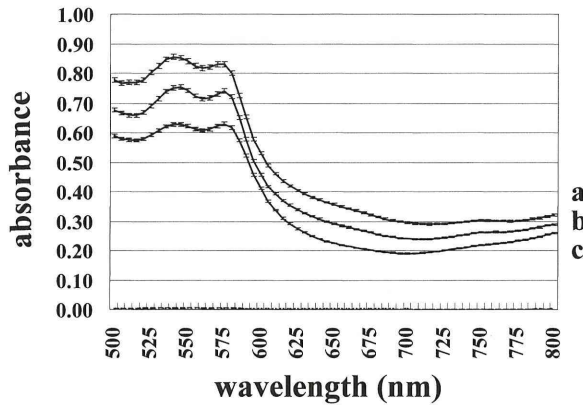


Fig. 4b An example of actual spectrum recorded by RGB reconstitution system. a, b and c, correspond to those in Fig. 4a.

b, c 観測点、一箇所所で 10 回測定データの間での平均吸光度標準偏差はそれぞれ (mean±SD, n=10) a: 0.83±0.001、b: 0.73±0.001、c: 0.62±0.001 となり、測定結果の SD が殆ど乱れず、同様のスペクトルを示していた。しかし、同一条件で測定しているにも係らず酸化ヘモグロビンの 545 nm における吸光度 (mean±SD, n=10) は爪では 0.85±0.001、指では 0.75±0.00、甲では 0.63±0.001 となっていた。

観測 2

上腕に駆血帯を巻き 200 mmHg の圧をかけ動脈流を 90 秒間停止し、その後開放して動脈流が流れた状

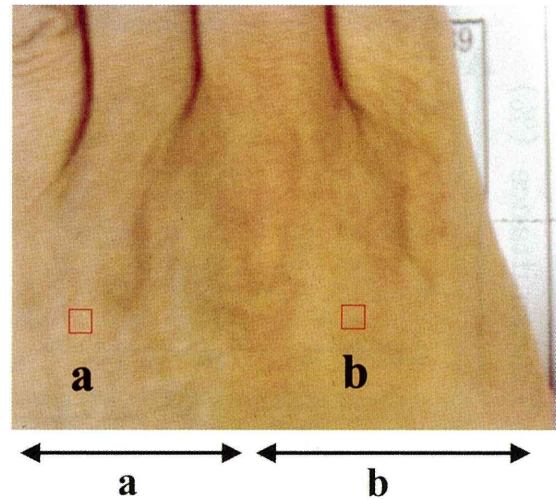


Fig. 5a An example of RGB reconstitution image at back of hand in normal subject. Arrow 'a' shows an image on obstructed blood flow and arrow 'b' on normal blood flow.

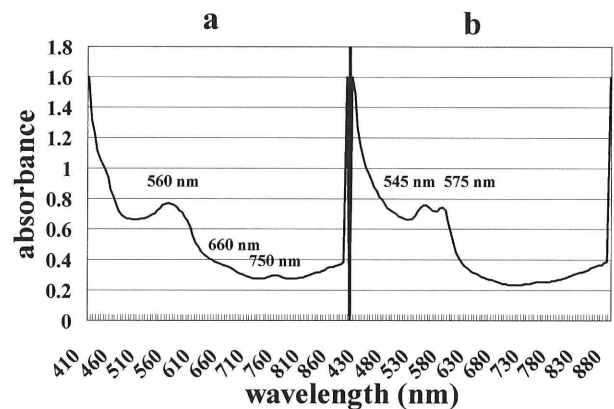


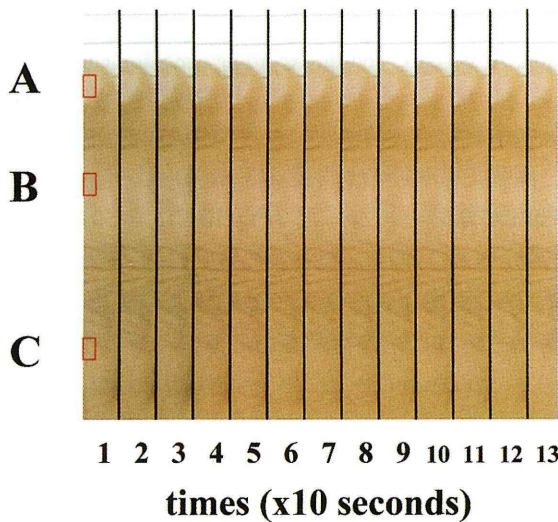
Fig. 5b Absorbance spectrum on obstructed blood flow (a) and on normal blood flow (b). 'a' and 'b' correspond the recording position at 'a' and 'b' in Fig. 5a.

態で継続的に観測した手の甲の画像をスペクトル強度から色彩値 x、y、z、R、G、B を求めてカラー化して再現した (Fig. 5A)。動脈流停止状態の画像 (Fig. 5a 領域) は動脈が流れた状態の画像 (Fig. 5b 領域) と比べて多少黒ずんで観測されている。しかし、この黒ずんで観測されている画像からは実質的に酸化ヘモグロビンが還元ヘモグロビンに置き変わっている状態が確認できなかった。そこで、動脈流停止部位の画像 A 点及び動脈流再開部位の画像 b 点からのスペクトル情報を取り出した (Fig. 5B.a, b)。画像 a 点でのスペクトルは還元ヘモグロビンの特長である波長 560 と 750 nm のピークと 660 nm にショルダーが観測されていた。画像 b 点でのスペクトルは酸化ヘモグロビンの特長である波長 545 と 575 nm に吸収ピークが観測された。動脈流停止状態の a 領域の画像どの点からも

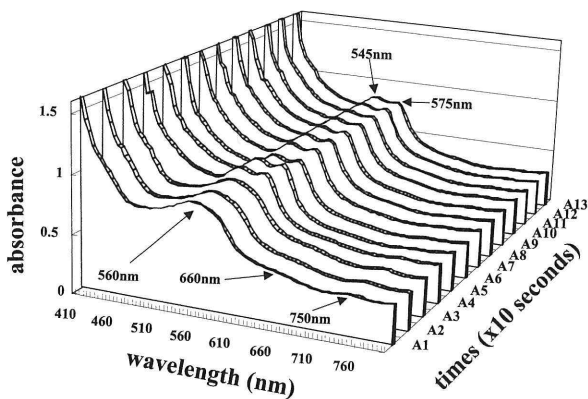
還元ヘモグロビンのピークが観測された。動脈が流れた状態のb領域の画像からはどの点からも酸化ヘモグロビンのピークが観測されていた。

**観測 3**

10秒間で1画像を撮る方式で反復を繰り返して経時的に13画像を観測したカラー画像を示した (Fig. 6)。動脈流を1分間停止した状態の後半30秒間の1、2、3画像は動脈流が流れた4から13の画像に比較してやや黒ずんで観測されていた。これら13画像で爪の部位A、第一関節と第二関節間の部位B及び第二関節と第三関節に部位C領域での各スペクトルを経時的に示した (Fig. 6A, B, C)。各部位A、B、Cとも1か



**Fig. 6** Successive RGB reconstituted images in every 10 sec at nail (A), the index finger between the first and second joint (B) and the index finger between the second and third joint (C) in normal subject. Left three images show those at a condition of obstructed blood stream and then obstruction was released just after the record '3'.



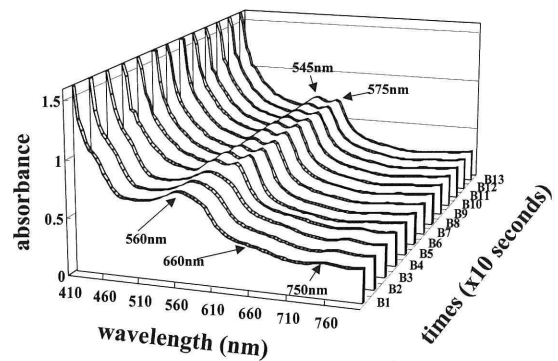
**Fig. 7** An analysis of absorption spectrum of time dependence recorded in every 10 sec. Record was made at 'A' in Fig. 6.

ら3画像までの動脈流が止められている状態では還元ヘモグロビンの特長である波長560と750nmにピークと660nmにショルダーが観測された。酸化ヘモグロビンの特長であるピークは観測されなかった。動脈流が再開された4から13の画像において酸化ヘモグロビンの特長である波長545と575nmに吸収ピークが観測された。還元ヘモグロビンの各波長ピークは順次消失していった。

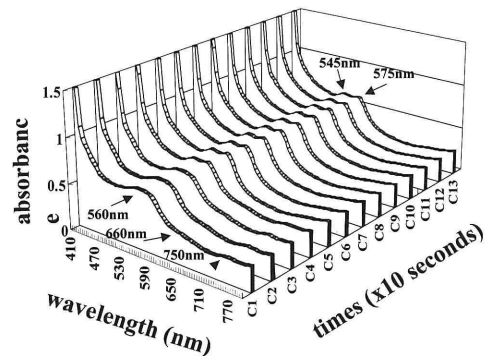
これら経時変化を酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの各波長ピークの吸光度として示した (Fig. 7, 8, 9) と (Fig. 10)。

[酸化ヘモグロビンのスペクトル]

爪 (A) 画像1から3までの動脈流の停止した状態での酸化ヘモグロビンの波長545と575nmのピークは還元ヘモグロビンの波長560nmのショルダーに重なり込んで明確でない。しかし、その吸光度は画像A1、A2、A3で545nmがそれぞれ0.87、0.87、0.88であり、575nmが0.82、0.82、0.83であり動脈流停止期間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像A4、5において酸化ヘモグロビンの波長545nmのピークは0.89、0.88と575nmが0.87、0.86とそれぞ



**Fig. 8** The same analysis with that in Fig. 7, but recorded at 'B' in fig. 6.



**Fig. 9** The same analysis with that in Fig. 7, but recorded at 'C' in Fig. 6.



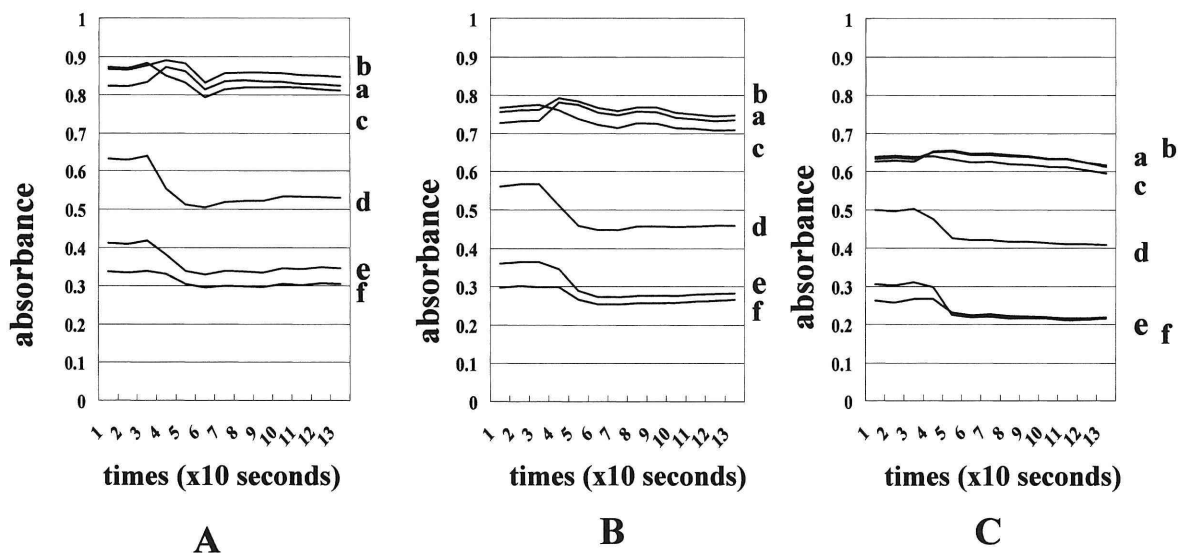


Fig. 10 Time dependent changes in the absorption spectrum of every 10 sec, at wave length of 545 nm (a), 570 nm (b), 560 nm (c), 600 nm (d), 660 nm (e) and 750 nm (f). Recoding position, A, B and C and the recording condition correspond those in Fig. 6.

れ上昇していた。しかし、それ以後画像 13 にいたる間は酸化ヘモグロビンの波長 545 nm のピークは 0.84~0.83 と 575 nm が 0.84~0.83 とになった (Fig. 10.A)。

第一関節と第二関節間の部位 (B) 画像 1 から 3 までの動脈流の停止した状態での酸化ヘモグロビンの波長 545 と 575 nm のピークは波長 560 nm のショルダーのなかに入り込み明確でない。その吸光度は画像 B1 から B3 で 545 nm が 0.76、0.76、0.76 であり 575 nm が 0.73、0.73、0.73 でありこの間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像 B4、5 において酸化ヘモグロビンの波長 545 nm のピークは 0.79、0.78 と 575 nm が 0.78、0.77 とそれぞれ上昇していた。以後画像 B9 にいたる間は酸化ヘモグロビンの波長 545 nm のピークは 0.77 と 575 nm が 0.75 とになった。しかし、画像 B10 以後は波長 545 nm のピークは 0.75 と 575 nm が 0.74 とになった (Fig. 10.B)。

第二関節と第三関節間の部位 (C) 画像 1 から 3 までの動脈流の停止した状態での酸化ヘモグロビンの波長 545 と 575 nm のピークは波長 560 nm のショルダーのなかに入り込み明確でない。その吸光度は画像 C1 から C3 で 545 nm が 0.63、0.64、0.63 であり 575 nm が 0.63、0.63、0.63 でありこの間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像 C4、5 において酸化ヘモグロビンの波長 545 nm のピークは 0.65、0.65 と 575 nm が 0.65、0.66 とそれぞれ上昇していた。以後画像 C9 にいたる間は酸化ヘモグロビンの波長 545 nm のピークは 0.64 と 575 nm が 0.65 とになった。しか

し、画像 C10 以後は波長 545 nm のピークは 0.63 と 575 nm が 0.63 とになった (Fig. 10.C)。

[還元ヘモグロビンのスペクトル]

爪 (A) 画像 1 から 3 までの動脈流の停止した状態還元ヘモグロビンの特長である波長 560 と 750 nm にピークと 660 nm にショルダーが観測された。その吸光度は画像 A1 から A3 で 560 nm が 0.87、0.87、0.88 であり 660 nm が 0.63、0.63、0.64 そして 750 nm が 0.34、0.33、0.34 ありこの間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像 A4、5 において還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.85、0.83 と 660 nm が 0.38、0.34 と 750 nm が 0.33、0.30 それぞれ減少していた。しかし、それ以後画像 13 にいたる間は還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.82~0.81 と 660 nm が 0.52~0.53 と 750 nm が 0.30 になった。

第一関節と第二関節間の部位 (B) 画像 1 から 3 までの動脈流の停止した状態還元ヘモグロビンの特長である波長 560 と 750 nm にピークと 660 nm にショルダーが観測された。その吸光度は画像 B1 から B3 で 560 nm が 0.77、0.77、0.77 であり 660 nm が 0.36、0.36、0.36 そして 750 nm が 0.30、0.30、0.30 ありこの間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像 B4、5 において還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.76、0.74 と 660 nm が 0.35、0.29 と 750 nm が 0.30、0.27 それぞれ減少していた。しかし、それ以後画像 B13 にいたる間は還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.72~0.71 と 660 nm が 0.28~0.27 と

750 nm が 0.26~0.25 になった。

第二関節と第三関節間の部位 (C) 画像 1 から 3 までの動脈流の停止した状態還元ヘモグロビンの特長である波長 560 と 750 nm にピークと 660 nm にショルダーが観測された。その吸光度は画像 C1 から C3 で 560 nm が 0.64、0.64、0.64 であり 660 nm が 0.31、0.30、0.31 そして 750 nm が 0.26、0.26、0.27 ありこの間ほとんど変動していなかった。動脈流が流れ出した画像 C4、5 において還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.64、0.63 と 660 nm が 0.30、0.23 と 750 nm が 0.27、0.23 それぞれ減少していた。しかし、それ以後画像 C13 にいたる間は還元ヘモグロビンの波長 560 nm のピークは 0.62~0.60 と 660 nm が 0.22~0.21 と 750 nm が 0.23~0.22 になった。

## 考 察

本装置の白黒 CCD カメラで観測した画像各点に存在する波長 5 nm ごとの分光スペクトル強度から色彩値 x、y、z、R、G、B を求めて手の皮膚表面画像をカラー化して再現した。この結果は 3 管式カラー受光器で観測した画像と同様な色合いを示した。手の皮膚表面画像はカラー写真では物質の定量的な測定が困難である。近赤外線では一点のデータを得る事ができ、本装置では画像一面のスペクトルを測定が可能である。したがって、本装置による測定画像の各点からの吸収スペクトルが観測できた。

手の皮膚表面スペクトルは波長範囲 500 nm~800 nm において酸化ヘモグロビンの 545 と 575 nm のピーク及び還元ヘモグロビンの 750 nm のピークと 660 nm にショルダーが観測できた。これらヘモグロビンのスペクトルはヘモグロビンを抽出した後の酸化・還元可視波長帯域観測した情報<sup>20-22)</sup>と一致していた。

本装置では画像の各点からの観測は限定された領域内では殆どの一定の吸収スペクトルが確認され各波長での吸光度標準偏差がそれぞれ 0.001~0.01 の間の値を示したので、その精度が高いスペクトル情報を基に定量が可能になった。その結果、酸化ヘモグロビンの 545 nm の吸光度は同一人物での爪、指、甲ではそれぞれ吸光度が 0.85、0.75、0.61 となり部位によって異なった吸光度値を観測することができた。その値から画像化していくと体表面での酸化ヘモグロビンの血流状態を視覚的に把握できるようになると考えられる。

また、上腕に駆血帯を巻き 200 mmHg の圧をかけ動

脈流を 90 秒間停止し、その後開放して動脈流が流れた状態で手の甲での吸収スペクトル観測した。その結果、動脈流を停止した状態のそれぞれの部位から還元ヘモグロビンのスペクトルが主に観測され、動脈流の流れた状態ではそれぞれの部位から酸化ヘモグロビンのスペクトルが観測された。

還元・酸化ヘモグロビンのスペクトル変化を基に上腕圧迫による動脈流を停止した状態から圧迫開放による指の甲に動脈流の到達する時間経過を観測した。

10 秒間で 1 画像を撮る方式で反復を繰り返して経時的に 13 画像を観測した。動脈流を 1 分間停止した状態の後半 30 秒間の 1、2、3 画像は動脈流による酸化ヘモグロビンの流入がないため、皮膚表面から観測されるヘモグロビンのスペクトルは周囲の組織による代謝のために還元された状態であった。これは還元ヘモグロビンの特長である波長 560 と 750 nm にピークと 660 nm にショルダーに存在する吸光度が皮膚表面から観測された事により確認できた。その後、上腕圧迫を開放すると、これらのピークは 10 秒間 (4 画像) で爪の部位 A、第一関節と第二関節間の部位 B 及び第二関節と第三関節に部位 C 領域全てにおいて減少していた。それ以後の時間経過においては画像 5 から 13 画像において還元ヘモグロビンの波長 560 と 750 nm にピークと 660 nm にショルダー吸光度は変動しなかった。

これに対して画像 5 から 13 画像において酸化ヘモグロビンの波長 545 と 575 nm の吸収ピークが A、B 及び C 領域の全て明確に確認できた。

上腕圧迫による動脈流を停止した状態から圧迫開放による指の甲に動脈流の到達する時間経過が本研究では 10 秒間隔での観測では A、B 及び C 領域の全て同様の結果となってしまったが、経時的に 0.2 秒間隔で観測できるようになると各部位での相違が明確になると思われる。

さらにこれらの観測を一步進めると、移植されて皮膚は当初、還元ヘモグロビンのスペクトル画像が、その後血流再開の状況が酸化ヘモグロビンのスペクトル画像に変化することが予測され、非侵襲的に画像として血流状態を観測できることが期待される。

特に癌は組織として形態を取り始めるとおびただしく新生血管が形成され動脈血の進入が認められ、多くの酸化ヘモグロビンが組織内に流入する。この状態を本装置により画像として観測できると癌の存在部位が明確になると期待される。

また、糖尿病患者ではしばしば血流障害、特に下肢の血流障害を引き起こすが本装置を用いることにより血流障害の把握、さらに血流状態の程度を非侵襲的に観測でき、本装置の応用が期待される。

### 謝 辞

本装置の製作に関与して頂いた KETC の市川文彦博士に感謝いたします。また本論文にたいし多大なるアドバイスを頂いた東京医科大学名誉教授登坂恒夫先生及び早稲田大学教授宗田孝之先生に感謝いたします。

### 文 献

- 1) Karel J Zuzak, Mark T Gladwin, Richard O Cannon III and Ira W Levin : Imaging hemoglobin oxygen saturation in sickle cell disease patients using noninvasive visible reflectance hyper spectral techniques : effects of nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285** : 1183-1189, 2003
- 2) Myles Jones, Jason Berwick, and John Mayhew : Changes in Blood Flow, Oxygenation, and Volume Following Extended Stimulation of Rodent Barrel Cortex. *Neuro Image* **15** : 474-487, 2002
- 3) Karstein Maseide and Einar K Rofstad : CCD imaging in cryospectrophotometric determination of microvascular oxyhemoglobin saturations. *American Physiological Society* : 2912-2918, 1997
- 4) George Zonios, Julie Bykowski, and Nikiforos Kollias : Skin Melanin, Hemoglobin and Light Scattering Properties can be Quantitatively Assessed In Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy. *J Invest Dermatology* **117** : 1452-1457, 2001
- 5) Erik Haggblad, Marcus Larsson, Mikael Arildsson, Tomas Stromberg, and E Goran Salerud : Reflection Spectroscopy of Analgesized Skin. *Microvascular Research* **62** : 392-400, 2001
- 6) R Bakhtiar and K H Leung : Rapid Communications in Mass Spectrometry. *John Wiley Sons, Ltd* **11** : 1935-1937, 1997
- 7) Sugawara Y, Kadono E, Suzuki AYukuta Y, Shibasaki Y, Nishimura N, Kameyama Y, Hirota M, Ishida C, Higuchi N, Haramoto K, Sakai Y and Soda H : Hemichrome formation observed in human haemoglobin A under various buffer conditions. *Acta Physiol Scand* **179** : 49-59, 2003
- 8) John W SMALLEY, Andrew J BIRSS, Robert WITHNALL and Jack SILVER : Interactions of Porphyromonas gingivalis with Oxyhemoglobin and Deoxyhemoglobin. *Biochem J* **362** : 239-245, 2002
- 9) Kim D Vandegriff, Ronald J Rohlf, Michael D Magde, Jr and Robert M Winslow : Hemoglobin Oxygen Equilibrium Curves Measured during Enzymatic Oxygen Consumption. *Analytical Biochemistry* **256** : 107-116, 1998
- 10) Yukio HAMADA, Hiroya UTAHASHI, Kazuhiro AOKI : Physiological gas exchange in the middle ear cavity. *Int J Pediatric Otorhinolaryngology* **64** : 41-49, 2002
- 11) B. Detr, C. Cambier, A. Frans, P. Gustin and T. Clerbaux : Calculation of Bovine Haemoglobin Oxygen Saturation by Algorithms Integrating Age, Hemoglobin Content, Blood pH, Partial Pressures of Oxygen and Carbon Dioxide in the Blood and Temperature. *The Veterinary Journal* **165** : 258-265, 2003
- 12) Yasuhiro Morimoto, Mali Mathru, Julian F. Martinez-Tica, and Mark H. Zornow : Effects of Profound Anemia on Brain Tissue Oxygen Tension, Carbon Dioxide Tension, and pH in Rabbits. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology* **13** : 33-39, 2001
- 13) F. Adar, M. Gouterman and S. Aronowitz. *J Phys Chem* **80** : 2184-2191, 1976
- 14) Hiromi Sakai, Yoji Suzuki, Megumi Kinoshita, Shinji Takeoka, Nobuji Maeda, and Eishun Tsuchida : O<sub>2</sub> release from Hb vesicles evaluated using an artificial, narrow O<sub>2</sub>-permeable tube : comparison with RBCs and a cellular Hbs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285** : 2543-2551, 2003
- 15) Renqiang LI, Yukifumi NAGAI and Masako NAGAI : Contribution of a 140Tyr and b37Trp to the Near-UV CD Spectra on Quaternary Structure Transition of Human Hemoglobin A. *Chirality* **12** : 216-220, 2000
- 16) Vlad Toronov, Scott Walker, Rajarsi Gupta, b Jee H. Choi, Enrico Gratton, Dennis Hueber, and Andrew Webb : The roles of changes in deoxyhemoglobin concentration and regional cerebral blood volume in the fMRI BOLD signal, *NeuroImage* **19** : 1521-1531, 2003
- 17) M. Rendell, E. Anderson, W. Schlueter, J. Mailliard, D. Honigs, R. Rosenthal : Determination of hemoglobin levels in the finger using near infrared spectroscopy. *Clin Lab Haem* **25** : 93-97, 2003
- 18) Kazuyoshi KIRIMA, Koichiro TSUCHIYA Hiroyoshi SEI, Toyoshi HASEGAWA, Michiyo SHIKISHIMA, Yuki MOTOBAYASHI, Kyoji MORITA, Masanori YOSHIZUMI and Toshiaki TAMAKI : Evaluation of systemic blood NO dynamics by EPR spectroscopy : HbNO as an endogenous index of NO. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285** : 589-596, 203
- 19) Sonia Cacciaa, U. Ilya Denisova, Michele Perrellab : The kinetics of the reaction between NO and O<sub>2</sub> as studied by a novel approach : *Biophysical Chemistry* **76** : 63-72, 1999
- 20) E. Antonini and M. Brunori : Hemoglobin and Myoglobin in Their Reaction with Ligands. *North*



- Holland Pub 1, Amsterdam. London **21**: 16-20, 1971
- 21) Suga S, Xiahedin I, Hayashi N, Kato H and Aizawa K : Effects of mono-L-aspartyl chlorin e6 and Laser Irradiation on Erythrocytes. Journal of Tokyo Medical University **54**: 1-8, 1996
- 22) Jose L Gonzalez-Mora, Felipe A Martin, David Rojas-Diaz, Sergio Hernandez, Isidro Ramos-Perez, Vicente D Rodriguez, Miguel A Castellano : In vivo spectroscopy a novel approach for simultaneously estimating nitric oxide and hemodynamic parameters in the rat brain. Journal of Neuroscience Methods **119**: 151-161, 2002

## Observation of hemoglobin spectra on epidermis surface using a 2-dimensional spectrum and image analyzer system

Mansur ARKIN<sup>1)2)</sup>, Rie KUBOTA<sup>3)</sup>, Masao KANAZAWA<sup>3)</sup>, Katsuo AIZAWA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Physiology, Tokyo Medical University

<sup>2)</sup>Department of Health and Antiepidemic Station, Urumqi

<sup>3)</sup>Department of Internal Medicine, Tokyo Medical University

(Director : Prof. Yoshio UCHINO)

### Abstract

We developed a 2-dimensional spectroscopy image apparatus which enables simultaneous measurement of a red, green, blue RGB reconstituted image with spectroscopy spectrum information from the epidermis surface.

We were able to distinguish, by the reconstituted RGB image, of the epidermis surface with normal blood flow (oxygenized state) from that with obstructed blood flow (deoxygenized state) caused by compressing the artery with high cuff pressure of a sphygmomanometer, the latter being slightly dark brown in color compared with the former.

Peak absorption spectra at 545 nm and 575 nm were observed from a nail and the epidermis surface of the finger and back of the hand with normal blood flow. This peak absorption was coincident with that of hemoglobin in the oxygenized state. On the other hand, peak absorptions at 560 nm and 750 nm with a somewhat broad shoulder at 660 nm were observed from the same position as those mentioned above but with obstructed arterial condition. This absorption spectrum pattern was characterized by the deoxygenized state of hemoglobin. This absorption spectrum pattern was characterized from that of deoxygenized to oxygenized within 10 sec after releasing the blood stream from obstruction.

In summary, by using the newly developed 2-dimensional spectroscopy image apparatus we were able to analyze information on oxy and deoxygenized of hemoglobin from the epidermis surface. The possible clinical applications of this device were discussed.

---

<Key words> 2-dimensional spectrum-image analyzer system, hemoglobin, absorbance, epidermis

---