

生体材料計測における laser Doppler 流速計の検討と工夫

口 脇 博 治* 稲 尾 意 秀*
宮 崎 保 光** 西 村 誠 一**

はじめに

Laser Doppler Velocimeter (LDV) の原理と基礎的ことがらについては、すでに文献、解説書も出版され、いくつかの商品も発売されている。本論文では実際に得られるデータの根底にある問題に検討を加え、著者らの経験に基づく血流、髄液流の管腔内流速の LDV 計測の結果や生体に対する安全性について検討を加える。

Key words: レーザー Doppler 流速計, 光ファイバー, 血流, 髄液流, 照射による組織損傷

I. Laser Doppler Velocimeter (LDV) の生体計測について

Laser Doppler Velocimeter (LDV) を生体での計測に応用することにより、微小な管腔を流れる液流を穿刺しない状態で測定可能であること、Doppler 周波数変化 (Doppler シフト) を掴むことにより流速の推定が可能であること、生体での速い流れ (血液) から極めて遅い流れ (髄液流) まで同一装置で観察できること、及び、実時間に即した計測が可能であることや、心拍動に同期した流れの速さを把握できるなどの利点がある。さらに成果をあげる際には LDV で得られたデータの解釈のための基本となる理論と実際をよく理解することである。いわゆる低エネルギー laser 光による微小部分の測定のための生体照射が安全な

のか、その連続照射許容範囲はどの程度なのか、という点も生体応用の際大切な事柄である。

II. LDV 開発のあらすじ

LDV 流速計はその原理が1964年、Yeh と Cummins により¹⁾ 考案されたことに始まる。生体内血流計測の応用は、1972年 Riva ら²⁾ の兎の眼底血管内血流計測が初めてである。続いて人の眼底血管 (Tanaka ら³⁾, Feke ら⁴⁾, Riva ら⁵⁾) でも血流が計測されている。

三品⁶⁾ と Koyama ら⁷⁾ は独自に開発した laser Doppler 顕微鏡を用いて、蛙の水掻の部分の血流動態を計測し、Stern ら⁸⁾ はネズミの腸間膜や人の皮下血流を測定している。

Laser Doppler 法の生体応用は光ファイバーを用いることにより、更に普及した。Tanaka ら³⁾ は光ファイバーを用いて、兎の大腿静脈の平均血流を計測し、10 cm/sec から 0.01 cm/sec までの血流測定が可能であったと報告している。Kajiya ら^{9), 10), 11)} や Nishihara ら¹²⁾ は光ファイバーで laser 光を血管内に穿刺により導入することで、心拍周期に対応した血流変化をとらえた。

中枢神経に関する測定では Williams ら¹³⁾ は Dopplar Flow Index を求め局所脳虚血後の脳表から見た血流回復状態を猿で観察している。著者らも LDV を使い、血管を穿刺することなくラットの総頸動脈で一心拍の間の血流の変化を測定した¹⁴⁾。これによると、電磁血流計による測定値変化と類似した最大血流速度 (V_{max}) が得られている。

*名古屋大学医学部脳神経外科

**豊橋技術科学大学情報工学系

III. 測定にあたっての基礎的な事項

Laser 光を用いる計測では、波動現象の解説は最も重要なことであるが、その基本になることについては成書^{15), 16), 17)}に譲る。ここでは実施にあたっての限られた問題について述べる。

Laser 光の Doppler 効果を応用した流れの計測は、光信号を電気現象（高周波）に変換してとらえる。光波は一秒に 10^{13-14} オーダー波動を示す極めて周波数の高い波である。高周波は 10^{10} 以下の周波数であるので、Doppler 信号としての周波数変化をとらえるには、高周波の領域で検波できるように変化周波数を下げる必要がある。

このために、LDV では2つの近似した周波数の光波（実際には一つの laser 光源から光束を分離（偏波）して周波数の等しい、波面の揃った coherence のよい光）を偏光装置を通過させて用いている。2つの光波の干渉によるうなり (beat) 信号の周波数変化を利用して、Doppler 効果をとらえることになる。

例えば、わずかに周波数の異なる二つの光波が同じ向きに進行しており、夫々の振幅を a_1, a_2 , 初めの位相を ϕ_1, ϕ_2 , また f_1, f_2 を周波数とすると、その合成波は次の式で表わされる。

$$y = a_1 \sin(2\pi f_1 t - \phi_1) + a_2 \sin(2\pi f_2 t - \phi_2) \dots\dots (1)$$

このとき光検出器（光電管）での電流 I は(1)式の2乗である。両辺を2乗し展開した項の中で、

$$\cos 2(2\pi f_1 t - \phi_1), \cos 2(2\pi f_2 t - \phi_2)$$

や

$$\cos\{2\pi f_1 t + 2\pi f_2 t - \phi_1 - \phi_2\}$$

で表わされる項が、高周波での検波範囲を越えるので検出されず、実際には次の項の合成：

$$I = a_1^2/2 + a_2^2/2 + a_1 a_2 \cos\{2\pi(f_1 - f_2)t - (\phi_1 - \phi_2)\} \dots\dots (2)$$

だけが光電管での変化として検波される。Laser 光波が $f_1 = f_2$ であり、 ϕ_1 と ϕ_2 を光学路で一定にしておけば、この合成波の干渉縞のなかで散乱する粒子の移動のみに、Doppler 信号が関与することになり、Doppler シフトと流速との間に直線関係が成り立つ。後で述べるように、一つの laser 光波をビームスプリッターや半透明鏡（ハーフミラー）で分光している光学系を組むので、光波については光のヘテロダイン（異種混合）というよ

りもホモダイン（同種混合）検波といえる方法である。このように周波数の異なった2種の波の合成により、高周波の領域で周波数の変化、即ち、うなり (beat) 信号による光の検波を光のヘテロダイン検波と称し、我々が laser Doppler velocimeter として用いる基本的な手段である (Fig. 1).

IV. Laser Doppler 法の光学系

Laser 光波を散乱粒子にあてた後、散乱光を集める方法に3種類の方法がある。

差動型法はハーフミラー、又はビームスプリッターで laser 光波を等しい強度に2分し、レンズを通して別々の方向から投射して、その交差部分にて運動している散乱粒子から来る散乱光を集光して、光電管に導くものである。散乱光全体をレンズで集光して、強い信号が得られる利点がある。参照光法は laser 光波からハーフミラーで光を不均等な光束に二分し、一方を散乱粒子にあてて、その散乱光と Doppler シフトを受けていない参照光とを重ねて干渉させて検波するが、散乱光の強さは方向により異なるので、集光するのに強度があり、信号は弱い。単一ビーム法では、laser 光波の光をレンズで集光して散乱粒子を照射し、対称な二つの方向の散乱光を光電管上で重ね合わせてヘテロダイン検波を行なう。差動型に比べれば、参照光法、単一ビーム法ともに散乱光の方向が限られるので、信号強度は弱い。

光の検出器（光電管）と laser 光波を測定部位へ入射する位置関係から、入射方向から測定部位

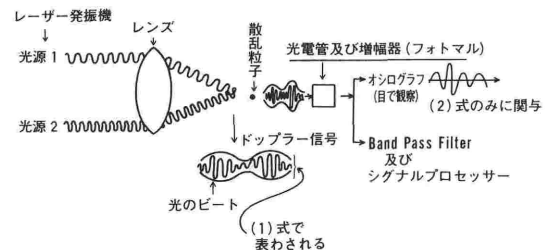


Fig. 1 An illustration showing basic phenomena and system for obtaining signals used in laser Doppler velocimetry. Each number in parenthesis indicates that of an equation in the text "chapter III".

を laser 光波が透過した方向に光電管がある場合を前方散乱型（透過型）、入射方向と反射方向が同じ側にある場合を後方散乱型（反射型）などがあるが、前者の散乱光強度は後者よりは遥かに強い。

V. 光ファイバーを応用した LDV

Laser 光の集光や入射には、レンズが使用されるが、測定機器を容易に生体に近づけられない場合が多いので、測定機器より生体までの間を光ファイバーで繋ぐことがある。著者らも生体の微小部分を測定しようとする場合は、光ファイバーを使用している。光ファイバーを用いると光源から遠ざかっても、あるいは遥かに遠いところからの散乱光でも、光信号強度を減衰させることが少なく伝達できる。

光ファイバーの中心部は屈折率の高いコア、その周囲の同心円状の部分には、屈折率の低いグラッドで構成されている。材質は石英系からプラスチックまで種々存在する。我々は市販の工作機を使用して、適当な長さの光ファイバーを作成し、その都度先端面の平滑度を実体顕微鏡で確認して用いる。

著者らは多くの場合照射パワー密度を大きくす

るため、複数のモードが伝搬可能なコア径 50 μm のマルチモード光ファイバーを使用している。

VI. 光学系の実際の組み合わせ (Fig. 2)

光学系：光ベンチは研磨仕上げ鉄板付で防震アジャスタ付きのものを用いた。この上に光学系の調節がスムーズにいくようにレールをおいた。光波としては He-Ne レーザー光源（発振波長 0.6328 μm, 出力：5 mW と 27 mW の 2 種）を用いた。流速計測用レーザー光源としては出力が特に安定したものを選ぶべきであるが、我々の使用しているものは 0.5% 以下の安定度を示すとされ、特に計測用に仕立てられたものではない。

Laser 光は透過率可変フィルター (f) を通じミラー（平面鏡：M₁, M₂）で反射させ、出力を変化させて用いた。分光はビームスプリッター (BS) 又はプリズムによった。光学路途中では、必要に応じてホルダー付きスリット又はピンホール (PH), シャッター付き絞りなどで余分の光を除去した。レンズは焦点距離が 50 mm, 30 mm や顕微鏡用対物レンズを用いた。Laser 光の入射及びサンプリングエリア、ファイバー先端部分の工作状態などの確認のため実体顕微鏡を準備した。光学系としては、単一ビーム法は参照光法を用い、受信部は前方散乱型とした。

信号処理：光電管 (PM) はヘッドオン型とした。増幅器と小型安定電源は He-Ne laser 光発生に適したものを選んだ。

信号の取り込みは、チャンネル数 4, ワード数 256 kW/Ch, 高速サンプリング 25 ns, 大容量メモリー総計 1M ワードのウェーブメモリー (WM) を準備した。

統計処理：Fast Fourier Transformation (FFT) にはシグナルプロセッサ (7T17 NEC 三栄) を用いた。

Beat 信号の Doppler 効果による変化はシンクロスコープ (OS) で観察した。一部の試験で周波数分析にはスペクトルアナライザー (SA) を用いた。一方光電子倍增管とウェブメモリーの間には band pass filter を用い、通常の測定には 1 kHz 以下を cut し、低周波ノイズを除去した。但し、band pass filter での周波数ノイズシグナルの除去は、V_{max} のシフト影響を与えないような範囲で流れに対応した周波数変化を、検出しやすいよ

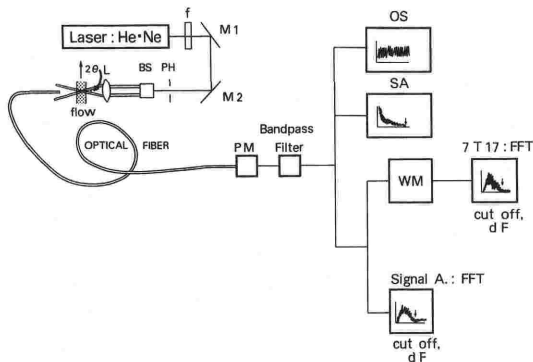


Fig. 2 An example of our system in laser Doppler velocimetry. Abbreviations: f, filter, M, mirror, PH, pinhole, BS, beam splitter, L, lens, PM, photomultiplier, OS, oscilloscope, SA, spectrum analyzer, WM, wave memory, Signal A., signal analyzer, dF, results of FFT. Each arrow indicates a maximum frequency cut off as a Doppler signals.

う選んだ。

システム全体の trigger としては生体の場合は心電図R波からの delay time を一定に選んで行なった。

S/N 比を高め、データのバラつきをなくすため、平均加算した Doppler シフトの FFT 演算処理から、流速 0 の状態の結果を減算し、cut off 信号 (V_{max}) の設定が容易にできるようにした¹⁸⁾。

例えば前方散乱型の Doppler shift では、干渉縞を作る2つのビームの角度が 2θ であれば、He-Ne laser 光波長を λ として速度 $|V|$ は V_{max} に対する周波数変位を Δf とすると、 $\Delta f = 2n|V| \sin \theta / \lambda$ である。 $n=1.33$ (屈折率)

Ⅶ. スペクトルアナライザーを用いた分析に対する検討

実験Ⅰ 血管壁に対する光の透過：

1本の laser 光束 (この場合は単一モードファイバーを使用) は径が実験に用いた管径や血管径 (1-2 mm) よりかなり小さい 200-700 μm である。血液を直径 2 mm の血管の中に満たして laser 光を照射すると、強度分布は管外側の laser 光軸上に中心をもつ同心円状を呈した。従って血管壁を透過した後の laser 光は血管中で拡大して、サンプリング volume は実際にはかなり大きくなるものと思われる。

Laser 光波がある物質中を通過後の光軸上の i 点での光強度 $[I_i]$ は、ランベルトベアーの法則で、 $I = I_0 \exp(-\alpha D)$ で与えられる (α : 減衰定数, D : 距離, S : 散乱係数)。顕微鏡用カバーガラスで小さな立方体の容器を作成し、この中に生理的食塩水で 1 vol% に薄めた血液を入れた。光強度 (dB) の減衰は、光軸方向の距離 (mm) が大きくなると大となる直線関係を示した。光の溶液中での減衰定数は $\alpha = 3.06 \times 10^4 [\text{m}^{-1}]$ であった。

実験Ⅱ 直径 1-2 mm の血管径の壁の laser 光波の透過性とスペクトルアナライザーでとらえた Doppler シフトの分析：

Wistar rat の総頸動脈 (厚さ 200 μm) を板状に切開して、これに He-Ne laser 光波を照射すると、92%の光波が比較的直進性よく透過することが分かった。

参照光法による Doppler shift を実験ではスペクトラムアナライザーを用いて分析した。本実験

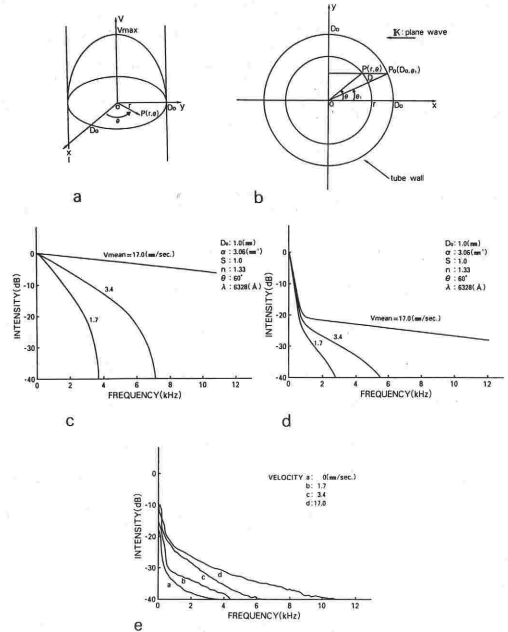


Fig. 3a-e Relationship of signal intensities between theoretical analysis (a-d) and display with spectrum analyzer (e). Fig. 3c shows theoretical curves. Fig. 3d shows theoretical curves plus I_M (right) if scattering particles locate in flow shown in Fig. 3a and 3b. Experimental curves (Fig. 3e) from the common carotid artery of a rat by spectrum analyzer. Figures cited from reference No. 19.

の流速範囲では、速度プロフィールは laminar flow と考えると放物型となる。

今、管内の速度プロフィールを Fig. 3a, b の回転放物面と考え、円筒座標で表現した場合点 $p(\gamma, \theta)$ 、流速 V は

$$V = -V_{max} \gamma^2 / D_0^2 + V_{max}$$

(V_{max} は最大流速)

Laser Doppler 信号をスペクトルアナライザーを用いて観察する場合、各周波数スペクトル強度は入力光強度に対する比で表現される。ここで入力強度 I_{V0} を管表面での光強度とすると管中の laser ビーム入射点よりある距離にある赤血球 (あるいは散乱粒子) から帰って来た信号の光強度 (I_V) は

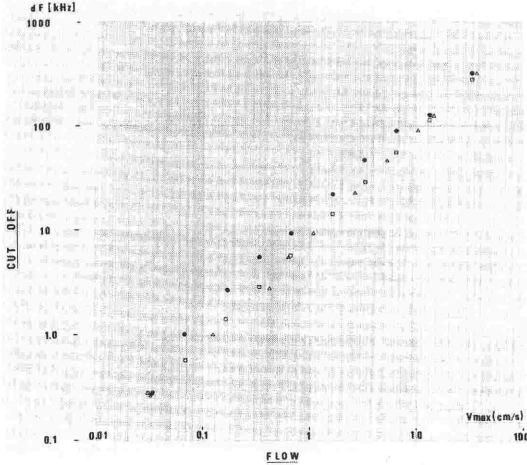


Fig. 4 Examples of solution (vol. %: blood: saline, 1:9) flow in a glass tube with a 1.2 mm inner-diameter. A linear relationship between Doppler shift: dF by our system and blood flow is demonstrated in wide range of flow.

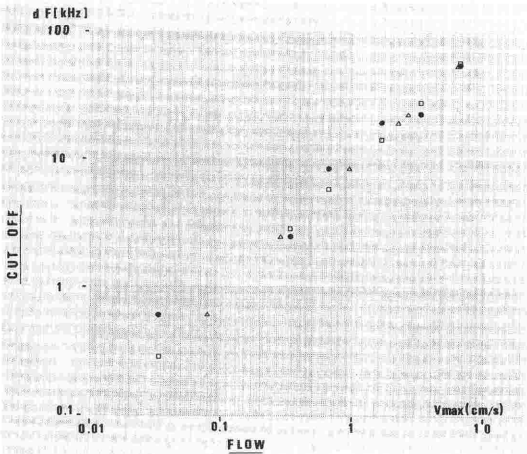


Fig. 5 Example of cerebrospinal fluid flow in a shunt system tube with a 1.0 mm inner-diameter. A linear relationship between Doppler shift: dF by our system and CSF flow is demonstrated.

より Doppler シフト Δf と得られる光強度との関係は、Doppler シフト周波数が最大 Doppler シフト周波数に近づくと、急激にスペクトル強度が減少する (Fig. 3c). 実際観察される Doppler シフト周波数の分析結果の power spectrum はかなり小さい. この相違については次のように解釈できる. 1 kHz 以下の低周波成分には laser 光波プラズマ等のゆらぎによるペディスタル信号成分, また血管壁表面近くで散乱された光強度の大きい信号成分などが含まれることになる. スペクトルアナライザーで観察される信号 $[I_V]$ では, Doppler シフトとこれら低周波の雑音信号成分の強度 $[I_M]$ が, 合成されたものであると考えられる. I_V の信号は I_M の信号が大きいいため負方向へシフトして表わされる (-20 dB 程度) ので Doppler シフト周波数に I_M を加えて表現すると (Fig. 3d), スペクトルアナライザーでの実測にほぼ近似したものとなり (Fig. 3e), Doppler 信号を得るにはこの I_M に相当する低周波成分を処理する band pass filter が必要である.

VIII. Band pass filter を用い, コンピューター演算回路を組み入れたシステムでの検討

本実験は差動型法の光学系に光ファイバーを用いて行なった¹⁹⁾.

人血及び牛乳をそれぞれ10%程度に生理的食塩水で薄めた透明な管腔 (内径: 1.2 mm) を, Harvard pump を用い, 種々の速度で通過させ, 各流速に対する Doppler シフト周波数の高速フーリエ (FFT) 変換を試みた. この際の Doppler シフト, 周波数 Δf , 流速 (V) との関係は $V = \lambda / 2n \sin \theta \times \Delta f$ ($\lambda = 632.8 \text{ nm}$, $n = 1.33$, 2θ : 差動型法における交差する光路のなす角度) である. FFT による Doppler シフトの信号処理は1回のみでは不安定で, 20回から256回の加算平均を用いた. その結果が Fig. 4 であり, Doppler シフトの cut off 信号と V_{max} の間にはほぼ満足できる直線関係が得られた.

次に人髄液 (細胞数 3/mm³, 蛋白 1.8 g/l) を材料として散乱粒子を添加しないで, 脳室腔短絡管 (透明型, Pudenz Schultz 社製) の連絡管に laser 光波を入射し, 管内の髄液の流れによる Doppler シフトを観察し, 速度を示したのが Fig. 5 である.

$$10 \log \left(\frac{I_V}{I_{V0}} \right) = 10 \log \left[\int_0^\pi \exp \left\{ -2\alpha D_0 \left(\sqrt{1 - \left(\frac{\gamma}{D_0} \cos \theta \right)^2} - \frac{\gamma}{D_0} \sin \theta \right) \right\} d\theta \right] - 10 \log \pi \left(\frac{D_0}{\gamma} \right) \dots 19)$$

髄液では散乱粒子は血液に比べて極端に少なく、Doppler shift を示す散乱光信号も小さくなる傾向にあったが、shunt system の管外からの液流の信号検出は可能であった。髄液の場合は流速も遅いので、実際計測する場合は、強い Doppler シフトを得るために多モード光ファイバーを用い、前方散乱型をとる場合でも光軸近くに正しく光ファイバーを合わせる必要がある。また、 V_{\max} の cut off 信号が 1 kHz 以下の場合は band pass filter の low pass 領域をこれより下げて検討した。

IX. 生体への laser 光照射の安全性に関する検討

露出した Wistar rat の総頸動脈に直径 200 μ の laser 光束を照射し(5分から120分の各段階)、連続切片で組織変化を経時的に長期間観察した。その影響を急性期48時間、亜急性期1週間、慢性期4週間の各時期において無処置群と比べた。その結果、臨床的には神経症状などは認めなかったが、照射側血管においては連続 27 mW, 15分以上と 13.5 mW, 120分照射の全例に血管中膜の平滑筋細胞の変性と壊死を主な特徴とする病的所見が認められ、一旦壊死を生じた病変の回復は認められなかった。これに対して 27 mW, 5分以内と 18.5 mW, 60分以内の照射であれば、生体に対する影響は組織学的無害に使用できるという結果を得た²⁰⁾。Riva ら²⁾ はウサギの眼底出血の計測にて 10 mW を2分間照射しているが、生体に対する影響については述べていない。Laser 光束内の光波の密度が問題となるが我々の検討結果からいうと安全領域内の照射と考えられるであろう。

まとめ

Laser Doppler 流速計を種々の光学径や光ファイバーを用いて生体で計測に応用する際の原理、特色、計測上の工夫について述べた。

文献

- 1) Yeh, Y., Cummins, H. Z.: Localized fluid flows measurement with He-Ne laser spectrometer. *Appl Phys Lett* 4:176-179, 1964.
- 2) Riva, C.E., Ross, B. M., Benedek, G. B.: Laser Doppler measurement of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Invest Ophthalmol* 11: 930-944, 1972.

- 3) Tanaka, T., Benedek, G. B.: Measurement of the velocity of blood flow (in vivo) using a fiber optic catheter and optical mixing spectroscopy. *Appl Opt* 14:189-196, 1975.
- 4) Feke, G. T., Riva, C. E.: Laser Doppler measurement of blood velocity in human retinal vessels *J Opt Soc Am* 68:526-531, 1978.
- 5) Riva, C. E.: Laser Doppler measurement of relative blood velocity in the human optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22:241-248, 1982.
- 6) 三品博達：サーザードップラー顕微鏡とその応用—毛細血管内血流測定への応用—。レーザー研究 4: 145-152, 1976.
- 7) Koyama, T., Mishina, H., Asakura, T.: A study of microcirculation in web of frog (*Xenopus & laevis* Daudin) by using laser. *Experientia* 31: 1420-1422, 1975.
- 8) Stern, M. D., Lappe, D. L., Bowen, P. D. et al.: Continuous measurements of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 232: H441-H448, 1977.
- 9) Kajiya, F., Hoki, N., Tomonaga, G., et al.: A laser-Doppler-velocimeter using an optical fiber and its application to local velocity measurement in the coronary artery. *Experientia* 37:1171-1173, 1981.
- 10) 梶谷文彦, 伯耆徳武, 友永 轟, 他: 光ファイバーを用いたレーザーDoppler法による冠動脈血流速度の詳細な検討。脈管学 22: 75-81, 1982.
- 11) 梶谷文彦, 伯耆徳武, 友永 轟, 他: レーザーDoppler血流計測。医学のあゆみ 124: 376-381, 1984.
- 12) Nishihara, H., Koyama, J., Hoki, N., et al.: Optical fiber laser Doppler velocimeter for high resolution measurement of pulsatile blood flows. *Appl Opt* 21:1785-1790, 1982.
- 13) Williams, P. C., Stern, M. D., Bowen, P. D., et al.: Mapping of cerebral cortical strokes in rhesus monkeys by laser Doppler spectroscopy. *Medial Research Engineering* 13:3-5, 1980.
- 14) 池田 公, 口脇博治, 王 天明, 他: レーザーDoppler法による血流測定を試み。日本臨床 43(2): 299-303, 1985.
- 15) 久保宇市: 医用レーザー入門。オーム社, 1985.
- 16) 流れの計測懇話会編: LDV の基礎と応用, 日刊工業新聞社, 1980.
- 17) 朝倉利光, 三品博達, 小山富康: レーザーDopplerによる血流測定法: レーザー医学, 渥美和彦編, 中山書店, 1980, pp. 107-122.
- 18) 木野本武久, 口脇博治: 光ファイバーを用いたレーザーDoppler流速計。病態生理 7: 974-978, 1988.
- 19) 西村誠一, 宮崎保光, 池田 公, 他: レーザーDoppler無侵襲血流測定法の検討。信学技報 84, No. 223. MBE84-63, 13-18, 1984.
- 20) 王 天明, 口脇博治, 木野本武久, 他: 低出力He-Ne レーザー照射後のラット総頸動脈における組織学的検討。日本レーザー医学会誌 7: 13-22, 1986.

A study of blood flow and cerebrospinal fluid flow measurements in biological system using laser Doppler velocimetry

Hiroji Kuchiwaki*, Suguru Inao*
Yasumitsu Miyazaki** and Seiichi Nishimura**

*Department of Neurosurgery Nagoya University School of Medicine

**Department of Information and Computer Science Toyohashi
Institute of Technology

Laser Doppler Velocimeter (LDV) is widely applied to study flow dynamics in clinical materials. The results obtained by LDV include many basic problems to be clarified for the evaluation in flow study.

The first one is an optical system with which optic waves are changed into electric signals of high frequency waves and Doppler signals are received. The second one is an application of an optic fiber to LDV. The third one is signal processing system of Doppler phenomenon and

obtaining high S/N ratios. The fourth one is damage to the biological system by a long irradiation time of Laser beam. Comments on each material were performed according to the authors' experience.

The authors conclude that usefulness of the LDV increases by an application of optic fibers to the optical system and time for irradiation of Laser beam to organs in the living body should be as minimum as possible within a safety limit.

Key words: laser Doppler velocimeter, blood flow, optic fiber, cerebrospinal fluid flow, irradiation injury.