光散乱体層がラマン計測領域の大きさに与える影響の実測

Experimental study of Raman sampling volume affected by scattering media layer

産総研四国¹, 関学理工² ○山本 裕子¹, 佐藤 英俊², 尾崎 幸洋²

AIST¹, Kwansei Gakuin Univ.², Yuko S. Yamamoto¹, Hidetoshi Sato², Yukihiro Ozaki

E-mail: ys-yamamoto@aist.go.jp

【序】ラマン分光法は近年、生体組織計測にも応用されるようになってきた。中でも細径ラマンプローブを内蔵したラマン内視鏡は、ガンのリアルタイムその場診断への応用を見据え研究が盛んに進められている。しかしガンの悪性度を示す診断基準はガンの浸潤深さで定められているため、ガンの一部を切り取る生検を行わずにラマン分光法のみでガン診断を行うには、ガンの浸潤深さを非破壊的に計測する手法が必要である。ラマン内視鏡用の細径ラマンプローブを用いた非破壊的な深さ分解計測手法は様々検討されてきたが、生体組織は強く光を散乱する性質を持つため、特に光散乱効果を考慮する必要がある。しかし同効果の見積りはこれまで主に計算のみで行われており、実測した例はほとんどない。ラマン内視鏡用の細径ラマンプローブは一般的に直径が数ミリ以下とサイズが小さいため、実物の細径ラマンプローブを用いての実測は技術的困難を抱えているためである。

そこで私たちは、光散乱体をラマン測定した際のラマン計測領域の広がりを実測するため、ラマン顕微鏡を用いた計測手法を考案した。結果、光散乱体を通るとその奥から得られるシグナルが広がって見えることを実証した。この計測手法はラマンプローブの計測領域予測にも応用可能である。

そこで私たちは、光散乱体をラマン測定した際のラマン計測領域の広がりを実測するため、ラマン顕微鏡を用いた計測手法を考案した。結果、光散乱体を通るとその奥から得られるシグナルが広がって見えることを実証した。この計測手法はラマンプローブの計測領域予測にも応用可能である。

【実験】共焦点ラマン顕微鏡(Photon design社)のクロススリット(共焦点ピンホールに相当)を広げ、深さ方向のラマン計測範囲をラマンプローブと同等程度(約200 μm)まで大きくした。次にシリコン板の上に光散乱体層(イントラリピッド水溶液)を載せ、ステージを深さ方向に動かしながらシリコンのラマンスペクトルを取得した。519 cm⁻¹のピーク強度を深さ方向の距離に対しプロットし、ラマン計測範囲とした。

【結果と考察】空気中でシリコン板を測定した場合、深さ方向のラマン測定範囲は半値全幅で170μmであった。シリコンに透明な媒質(水・石英ガラス)を重ねて屈折率を大きくしたところ、ラマン測定範囲は160μmとやや小さくなった。一方、シリコンに光散乱体層(0.5%イントラリピッド水溶液)を重ねたところ、ラマン測定範囲は260μmに大きく広がった。これはシリコン表面で発生したラマン散乱光が、光散乱体層を通過する際に散乱体によって散乱を繰り返し、深さ方向に対して広がりながら伝搬していくことを実証している。また同時に、光散乱層を通過する際にラマン散乱光が減衰していく様子を実測にて確認した。光散乱体層に含まれるイントラリピッド濃度が大きいほど、検出器に届くラマン散乱光は減少した。また光散乱体層が厚くなるほど、検出器に届くラマン散乱光は減少した。発表でさらに詳細を説明する。

図 1. ラマン顕微鏡を利用した深さ方向のラマン計測領域測定法。光散乱体を含む層状サンプルとレンズ間の距離を変更しながらラマンスペクトルを連続測定する。