

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4852762号
(P4852762)

(45) 発行日 平成24年1月11日(2012.1.11)

(24) 登録日 平成23年11月4日(2011.11.4)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/01 (2006.01)	GO 1 N 21/01 D
GO 1 N 21/27 (2006.01)	GO 1 N 21/27 Z
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z

請求項の数 3 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2007-63135 (P2007-63135)
(22) 出願日	平成19年3月13日(2007.3.13)
(65) 公開番号	特開2008-224420 (P2008-224420A)
(43) 公開日	平成20年9月25日(2008.9.25)
審査請求日	平成21年11月9日(2009.11.9)

(73) 特許権者	504155293 国立大学法人島根大学 島根県松江市西川津町1060
(74) 代理人	100116861 弁理士 田邊 義博
(72) 発明者	廣田 秋彦 島根県出雲市塩冶町89-1 国立大学法人島根大学医学部内
審査官	廣田 健介

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光ファイバ照明装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

生体試料が対象であり、脳や心臓等における膜電位や細胞内外のイオン濃度等を指標として、生体機能を、試料上の非常に多数の測定点から光強度の微細な経時変化として光学的に測定する吸光測光装置用または蛍光測光装置用の照明装置であって、

アーク光源と、

アーク光源からの光を導光し試料へ照射する光ファイバ束と、

アーク光源光量の時間的な揺らぎを検出する揺らぎ検出部と、試料由来の透過光強度または蛍光強度の変化量に比して試料上の測定点への入射光または励起光の変化量が無視できるほどに、揺らぎ検出部により検出されたアーク光源の揺らぎを補償する光量の光を試料に照射する補助光源と、を含む補償手段と、

を具備したことを特徴とする準単色光ファイバ照明装置。

【請求項2】

補助光源が、PWM(パルス幅変調)制御されるLEDであることを特徴とする請求項1に記載の準単色光ファイバ照明装置。

【請求項3】

アーク光源からの光を導光し試料へ照射する光ファイバ束は、当該光ファイバ束内でランダムに光ファイバを混合する主光ファイバ束であって、

アーク光源からの光ファイバがランダムに混合された後、主光ファイバ束から分岐し、揺らぎ検出部へ光を導出する第一枝光ファイバ束と、

10

20

補助光源からの光を導光し、主光ファイバ束へ合流する第二枝光ファイバ束と、
を具備し、
合流後の主光ファイバ束内では補助光源からの光ファイバもランダムに混合して試料に
照射することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の準単色光ファイバ照明装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体機能を光学的に測定するための光ファイバ照明装置に関し、特に、背景
光測定が事実上不可能な多点同時計測を実現する光ファイバ照明装置に関する。

10

【背景技術】

【0002】

従来、脳や心臓等における膜電位の経時変化を測定する方法として、組織を膜電位感受
性色素で染色し、これに光を照射して透過光あるいは蛍光を観察する手法が知られていた
。詳しくは、染色部分の吸光あるいは蛍光が細胞の微弱な膜電位変化により変化するため
、この光学的変化を生体電気活動の経時変化として測定する手法が知られていた。

【0003】

光学的方法で生体機能などを観測する場合、実際にはフラクショナルチェンジ I/I
または F/F (fractional change: 吸光測光である場合には、 I は透過光強度変化
分、 I は背景の透過光強度。蛍光測光である場合には、 F は蛍光強度変化分、 F は背景
の蛍光強度) を測定するのであるが、活動電位やシナプス後電位のフラクショナルチェ
ンジの大きさは、大きい場合でも 10^{-3} オーダであり、定量解析には 10^{-4} オーダのシ
グナルを観測する必要がある。

20

【0004】

ここで、測光箇所が数箇所程度であれば、光源光量が増減したとしても、各箇所の励起
光や入射光を同時測定して補正が可能であるため、フラクショナルチェンジを測定するこ
とが可能であった。

【0005】

一方で、近年、フォトダイオードアレイなどを用いて、染色した領域内の何百箇所、何
千箇所という非常に多くの部位の光強度を、ミリ秒オーダの高い時間分解能で同時に測定
する方法が開発されつつある。このとき、何百箇所、何千箇所といった領域の入射光や励
起光を観測することは現実的ではないため、このような背景光を測定しなくて済むように
、光源を時間的に安定化させる手法がとられている。具体的には、直流安定化電源を用い
たハロゲン・タングステンランプが用いられており、実際このランプによれば 10^{-5} オ
ーダの安定性があるため、S/N比は良くないものの小さなフラクショナルチェンジの測定
が可能となっている。

30

【0006】

【特許文献 1】特開 2001-309242

【特許文献 2】特開平 09-021800

【特許文献 3】特開平 09-005243

【特許文献 4】特開平 09-005236

40

【非特許文献 1】平成 5 年度科学研究補助金研究成果報告書 (研究課題番号: 03557
006) 研究代表者 神野耕太郎「中枢神経系ニューロン活動の光学的高分解能 102
0チャンネル同時測定システムの作成」p8~p28 (平成 6 年 3 月)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

しかしながら、従来の技術では以下の問題点があった。

フォトダイオードアレイ等により光を光電流に変換する際に、光電子の発生が確率過程
であることに由来するショットノイズという取り除けない雑音が発生するため、測定系の

50

ノイズをこのレベルより小さくすることはできない。このノイズはフラクショナルチェンジのSN比で考えると、光電流が大きくなるほど相対的に小さくなる。したがって、SN比を高めるため、また、より高精細高精度にフラクショナルチェンジを測定するため、ハロゲン・タングステンランプよりも明るく、ハロゲン・タングステンランプと同等以上に安定した光源が求められている。

【0008】

この光源として、キセノンランプ、水銀ランプ、メタルハライドランプなどのアーク光源が挙げられ、実際、明るさの点で優れている。しかしながらアーク光源は、原理的に、発光位置と強度に揺らぎがあり、その大きさは背景光の1~2% (10^{-2} オーダ) である。電圧や電流の安定化や光源へのフィードバック技術により、0.1% (10^{-3} オーダ) 程度までは改善されるものの、必要とされる 10^{-5} オーダより100倍も揺らぎが大きく、実用段階ではないといった問題点があった。

10

【0009】

また、このような装置は、用途が特殊なため、照明部分と測定部分がセットとして提供されるものの、上記問題点は照明系にあるので、性能を向上させた照明系部分のみを買い換えたいという潜在的な要請がある。

【0010】

本発明は上記に鑑みてなされたものであって、試料由来の透過光強度または蛍光強度の変化量に比して試料上の測定点への入射光または励起光の変化量が無視できるほどに、光強度を超安定化させた高輝度の照明装置を提供することを目的とする。

20

【課題を解決するための手段】

【0011】

上記の目的を達成するために、請求項1に記載の準単色光ファイバ照明装置は、生体試料が対象であり、脳や心臓等における膜電位や細胞内外のイオン濃度等を指標として、生体機能を、試料上の非常に多数の測定点から光強度の微細な経時変化として光学的に測定する吸光測光装置用または蛍光測光装置用の照明装置であって、アーク光源と、アーク光源からの光を導光し試料へ照射する光ファイバ束と、アーク光源光量の時間的な揺らぎを検出する揺らぎ検出部と、試料由来の透過光強度または蛍光強度の変化量に比して試料上の測定点への入射光または励起光の変化量が無視できるほどに、揺らぎ検出部により検出されたアーク光源の揺らぎを補償する光量の光を試料に照射する補助光源と、を含む補償手段と、を具備したことを特徴とする。

30

【0012】

すなわち、請求項1にかかる発明は、個々の測定点における入射光または励起光の測定が事実上不可能な多点同時計測において高輝度光源を提供しつつ、測定点すべてにおいて入射光強度あるいは励起光強度をそれぞれ時間的に超安定化させることが可能となる。したがって、透過光強度または蛍光強度のみ測定することにより生体機能を解析することが可能となる。なお、ここで準単色とは、照射する光の波長帯を狭小に調整することを意味する。また、非常に多数の測定点とは、各測定箇所における背景光強度測定が現実的ではない測定点数をいい、例えば、100箇所以上を意味する。なお、生体試料として、ヒト以外の動物を挙げることができる。また、ここでいう、光ファイバは、光導波手段(光導手段)ということができ、本光ファイバと同様の作用をもたらすものであれば、必ずしも光ファイバという形態に限られない。

40

【0013】

また、請求項2に記載の準単色光ファイバ照明装置は、請求項1に記載の準単色光ファイバ照明装置において、補助光源が、PWM(パルス幅変調)制御されるLEDであることを特徴とする。

【0014】

すなわち、請求項2にかかる発明は、制御電圧にリニアな明るさを制御可能であり補助光源の制御の高精度化を容易とする。また、補助光源本来の明るさ制御を、点灯時間と消灯時間のデューティ比とすることで、発熱等に起因するLED光量の時間変動の補償を

50

独立して電圧制御によりおこなえ、長時間高精度で安定した動作が可能となる。

【0015】

また、請求項3に記載の準単色光ファイバ照明装置は、請求項1または2に記載の準単色光ファイバ照明装置において、アーク光源からの光を導光し試料へ照射する光ファイバ束は、当該光ファイバ束内でランダムに光ファイバを混合する主光ファイバ束であって、アーク光源からの光ファイバがランダムに混合された後、主光ファイバ束から分岐し、揺らぎ検出部へ光を導出する第一枝光ファイバ束と、補助光源からの光を導光し、主光ファイバ束へ合流する第二枝光ファイバ束と、を具備し、合流後の主光ファイバ束内では補助光源からの光ファイバもランダムに混合して試料に照射することを特徴とする。

【0016】

すなわち、請求項3にかかる発明は、アーク光源の発光の場所や大きさに起因する入射光または励起光の揺らぎも高精度で補償可能となると同時に、光ファイバ束出口部での光強度の場所的な均一性も確保でき、揺らぎ検出部と補助光源が一組で済む。

【発明の効果】

【0017】

本発明によれば、試料由来の透過光強度または蛍光強度の変化量に比して試料上の測定点への入射光または励起光の変化量が無視できるほどに、光強度を超安定化させた高輝度照明装置を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

以下、本発明の実施の形態を、図面を参照しながら詳細に説明する。ここでは、膜電位感受性蛍光色素で染色したネズミの大脳皮質上約1000箇所の膜電位を蛍光強度の測定によって測定する例について説明する。

図1は、本発明の準単色光ファイバ照明装置と測定系の構成を示した模式図である。膜電位測定システム100は、照明装置200と、光強度測定装置300とから構成される。

【0019】

照明装置200は、キセノンランプ201と、主ファイバ束202と、補償部203と、測光用ファイバ束204と、補償光ファイバ束205と、を有する。

【0020】

また、光強度測定装置300は、タンデムレンズ301と蛍光フィルタ302により実像面に拡大された蛍光実像を作る光学系と、この実像面を小領域に分け、それぞれの領域の光強度を測定するためのフォトダイオードアレイ305をディテクタとし、それに接続する図示しない処理装置と、を有する。

【0021】

キセノンランプ201は、直流安定化電源211により安定してアーク光を発する。このアーク光は、励起フィルタ212を介して、膜電位感受性蛍光色素を励起する波長が抽出された準単色となり主ファイバ束202に導光される。キセノンランプ201としては、例えば朝日分光株式会社製のMAX-301を挙げることができる。また、励起フィルタとしては、膜電位感受性蛍光色素にRH414を用いた場合には、例えば、朝日分光株式会社製のMX0540を挙げることができる。

【0022】

主ファイバ束202は、光ファイバ束であって、その内部で、抽出された波長領域のアーク光を導出する光ファイバをランダムに混合し、一部を測光用ファイバ束204に分岐し、残りを大脳皮質に照射する。測光用ファイバ束204は、ランダムに混合された照射光を補償部203に導光する。ランダムに混合するため照射光の空間的な揺らぎが解消される。すなわち、主ファイバ束202の端部における照射光の強度が場所に依存することなく、均一となる。

【0023】

補償部203は、揺らぎ検出部231と、PWM制御部232と、LED233とを有

10

20

30

40

50

し、測光用ファイバ束204から導光されたアーク光の強度の時間的な揺らぎを補償する(図2参照)。これにより、直流安定化電源211により安定して発光するアーク光を時間的に超安定化させ、生体試料由来の光強度変化に比較して光源由来の変化を無視できる大きさとし、蛍光強度の変化をすべて生体試料由来のもののみとみなすことが可能となる。

【0024】

具体的には、揺らぎ検出部231で照射光強度の時間的な変化(揺らぎ)を検出し、これに基づきPWM制御用の制御電圧を発生させる。PWM制御部232では、水晶発振器と256進カウンタと8ビットDA変換器で鋸波を発生させ、アナログ比較器によって制御電圧との比較をおこない、LED233を高速に点滅させる。すなわち、アーク光の時間的な微細な揺らぎをLED233が光量補償(強度補償)して発光する。水晶発振器としては、鋸波の周期がサンプリング周波数に対して十分に速く、AD変換の前段に組み込まれたアンチエイリアシングフィルタで遮断される周波数であることが必要であるので、1ミリ秒でサンプリングする場合には5~10MHz程度の発振器が好ましい。LEDとしては、例えば、ProLight Opto Technology社製のPG1N-5LGSを挙げることができる。なお、この回路には、LED233の温度変化等による発光光量の変化分を補正する回路も組み込まれている。

10

【0025】

LED233からの光は励起フィルタ234により蛍光帯域にかかる波長帯を取り除いた後、補償光ファイバ束205により導光され、主ファイバ束202に合流後大脳皮質に照射される。このとき、補償光ファイバ束205内でもLED233からの光ファイバをランダムに混合し、合流後にも主ファイバ束202内の光ファイバともランダムに混合し、空間的な輝度の違いを解消するようにする。

20

【0026】

図3は、LED233による光量の超安定化の概念を示した模式図である。図示したように、キセノンランプ201とLED233とにより、光強度を時間的に超安定化させる。なお、光量を補償して一定とする値とは、励起フィルタ212で準単色光としたキセノンランプ201由来の励起光の揺らぎによる蛍光の変化を、ちょうど補正するようにLED233を発光させる値のことをいう。ここで、蛍光強度と励起光強度の比は波長依存性を持つものであるが、膜電位変化と蛍光の各波長でのフラクショナルチェンジの比例定数は一定であり、膜電位変化は蛍光全体のフラクショナルチェンジに比例するとみなせるため、準単色光としたアーク光源由来の励起光のスペクトルと励起フィルタ234を通った後のLED233の発光スペクトルが一致する必要はなく、蛍光強度が一定となるように励起光強度を安定化すれば良い。この点で、照明装置200は、励起光源として用いる場合、蛍光の強度を超安定化させる装置ということが出来る(換言すると、アーク光源の全スペクトル、あるいは、励起フィルタを通した後のスペクトル全体にわたり、それぞれの波長での励起光強度の超安定化を保証するものではない)。

30

【0027】

一方、膜電位感受性色素は大脳皮質に照射された光により蛍光を発する。ここで、脳の神経活動により膜電位が時間的に変化するため、蛍光強度も時間的に変化する。先に述べたように、この変化は 10^{-4} オーダと微弱であるので、照射光の揺らぎを 10^{-5} 未満として超安定化し、変化量のみを観測をおこなえるように、照明装置200ではLED233をPWM制御して光量補償をおこなう。

40

【0028】

光強度測定装置300では、大脳皮質の像を、タンデムレンズ301により蛍光フィルタ302を介してフォトダイオードアレイ305上に結像させ、蛍光強度を光電変換して、膜電位の経時変化を観測する。励起フィルタ302としては、膜電位感受性蛍光色素にRH414を用いた場合には、励起光は遮断し蛍光は透過させるものとして、HOYA CANDEO OPTPRONICS株式会社製の色ガラスフィルタR62を挙げることができる。フォトダイオードアレイ305上に拡大して結像させるので、各エレメントが、大脳皮質上に仮想的にメッシュ分割された一区画に相当し、結果として大脳皮質の撮像全域の電気現象を大局的

50

に把握可能となる。なお、処理装置は特に説明しないが、フォトダイオードアレイ 305 の各エレメントから、ミリ秒オーダーの高い時間分解能で 10^{-4} オーダーの光強度変化が記録可能であるものとする。

【0029】

なお、以上の例では、主ファイバ束 202 は二本に分岐し、二方向から大脳皮質に励起光を照射する態様を示しているが、これに限ることなく、主ファイバ束 202 を分岐せずあるいは三本以上分岐して、励起光を照射するようにしても良い。

【0030】

また、補助光源は、高速かつ安定して輝度をコントロール、あるいは高速に点滅させて輝度をコントロールできる光源であればよく、必ずしも LED に限定されるものではない。

10

【産業上の利用可能性】

【0031】

本発明によれば、蛍光のみでなく、吸光測光により生体試料の高精度の測定も可能である。また、上記の例では、膜電位を測定したが、ナトリウム、カリウム、カルシウム等の細胞内外のイオン濃度を光学的に多点測定することも可能である。なお、照明装置のみ置換すればよいので、既に導入しているシステムの性能を簡便に向上させることが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】本発明の準単色光ファイバ照明装置と測定系の構成を示した模式図である。

【図2】本発明の準単色光ファイバ照明装置の補償手段の回路構成例を示した図である。

【図3】LEDによる光量の超安定化の概念を示した模式図である。

20

【符号の説明】

【0033】

100 膜電位測定システム

200 照明装置

201 キセノンランプ

202 主ファイバ束

203 補償部

204 測光用ファイバ束

205 補償光ファイバ束

211 直流安定化電源

212 励起フィルタ

231 揺らぎ検出部

232 PWM制御部

233 LED

234 励起フィルタ

300 光強度測定装置

301 タンデムレンズ

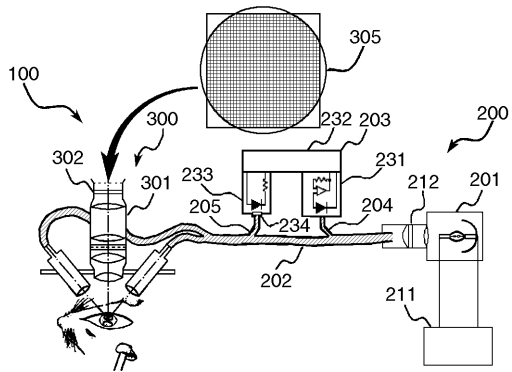
302 蛍光フィルタ

305 フォトダイオードアレイ

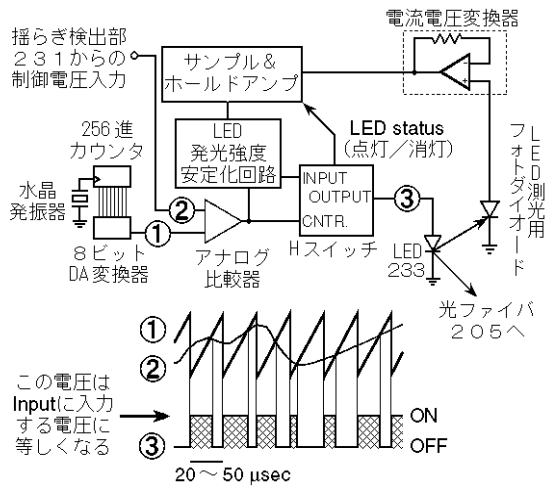
30

40

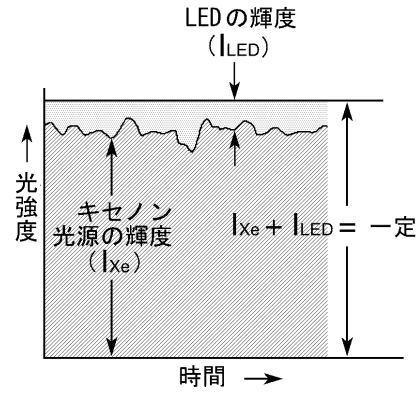
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平9 - 21800 (JP, A)

特開平9 - 5236 (JP, A)

特開2003 - 344266 (JP, A)

特開平4 - 127035 (JP, A)

特開昭64 - 65424 (JP, A)

特開2007 - 33148 (JP, A)

Toshiyuki Komatsu et al., Reduction in time jitter for free-running, nanosecond-pulsed
, Xe lamp by supplementary illumination with blue light-emitting diode, REVIEW OF SCIE
NTIFIC INSTRUMENTS, 2000年 4月, VOLUME 71, NUMBER 4, 1621-1626

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/00 - 21/83

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)