

科学研究費補助金研究成果報告書

平成24年 4月 4日現在

機関番号：17102

研究種目：新学術領域研究（研究課題提案型）

研究期間：2009～2011

課題番号：21200019

研究課題名（和文） 眼機能評価のための分光イメージング新技術の開発

研究課題名（英文） Development of novel spectroscopic imaging for diagnostics of retinal function

研究代表者

中村 大輔（NAKAMURA DAISUKE）

九州大学・システム情報科学研究所・准教授

研究者番号：40444864

研究成果の概要（和文）：

糖尿病網膜症などの眼底疾患の早期発見を目指した新規眼底機能計測法の開発を目的とし、分光イメージングを利用した眼底酸素飽和度計測装置を開発した。酸素飽和度の程度を表す指標値を利用して、網膜血管の動静脈を非侵襲に識別することに成功した。さらに、より微細な網膜血管を計測するための高分解イメージング装置を開発した。

研究成果の概要（英文）：

Oxygen saturation imaging of human retinal vessels based on the spectroscopic technique was proposed for early diagnostics of retinal diseases and disorders. Retinal arteries and veins were clearly distinguished by the imaging technique. Furthermore, a high resolution imaging equipment was developed for analyzing the retinal capillary vessel.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,400,000	2,520,000	10,920,000
2010年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2011年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
年度			
年度			
総計	21,500,000	6,450,000	27,950,000

研究分野：総合領域，工学

科研費の分科・細目：人間医工学，計測工学

キーワード：分光イメージング，酸素飽和度，非侵襲計測，眼底網膜機能

1. 研究開始当初の背景

視覚情報は生物にとって非常に重要な入力要素であるが、近年、緑内障や糖尿病網膜症等による中途失明は増加傾向にある。これは糖尿病等の生活習慣病の患者の増加が一因と考えられることから、中途失明を未然に回避するために眼底病変の早期発見や予防的治療法の開発が強く望まれている。現在の眼底の診断は形状計測が主流であり、眼底カメラや走査型レーザー検眼鏡といった装置を

ベースとして蛍光眼底造影法、OCT (Optical Coherence Tomography) などの計測技術が利用されている。一方、最近では疾患部の定量診断や疾患メカニズムの解明を目的とした眼底の網膜機能の直接評価技術の開発が求められている。網膜機能の直接評価が可能となれば、疾患の早期発見、予防の進展、ひいては高齢化社会における QOL (Quality of Life) の増進に大きく貢献できるものと期待される。網膜機能情報には網膜組織、あるい

は網膜血管を流れる血液中のたんぱく質、血糖値、酸素飽和度、脂質等が挙げられる。中でも酸素飽和度は糖尿病網膜症などの眼底疾患との関連性があると言われており、さらに眼底疾患以外の脳や心臓の疾患の診断の指標値として注目されているパラメータである。

2. 研究の目的

本研究では眼底疾患の早期発見を目指した新規眼底機能計測法を開発するとともに、眼底の代謝活動を直接評価する全く新たな手法として眼底（網膜の細胞）の活動に伴い発生すると考えられる極微弱生化学発光の臨床計測への可能性について実験的検証を行なうことを目的として研究を行なった。具体的には以下の項目を実施した。

- (1) 分光イメージングと画像処理技術を理使用した高分解能眼底酸素飽和度計測装置の開発
- (2) 開発した眼底酸素飽和度計測装置の評価
- (3) 眼底用極微弱生化学発光計測装置の開発

3. 研究の方法

(1) 眼底酸素飽和度イメージング

図1に眼底網膜部の断面モデルを示す。眼底へ到達した光は、網膜色素上皮の上層の感覚網膜部で光信号として捕らえられる。血管部からの反射光を I_{in} 、血管部近傍の血管外からの反射光を I_{out} とすると、2つの反射光の違いは血管部における吸収もしくは散乱のみと見なすことができるため光学密度（OD: Optical density）は次式で表される。

$$OD = \log_{10} \left(\frac{I_{out}}{I_{in}} \right) = ax \quad (1)$$

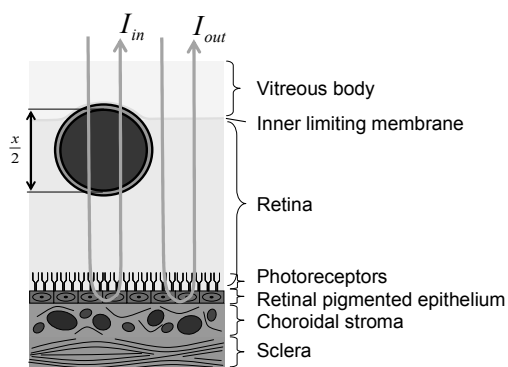


図1 眼底網膜部の断面モデル
硝子体（Vitreous body）、感覚網膜（Retina）、内境界膜（Inner limiting membrane）、視細胞（Photoreceptors）、網膜色素上皮（Retinal pigmented epithelium）、脈絡膜（Choroidal stroma）、強膜（Sclera）。

ここで、 α はヘモグロビンの吸収係数である。網膜色素上皮には分光特性を有するメラニン色素が存在するが、隣接する部分では一様に分布していると仮定するとODではその影響は消える。ヘモグロビンは500 nm帯に特徴的な高い吸光特性をもつが、ヘモグロビンの酸素結合に依存しない545 nmと依存する560 nmの2波長を用いた光学密度比（ODR: OD ratio）は次式で表される。

$$ODR = \frac{OD_{560}}{OD_{545}} = \frac{a_{560} \cdot x}{a_{545} \cdot x} = \frac{a_{560}}{a_{545}} \quad (2)$$

したがって、ODRは吸収係数のみに関係する値となる。酸素飽和度はこのODRと相関があることから本研究でもODRを指標値として用いる手法を採用した。

眼底計測のための光学系には既成の眼底カメラ（TOPCON, TRC50IA）に2波長画像を同時に取得するための光学系を取り付けたシンプルなシステムを構築した。具体的にはビームスプリッターと2台のCCDカメラから成る計測系である。2台のCCDカメラの手前にはそれぞれ545, 560 nmの干渉フィルター（ $\Delta\lambda = 3.7, 4.3$ nm）を取り付けることで2波長同時計測を可能とした。

(2) 眼底用極微弱生化学発光計測

眼底網膜細胞の活動に伴い発生すると考えられる極微弱生化学発光の臨床計測への可能性について実験的検証を行なうにあたり、ヒト生体からの極微弱生化学発光（バイオフォトン）を検出可能な超高感度EM-CCDカメラを導入した。図2に示すような眼底計測用の光学系を構築して暗室内に設置し、眼底網膜からのバイオフォトン検出を試みた。



図2 眼底網膜極微弱光画像計測装置

4. 研究成果

(1) 眼底酸素飽和度イメージング

開発した眼底酸素飽和度計測装置を用いて2波長（545, 560 nm）同時撮影した眼底画像を図3示す。中央に輝度の高い視神経乳頭部が見え、そこから血管が四方へ走っているのが確認できる。本手法ではこの2画像に対し

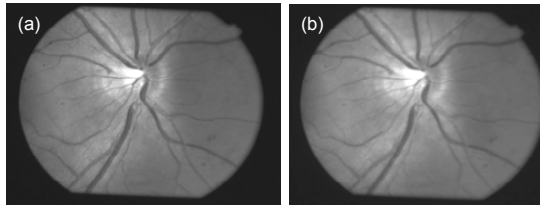


図3 2波長同時計測した眼底画像.
(a) 545 nm, (b) 560 nm.

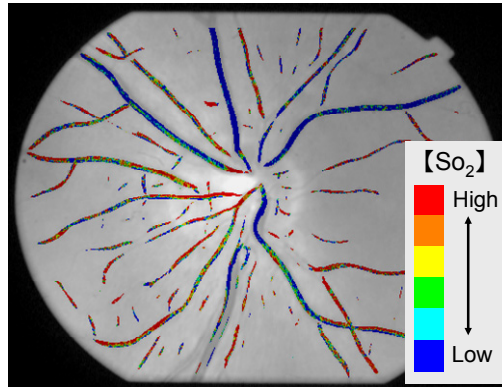


図4 酸素飽和度の指標値である ODR の 2 次元画像.

てモルフォロジーの Closing 演算および線集中度フィルターの画像処理を施す。前者では図1における血管以外からの反射光 I_{out} を推定することができる。後者では取得画像のコントラストに依存しない血管線検出が可能である。これらの演算を行なうことで、酸素飽和度の指標値である ODR マップを算出することができる。図4に算出した ODR 画像を示す。式(2)とヘモグロビンの分光特性より ODR の値が高い方が酸素飽和度が低く、ODR の値が低い方が酸素飽和度が高くなる。図4では ODR の値に対して色分けを施しており、色が赤い方が酸素飽和度が高く、青い方が酸素飽和度が低いことを表している。血管ごとに色の違いがあることが確認できるが、眼科医の所見の結果、解剖学的知識による動静脈の分類とほぼ一致した。したがって、本手法により直径数 $10 \mu\text{m}$ 以上の網膜中心血管について動静脈の識別できることが確認された。さらに、本研究では無呼吸時における眼底酸素飽和度のモニタリングを行なった。具体的には耳部に取り付けたパルスオキシメーター (Rad-5, Masimo Co., USA) と ODR の比較を行なった。耳部は肺からの距離が眼底とほぼ等しく血中酸素飽和度の変化も同等であると仮定し、被験者が呼吸を意図的に止めて、60秒前後から徐々に酸素飽和度が低下してきたところに3回測定を行なった。その結果、動静脈ともに耳部で計測した酸素飽和度の変動に対応して ODR の値が変化した。これは ODR が酸素飽和度をモニ

タリングしていることを示唆しており、我々は本手法が眼底酸素飽和度をモニタリングできるポテンシャルを有すると推測している。



図5 高解像眼底酸素飽和度計測装置.

これらの結果を踏まえて、さらなる高分解能計測を目指して、図5に示すような新規装置を開発した。ニデック社製のオート無散瞳眼底カメラ (NIDEK, AFC-230) に CMOS カメラ (Canon EOS Kiss X3) を2台搭載した構成であり、従来の装置に比べて50倍の解像度を有する。この新規装置を用いて酸素飽和度計測を行なった結果を図6に示す。図4と同様に青い方が酸素飽和度が低く、赤い方が酸素飽和度が高いことを表している。従来装置に比べ、微細な血管まで検出しつつ動静脈の識別ができる結果が得られた。さらに、新規装置の高分解能性を示す結果を図7に示す。左図には線集中度フィルターにより抽出した血管を原画像に重ねて表している。一方、右図は蛍光眼底造影法により撮影した画像である。蛍光

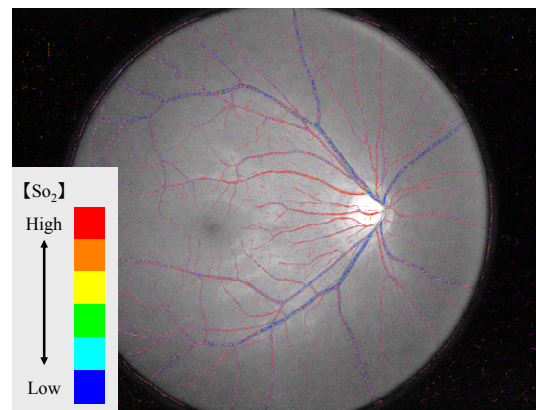


図6 酸素飽和度の指標値である ODR の高解像 2次元画像.

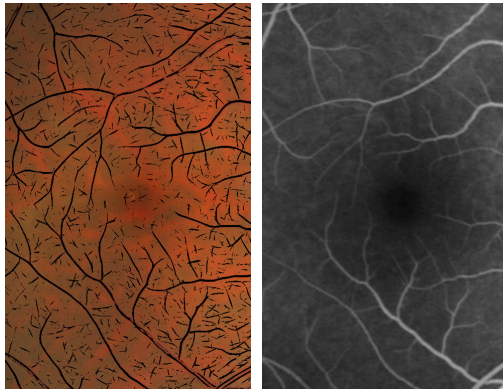


図7 線集中度フィルターを利用した血管抽出画像(左図)と蛍光眼底造影法による画像(右図)。

眼底造影法は微細な血管や血流動態を診断する計測法であり、蛍光色素を静脈注射して蛍光撮影を行なう。線集中度フィルターにより検出された血管像は、蛍光眼底造影法と同等の微細な血管まで検出できていることがわかる。蛍光眼底造影法では蛍光色素による副作用や稀にショック症状を起こすことがあるが、本手法を利用することで蛍光色素などの投与なく、非侵襲かつ高精度に微細血管を診断できる可能性が示された。

(2) 眼底用極微弱生化学発光計測

まずは、導入した EM-CCD カメラ (浜松ホトニクス, Imagem C9100-14) にてヒトの手の甲からのバイオフィトン計測を試みた。暗室を準備し、EM-CCD カメラを循環水冷却機にて -70°C まで冷却した状態で実験を行なった。積算時間 5 分間にて撮影した結果を図 8 に示す。図 8 (a) は照明下にて撮影した手の甲の写真であり、図 8 (b) が外部照明を遮断した暗室条件下にて撮影した結果である。この結果より、手の甲からのバイオフィトンを検出できていることがわかる。指先の爪の部分から特に強く発光しており、生体バイオフィトンの文献と一致する傾向が見られた。したがって、本研究にて導入した EM-CCD カメラがバイオフィトンを検出できる能力を有していることが実証され、さらに、構築した暗室がバイオフィトン検出に適用可能であるこ

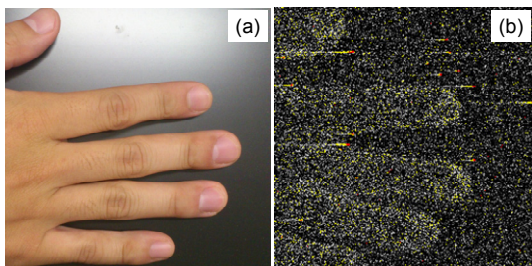


図8 照明下にて撮影した手の甲の写真 (a) と暗室下におけるバイオフィトン検出画像 (b)。

とを確認した。この結果を踏まえ、眼底からのバイオフィトン計測を試みた。まず、図 2 に示す装置を用いて計測を行なったが、バイオフィトン起因と思われる発光の検出には至らなかった。原因としては、眼底カメラ内の光学系を通過する際の光量のロスが大きいことが原因と考えられる。そこで、眼底カメラを取り外し、ヒトの眼球のすぐ手前に EM-CCD カメラを設置する構成とした。その際、眼底網膜が EM-CCD カメラの受光面に結像するように焦点距離 40mm のレンズを装着した。この構成にて積算時間 5 分間にて計測を行なったところ、明確なバイオフィトンの 2 次元画像を得るには至らなかったが、輝度値に違いが見られた。被験者なしで背景ノイズを計

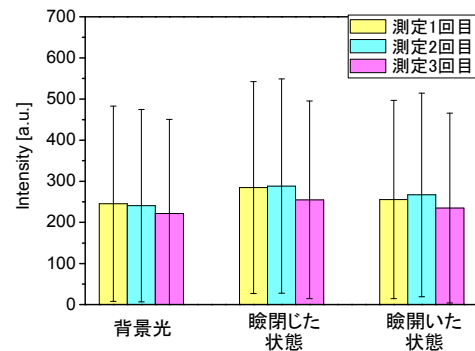


図9 被験者なし、瞼を閉じた状態、瞼を開いて通常に瞬きを行なう状態の3状態で撮影した場合の平均輝度値および標準偏差。

測した場合、瞼を閉じた状態で被験者を撮影した場合、および瞼を開いて通常に瞬きを行なう状態で撮影した場合の3つの輝度値をそれぞれ3回測定した。その結果を図 9 に示す。背景ノイズの輝度値に比べ、瞼を閉じた状態では明らかな輝度値の平均値に違いが見られた。これは、瞼表面の皮膚からのバイオフィトンが検出されていることを示唆している。一方、瞼を開いて通常に瞬きをしている状態の輝度値は、背景ノイズに比べるとわずかに輝度値が高い傾向にあった。通常に瞬きを行う状態では瞼の皮膚からのバイオフィトンと眼底からのバイオフィトンが積算された状態で検出されることになる。したがって、今回の結果において眼底からのバイオフィトンの検出に成功したと断言することは難しいが、本研究において初めて眼底網膜からのバイオフィトン検出の可能性が見出された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計7件)

- ① 吉永幸靖, 中村大輔, 岡田龍雄, 江内田寛, 石橋達朗, 2波長分光分析を用いた網膜血管酸素飽和度計測の評価, 電子情報通信学会技術研究報告, 査読無, 111, 441 (2011)
- ② S. Shibasato, K. Tatsuguchi, D. Nakamura, T. Okada, Y. Yoshinaga, H. Enaida, T. Ishibashi, Spectroscopic Imaging of Oxygen Saturation Level in Retinal Capillary Vessels Area, 査読無, Proc. CLEO Pacific Rim 2011, 4250-CT-6 (2011)
- ③ 江内田寛, 石橋達朗, 糖尿病網膜症の病態と最近の治療, 査読有, Diabetes Journal., 39, 115 (2011)

〔学会発表〕(計18件)

- ① S. Shibasato, K. Tatsuguchi, D. Nakamura, T. Okada, Y. Yoshinaga, H. Enaida, T. Ishibashi, Spectroscopic Imaging of Oxygen Saturation Level in Retinal Capillary Vessels Area, CLEO Pacific Rim 2011, 2011.8.31, Sydney, Australia
- ② 中村大輔, 竜口賢一, 柴里秀平, 吉永幸靖, 江内田寛, 岡田龍雄, 石橋達朗, 分光イメージングを利用した眼底機能計測, レーザー学会学術講演会, 2011.1.9, 電気通信大学(東京都)
- ③ K. Tatsuguchi, S. Shibasato, D. Nakamura, T. Okada, Y. Yoshinaga, H. Enaida, T. Ishibashi, Spectroscopic imaging of oxygen saturation level in retinal capillary vessels area, IEEE Region 10 Conference 2010, 2010.11.24, 国際会議場(福岡県)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称: 血管情報分析装置及び生活習慣病因子検査方法

発明者: 砂田向壺, 石橋達朗, 源田悦夫, 竹田仰, 岡田龍雄, 吉永幸靖, 江内田寛, 館真利

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 2006-332705

出願年月日: 2006年12月11日

国内外の別: 国内

名称: 異方性ノイズを除去するためのプログラムと異方性ノイズ除去方法

発明者: 吉永幸靖, 砂田向壺, 石橋達朗, 源田悦

夫, 竹田仰, 岡田龍雄, 江内田寛, 館真利

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 2006-332706

出願年月日: 2006年12月11日

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 大輔 (NAKAMURA DAISUKE)

九州大学・システム情報科学研究院・准教授

研究者番号: 40444864

(2) 研究分担者

吉永 幸靖 (YOSHINAGA YUKIYASU)

九州大学・芸術工学研究院・助教

研究者番号: 60304854

江内田 寛 (ENAI DA HIROSHI)

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号: 00363333

(3) 連携研究者

岡田 龍雄 (OKADA TATSUO)

九州大学・システム情報科学研究院・教授

研究者番号: 90127994

石橋 達朗 (ISHIBASHI TATSURO)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号: 30150428