

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500402

研究課題名（和文） 舌下微小循環の分光イメージング

研究課題名（英文） Spectroscopic imaging of sublingual microcirculation

研究代表者

羽石 秀昭（HANEISHI HIDEAKI）

千葉大学・フロンティアメディカル工学研究開発センター・教授

研究者番号：20228521

研究成果の概要（和文）：本研究ではチップ型の 3 色 LED と小型 CCD カメラを組み合わせた小型の微小循環撮影装置を試作した。まず、この装置を用いてブタ小腸微小循環の撮影を行ったところ、血管構造と血流を確認できた。次に、牛血を用いた物理ファントムを作成し、試作装置を用いて酸素飽和度分布を推定した。概ねよい推定結果が得られたものの、さらに精度を高めるために推定のモデル式の修正が必要であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）： We have made a trial model composed of three-color light emitting diodes (LED) and a miniature charge-coupled device camera for microcirculation imaging. We first confirmed that it clearly captured the microcirculation of pig intestine. We then made a phantom with bovine blood and estimated the oxygen saturation (OS) by Beer-Lambert's law from images under blue LED or green LED. We could estimate OS in some degree and also noticed that modification of the estimation model was needed for better estimation accuracy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：微小循環・LED・撮影装置・酸素飽和度・ランバート・ベール則

## 1. 研究開始当初の背景

人間の身体には、血管がすみずみまで張り巡らされており、血液が身体中を巡ることによって、細胞に必要な酸素と栄養素を送り届けている。血液は心臓を出発し、動脈を通り毛細血管で酸素や栄養素を各細胞へ送り届ける。そして、二酸化炭素や老廃物を受け取って静脈を通り心臓へ戻る。微小循環は、100  $\mu\text{m}$  以下の血管径をもつ微小な血管系をい

う。毛細血管はこの領域に含まれ、前述のように人が生きる上で重要な物質交換の役割を果たしている。このため微小循環に障害が発生すると、臓器機能に直接影響し様々な病気を引き起こす。例えば、糖尿病、高血圧症、ショックなどの循環器系の疾患、更年期障害、肥満症などがある。これまでの研究によって、微小循環機能の障害の要因は、高乳酸濃度、乱れた酸・塩基平衡、胃又は口の高二酸化炭

素濃度であると解明されている。臨床においては、血流の乱れによって生じるショック症状などに対し薬物治療が行われ、血流の乱れの改善、ひいては物質交換機能の改善が図られる。このとき治療効果を確認することが重要となる。したがって微小循環のモニタリング技術が望まれている。

近年この目的のために、非侵襲的に微小循環を撮影する装置が提案されている。その代表として Ince らにより提案された舌下微小循環モニタリングのための Sidestream Dark Field(SDF)撮影法が挙げられる。SDF 撮影法では血管構造、血流変化、赤血球の流れが観察でき、SDF 画像から血管の長さ、毛細血管の密度分布、赤血球速度などの定量的な測定法が提案されている。しかし、画像からは直接血液中の酸素濃度を測定、解析することができない。このため微小循環の機能評価をする際、現在の SDF 撮影法では不十分な点があると考えられる。

本研究ではまず独自に装置の試作を行い、血管と血流を確認できる形態画像を取得する。さらに微小循環画像の高度な解析から、臨床的により有用な情報を獲得することを目的に、SDF 撮影法を改良し画像から酸素飽和度を推定することを目指す。

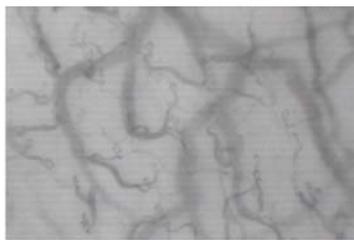


図1 舌下微小循環画像

## 2. 研究の目的

舌下の微小循環のイメージングは救急治療のモニタリングとして注目を集めているが、もっとも重要となる酸素飽和度の画像化には至らず、血流状態のモニタリングにとどまっている。

申請者は光源の分光特性を最適に設計・試作し、これまでに作成した撮影光学系と組み合わせ、微小循環に対するマルチバンド撮影装置を試作する。またこれを用いて、血流に加えて細動静脈や毛細血管における分光濃度の推定値を画像化する。さらに、物理ファントムを土台とした実験を通して、定量的の高いイメージングを目指し、酸素飽和度を算出しその精度を検証する。

## 3. 研究の方法

全体としては、まず、現有の舌下撮影光学系をベースに、マルチバンド撮影装置を試作する。同時に、ファントム実験により、マルチバンド画像から微小循環の分光濃度

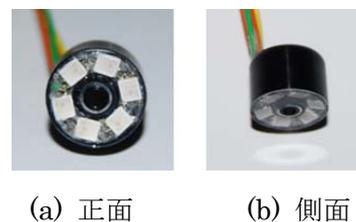
を推定する方法を確立し精度検証を行う。さらに動物実験により、実対象に対する適用可能性を確認する。これらにおいて成功をおさめたのち、臨床試験を実施する。

装置の試作（一部）と改良は研究室院生や設計試作工房室職員らと、動物実験は当センターの林らと、臨床試験では集中治療部の織田らと、それぞれ連携して実施する。

## 4. 研究成果

### ① チップ型 LED 照明装置

SDF 撮影法を実現させるために、小型 CCD カメラのサイズに合わせた筒状のプロブを設計、試作した。異なる LED を用いた照明光を利用した SDF 撮影装置を設計・試作し、LED 色高速切り替えにより、同じ血管領域の分光画像を取得することとした。



(a) 正面

(b) 側面



(a) 青

(d) 緑

(c) 赤

図2(a) チップ型 LED 照明発光色

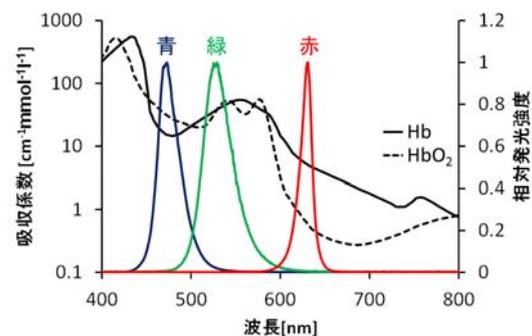


図2(b) ヘモグロビンの吸収係数とチップ型 LED 照明装置の相対発光強度

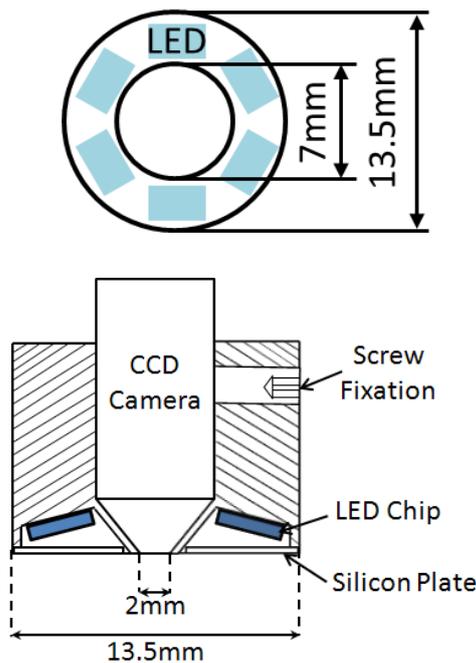


図3 チップ型 LED 照明装置模式図

3色発光のチップ型 LED を用いた装置の外観図とヘモグロビンの吸収係数とチップ型 LED 照明装置の相対発光強度図を図2に示す。照明装置に使用している LED は ROHM 社製の SML\_V565 を使用し、1つの LED チップで青・緑・赤の3色で発光し、それぞれのピーク波長は 470nm, 527nm, 624nm である。照明装置は LED を円形に6個配置した。模式図を図3に示す。LED の発光は LED 制御装置を用い発光強度、発光色を変化することができる。プローブの先端にシリコン製の透明板を装着し、カメラ側を保護した。LED は指向特性を持つため、より中心に光を集めるよう、プローブの先端にリング状に約  $16^\circ$  の角度をつけ、中心向きに配置した。これらの工夫により撮影に十分な光量を実現し、かつ、チップ LED を使用することで、プローブ先端リング径を 13.5mm まで細径化した。プローブ先端カメラ撮影領域の開口部径を 2mm にして組織表面からの反射光の影響を抑制し、組織粘膜下の血管や細胞で散乱した光だけをより多く CCD カメラに取得することができる。

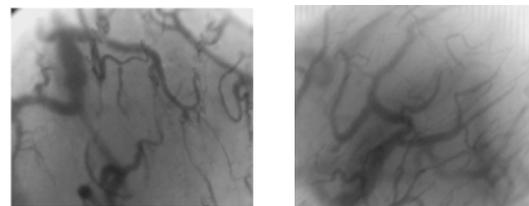
## ② ブタ小腸微小循環撮影

酸素飽和度の推定を行うためにはブタなどの動物を用いて実験を行う必要がある。そのため、ブタの小腸の微小循環の撮影を行った。撮影手順は、ブタの腹部を開腹し小腸を体外に取り出し固定、固定した小腸の微小循環を撮影した。撮影対象であるブタ小腸を図4に示す。



図4 ブタ小腸

LED 照明装置を用いて各色での発光で撮影した結果を図5に示す。図5(a)は blue 照明で取得した画像、図5(b)は green 照明で取得した画像、図5(c)は red 照明で取得した画像を示す。青色画像、緑色画像では血管構造・血流変化を観察することができた。しかし、赤色画像においては血管構造を確認することができなかった。



(a) 青色画像

(b) 緑色画像



(c) 赤色画像

図5 チップ型 LED 照明装置での取得画像

## ③ 透過型酸素飽和度推定実験

透過光モデルを用いた酸素飽和度を推定する実験を行った。実験環境はチップ型 LED 照明装置と撮影対象、カメラを直線状に配置し固定(図6)した状態で撮影を行った。撮影対象にはウシの血液を用い、ガラス製のシャーレに入れて撮影を行った。シャーレに血液を入れて撮影を行い、取得した画像の画素値を透過光強度とした。撮影対象の光路長はシャーレに入れた液面の高さとし、液面の高さを 1, 2, 3mm と変え、青色照明、緑色照明において撮影した。入射光強度については、シャーレに水を入れ血液と同様に液面の高さを 1, 2, 3mm と変え、青色照明、緑色照明で撮影した画像の画素値を用いた。撮影した画像にはガンマ特性の補正を行ってから画素値を取得した。

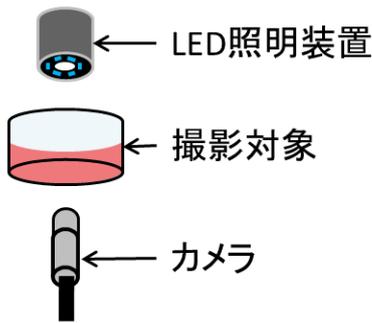


図 6 透過型実験撮影環境

酸素飽和度推定実験にはウシの血液を使用した。この血液の酸素飽和度を変える方法と、実際の酸素飽和度の測定方法について述べる。酸素飽和度推定実験を行うためには様々な酸素飽和度を持つ血液が必要である。そのために牛血の酸素飽和度を変化させて撮影を行った。牛血の酸素飽和度を上げるには酸素ガスを用いた。牛血に対して酸素ガスを吹き込むことで、牛血の酸素飽和度を上げることができた。また、牛血の酸素飽和度を下げるには、亜ニチオン酸ナトリウムという還元剤を加えることで牛血の酸素飽和度を下げた。作製した血液の酸素飽和度は、血液分析器 i-STAT 300F(図 7)を用いて測定している。この血液分析器 i-STAT 300Fを用いて測定した酸素飽和度を正解値として使うことができる。この実験で用いた牛血の酸素飽和度は、0%、29%、33%、40%、62%の 5 種類である。



図 7 血液分析器 i-STAT 300F

透過光を用いた酸素飽和度推定結果は図 8 となり、正解値が大きくなるにしたがって推定値も大きくなり、推定値が正解値に相関を持つ結果となった。各酸素飽和度での推定結果を比較すると、酸素飽和度 0%で誤差が最も大きくなっている。光路長については、光路長が長くなるにしたがって誤差が大きくなっていることが分かる。光路長が長くなるにしたがって推定値の誤差が大きくなる理由としては、光の散乱による影響が考えられる。

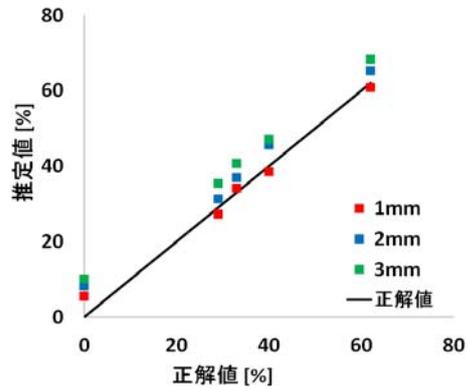
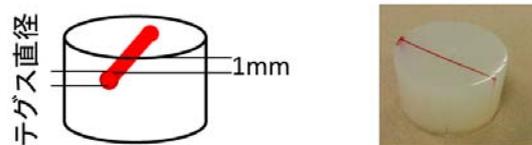


図 8 酸素飽和度推定結果

#### ④ 血管模擬ファントム実験

撮影した微小循環画像から酸素飽和度推定を行う手法の検討として、微小循環を模擬したファントムを用いて酸素飽和度推定法の検討を行った。

ファントムは寒天をベースに作製した。寒天を溶かした溶液をファントム型に流し込み、冷蔵庫で冷やし固める。ファントム型にはファントム型の底から 1mm の深さにあらかじめテグスを通し固定しておく。ファントムが固まった後、通しておいたテグスを抜き型から取り出す。このようにして作製したファントムにはテグスの太さと同じ太さの空洞ができ、この空洞に血液を入れることで血管を模擬したファントムが出来る。このため模擬血管の直径はテグスの直径と等しいと考える事ができる。寒天ファントムの空洞には注射器を用いて血液を入れる。このようにして作製した血管模擬ファントムの模式図を図 9 (a)に、血管模擬ファントムの画像を図 9 (b)に示す。



(a) 模式図 (b)ファントムの画像

図 9 血管模擬ファントム

作製した血管模擬ファントムを用いて撮影実験を行った。撮影実験は条件を変えて 3 つの実験を行った。実験 1 における条件はテグスの直径を 0.5mm とすることでファントムの血管径を 0.5mm とし、チップ型 LED 照明装置を用いて撮影を行った。撮影にはウシの血液を使用し、酸素飽和度は 0%、21%、44%、61%、89%、の 5 種類で実験を行った。次に、実験 2 における条件は、テグスの直径を 0.29mm と

することでファントムの血管径を 0.29mm とし、チップ型 LED 照明装置を用いて撮影を行った。撮影にはウシの血液を使用し、酸素飽和度は 0%, 21%, 61%, 96% の 4 種類で実験を行った。最後に、実験 3 における条件は、テグスは直径 0.128mm のものを使用しファントムの血管径を 0.128mm とし、チップ型 LED 照明装置で撮影を行った。撮影にはウシの血液を使用し、酸素飽和度は 0%, 73%, 80%, 88%, 98% の 5 種類で実験を行った。

それぞれのファントムで撮影した画像に対して、それぞれにおいて酸素飽和度の算出を行い、酸素飽和度を推定した結果を図 10 に示す。

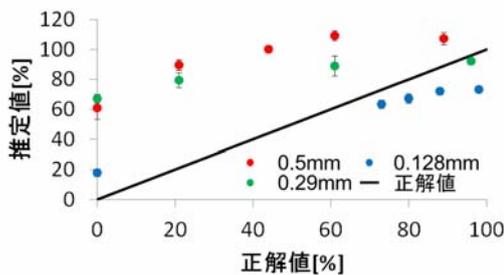


図 10 酸素飽和度推定結果

酸素飽和度の正解値が大きくなるにしたがって推定値も大きくなる結果となり、推定値と相関値の間に相関のある結果がえられた。しかし、推定値が正解値の誤差が大きくなる結果となった。また、血管径が小さくなるにしたがって推定値が小さくなる結果となった。

血管径が小さくなると推定値が小さくなる原因について考察すると、波長ごとの光路長の変化が関係していると考えられる。本論文で用いている酸素飽和度推定法では光路長を波長によらず一定の値として血管径を用いているが、実際に組織内を散乱しカメラに入る光は波長により散乱特性が異なり、光路長は一定ではないと考えられる。波長ごとの散乱特性と光路長の変化については、波長が長くなるにしたがって直進性が大きくなるため、波長が長くなるにしたがって光路長が長くなると考えられる。

波長ごとの光路長の変化を考慮しない場合と比較するために、すべての酸素飽和度推定値に対して近似曲線を求め、その近似曲線に対する R2 値を算出した。波長ごとの光路長の変化を考慮しない場合の酸素飽和度推定結果と近似曲線を図 11 に、波長ごとの光路長の変化を考慮した場合の酸素飽和度推定結果と近似曲線を図 12 に示す。この結果から、波長ごとの光路長の変化を考慮した場合に推定値が一つの曲線に近づくことが分かり、波長ごとの光路長の変化を考慮するこ

とにより、血管径による酸素飽和度推定値の差を少なくできると考えられる。

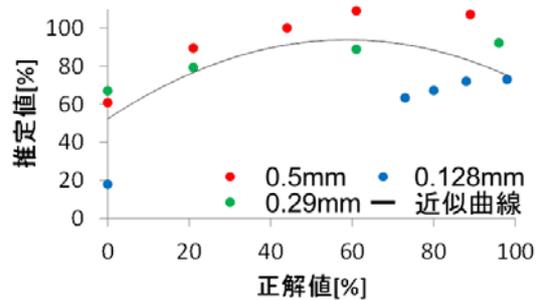


図 11 波長ごとの光路長の変化を考慮しない酸素飽和度推定結果

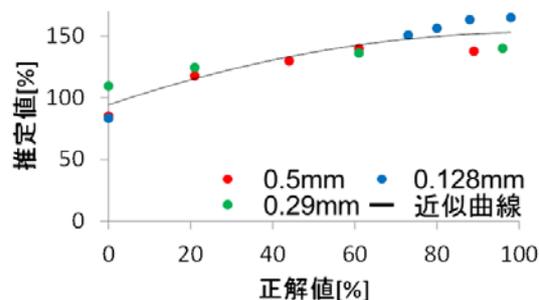


図 12 波長ごとの光路長の変化を考慮した酸素飽和度推定結果

酸素飽和度推定では入射光強度を背景画素値と仮定して推定を行っているが、背景画素値は組織内での複雑な散乱や吸収の影響を受けており、入射光強度として扱うにはこれらの影響が無視できほど大きく、酸素飽和度推定結果の線形性が保たれなかったと考えられる。そのため、今後酸素飽和度推定を行うにあたり、入射光強度は背景画素値に対して何らかの補正を行った値を用いる必要があると考えられる。

#### 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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 村井希名, 川平 洋, 羽石秀昭: 術中における臓器の血色明瞭化のための最適 LED 光源設計, 2012 年度 (一社) 日本写真学会秋季研究発表会, p. 434, 京都工芸繊維大学 60 周年記念館 (2012. 11. 30)
- ② 金子沙織, 李震光, 織田成人, 川平 洋, 羽石秀昭: 複数LEDを用いた微小循環のイメージングと分光解析, 2012 年度 (一

社) 日本写真学会秋季研究発表会, p. 433,  
京都工芸繊維大学 60 周年記念館  
(2012. 11. 30)

- ③ 李震光, 金子沙織, 織田成人, 川平洋,  
羽石秀昭: 複数色LEDと小型CCDカメラを  
用いた微小循環イメージング, 第 31 回  
日本医用画像工学会大会, OP6-4, JA北  
海道厚生連札幌厚生病院(2012. 8. 4-5)
- ④ Zhenguang Li, Saori Kaneko, Shigeto  
Oda, Hiroshi Kawahira, Hideaki  
Haneishi: Microcirculation imaging  
with multicolor LEDs and mini CCD  
camera, World Congress On Medical  
Physics and Biomedical Engineering,  
IFMBE Proceedings 39, TH. 02/06. 2P-11,  
pp. 1006-1009, Beijing, China (2012. 5.  
26-31)
- ⑤ Kina Murai, Hiroshi Kawahira, Hideaki  
Haneishi: Improving color appearance  
of organ in surgery by optimally  
designed LED illuminant, World  
Congress On Medical Physics and  
Biomedical Engineering, IFMBE  
Proceedings 39, TH. 02/06. 2P-10,  
pp. 1010-1013, Beijing, China (2012. 5.  
26-31)

[その他]

ホームページ等

<http://www.cfme.chiba-u.jp/~haneishi/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

羽石 秀昭 (HANEISHI HIDEAKI)

千葉大学・フロンティアメディカル工学研  
究開発センター・教授

研究者番号: 20228521

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

織田 成人 (ODA SHIGETO)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号: 90204205

林 秀樹 (HAYASHI HIDEKI)

千葉大学・フロンティアメディカル工学研  
究開発センター・教授

研究者番号: 20312960