

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350519

研究課題名(和文) 卵巣機能の実時間評価のためのドップラー光干渉断層画像化システムの開発

研究課題名(英文) Development of Doppler optical coherence tomography system for real-time analysis of ovary function

研究代表者

渡部 裕輝 (watanabe, yuuki)

山形大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：00333328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウス卵巣内の卵胞の発達段階を非侵襲解析するためのドップラー光干渉断層画像化法(OCT)の応用について検討した。卵巣内の卵母細胞におけるOCT信号の時間変化は周辺組織とは異なることを新たに発見した。これらの信号は、フレーム間の画像強度を用いるドップラーOCT技術によって強調することができ、卵巣内の卵母細胞の3次元分布を評価することができた。OCTは、卵巣内の卵胞や卵母細胞の発達の解析に有効であった。

研究成果の概要(英文)：The application of Doppler optical coherence tomography (OCT) was studied for noninvasive analysis of follicular development in mouse ovaries. We discovered time-varying OCT signals at the oocytes that differentiated them from surrounding tissues. These signals were clearly enhanced by interframe intensity-based Doppler OCT techniques. We could estimate the 3D distribution of oocytes in the ovary. The OCT technology was effective in analyzing the development of follicles and oocytes in ovaries.

研究分野：生体医光学

キーワード：OCT Doppler OCT GPU 卵巣機能 光干渉断層計

1. 研究開始当初の背景

光干渉断層画像化法(Optical Coherence Tomography: OCT)は、生体組織をよく透過する近赤外線の反射光を利用し、光干渉計の原理に基づいて、非侵襲下に組織の精密断層像を得ることができる最先端の医療撮影技術である。1990年に山形大学丹野教授らが特許を出願し、翌年に米国MITから初の論文発表後、わずか5年で眼科領域にて実用化され、その後世界中の眼科領域に急速に普及した。現在、眼科以外の新たな領域として血流の血管内イメージング、歯科応用などの研究開発が盛んになってきている。OCTは、超音波エコー装置の“光版”と見なすことができる。生体において比較的吸収や散乱が少ない近赤外光を照射すると、生体の内部構造に対応した3次元屈折率分布により、深さ方向にいたるところで反射・散乱光が発生する。光軸方向に参照ミラーの機械的走査により、表面から深さ1~2mmの範囲を10 μ m程度の精度で深さ方向強度分布として計測し、横方向にプローブ光を走査をすることによって2次元断層画像が得られる。

近年、参照ミラーの走査を必要としないフーリエドメイン(FD) OCTは、従来のOCT(タイムドメインOCT)に比べ、高速かつ高感度であることから、研究開発が活発になり、国内外の企業で製品化されている。計測技術の進歩により、短時間でのデータ取得が可能となり、画像のブレや被験者の負担は、大きく軽減された。しかし断層画像を得るには、取得データにフーリエ変換といった負荷の多い信号処理を行う必要があり、これらに多くの時間を要する。診断技術として、断層画像をリアルタイムに表示することは重要であり、今後は、より高速な計測技術の開発と共にその速度に見合ったソフトウェアの開発も必要である。

申請者らは、安価で並列処理が実現できるGPU(Graphics Processing Unit)によるOCT用のソフトウェア開発し、世界で初めて論文として発表した(JBO 14, 6(2009))。さらに現在は、新たなOCT応用として卵巣機能評価システムの開発(挑戦的萌芽研究・H23-24)を進めている。哺乳動物の卵巣には発達段階の異なる卵胞および卵母細胞が多数存在している。卵巣内の卵胞数は胎児期に最も多く個体の成長に伴って減少することから、卵胞の数は卵巣機能評価の重要な指標となる。現在、卵胞の解析は超音波画像診断により行われているが、超音波での空間分解能では100 μ m以下の前卵胞の観察は不可能である。これまで、卵巣に存在する卵胞を全て観察することは、組織学的に連続切片を観察する以外に方法は無かった。

図1は、先行研究において波長840nm帯OCTで測定した20.5日齢のマウスから抽出した卵

巣の測定結果である。画像化領域は横2.2mm、深さ1.5mm、空間分解能は横27.8 μ m、深さ7.8 μ mである。OCT画像である反射光強度画像では卵胞腔と卵母細胞が明確に識別できた。また測定を通して卵胞近辺では光強度が時間的に変化していることが観測され、画像測定後OCT画像の標準偏差を求めると卵胞腔がはっきりしない部分でも卵母細胞(大きさ約86 μ m)が明瞭に画像化できることがわかった。しかし、これ以上早い週齢のマウスでは、卵胞のサイズが小さく、現行のOCTでは識別は不可能であった。この原因は空間分解能が不足していることと卵母細胞抽出アルゴリズムの問題と推測される。本研究により高分解能OCTの開発と動きを利用した卵母細胞の抽出がリアルタイムに実現できれば、発生初期段階の卵胞から成熟した卵胞まで全ての段階の卵胞を画像化・定量化ができると考えられる。

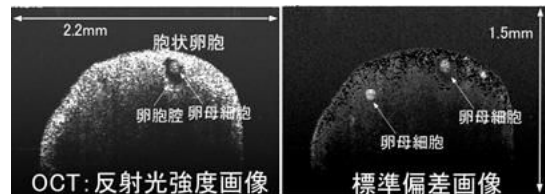


図1 (a)卵巣の OCT 画像 (b) 標準偏差画像

2. 研究の目的

本研究では、卵巣機能の新しい早期診断法として、卵巣に存在する初期発達段階の卵胞の形態変化を観察するため、空間分解能を有する高分解能・光干渉断層計(OCT)システムを開発する。さらに安価なGPU (Graphics Processing Unit)を用いた超高速画像処理を開発し、3次元的な形態情報だけでなく、生命を司る機能情報のリアルタイム表示を実現することによって、卵巣機能を「生きたままで」診断できる画期的な解析技術を開発する。

3. 研究の方法

少ないフレーム数で卵母細胞の小さい動きをコントラストよく可視化するため、correlation mapping (CM), intensity based Doppler variance (IBDV), speckle variance OCT (SV), squared differential image(SDI)のアルゴリズムについて比較検討した。また計算に使用する OCT 画像のモードは強度、振幅、対数を用いた。まずフローファントムを用いてOCT計測を行い、それぞれの計算結果についてSN比を評価した。次にGPUによるリアルタイム処理について検討した。最後に3次元OCT計測によりマウス卵巣のデータを取得し、卵母細胞の数と位置について評価した。

4. 研究成果

(1) OCT システムの開発

近赤外高速ラインカメラ(1024画素, 91.9k

ライン/秒)を検出器とする1310nm波長帯OCTシステムを開発した。分解能を評価した結果と横方向14 μ m、深さ方向8 μ mであった。

(2) 各アルゴリズムによる違いの評価

画像強度を用いるドップラーOCTの各アルゴリズムによる違いをフローファントムを用いて評価した。フローファントムはIntralipid10%液を流したシリコンチューブ(内径0.5mm、外径1.0mm)をシリコンゴムに固定したものをを使用した。OCT画像は横方向4mm(1024pixel)、深さ方向3.4mm(512pixel)で100フレーム撮像した。通常のOCT画像形式はlogスケール($10\log(\text{Re}^2 + \text{Im}^2)$)が用いられている。ここで、Re及びImは逆フーリエ変換した実部及び虚部である。しかし、logスケールではわずかな変化が現れにくかった。そこで強度($\text{Re}^2 + \text{Im}^2$)、振幅($\sqrt{\text{Re}^2 + \text{Im}^2}$)のOCT画像形式を計算に使用しコントラストに変化があるかも検討を行った。図2(a)に撮像したファントム概略図、図2(b)にlogスケールによるOCT画像をそれぞれ示す。

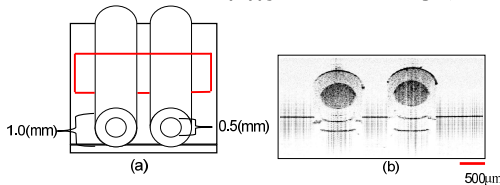


図2 (a)フローファントムの概略図。(b)対数表示したOCT画像 画像領域：4mm(横)×3.4mm(深さ)。

本研究でSVは4フレーム、CM、SDIは3×3のグリッドを用いて計算した。各演算方法を比較するにあたり、処理に使用する画素数を等しくするため、通常の演算法に加え、SVでは算出された画像の3×3領域で平均する処理を行い、CM、SDIでは算出された3枚を平均する処理を行った。CM、SDIでは強度、振幅、logスケールのどのOCT画像形式を用いても流体部分のみを検出することができたが、SVにおいては強度、振幅で流体が検出されなかった。そこでSVで強度、振幅を用いるときは平均値二乗で割った値を利用した。3つの演算法で算出された画像を図3に示す。SVの強度、振幅は上記の式変形を行って得られた画像を示している。

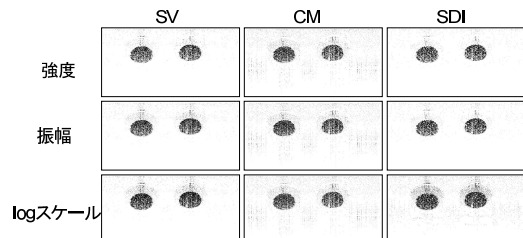


図3 3種類の処理法と3つの異なるOCT画像信号によるドップラーOCT画像。

図3の画像の評価方法として次式で求められるSN比を用いた。

$$SNR(I) = \frac{Fluid(I) - Solid(I)}{\sqrt{\sigma_{Fluid}^2 + \sigma_{Solid}^2}}$$

ここでFluid(I)はチューブの流体部分の平均値、Solid(I)は非流体部分の平均値、 σ_{Fluid}^2 、 σ_{Solid}^2 はそれぞれ流体部分の分散値、非流体部分の分散値である。それぞれSN比を計算した結果を表1に示す。

表1 異なるOCT画像モードにおける各アルゴリズムのSN比の比較。

SN比	SV	CM	SDI
強度	1.25	1.32	1.39
振幅	1.24	1.33	1.33
logスケール	1.12	1.31	0.89

これより強度を用いたSDIのSN比が1.39と一番高い結果となった。またSVでは強度を用いた場合が一番よく、CMではどれもほぼ等しいという結果が得られた。

またGPUによる処理を開発した結果、全てのアルゴリズムの計算時間は上記のOCTシステムのデータ取得時間よりも短い時間であり、リアルタイムに計算結果が表示できることが確認できた。

(3) 3次元OCTによる卵巣評価

次に3次元OCT計測によりマウス卵巣の評価を行った。3次元計測はこれまでのX方向のプロープ走査に加えて、Y方向では250箇所、Z方向では4フレームずつ合計1000フレーム取得した。図4(a)は構造OCT画像をZ方向へ平均した画像である。図4(b)はSDIによる演算で、卵母細胞を強調した画像である。46個の卵母細胞が確認できた。図4(c)は図4(a)と図4(b)を重ね合わせた画像である。

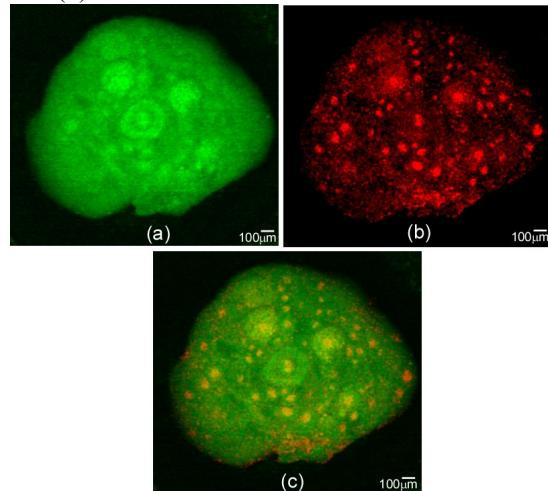


図4 卵巣の3次元OCT (a)平均画像、(b)差の二乗、(c)(a)と(b)の重ね合わせ

成熟した卵胞において，OCT 画像である反射光強度画像に卵胞腔の様子が明確に写し出され，これは発達段階評価に有効な指標であった．そこで OCT 画像にエッジ保存スムージングを加えた 2 値画像化，膨張収縮，論理演算の画像処理を行い，卵胞腔の検出を行った．ドップラー-OCT による卵母細胞強調画像と卵胞腔抽出画像を組み合わせれば，成熟した卵胞の位置が評価できるといえる．

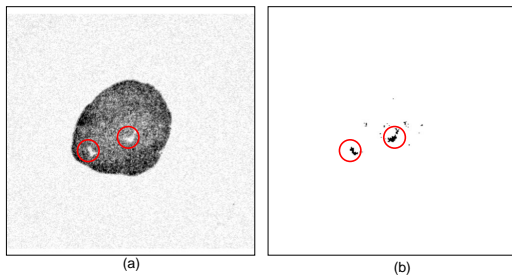


図 5 (a) マウス卵巣の *en face* OCT 画像
(b)(a)に対応する卵胞腔画像

(4) 今後の展望

現在は *ex vivo* の試料を用いて OCT 計測による卵巣の評価を行ったが，今後は *in vivo* 計測による評価が必要であり，それに向けたプローブ技術の開発が必要である．

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 1 件)

1. Yuuki Watanabe, Kei Takakura, Reiko Kurotani, and Hiroyuki Abe “Optical coherence tomography imaging for analysis of follicular development in ovarian tissue,” *Applied Optics* Vol. 54, Issue 19, pp. 6111-6115 (June 30 2015) (査読有) doi: 10.1364/AO.54.006111

[学会発表](計 10 件)

1. Yuuki Watanabe, Kei Takakura, Reiko Kurotani, Hiroyuki Abe, “Analysis of follicular development in ovary using optical coherence tomography,” JT3A.22 Optics in the Life Sciences Congress (12-15 April 2015) (バンクーバー・カナダ)
2. 太田 拓実, 渡部 裕輝, “GPU による OCT 画像のリアルタイム数値分散補償の検討”, 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014 7pP27 (5-7 November 2014) 筑波大学東京キャンパス文京校舎(東京都・文京区)

3. 鎌田 あやね, 渡部 裕輝, 高倉 啓 黒谷 玲子, 阿部 宏之 “GPU-OCT によるマウス卵巣機能のリアルタイム画像化システムの開発”, 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014 7pP28 (5-7 November 2014) 筑波大学東京キャンパス文京校舎(東京都・文京区)
4. 渡部 裕輝, 高倉 啓, 黒谷 玲子, 阿部 宏之 “OCT を用いたマウス卵巣内卵胞のリアルタイム計測”, 日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014 7aA2(5-7 November 2014) 筑波大学東京キャンパス文京校舎(東京都・文京区)
5. 高倉 啓, 黒谷 玲子, 渡部 裕輝, 阿部 宏之, “ドップラー光干渉断層画像化法を応用した高感度卵胞 3 次元イメージング”, 第 32 回日本受精着床学会総会・学術講演会 基-6 (1 August-31 July 2014) ハイアット リージェンシー 東京(東京都・新宿区)
6. 高倉 啓, 黒谷 玲子, 渡部 裕輝, 阿部 宏之, “ドップラー光干渉断層画像化技術を応用した 3 次元卵胞イメージングシステムの開発”, 第 55 回日本卵子学会 第 1 群 卵巣・卵子 O-2(17, 18 May 2014) 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
7. 沼沢 拓, 渡部 裕輝, “GPU-OCT による実時間モーション補正を行う OCT アンジオグラフィの開発”, 応用物理学会東北支部第 68 回学術講演会 5aA01 (5,6 December 2013) 山形大学(山形県・米沢市)
8. 阿部 宏之, 高倉 啓, 坂原 聖士, 黒谷 玲子, 渡部 裕輝, “光干渉断層画像化法を応用したマウス卵胞の非侵襲イメージングシステムの開発”, 第 31 回日本受精着床学会総会・学術講演会 基-5 (8, August 2013) 別府国際コンベンションセンター(大分県・別府市)
9. Yuuki Watanabe, Hiroshi Numazawa, and Dai Kamiyama, “GPU Accelerated Correlation Mapping OCT for Real-Time Imaging of Microvasculature,” WPJ-14, CLEO-PR & OECC/PS 2013 (30 June-4 July, 2013) 京都国際会議場(京都府・京都市)
10. 高倉 啓, 栢本 亮太, 黒谷 玲子, 渡部 裕輝, 阿部 宏之, “光干渉断層画像化法を応用したマウス卵巣内卵胞の非侵襲的観察”, 第 54 回日本哺乳動物卵子学会 P-21(25-26 May 2013) 学術総合センター

(東京都・千代田区)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

渡部 裕輝 (WATANABE, YUUKI)

山形大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：00333328