

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06105

研究課題名(和文) RGBカメラによる術中リアルタイム脳組織オキシメトリーイメージング装置の試作研究

研究課題名(英文) Study on intraoperative brain tissue oximetry imaging system using RGB camera

研究代表者

西舘 泉 (NISHIDATE, IZUMI)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70375319

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、デジタルCCDカラーカメラにより取得した脳表のRGB画像から脳組織血液微小循環の酸素化ヘモグロビン量と脱酸素化ヘモグロビン量を求め、総ヘモグロビン量と脳局所酸素飽和度の2次元分布を可視化する新しい方式を開発した。さらに脳組織の形態変化に関する光散乱パラメーターも同時に画像化する方式も考案した。吸入酸素濃度が異なる条件下のラットを用いた動物実験、脳機能障害モデル実験、およびヒト脳外科手術時における脳表画像から、脳組織酸素飽和度、血管反応性、組織の形態変化の評価が可能であることを確認した。これにより、脳神経外科手術で使用可能な非接触型の組織バイアビリティ診断法の可能性が得られた。

研究成果の概要(英文)：We investigated an imaging system to evaluate brain tissue viability in cerebral cortex using a digital red-green-blue camera integrated with surgical microscope. In the method, the RGB-values are converted into the tristimulus values in CIEXYZ color space which is a device-independent color system and compatible with the common RGB working spaces. Monte Carlo simulation for light transport in tissue is used to specify a relation among the tristimulus XYZ-values, the concentrations of oxygenated hemoglobin and deoxygenated hemoglobin, tissue oxygen saturation, and the light scattering parameter b . In vivo recordings of RGB images were performed for exposed brain of rats and human subjects. We confirmed the possibility of the method to evaluate the regional tissue oxygen saturation and brain tissue viability simultaneously, during brain surgery.

研究分野：生体医用光学

キーワード：脳局所酸素飽和度 脳機能イメージング 脳血流 脳組織障害 RGBカメラ ヘモグロビン 組織バイアビリティ

1. 研究開始当初の背景

脳出血や脳梗塞等の脳血管障害は寝たきりの生活になる病因の第一位であり、死亡病因の中でも多くを占めている高頻度な疾患である。その上、後遺症を残しやすく介護が必要になることが多いため、福祉的観点からも大きな課題を伴う疾患である。脳出血や脳梗塞等の手術では一時的な血流遮断を行う必要があり、その間、部分的に脳組織への血流が遮断されるが、脳は虚血や低酸素に対し極めて脆弱であり、脳組織や神経細胞に不可逆な変化が生じるリスクを伴う。安全、迅速で、患者負担の少ない治療のためには、血流遮断前、遮断中、遮断後の脳血流や組織への酸素供給を非接触のかつリアルタイムでモニタリングする機器の開発が必要とされている。

現在、体内血液循環による末梢への酸素供給の指標として、動脈血酸素飽和度の計測が行われている。動脈血酸素飽和度の非侵襲的計測法としては、指先に装着したプローブによる透過光型パルスオキシメーターが臨床において実用化されているが、脳局所の組織酸素飽和度を必ずしも反映しない点が指摘されている。一方で、反射分光法を用いた方式も検討されている。この場合、測定プローブを脳表面の任意のポイントへ適用することで、脳局所の酸素飽和度を評価できる可能性があり、複数の検出器を用いた空間分布計測への展開も期待されている。しかしながら、これまでに報告されている反射光検出型プローブによる空間分布計測法は接触型であり、多点同時計測や空間分解能の向上のためには原理上プローブの大型化を余儀なくされるなど、術中で使用するために解決すべき課題は多く、実用に供し得るレベルには至っていない。このように、脳外科手術中の脳局所酸素飽和度を広範囲にわたり非接触かつリアルタイムにイメージングする手段は国内外において未だ実現されていない。

2. 研究の目的

脳局所酸素飽和度は脳組織中の血中ヘモグロビンの何%が酸素と結合しているかを示す指標である。脳局所酸素飽和度は心肺機能や脳組織バイアビリティ（生存能）と密接に関係しており、脈拍・血圧と共に重要なバイタルサイン（生命兆候）として利用されている。脳局所酸素飽和度の空間的な情報がリアルタイムで簡便に把握できれば、脳神経外科分野において様々な応用が期待できる。本研究の目的は、脳局所酸素飽和度の2次元分布評価のために簡易な画像計測システムを試作・開発し、脳神経外科手術で使用可能な非接触型のリアルタイムブレインオキシメトリーイメージング装置を実現することである。

3. 研究の方法

(1) 実験装置の構築

光源、リングライトガイド、偏光板、カメラ

レンズ、RGB カラーCCD カメラ、光学部品固定装置および画像取り込み用 PC により、イメージング装置の構築を行った。

(2) 脳局所酸素飽和度計測アルゴリズムの確立

脳表の RGB 画像から脳組織中の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンを個別かつ連続的に計測し、脳局所酸素飽和度と脳組織酸素代謝率を推定する方式を開発した。まず、RGB の 3 応答量から XYZ 表色系を介して脳組織の酸素化ヘモグロビン量と脱酸素化ヘモグロビン量を推定する変換マトリクスを作成した。この作成には重回帰分析を利用した。次に酸素化ヘモグロビンおよび脱酸素化ヘモグロビン量の割合から脳局所酸素飽和度を推定する変換マトリクスを作成した。さらに、酸素化ヘモグロビンおよび脱酸素化ヘモグロビン量の和から総ヘモグロビン量を算出し、酸素化ヘモグロビン量と総ヘモグロビン量の比率から脳局所酸素飽和度を推定する方式を考案した。また、本研究では、脳局所酸素飽和度アルゴリズムを検討する過程で、脳表の RGB 値が脳組織の光散乱スペクトルの波長依存性に応じて変化することを見出した。脳組織の光散乱スペクトルの波長依存性は散乱スペクトルを波長の累乗関数として近似した際の指数部分に相当し、組織中の微細構造（細胞、核、細胞内小器官、細胞膜など）のサイズと関係することが知られており、脳組織の形態変化を評価する上で有用なパラメーターである。そこで、上記のアルゴリズムと同様のアプローチにより、RGB の 3 応答量から XYZ 表色系を介して脳組織の光散乱パラメーターを推定する方式も考案した。で血行動態に関するパラメーターに加え、脳組織の光散乱パラメーターこの処理を取得画像の 1 ピクセル毎に行うことで、脳局所酸素飽和度と光散乱パラメーターを画像として再構成する新しい方式を確立した。

(3) システム化

開発したアルゴリズムを基に脳局所酸素飽和度の 2 次元表示を行なうためのプロトタイプシステムを試作した。カメラコントロール、画像取得及び伝送は USB3.0 ケーブルを介してリアルタイムで行い、1 フレーム毎の処理による解析と結果の表示を行なうプログラムを作成した。光量と露光時間の最適化により、酸素化、脱酸素化、総ヘモグロビン量、脳局所酸素飽和度の時間分解能は最大で 15 フレーム/秒とした。

(4) ラットを用いた動物実験

麻酔下で頭部を切開し、頭骨を除去したラット露出脳を対象に酸素化ヘモグロビン量、脱酸素化ヘモグロビン量、総ヘモグロビン量、脳局所酸素飽和度の 2 次元計測実験を行った。標準酸素ガス、窒素ガス、二酸化炭素ガスの混合により吸入酸素濃度 FiO_2 に 0~95%

の範囲内で変化を与え、脳組織への酸素供給量をコントロールした。小動物用パルスオキシメーターで同時計測した結果と比較することで提案法の妥当性と生体での有用性を確認した。また、脳機能障害モデルとして、観察用の穴とは別に、前頭部分に小孔を空けて脳表を露出し、KCl(3mol/l)の投与を行うことでイメージング領域外の離れたポイントで大脳拡張性脱分極 (Cortical spreading depolarization、CSD) を誘発した。

(5) ヒトに対する評価試験

脳外科手術中のヒト脳組織を対象に脳局所酸素飽和度の2次元計測の評価試験を行った。脳動脈瘤手術の際に、本研究で考案したアルゴリズムを用いて画像計測の動作確認を行った。

4. 研究成果

Fig. 1 にラットの吸入酸素濃度 $FiO_2\%$ に変化を与える実験で得られたRGB原画像と提案法により求めた C_{HbO} 、 C_{HbR} 、 C_{HbT} 、 StO_2 および光散乱パラメーター b の空間分布の一例を示す。原画像からは判別困難な脳表の血行動態変化と散乱パラメーターが可視化できていることが分かる。高酸素状態 ($FiO_2=95\%$) から無酸素状態 ($FiO_2=0\%$) に至るまでの過程で推定された C_{HbO} 、 C_{HbR} 、 C_{HbT} および光散乱パラメーター b の画像内に設定した関心領域 (Region of interest, ROI) 平均値の時間変化の一例を Fig. 2 に示す。吸入酸素濃度 FiO_2 の減少に伴い、 C_{HbO} は減少し、 C_{HbR} は増加を示していることが分かる。一方、総ヘモグロビン濃度 C_{HbT} は低酸素状態から無酸素状態にかけて、徐々に増加しているのが分かる。これは、低酸素状態を補償するための心拍数の上昇に伴う血液量の増加を反映していると考えられる。光散乱パラメーター b は呼吸停止後に急激に減少し、その後さらに緩やかに減少している。この b の時間変化のパターンは、呼吸停止後の脳組織の細胞外局所場電位 (Local field potential, LFP) において観察される無酸素性脱分極 (Anoxic depolarization, AD) と傾向の一致が見られることから、光散乱パラメーター b は脳組織のバイアビリティ低下に伴う組織形態変化を反映している可能性がある。

Fig. 3 に組織酸素飽和度 StO_2 のROI平均値とパルスオキシメーターで測定した動脈血酸素飽和度 SaO_2 の時間変化の比較を示す。 StO_2 は SaO_2 と比較すると低い値を示している。これは、 SaO_2 が動脈血のみの情報を反映しているのに対し、 StO_2 は動脈血と静脈血の両方の情報を含むためである。 StO_2 は FiO_2 の低下に伴い、段階的に減少しているのが分かる。 StO_2 の減少は FiO_2 の減少により血中の酸素濃度が低下し、組織へと供給される酸素が減少したことを表している。

Fig. 4 にラット大脳皮質のRGB画像と提案法により得られた C_{HbT} の時間変化から抽出し

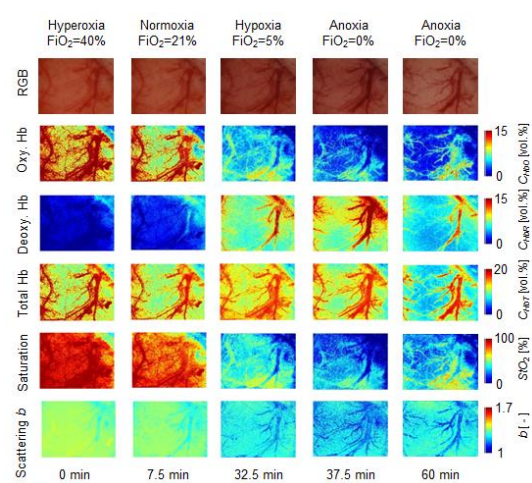


Fig. 1 異なる吸入酸素濃度 $FiO_2\%$ 下における *in vivo* ラット脳 RGB 原画像、 C_{HbO} 画像、 C_{HbR} 画像、 C_{HbT} 画像、 StO_2 画像および光散乱パラメーター b 画像

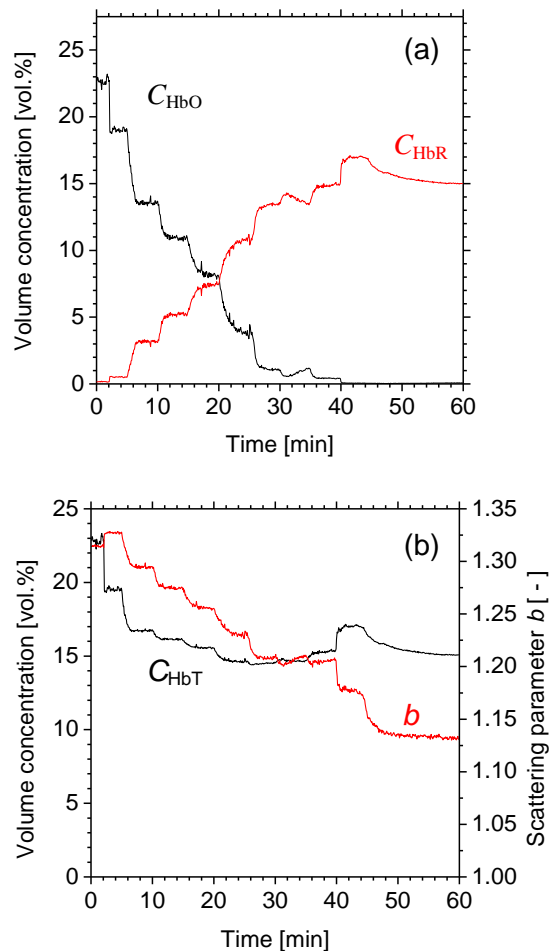


Fig. 2 異なる吸入酸素濃度 $FiO_2\%$ 下における *in vivo* ラット脳 C_{HbO} 画像、 C_{HbR} 画像、 C_{HbT} 画像および光散乱パラメーター b 画像に設定した関心領域 (Region of interest, ROI) 平均値の時間変化の一例

た低周波振動成分のパワー値の空間分布の一例を示す。Fig. 4(a)のRGB画像から、大脳皮質における細動脈（明るい赤の領域）、細静脈（暗赤色の領域）および実質のそれぞれの分布が分かる。Fig. 4(b)、(c)および(d)の画像はそれぞれCSD発生前、CSD発生時、CSD後の0.1Hzのパワー値の画像である。CSD発生前の画像内において、パワー値の違いが確認できる。CSD発生時では発生前よりも画像全体にわたりパワー値の増加が確認できる。これは、CSDの派生に伴い生じる一過性の血流上昇を反映していると考えられる。一方で、CSD後では、CSD発生前の平常時と比べ、画像全体にわたりパワー値が減少しており、特に画像の右下の領域でその減少が顕著である。

Fig. 5に、同じサンプルから得られた、RGB画像とCSD発生前、発生時および発生後の組織酸素飽和度 StO_2 画像を示す。CSD発生時には、 StO_2 は増加を示しているが、CSD後には減少しているのが分かる。また、CSD後の StO_2 の減少が顕著な領域は、Fig. 4(d)で示したパワー値の減少領域と一致している。0.1Hzの低周波血管運動は血管反応性と相関し、CSD後に減少することが報告されている。従って、本研究で得られた結果は、脳機能障害に伴う血管反応性の減弱を反映している可能性がある。

本方法のヒトに対する有用性を確認するために、脳動脈瘤手術中のヒト脳組織を対象にカラー画像の取得と StO_2 画像の算出を行った。術中の StO_2 画像では、動脈領域および脳実質領域の StO_2 は静脈領域よりも高値を示し、90~100%の範囲であることを確認した。 StO_2 画像により脳表を走行する動脈、静脈が明確に区別できることが確認できた。また、一時的な血管の遮断と解除に対し、 StO_2 の変化が確認された。

以上により、RGBカメラを基盤とした脳局所酸素飽和度イメージングが実証され、脳神経外科手術で使用可能な非接触型の組織バイアビリティ診断法の可能性が得られた。本研究で開発した方式はデジタルRGBカメラから得られる動画の色彩値R、G、Bから画素毎の酸素化ヘモグロビン量、脱酸素化ヘモグロビン量、光散乱パラメーターを推定・可視化する。この際、ヘモグロビンの吸光スペクトルと脳組織による光散乱特性に着目し、光多重散乱理論と分光測色法に基づき分光反射率を解析することで、脳組織の吸光特性と光散乱特性を分離計測するという点に特色がある。また、脳表のRGB動画から得られる総ヘモグロビン量の時間変化を基に微小循環の自発的低周波振動を計測・可視化する事も可能である。

本方式により、脳組織の広範囲な局所酸素飽和度、組織形態変化、微小循環系の血管運動を簡易なRGBカメラにより観察することが可能になると予想され、既存の手術用顕微鏡システムへの組み込みも容易であることが

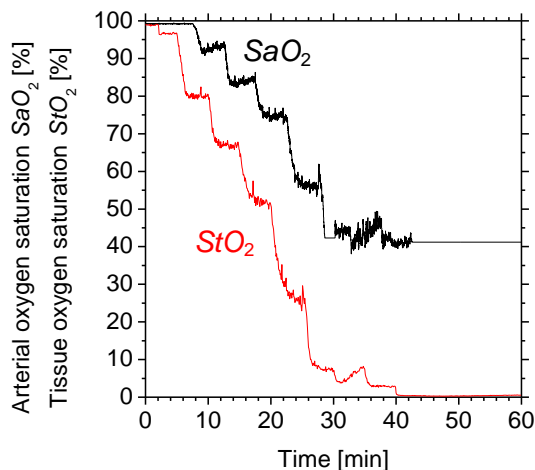


Fig. 3 異なる酸素濃度 FiO_2 下における *in vivo* ラット脳での StO_2 画像のROI平均値とパルスオキシメーターで測定した動脈血酸素飽和度 SaO_2 の時間変化の比較の一例

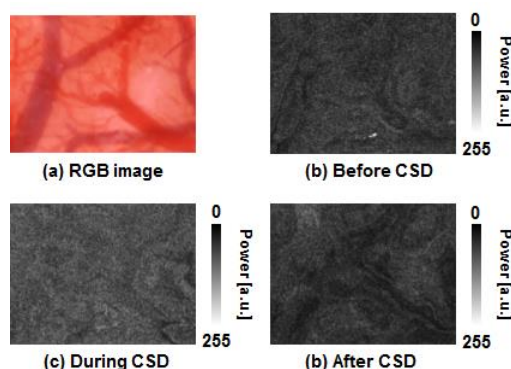


Fig. 4 ラット大脳皮質のRGB画像と提案法により得られた C_{HbT} の時間変化から抽出した低周波振動成分のパワー値の空間分布の一例

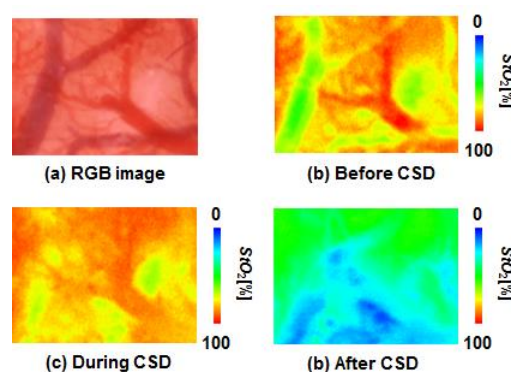


Fig. 5 ラット大脳皮質のRGB画像と提案法により得られた StO_2 の空間分布の一例

ら、脳神経外科領域の手術成績の向上において大きな貢献が期待できる。また、脳神経外科手術中における酸素モニターとしての利用のみならず、手術支援ロボットへの搭載や災害・救急医療における迅速な診断・重症度判別（トリアージ）での活用も期待できる。ま

た、近年の社会的問題である認知症の原因究明や脳機能障害の診断において大きな寄与が期待できる。

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5件)

①A. Mustari, T. Kanie, S. Kawauchi, S. Sato, M. Sato, Y. Kokubo, and I. Nishidate, “In vivo estimation of optical properties of rat liver using single-reflectance fiber probe during changing fraction of inspired oxygen,” *International Journal of Molecular Science*, 査読有, Volume 19, No. 2, 2018年, 491-1-491-15, DOI:10.3390/ijms19020491

②A. Mustari, N. Nakamura, S. Kawauchi, S. Sato, M. Sato, and I. Nishidate, “RGB camera-based imaging of cerebral tissue oxygen saturation, hemoglobin concentration, and hemodynamic spontaneous low-frequency oscillations in rat brain following induction of cortical spreading depression,” *Biomedical Optics Express*, 査読有, Vol. 9, No. 3, 2018年, 933-951, DOI:10.1364/BOE.9.000933

③I. Nishidate, A. Mustari, S. Kawauchi, S. Sato, and M. Sato, “Simultaneous evaluation of cerebral hemodynamics and light scattering properties of the in vivo rat brain using multispectral diffuse reflectance imaging,” *Journal of Visualized Experiments*, 査読有, Vol.123, 2017年, e55399, DOI:10.3791/55399

④I. Nishidate, T. Ishizuka, A. Mustari, K. Yoshida, S. Kawauchi, S. Sato, and M. Sato, “Evaluation of Cerebral Hemodynamics and Tissue Morphology of In Vivo Rat Brain Using Spectral Diffuse Reflectance Imaging,” *Applied Spectroscopy*, 査読有, Vol. 71, No. 5, 2017年, 866-878, DOI:10.1177/0003702816657569

⑤S. Akter, S. Kawauchi, S. Sato, S. Aosasa, J. Yamamoto, and I. Nishidate, “In vivo imaging of hepatic hemodynamics and light scattering property during ischemia-reperfusion in rats based on spectrophotometry,” *Biomedical Optics Express*, 査読有, Vol. 8, No. 2, 2017年, 974-992, DOI:10.1364/BOE.8.000974

[学会発表] (計29件)

① I. Nishidate, T. Kanie, A. Mustari, S. Kawauchi, S. Sato, M. Sato, and Y. Kokubo, “In vivo imaging of cerebral hemodynamics and tissue scattering in rat brain using a surgical microscope camera system,” *Photonics West BiOS 2018*, The Moscone Center, San Francisco, USA, 2018.

②蟹江卓矢, Mustari Afrina, 西舘泉, 川内聡子, 佐藤俊一, 佐藤学, 小久保安昭, “手術用顕微鏡一体型脳組織バイアビリティイメージングシステムのための基礎的研究,” *日本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2017*, 筑波大学文京校舎, 東京, 2017年.

③I. Nishidate, “Functional imaging of in vivo biological tissues with a digital RGB camera,” CLEO-PR, OECC&PGC2017 (Photonics 2017), Sands Expo and Conference Centre, Singapore, 2017.

④A. Mustari, N. Nakamura, I. Nishidate, S. Kawauchi, S. Sato, M. Sato, Y. Kokubo “In vivo imaging of Spontaneous Low-frequency Oscillations in Cerebral hemodynamics with a digital red-green-blue Camera”, *Biomedical Imaging and Sensing Conference (BISC' 17)*, 18-21 April, 2017, Pacifico Yokohama, Japan, 2017.

[その他]

ホームページ等

<http://web.tuat.ac.jp/~bmp-mpg/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西舘 泉 (NISHIDATE, Izumi)

東京農工大学・大学院工学研究院・准教授
研究者番号：70375319

(2) 研究分担者

小久保 安昭 (KOKUBO, Yasuaki)

山形大学・医学部附属病院手術部・准教授
研究者番号：40343074

(3) 連携研究者

該当なし