

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：74314

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462603

研究課題名(和文)光コヒーレンストモグラフィを用いた頭頸部領域における光学的組織診断法の確立

研究課題名(英文)Histopathological evaluation using optical coherence tomography in the head and neck region

研究代表者

坂本 達則 (SAKAMOTO, Tatsunori)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 第5研究部・研究員

研究者番号：60425626

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)：OCT装置から出力される生データから画像処理可能なビットマップデータを抽出するプログラムを作成し、ここから、組織内部の2つの構造体がなす角度を三次元的計測するプログラムを作成・改良した。OCT内視鏡の光学系を作成した。動物およびヒトの内耳でOCT画像取得および計測が可能であることを示した。正常および嗅上皮障害モデル動物を用いて、嗅上皮の障害の程度を定量的に評価することができることを示した。

研究成果の概要(英文)：The filter program which extract a series of bitmap images from a native output data of the OCT machine was developed. The program for the evaluation of the angle in the volumetric OCT data was developed and improved. Endoscopic OCT system was developed. Inner ear images of rodent and human inner was obtained and used for the validation of those programs. Quantitative evaluation of olfactory epithelium in normal and olfactory damaged rodents was possible using OCT.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：画像診断 光コヒーレンストモグラフィ 嗅覚障害 内耳

1. 研究開始当初の背景

組織診断は現代医学における意思決定のために必須の情報である。例えば、悪性腫瘍に対する手術では術中迅速病理診断を用いて腫瘍の存在範囲を判定し、根治切除と嚥下・発生などの機能維持のための最小限の切除の両立を目指す必要がある。術中迅速病理診断には、組織の採取を伴うことと即時解答が得られないという問題点がある。嗅覚障害で嗅上皮障害と嗅神経障害を区別する方法は生検しかないが、生検による機能障害や頭蓋底損傷のリスクを考えると通常はこれを行わないため診断不能である。聴覚障害ではその病態として内耳有毛細胞・ラセン神経節・血管条・水代謝など様々な部位の障害が病態として提唱されているが、内耳内へのアクセスは機能障害を起こすため、生きている状態でこれを鑑別することは困難である。これらの問題は、非侵襲的な組織診断法が提供されることで解決する。

光コヒーレンストモグラフィー (OCT) は、近赤外光がヘモグロビンのような生体色素や水に吸収されにくく、生体組織の中を透過することを利用して、超音波エコーに似たメカニズムで非侵襲的に断層画像を取得する手法である。超音波エコーの解像度が mm 単位であることと比べて、OCT では数 μm と圧倒的に解像度が高いことが特徴である。また、CT のような電離放射線ではなく光を用いるため、組織障害を起こさず安全性が高い。眼科領域では網膜や角膜の *in vivo* 断層画像はすでに標準的な検査になっている。また、心臓カテーテル検査の時に OCT で血管壁の評価をしたり (McCabe JM, Croce KJ. Optical coherence tomography. *Circulation*. 2012)、皮膚付属器の検査や歯牙の欠損・補綴材料の充填状況の評価をしたりと、広く用いられるようになってきている。

耳科領域では、げっ歯類の摘出内耳を OCT で観察可能であるという報告に始まり (Wong et al., Imaging the internal structure of the rat cochlea using optical coherence tomography at 0.827 microm and 1.3 microm., *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004)、最近では、我々が、マウスの内リンパ水腫と内耳奇形を生きた状態で描出可能であり、少なくとも1週間経時的に画像取得できることを示した。(次頁図 A, B; Tona et al., *In vivo imaging of mouse cochlea by optical coherence tomography.*, *Otol Neurotol*, in press)。また、既知の口腔咽頭の腫瘍の描出も試みられており (Hamdoon et al., Structural validation of oral mucosal tissue using optical coherence tomography. *Head Neck Oncol*. 2012)、我々も粘膜下に広がる既知の食道癌の組織を OCT で描出可能であることを確認している。

病理診断に関連して、OCT は組織の形を詳細に評価できるが、個々の細胞を同定することは困難で、細胞の配列や細胞内の構造、核の構築などを判断材料とする組織診断と同じ考え方で診断は困難である。しかし、画像を情報処理することで組織型を推定することができる可能性がある。例えば超音波エコーの画像から時間周波数解析 (Wavelet 変換) を用いて Mean Scatterer Diameter や Mean Scatterer Spacing などのパラメータを求めて組織を推定するという試みがある。(Aboofazeli et al. Tissue characterization using multiscale products of wavelet transform of ultrasound radio frequency echoes. 2008) また、血管内 OCT では散乱係数や減衰係数の値を求めて血管壁の石灰化・線維化・lipid poolなどを区別しようと試みられている (Xu et al.,

Characterization of atherosclerosis plaques by measuring both backscattering and attenuation coefficients in optical coherence tomography. J biomed optic. 2008)。これらの手法を導入することによって、一つ一つの細胞を描出するほどの解像度がなくても組織の状態を判定できる可能性がある。

2. 研究の目的

非侵襲的に取得した OCT 画像から、パラメータを読み取り、組織の情報を得るシステムを構築し、頭頸部領域での有用性を検証する。

[1] OCT データから情報を抽出し、表示する処理システムを構築する

[2] 動物モデルやヒトの標本を用いて有用性を検証する。

3. 研究の方法

装置のネイティブな出力データから加工画像を作成するためのフィルタープログラム、パラメータ抽出プログラムを作成する

OCT 装置 (Thorlabs, OSC1300SS) を頭頸部領域で使いやすいようにするための改良を加える。(ファントム実験)

生体モデル (動物・ヒト) での検証

4. 研究成果

プログラム

OCT 装置からは native な出力形式でデータが出力されるが、そのままでは画像処理に用いることは困難である。そのため、ビットマップデータ群に変換するプログラムを作成した。また、ビットマップデータ群から意義あるパラメータを抽出するプログラムの実例として、対象物の内部に存在する2つの面がなす角度を3次元的に測定するプログラム、そしてそのプログラムの半自動化と精度改善を行った。

OCT 装置の改良

我々が所有する OCT 装置は、顕微鏡に用いられているような対物レンズと同様の形態になっていて、このまま用いることで実験を行っていたが、頭頸部領域の臓器は開口部から体内に少し入った場所が大部分であり、これらの臓器で使用しやすい形態は内視鏡である。そのため、OCT 内視鏡の開発を平行して行った。赤外線透過性を持つ硬性内視鏡を設計・作成し、OCT 装置の光学系に一部修正を加えることで、OCT 断面像を取得することが可能になった。しかし、画質に制限があり、光学系を含めて改良の余地がある。この実験は主としてプラスチックファントムを用いて行ったが、適宜皮膚や摘出蝸牛、ヒト頭部標本等を用いた。

生体モデルでの検証

齧歯類の内耳の摘出標本を用いて、その内部の描出が可能であること、2つの構造物の面 (代表的には蝸牛側壁とライスネル膜) がなす角度を、連続的に取得した OCT 画像群を用いて三次元的に計測することができることを確認した。

ヒト頭部標本において、蝸牛を露出して蝸牛骨包を超えて内部を描出することはできなかったが、骨壁を菲薄化して内部を描出することは可能であった。また、外側半規管も同様に菲薄化によって描出可能であった。真珠腫によるこれらの骨の菲薄化が起こっているときに、手術操作前にその状態を知るために OCT を用いることができることが示された。

OCT を用いて嗅上皮の厚さを測定することで嗅覚障害の定量的評価ができると考えた。齧歯類を用いて、in vivo で嗅上皮と呼吸上皮が区別可能であることを確認し、HE 染色と比較することで厚さの測定方法を確立した。また、メチマゾールを用いた嗅上皮障害モデル動物を用いて、嗅上皮

障害とその回復過程がOCTで評価可能であることを示した。

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 2 件)

1. Tuukka Karvonen, Yuki Uranishi, Tatsunori Sakamoto, Yosuke Tona, Kazuya Okamoto, Hiroshi Tamura, and Tomohiro Kuroda.: 3D reconstruction of cochlea using optical coherence tomography. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2016 vol. 2016 pp. 5905-5908.

2, Tuukka Karvonen, Yuki Uranishi, Tatsunori Sakamoto, Yosuke Tona, Kazuya Okamoto, Hiroshi Tamura, and Tomohiro Kuroda. Estimation of the Degree of Endolymphatic Hydrops Using Optical Coherence Tomography. ABE, 2016 vol. 5 (0) pp. 19-25.

[学会発表](計 4 件)

1. 坂本達則, 十名洋介, 田浦晶子, 中川隆之, 伊藤壽一. 光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた耳石器の観察. 第24回日本耳科学会. 2014/10/16-18, 新潟(口演/podium)

2. Sakamoto T, Tona Y, Taura A, Nakagawa T, Ito J. Nondestructive Observation of the Vestibular Systems of Slc26a4 K.O. Mice Using Optical Coherence Tomography (OCT). Inner Ear Biology Workshop 2014 in Kyoto. 2014/11/1-4, 京都(口演/podium)

3. 坂本達則, 十名洋介, 田浦明子, 中川隆之, 伊藤壽一. 光コヒーレンストモグラフィ(OCT)を用いた内耳画像診断. 第73回めまい平衡医学会. 2014/11/5-7, 横浜(シンポジウム)

4. 上田俊雄, 光干渉断層計(OCT)による嗅粘膜評価, 第34回ニューロサイエンス研究会. 2016年. 金沢.

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称: 生体内部の構造体がなす角度を非侵襲的に決定する方法

発明者: 坂本達則、伊藤壽一、黒田智宏、カルボネン・トゥッカ・マティアス
権利者: 国立大学法人京都大学
番号: PCT/JP2015/057880
出願年月日: 2015年3月17日
国内外の別: 国際

取得状況(計 1 件)

名称: 生体内部の構造体がなす角度を非侵襲的に決定する方法

発明者: 坂本達則、伊藤壽一、黒田智宏、カルボネン・トゥッカ・マティアス
権利者: 国立大学法人京都大学
番号: PCT/JP2015/057880
出願年月日: 2015年3月17日
国内外の別: 国際

6. 研究組織

(1)研究代表者

坂本 達則 (SAKAMOTO, Tatsunori)
公益財団法人田附興風会・医学研究所 第5
研究部・研究員
研究者番号: 60425626

(2)研究分担者

平野 滋 (HIRANO, Shigeru)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号: 10303827

平海 晴一 (HIRAUMI, Harukazu)
岩手医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 10374167

楯谷 一郎 (TATEYA, Ichirou)
京都大学大学院・医学研究科・講師
研究者番号: 20526363

中川 隆之 (NAKAGAWA, Takayuki)
京都大学大学院・医学研究科・講師
研究者番号: 50335270

北村 守正 (KITAMURA, Morimasa)
京都大学大学院・医学研究科・助教
研究者番号: 60543262

山本 典生 (YAMAMOTO, Norio)
京都大学大学院・医学研究科・助教
研究者番号: 70378644

(3)連携研究者

伊藤 壽一 (ITO, Juichi)

滋賀県立総合病院研究所・所長

研究者番号：90176339

黒田 知宏 (KURODA, Tomohiro)

京都大学大学院医学研究科・教授

研究者番号：10304156

桑 直人 (KUME, Naoto)

京都大学大学院・情報学研究科・准教授

研究者番号：00456881

(4) 研究協力者

Tuukka Karvonen

京都大学大学院・医学研究科・大学院生

上田俊雄 (UEDA, Toshio)

京都大学大学院・医学研究科・大学院生