

近赤外光による体内機能イメージングのための基礎的検討

高 義礼¹⁾, 加藤 祐次²⁾, 清水 孝一²⁾

Basic study for transillumination imaging of biological functions
using near-infrared light.

Yoshinori TAKA¹⁾, Yuji KATO²⁾ and Koichi SHIMIZU²⁾

Reports on Topical Meeting of the Laser Society of Japan
Biological and Medical Applications of Lasers
No. RTM-99-30, November 1999, pp.23-27.

©1999 The Laser Society of Japan.

レーザー学会研究会報告

レーザー生物・医学応用

No. RTM-99-30, 1999, 11月, pp.23-27. 別刷

近赤外光による体内機能イメージングのための基礎的検討

高 義礼¹⁾, 加藤 祐次²⁾, 清水 孝一²⁾

Basic study for transillumination imaging of biological functions using near-infrared light.

Yoshinori TAKA¹⁾, Yuji KATO²⁾ and Koichi SHIMIZU²⁾

For the non-invasive functional imaging of an animal body, a transillumination technique was developed to visualize the absorbance change in scatterers. Theoretical analysis revealed that we could obtain the two-dimensional distribution of the absorbance change even in the strong scattering medium. We found the scattering effect was reduced in a ratio image which was made with the images before and after the absorbance change. In a phantom experiment, the spatial resolution was evaluated to be 10-15 mm at 10 mm depth. In animal experiments, the functional change in rat brain was visualized. The local increase of blood volume in the cerebral somatosensory area was successfully detected in the transillumination image of the brain, when electric stimulation was applied on a rat forelimb. Through this study, the effectiveness of the proposed technique was verified.

Key Words: Near-infrared light, Functional imaging, Transillumination, Non-invasive measurement

1. はじめに

現在, X線CTやMRI等の普及により, 医療における画像利用は既に不可欠なものとなっている。特に最近では, 体内の構造情報だけではなく, 体内の機能的変化を無侵襲的にイメージングする技術への要請が高まっている。こうした背景のもと, 放射線被曝がなく簡便性が期待できる光を用いた技術や手法が注目され, 生体内の機能的情報取得を目指して様々な研究が行われている[1], [2]。

光の領域の中でも, 波長700~1200 nmの近赤外光は, 他の波長域に比べ比較的高い生体透過性を示す。またこの波長域では, 血中ヘモグロビン等の生体色素が, その酸素化状態の変化に伴い特有の吸光スペクトル変化を呈する[3]。このような特性を利用することにより, 生体内の機能的変化を無侵襲的に計測することが可能となる[2]。

我々はこれまで, 脳機能変化の無侵襲イメージングを目指し, 光散乱効果の抑制による光透視ならびに体内機能イメージングの可能性を調べてきた[2], [4]。光透視は, 対象物体内の光吸収の空間分布を直接可視化することができる手法である。また散乱体においても, 表層付近の機能変化であれば, 光吸収の変化として比較的高い分解能でイメージングできる可能性がある。これまで, ラットを用いた動物実験により, 頸動脈の閉塞開放に伴う脳内の血液量変化および酸素化状態変化を無侵襲的にイメージングできることを示してきた[4]。

さらに現在, 人体(特に新生児頭部)の脳内機能変化のイメージングをめざし, 基礎的検討を進めている。ここでは, 本手法の空間分解能に関する実験的検討, 実験動物の脳内機能変化イメージングの試みについて報告する。

2. 機能変化イメージングの原理

近赤外光の領域では, 通常の生体組織における光吸収は, 主として赤血球中のヘモグロビンの吸収による。酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの吸光スペクトルは, 波長800 nm付近の等吸収点を境に上下関係が反転する[3]。したがって, 適当な波長を選択することにより, 組織(正確にはその中の血液)の酸素化状態や, 血液量の変化を評価することができる[2]。この原理をtransillumination imaging(本稿ではこれを透視イメージングと呼ぶ。光路上すべての物が同様に投影されるわけではなく, 厳密にはX線透視などの透視とは異なる)に適用することにより, 生体内のこれらの変化を透視像中にイメージングすることができると考えられる。

本手法は, 近赤外光を生体の一方から照射し, 他方に透過してきた光強度の空間分布を撮像素子でとらえることを基本とする。散乱のない物体に対する入射光強度と出射光強度の関係は, 一般にBeer-Lambert則に従い, 次のように与えられる。

$$I / I_0 = \exp(-\epsilon CD) \quad (1)$$

ここで, I_0 , I は入射光量と出射光量, ϵ , C , D

1) Faculty of Engineering, Hokkaigakuen University (S26, W11, Chuo-ku, Sapporo, 064-0926)

2) Graduate School of Engineering, Hokkaido University (N13, W8, Kita-ku, Sapporo, 060-8628)

はそれぞれ対象物体の吸収係数，濃度，光路長である．さらに光の減衰の割合（減光度）を optical density,

$$OD \equiv \log(I_0 / I) \quad (2)$$

と定義すると，散乱のない物体では，

$$OD = \epsilon CD \quad (3)$$

となる．対象物体が散乱と吸収特性を合わせ持つ場合，とくに生体のような多重散乱系については，透過光強度を表す一般的解析解は得られていない．しかし，対象物体の散乱特性はほとんど変化せず吸収特性が変化する場合には，

$$\Delta OD = B \Delta(\epsilon CD) \quad (4)$$

の関係が成り立つことが示されている[5]．ここでBは，散乱による光路長増加に対応する比光路長係数（differential pathlength factor）である．

本研究では，脳内のヘモグロビン吸光度変化と局所的血液量変化との検出を目的とする．前者の場合，血液量（C）一定の条件下では，

$$OD_2 - OD_1 = \log(I_1 / I_2) = (\epsilon_2 - \epsilon_1)BCD \quad (5)$$

となり，変化前と変化後の減光度差は吸光度変化に比例した値を与える．ここで添え字1,2は，それぞれ変化前と変化後を示す．したがってこれを透視像のピクセルごとに演算することにより，散乱体内の吸光度変化の空間分布をイメージングすることができると考えられる．後者の場合，厳密には，血液量が増減すると散乱特性も変化する．しかし通常の生理的な血液量の増減に伴う散乱特性の変化は，血液以外の組織における強い散乱の中では，ほとんど無視できると考えられる．よって，血液の酸素化状態（ ϵ ）一定または等吸収点波長使用の条件下では，

$$OD_2 - OD_1 = \log(I_1 / I_2) = (C_2 - C_1)B \epsilon D \quad (6)$$

となり，体内の血液量変化の空間分布をイメージングすることができると考えられる．

3. 光散乱によるぼけの抑制

生体は強い光散乱特性を示す．よって，透視画像中の局所領域における光の減衰は，その部位の吸収と散乱による減衰が重畳したものである．

我々の手法では，吸収変化前後の画像の輝度比をとることが基本となる．そこで，この操作がイメージングにおける散乱の影響に対してどの様な効果があるのか，実験的に検討をおこなった．

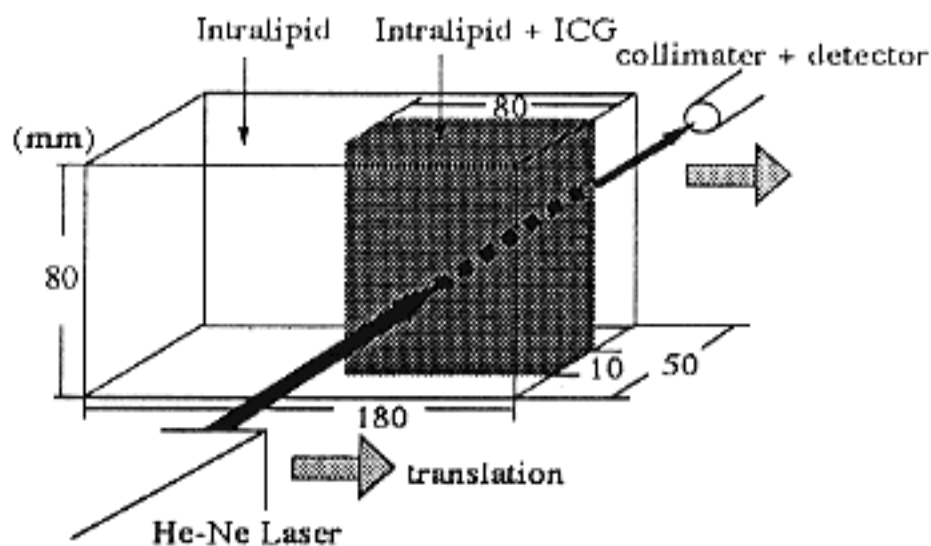


Fig. 1 Experimental setup to evaluate the blurring effect of scattering.

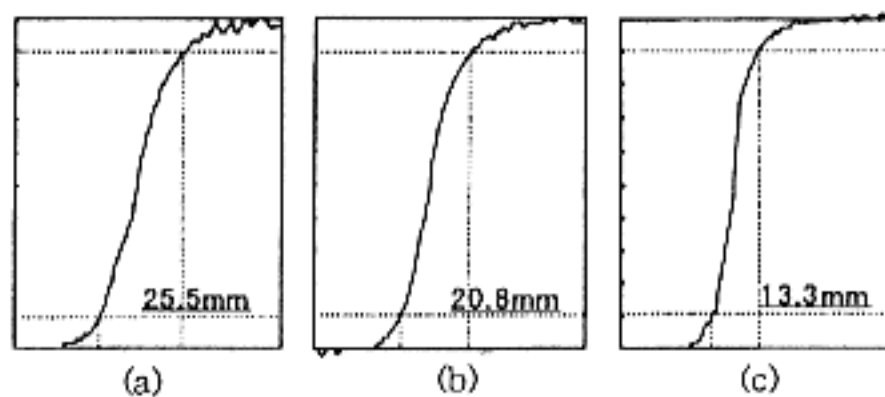


Fig. 2 Suppression of scattering effect in edge images.

- (a) ICG: 2.5×10^{-5} mg/ml,
- (b) ICG: 5.0×10^{-5} mg/ml,
- (c) ratio image (b)/(a).

Fig.1に実験システムを示す．透明アクリル製容器の内部中央に同材製の容器を固定し，内外を Intralipid水溶液（ $\mu_s = 0.25/\text{mm}$ ）で満たした．そして，内側の水槽に光吸収色素（インドシアニグリーン，ICG）を注入していくことにより，散乱体内の吸光度変化を模擬した．この試料に対し，コリメートされた送受光系を水平方向に走査させた．走査は1 mm刻みとし，80ポイントで透過光量の計測をおこなった．

走査位置に対する透過光量分布の一例をFig.2 (a)および(b)に示す．透過光量は最大値で規格化してある．ICGの濃度はそれぞれ 2.5×10^{-5} mg/ml, 5.0×10^{-5} mg/mlである．この計測結果において，透過光強度全体の10%と90%の位置に対応する横軸の幅をぼけの幅と定義し，グラフ中に示した．散乱の影響により内部の吸光層の端面が平滑化され，ぼけが生じている．この二枚の画像の輝度比をとった結果をFig.2(c)に示す．この処理によりぼけの幅が，(a), (b)に比べて大幅に改善されているのがわかる．ICGの濃度をいろいろ変えて同様の処理をおこなった結果，本手法が

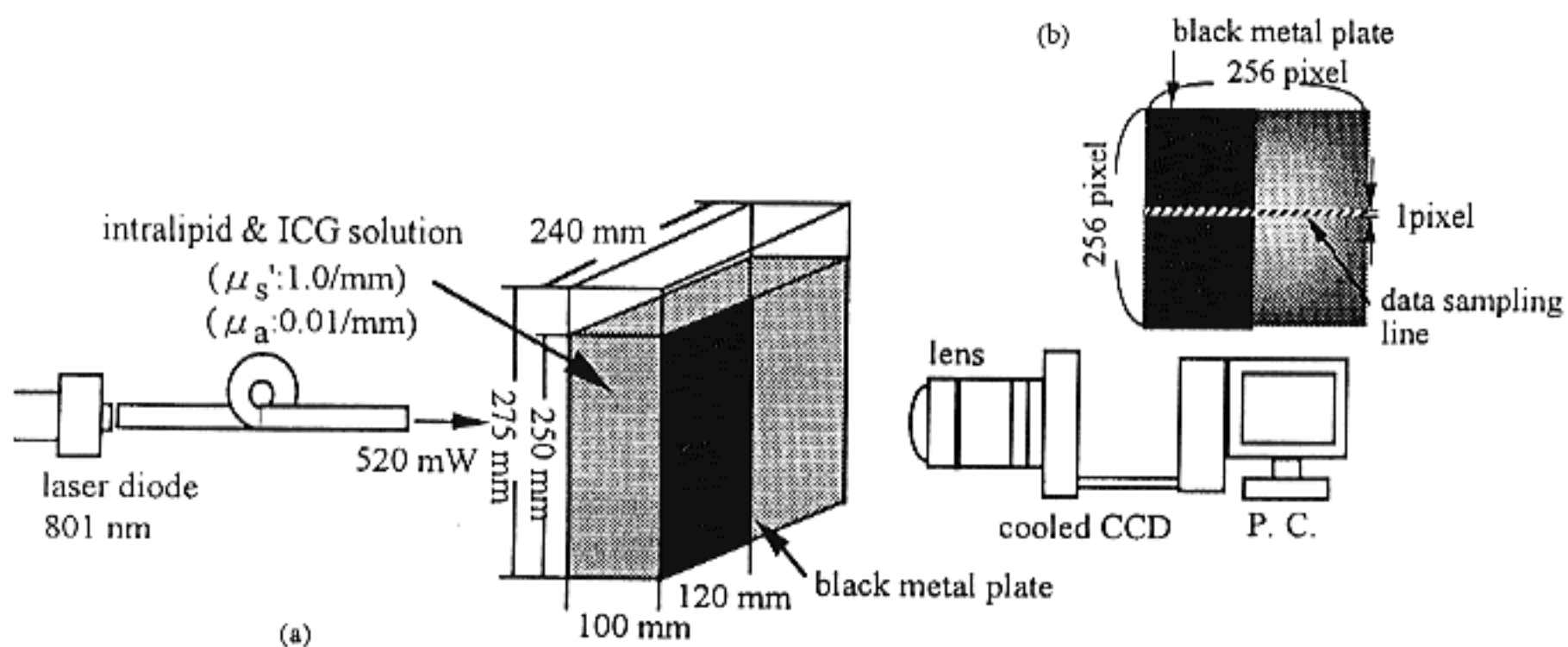


Fig.3 Experimental set up using model phantom.

(a) Outline of measurement system, (b) Image and sampling line.

散乱によるぼけの効果を軽減するのにもある程度有効なことが確かめられた。

4. 透視イメージングの基礎特性

生体組織は一般に強い光散乱および吸収特性を有しており、組織の厚い部位では透過光を得るのが難しいと考えられる。しかしながら、新生児頭部では透過光が得られることから[6]、脳表など比較的表層付近における機能変化のイメージングの可能性が考えられる。そこで、新生児頭部を念頭にモデルファントムを用い、本手法の基礎特性の評価を行った。

実験システムをFig.3(a)に示す。ファントム容器には、透明アクリル製水槽（横240 mm、高さ275 mm、光軸方向内壁間隔100 mm）を用いた。水槽内には、脳白質部分を想定し、IntralipidとICGの水溶液を満たして、等価散乱係数(μ_s')1.0/mm、吸収係数(μ_a)0.01/mmとなるよう調整した[7]。半導体レーザー（波長801 nm）からの光を、光ファイバ束(8 mmφ)を介して、ファントムの一面に垂直入射した。入射光強度は約520 mWであった。水槽を透過した光をCCDカメラ(384×256 pixel)で検出し、180秒間積算した後、画像として記録した。水槽内の散乱体溶液中に黒色金属板（横120 mm、縦250 mm、厚さ0.3 mm）を入射光軸を横切るように配置し、水槽壁面の受光側から見た深さを変化させつつ、各深さにおけるエッジ像を計測した。

得られた撮影画像の一例、およびデータサン

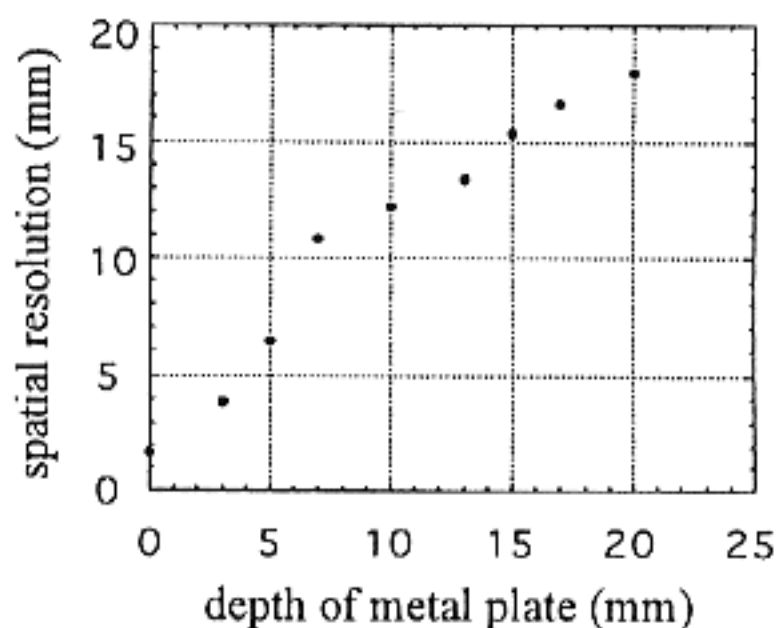


Fig.4 Dependence of spatial resolution on the depth in scattering medium.

リングラインをFig.3(b)に示す。サンプリングラインに沿って受光強度分布（縦軸：受光量、横軸：サンプリング位置）を求めると、平滑化されたステップ関数が得られる。この関数において、受光量の最大-最小間隔の10%および90%部分に対応する横軸の幅を、エッジ像の空間分解能と定義した。金属板深さの変化に伴う空間分解能変化の計測結果を、Fig.4に示す。この結果より、実験ファントムの光学的条件に対しては、空間分解能は吸収物体の計測深さとほぼ同程度となることが見出された。

このような実験的検討をとおり、我々の計測システムにおいて、新生児脳表付近の局所的な血液量および酸素化状態の変化を、計測深さとほぼ同じ分解能でイメージングできる可能性が示唆され

た、本手法のヒトへの適用可能性を評価するためには、ファントム内の吸収係数変化と透過光量変化の関係等について、さらに詳細な検討が必要と考えられる。

5. 脳機能変化のイメージング

以前我々は、脳内の血液量変化や酸素化状態の変化を透視像中に検出できる可能性を実験的に示した[4]。この実験では、ラット頭動脈を人為的に結紮・開放し、脳内変化を強制的に引き起こした。しかし、ここで与えた変化は、脳梗塞など極端な場合には起こり得るが、通常の生理的变化に由来する吸光度変化はさらに小さいと思われる。

これに対し、前章までの結果より、脳表付近の局所的な吸光度変化検出の可能性が得られた。そこで次に、動物実験により、生体中に自然に生じる生理的变化の検出について検討した。実験では、脳に現れる機能的変化として体性感覚刺激に伴う大脳の局所的血液量変化[8], [9]を対象に、その透視イメージングを試みた。

5. 1 実験システム

実験装置の概要をFig.5に示す。実験動物には、比較的若いラット成獣（Wistar種5~9週齢、100~130 g）を用いた。ラットは、ペントバルビタールにて麻酔後、体毛による光の散乱を防ぐため頭部のみ除毛クリームにて除毛した。

光源には、レーザダイオード（波長801 nm）を用いた。光源からの光は、ファイバ束（8 mm φ）によりラット頭部下方へ導かれ、下顎部表面から上方へ向かって照射される。照射光強度はラット体表でおよそ100 mWである。頭部を透過して頭頂方向へ出射した光は、結像レンズを介してCCD（512×512 pixel）により画像として取り込まれ、その後画像処理装置へと送られる。なお、画像は8bit、256階調にて保存した。

本システムにより得られるラット頭部の撮影結果をFig.6に示す。これは、光源波長801 nmの場合の透視像である。左右大脳半球や小脳のおおよその位置および概形をみてとることができる。两眼の間には、ラット等に特有の嗅球も観察できる。また、脳表を走行する太い血管の存在も確認できる。

5. 2 感覚刺激反応のイメージング

ラット前肢刺激に伴う脳内の機能的変化の透視

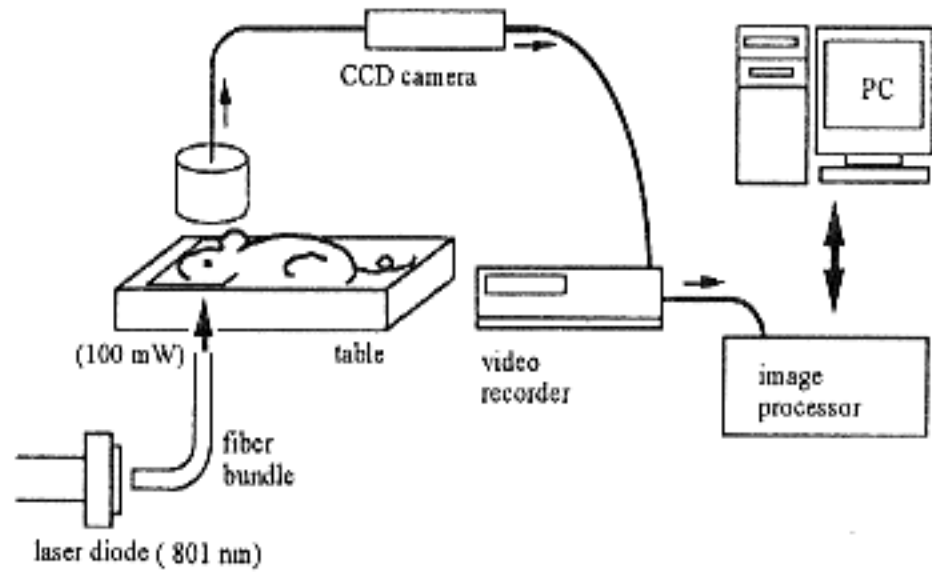


Fig.5 Transillumination imaging system for rat head.

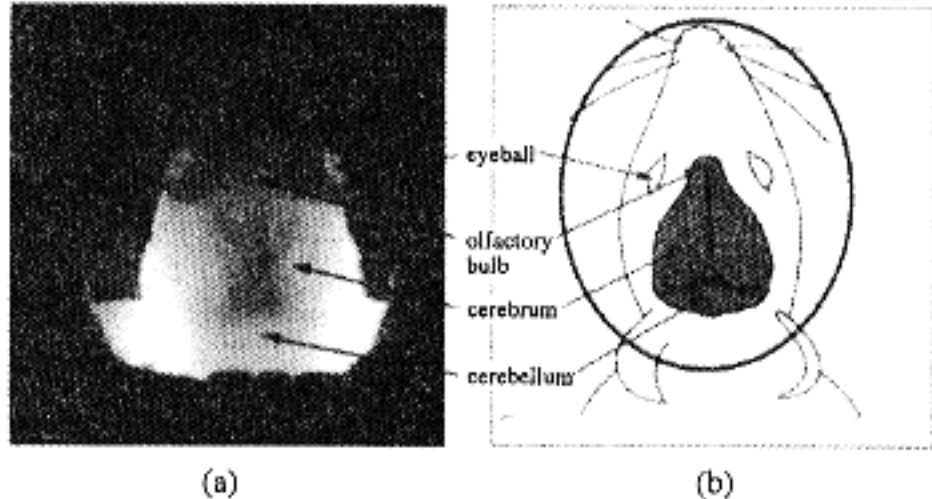


Fig.6 Transillumination image of rat head with near-infrared light. (a)transillumination image, (b)structure of rat head.

イメージングを試みた。ラットは、臭化パンクロニウムで筋弛緩後、人工呼吸器にて呼吸を維持した。バイタルサインとして、心電図を常時モニタリングした。電気刺激は強さを約2 mAとし、3 Hzの頻度で約1分間与えた。刺激開始直前と1分間の刺激直後に透視像を撮影し、その間の変化をイメージングした。結果をFig.7に示す。光源の波長は801 nmとし、血液量の変化に注目した。吸光度変化の大きかった部位を濃い色で示している。カラーバーは、輝度比の値を示す。

Fig.7(a)は、左前肢を刺激した場合のイメージング結果である。大脳右半球の体性感覚野と思われる位置を中心に、局在した吸光度変化が見られた。同図(b)は、右前肢を同様に刺激した場合のイメージング結果である。(a)の場合と比較すると、変化の大きさや拡がり方の違いはあるが、矢状面を中心とする左右対称の位置に、変化の中心が現れている。これらの変化は、いずれも吸光度の増加を示しており、神経活動に伴う局所血液量の増加に対応したものと考えられる。再現性を確かめるため、被検体を変えた実験を数例行ったが、いずれの場合にもほぼ同様の結果が得られた。

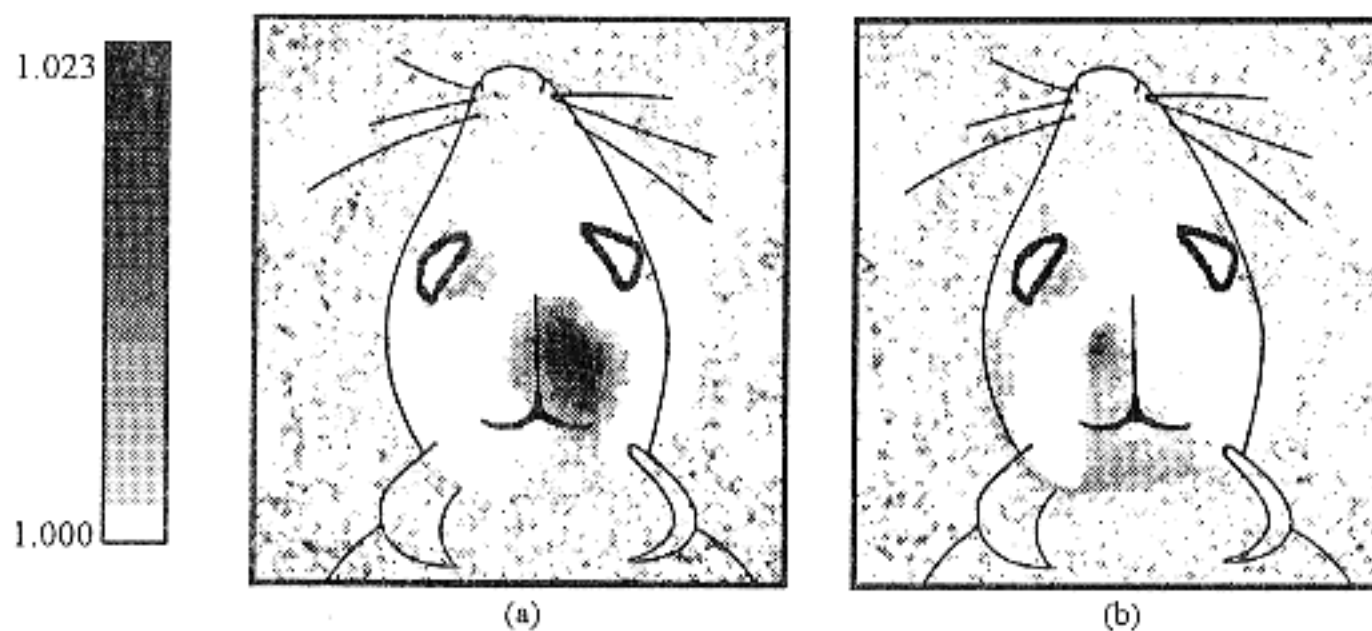


Fig 7 Imaging of local cerebral blood volume change caused by somatosensory.

(a) left fore-limb stimulated, (b) right fore-limb stimulated.

この結果から、光透視により、脳内の機能的変化をイメージできる可能性が実証された。

6. おわりに

生後間もない新生児の運動機能および感覚機能を検査したいという要望は強いが[10]、現在のところそれに十分応える一般的な手法は確立されていない。本研究では、光技術の安全性と簡便性に着目し、その応用可能性を求めて基礎的検討を行った。

一般に成人の場合、光透視に有効なレベルの頭部透過光を得ることは困難である。しかし、新生児頭部程度の大きさであれば、透過光が得られることが示されている[6]。4章の実験結果からも、既存技術で検出可能な透過光が得られることが確かめられた。また、新生児頭部において、頭皮から脳表面までの距離はほぼ10mm程度といわれている。実際の脳の場合、頭蓋骨の影響などもあるが、散乱吸収特性はオーダが変わるほどは変化しないものと考えられる。したがって、新生児脳表面付近における吸光像に対しては10mm程度、それより浅い吸光像に関してはmmオーダの空間分解能が期待できることが明らかとなった。

またラット脳機能変化検出の実験を通し、感覚刺激に伴う脳神経活動をイメージできることが確かめられた。これらの結果から、光透視イメージングを新生児の感覚機能や運動機能の検査に応用できる可能性が示された。

最後に、本手法には、次のような課題が残されている。生体組織の散乱係数吸収係数と可視深さの関係の明確化、神経活動レベルの検出限界の明確化、多波長化による検出変化量の定量化、など

である。今後これらの課題を解決していくことにより、真に有用な手法の形成につながっていくものと考えられる。

本研究を進めるにあたり多くのご助言をいただいた北海道大学大学院工学研究科 山本克之教授および下岡聡行助教授、ならびに実験にご協力いただいた北海道大学電子科学研究所 田村守教授に深謝いたします。また、本研究の一部は文部省科学研究費によって行われた。

参考文献

- [1] Frans F. Jobsis, SCIENCE, vol.198, pp.1264-1267, 1977.
- [2] 清水 孝一, 山本 克之, BME, vol.8, no.5, pp.41-50, 1994.
- [3] Susan Wray, Mark Cope, David T. Delpy et al, Biochimica et Biophysica Acta, vol.933, pp.184-192, 1988.
- [4] 高 義礼, 酒谷 薫, 加藤 祐次 他, MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY, vol.17, no.5, pp.545-555, 1999
- [5] D T Delpy, M Cope, P van der Zee et al, Phys. Med. Bio. 33-12 : 1433-1442, 1988.
- [6] J.S. Wyatt, M. Cope, D.T. Delpy et al, Lancet vol.2(8515), pp.1063-1066, 1986.
- [7] Yukari Tanikawa-Takahashi, Daigo Imai, Sho Mizuno et al, SPIE, vol.2979, pp.429-436, 1997.
- [8] Ute Lindauer, Arno Villringer and Ulrich Dirnagl, Am. J. Physiol., vol.264, pp.1223-1228, 1993.
- [9] Peter T. Fox and Marcus E. Raichel, Neurobiology, Proc. Natl. Acad. Soci. USA, vol.83, pp.1140-1144, Feb. 1986.
- [10] Britton Chance, Endla Anday, Shoko Nioka et al, Optics Express, vol.2, no.10, pp.411-423, 1998.