

高品位ニードル型 CCD 生体顕微鏡システムの開発

川崎医療短期大学 医用電子技術科*

川崎医科大学 システム循環器学**

日本光電機 R&D センター***

立花 博之* 平松 修* 松本 健志* 望月 精一*
 仲本 博** 矢田 豊隆* 後藤 真己* 小笠原康夫*
 辻岡 克彦* 山森 伸二*** 保坂 栄弘*** 梶谷 文彦*

(平成 7 年 8 月 21 日受理)

Development of Intravital Needle-typed Videomicroscope with High Definition CCD

Hiroyuki TACHIBANA*, Osamu HIRAMATSU*,
 Takeshi MATSUMOTO*, Seiichi MOCHIZUKI*,
 Hiroshi NAKAMOTO**, Toyotaka YADA*,
 Masami GOTO*, Yasuo OGASAWARA*,
 Katsuhiko TSUJIOKA*, Shinji YAMAMORI***,
 Hidehiro HOSAKA*** and Fumihiko KAJIYA*

*Department of Medical Engineering
 Kawasaki College of Allied Health Professions
 Kurashiki, Okayama 701-01, Japan

**Department of Systems Cardiology, Kawasaki Medical School
 Kurashiki, Okayama 701-01, Japan

***R&D centre, Nihon Kohden Corporation
 Nishi-Ochiai, Shinjuku, Tokyo 161, Japan

(Received on Aug. 21, 1995)

Key words : 生体顕微鏡, 高品位 CCD, ニードルプローブ, 微小循環

概 要

高品位 CCD を用いた生体顕微鏡を開発した。冠循環系の理解に於いて約 20 μm の微小循環の観測意義は大きいといわれている。このような細い血管を生理的条件下で観察可能とするのが新システムである。高品位 CCD を用いて High-Vision システムを導入することで移動する対象を広い視野で観察可能とした。開発したシステムは空間分解能 2.5 μm , 位置移動の分解能は 1.5 μm , 視野サイズは 1.4 \times 0.8 mm の性能を有する。本システムは、細い血管の微小循環生理の解明に役立つと期待できる。

1. はじめに

冠微小血管は心筋の血流調節の場であり、その拍動特性を評価することは冠循環系の理解に

とって重要である。心筋梗塞などに代表される虚血性心疾患の病態形成には、微小血管レベルにおける血流の破綻が大きく関与していると考えられているが、その詳細は適切な計測方法が

開発されていなかったため、未だ解明されていない。

心臓を構成する心筋に酸素や栄養を与える冠微小循環の観測を行う場合、種々の解決すべき技術的な問題点が存在する。観測対象の心筋自体が自己の心拍動と共に大きく動くこと、また、虚血が生じやすい心内膜側の微小循環は、血液で満たされた心腔に面しているため可視化が困難であることなどが主要な問題点である。冠循環系に理解に於いて心臓の微小循環の観測意義は大きい、このような技術的な問題よりその観測は容易ではなかった。そこでこれまで、生体顕微鏡に様々な工夫を加えて、心臓表面すなわち心外膜側の微小血管の観測のみが行われてきた。

しかし、虚血の生じやすい心内膜側微小血管の拍動心における観測は、その医学的意義が重要にも関わらず、方法論的制約により不可能であった。

我々の研究グループは、新たに導入した CCD 生体顕微鏡のアクセス部を工夫したニードルプローブの開発により、初めて拍動下心内膜側微小循環系の細動静脈像の計測に成功した^{1,2)}。これにより、生理的に拍動中の心臓での冠微小循環の観測を可能とし約 $50\mu\text{m}$ 以上の細い血管の挙動を明らかにした。しかしながら、空間分解能に限界があるため、冠循環系の調節にとって重要である前毛細血管レベルでの観察や、微小血管レベルでの血球の動きの識別は困難であった。

そこで、今回、我々の研究グループは、細動

脈血管や微小血管レベルでの血球の動きの観測を可能とするべく、CCD を High-Vision 化し広い視野を保ちながら分解能の向上を図った装置を開発したので報告する。

2. システムの構成

Fig. 1 に開発した高品位ニードル型 CCD 生体顕微鏡システムの構成を示す。本システムは、ニードル型プローブ、高分解能 CCD 撮影部、レンズ、光源、ライトガイド、High-Vision モニタ、High-Vision ビデオレコーダ、および High-Vision 画像解析システムより構成される。高分解能 CCD 撮影部には約200万画素の単板 CCD を用いる。これは、従来の25万画素の CCD に比べて8倍の画素数である。プローブ本体にはニードル型レンズを装備し、心外膜側から心筋内、および心内膜側にいたる微小循環の計測を可能とする。ニードル型レンズは relay lens より構成されており、サイズは周囲に配置した照明光ガイド用光ファイバを含めて直径6mm、長さ140mmである。光源にはメタルハライドランプ (160W) を用い、光源から光ファイバで導かれた照射光は、relay lens 周囲のガイド用光ファイバを経て先端から観測視野周囲の組織へ照射され、組織内で散乱した光によって観測部位を照明する。relay lens を通じて結ばれた観測像は単板 CCD によって毎秒30フレームのビデオ信号に変換され、28インチ High-Vision モニタ (KW-2910 HD, SONY) 上に430倍に拡大した像として表示される。また、同時に High-Vision

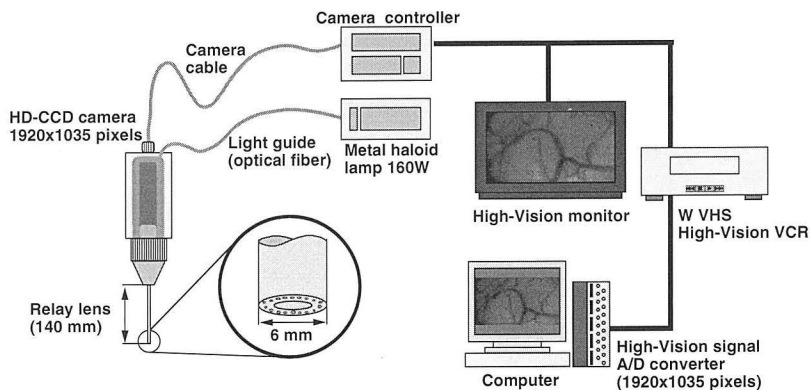


Fig. 1 High Definition CCD Video Microscope.

ビデオレコーダ (SR-W310, Victor) で記録される。後に、記録された観察画像を High-Vision ビデオ信号用 A/D コンバータ (DFM, 計測技研) で A/D 変換し画像解析システムにより画像データファイルとして記録・蓄積し、濃度調整およびノイズ除去などの画像処理を行い、血管径の計測やその拍動の解析が行われる。

3. システムの評価

本システムによる画像の観測性能を評価するため、観測画像の歪み、および解像度を評価した。また、拍動している血管の形状や大きさの変化の評価に必要な画像の変位量の検出精度についても計測・評価した。

A) 画像歪みの評価

本システムを用いて、 $50 \times 50 \mu\text{m}$ 正方のマイクロメッシュ (血球計算盤) を観測し、画像の歪みを評価した。Fig. 2 にその時の観測画像を示す。観測視野サイズは $1.4 \times 0.8 \text{ mm}$ であり、視野内全域において縦横の線はいずれも直線性が良く、その間隔もほぼ一定であった。よって、画像の歪みはほぼ無視でき、形状が正確に観測できることが分かる。

B) 解像度の評価

解像度評価するために “USAF 1951 Test Target” を観測して 2 本の線の識別限界を検討した。Fig. 3 a に本システムで観測した像を、Fig. 3 b に比較のため光学顕微鏡で観測した Test Target の観測像を示す。Test Target には、

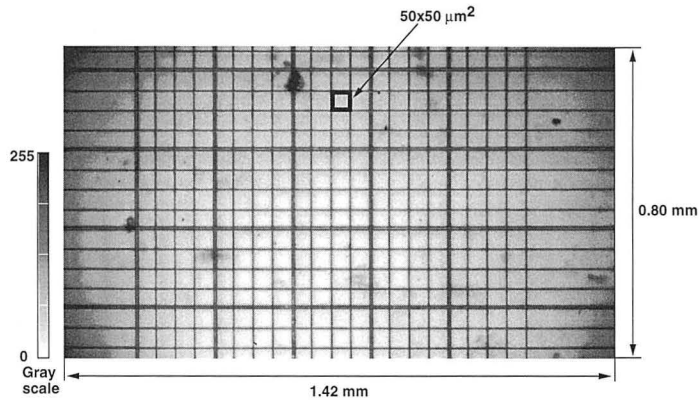
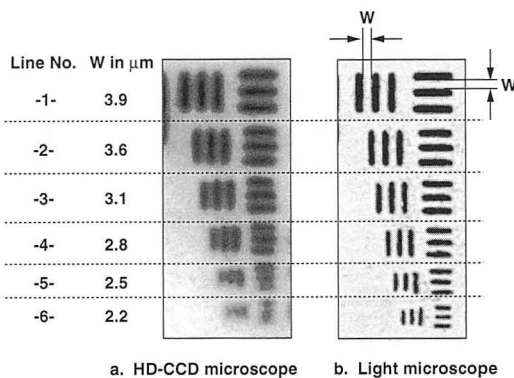


Fig. 2 Measurement of Test Microscale Mesh.



a. HD-CCD microscope b. Light microscope

Fig. 3 Observation of USAF 1951 test target.

縦横に3本ずつの直線を一組として、No. 1からNo. 6まで刻まれている。3本の線の太さとその間隔は、No. 1が最大で毛細血管の径の約半分の大きさで $3.9\mu\text{m}$ である。順に下へ行くにつれて狭くなり、No. 6は $2.2\mu\text{m}$ で最小である。Fig. 3 aに示した本システムでの観測像から分かるように、No. 1からNo. 5 ($2.5\mu\text{m}$ 間隔)までは3本の線として識別が可能であるが、No. 6では3本の線としての識別は困難であった。したがって、観測画像の解像度は 2.5 から $2.2\mu\text{m}$ の間にあると考えられ毛細血管レベルの識別が可能であることが分かった。

C) 変位量検出精度の評価

最小メモリ $10\mu\text{m}$ のマクロスケールを観察視野内の横方向、および縦方向に置き、マイクロマニピュレータを用いてそれぞれの方向へ $2\mu\text{m}$ ずつ移動させ、各位置でのマクロスケールの像を本システムを用いて観測した。

スケールの基準位置と移動後の各位置でのマクロスケール像の濃度分布曲線をそれぞれ求め、両者の位置の差によりマクロスケールの変位量を計測・評価した。具体的には、濃度分布曲線から各マクロスケール像の最大濃度値とマクロスケール像の周囲に出るノイズレベルの平均濃度値との差を求め、その差の4分の1の値だけ平均ノイズレベル濃度より高い値を閾値として設定し、この閾値濃度を示す位置をマクロスケール像のエッジ位置とした。マクロスケールの移動前後において評価したエッジ位置の差を移動量として計測し、マイクロマ

ニピュレータで設定した値と比較することにより、変化量の検出精度を評価した。その結果をFig. 4 a, bに示す。Fig. 4 aは視野面横方向の、Fig. 4 bは縦方向の評価結果である。いずれも横軸はマイクロマニピュレータで設定した移動量を、縦軸は計測した変化量を示す。縦軸いずれの方向においても、最大誤差は $1.5\mu\text{m}$ 以下であることが分かる。したがって、本システムの変化量検出精度は視野サイズ $1.4\text{mm}\times 0.8\text{mm}$ の計測において $1.5\mu\text{m}$ 以下であるといえ、例えば直径 $30\mu\text{m}$ 程度の血管の場合、5%の精度で径変化を評価可能である。

4. 実 測

高品位ニードル型 CCD 生体顕微鏡システムでの性能評価の結果、十分な性能を有することが窺われたので、実際に麻酔開胸犬を対象に左心室心外膜側微小血管の観測を行った。

Fig. 5 a, bに心外膜側微小血管の観測例を示す。観測は、心外膜側表面にニードル型プローブを軽く当て、手動的に保持して行った。Fig. 5 aは細動脈の拡張末期、Fig. 5 bは収縮末期の観測像である。それぞれの血管径は、拡張末期は $27.4\mu\text{m}$ 、収縮末期は $25.8\mu\text{m}$ であった。細動脈径は拡張末期から収縮末期にかけて約6%縮少し、その径変化を鮮明に観測できた。

5. 考 察

冠循環細動脈内の圧低下は比較的緩やかであり、したがって広範囲にわたる径の観測が要求

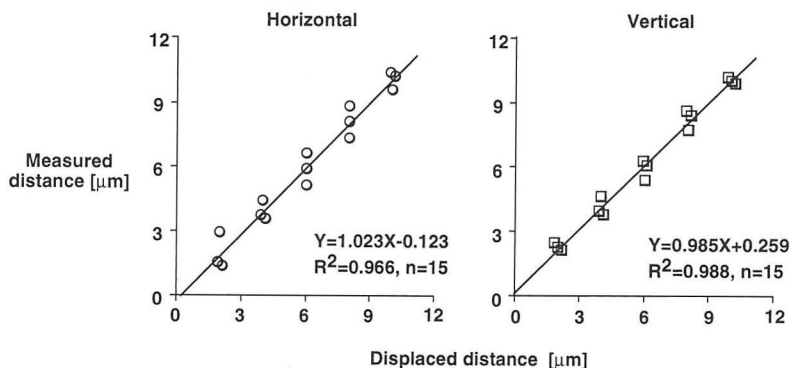


Fig. 4 Measurement Accuracy of Displaced Distance.

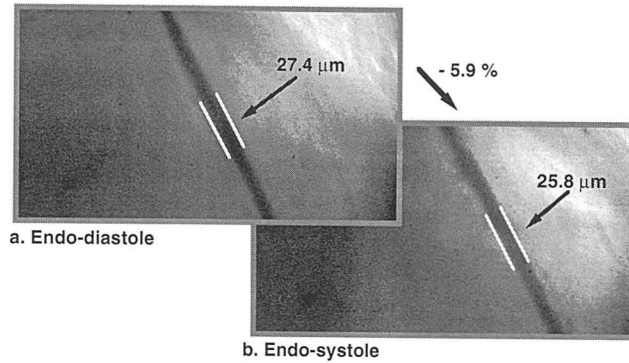


Fig. 5 Diameter Change of Coronary Epicardial Arteriole.

される。そこで本研究では約 $20\mu\text{m}$ 程度の細動脈の拍動特性や、同レベルでの血流・血球の動態を把握することを目的として研究を進めた。

従来、我々の研究グループは、CCD 生体顕微鏡の特徴である 1) 移動する対象の観察が可能であること、2) 生理的状態における生体内臓器の観察が可能であること、3) 手軽に使用が可能であるなどを応用し、アクセス部を工夫したニードルプローブを開発することにより、初めて拍動下心内膜側微小循環系の細動脈・細静脈の観測を行い、生理的拍動中の心臓での心内膜側微小血管観測手法を確立した。

今回、上記の目的を達成するため、撮像部 CCD の High-Vision 化を行った。新たに、開発した高品位ニードル型 CCD 生体顕微鏡システムは、その性能評価の結果、視野は $1.4\text{mm} \times 0.8\text{mm}$ 、静止時の空間分解能は $2.5\mu\text{m}$ 、位置変動については $1.5\mu\text{m}$ であり、得られる画像の歪みはほぼ無視でき、形状を正確に観測ができること、すなわち毛細血管レベルの識別が可能であることなど十分な性能を有することが分かった。さらに、実際に冠微小循環を観察したところ、従来のシス

テムでは困難とされてきた、拍動下における約 $20\mu\text{m}$ 程度の微小血管の観察ができた。以上のことにより、本システムは視野サイズを広く保った上での高分解能イメージングを実現させ、心拍動のようにダイナミックに動く観測対象における微小循環系の評価や、同一視野内での可及的多数の微小血管の評価を可能とすると考えられる。

文 献

- 1) Yada, T., Hiramatsu, O., Kimura, A., Goto, M., Ogasawara, Y., Tsujioka, K., Yamamori, S., Ohno, K., Hosaka, H., Kajiya, F.: In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe videomicroscope with a CCD camera. *Circ. Res.* **72**: 939–946, (1993)
- 2) Hiramatsu, O., Goto, M., Yada, T., Kimura, A., Tachibana, H., Ogasawara, Y., Tsujioka, K., Kajiya, F.: Diameters of subendocardial arterioles and venules during prolonged diastole in canine left ventricles. *Circ. Res.* **75**: 393–399, (1994)

