動脈硬化病変ファントムの近赤外ハイパースペクトルイメージング

北簾 晃子¹, 石井 克典¹, 本多 典広¹, 栗津 邦男¹⁻⁴

¹大阪大学大学院 工学研究科環境・エネルギー工学専攻 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1-A14棟)

²大阪大学大学院 生命機能研究科 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-3)

³大阪大学 臨床医工学融合研究教育センター (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2)

⁴福井大学 附属国際原子力工学研究所 (〒910-8507 福井市文京3-9-1)

Near-Infrared Hyperspectral Imaging of An Atherosclerosis Phantom

Akiko KITAYABU,¹ Katsunori ISHII,¹ Norihiro HONDA,¹ and Kunio AWAZU¹⁻⁴

¹Division of Sustainable Energy and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Osaka University
2-1-Bldg. A14 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, 1-3 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

³The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

⁴Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui, 3-9-1 Bunkyo, Fukui, 910-8507

(Received December 27, 2011)

The diagnosis of atherosclerosis in the early phase is difficult. In this study, we focused on a hyperspectral imaging (HSI) technology to detect atherosclerotic plaques. HSI is one method of spectroscopic imaging. Near-infrared (NIR) HSI can show the distribution of chemical compounds by vibrational information and provide the diagnostic imaging of plaques which consists of a lipid-rich tissues. The object of this study is to detect an atherosclerosis phantom using NIR-HSI. An HSI system was constructed by an NIR super continuum light source and an InGaAs CCD camera. We measured the diffuse reflectance of an atherosclerosis phantom, constructed hyperspectral images with a spectral angle mapper algorithm in the 1150-1320 nm wavelength and detected the absorption spectra of bovine fat under an optical arterial tissue phantom with thicknesses of 0.5 and 1.0 mm. These results support the possibility of NIR-HSI as a new and noninvasive arteriosclerosis diagnostic modality.

Key Words: Hyperspectral imaging, Near-infrared, Diagnosis, Atherosclerosis

1. はじめに

動脈硬化は心筋梗塞や脳梗塞など虚血性疾患の主要因である。これらの疾患は主に血管の狭窄により引き起こされるため、狭窄度を判断する画像診断は診療に必須である¹⁾。初期動脈硬化は自覚症状がなく、動脈硬化と診断されるのは血管内腔のおよそ7割以上が狭窄し、虚血障害が引き起こされてからである。緊急の治療を要する事が多く、画像診断の補助の下、外科的治療であるバイパス術、内科的治療であるカテーテル治療が行われてきた²⁾。しかし近年、低狭窄度であっても急性心筋梗塞など重篤な疾患を引き起こす危険性が報告され始めた¹⁻⁸⁾。また、動脈硬化プラークは面積狭窄率40%まで内腔の狭小化をきたさず血管中膜から外膜に向けて深部に発生、進展していくという報告もあり⁹⁾、内腔狭窄度などの形態観察のみに依存した評価には限界がある。虚血イベントの正確な評価・治療に向け、プラークの質評価可能な診断技術の開発が求められている。

動脈硬化症による虚血イベントの危険性は、プラークの質に依存する。プラークの質評価に有効な画像診断法

として、血管内視鏡⁹⁾、血管内超音波診断(Intravascular ultra sound; IVUS)¹⁰⁾、光コヒーレンストモグラフィ(Optical coherence tomography; OCT)^{11,12)}、X線コンピュータ断層撮影(X-ray computed tomography; CT)¹³⁾、核磁気共鳴イメージング(Magnetic resonance imaging; MRI)^{1,14)}、レーザースペckルイメージング(Laser speckle imaging; LSI)¹⁵⁾などが挙げられる。これらは血管内の色調、組織の硬さ、組織の粘弾性などの正常組織と病変組織の差に基づきプラークの質評価を行う手法である。動脈硬化の形態変化や組織変化はコレステロールのような脂質がマクロファージの働きで蓄積する事から始まる。よって絶対的なプラークの質評価には分子レベルの情報を取得が有効である。化学情報に着目した技術としては、ラマン分光¹⁶⁾や血管内光音響イメージング(Intravascular photoacoustic imaging; IVPA)¹⁷⁾の研究が進められている。これらは血管内腔からの病変観察が想定されており、有効な評価指標として期待される。ラマン分光はスペクトル解析によるプラーク評価には有効であるが、カテーテルでのイメージングまたはマッピングは現状困難である。IVPAは断層画像情報を取得するには有効であ

るが、血管内視鏡視野とは異なり血管内で広範囲を一度に観察するには不向きである。本研究は、より簡易に分子結合の豊富な情報かつ深部の化学情報が取得可能な血管内視画像診断技術として近赤外ハイパースペクトルイメージング (Hyperspectral imaging; HSI)³⁾に着目した。

HSIは分光イメージングの一種である。多波長の観察光を用いて対象を観察し、光の吸収特性に基づき位置ごとの分光情報を取得する技術である。HSIは従来、衛星や航空機から土壌の状態を測るリモートセンシング、農作物の病害検出、薬剤の成分分析の確認、食品の糖度や腐敗度の管理、絵画や偽造紙幣の検出など幅広い分野に応用されている^{18,19)}。特に、食品管理や農業分野では古くから研究が進み、スペクトル解析手法や成分分析のデータが十分に蓄積されている。近年は医療分野においても癌細胞の観察などマイクロなイメージング分析法として研究が進められている^{20,21)}。しかし、病変そのものを検出する診断法としての応用研究は、ほとんど行われておらず、胆嚢摘出術における補助的な応用や、腸虚血部分の検出等の数例の報告に留まる²²⁻²⁴⁾。また、動脈硬化の観察報告は可視域のみにおいて行われている²⁵⁾。

生体組織は、光に対して主に吸収と散乱の二つの光学的な特性を有する。この特性は波長によって異なるため、HSIによって取得したい情報や侵達度から使用する波長を選択する必要がある。近赤外領域において、波長1200 nm帯にCH伸縮振動の第2倍音、1400 nm帯にCH伸縮振動・変角振動の結合音、1450 nmにOH伸縮振動の第1倍音、1700 nm帯にCH伸縮振動の第1倍音による吸収が存在する⁴⁾。生体構成物質の中でも脂質はこれらの結合を多く持つため、脂質性のプラークは近赤外領域に特徴的な分光情報を持つ⁵⁾。また近赤外域の光は可視・紫外光に比べ散乱性が低く、中赤外・遠赤外・紫外光に比べ、生体物質による吸収が小さいため、生体組織に対して高い侵達性を持つ。

以上の特性より、近赤外HSIはプラークの主成分である脂質由来の分子結合に関する情報を基に、臨床で観察が困難な小さな、または深部の病変を画像として検出できる可能性がある。本研究は、近赤外HSIによる動脈硬化画像診断法の開発を目的とし、初期病変(深部病変)を模擬した動脈硬化病変ファントムの観察を行った。

2. HSI測定システム

2.1 HSI測定原理

Fig. 1にHSI測定原理を示す。連続した波長の分光画像を取得することで、位置情報に加え画像ピクセルごとの吸収スペクトル情報を持つデータセットを得る。このデータセットはハイパースペクトルキューブと呼ばれる。生体試料は短時間での測定が好ましいため、本研究では位置情報取得法としてイメージ撮影法を、分光計測法としてグレーティング方式を採用した。

2.2 光学系

本研究で使用したHSIシステムの概略図をFig. 2に示

Fig. 1 Principle of hyperspectral imaging.

す。光源にはスーパーコンティニウム (super continuum: SC) 光源 (住友電気工業, 日本) を用いた。SC光源はパルス幅13 ns, 繰り返し周波数75 MHz, 発生波長域1100–2400 nm, 平均出力60 mWのSC光を生成する。光源からの出射光をシングルモードの石英ファイバで導光し、ファイバ端の凸レンズでコリメートした。その後凸レンズ (KPX100, Newport) により集光し、500 μ m幅のスリットを持つグレーティング方式のモノクロメーター (SPG-120IR, 島津製作所, 日本) で分光し、波長範囲を限定した光とした。凹レンズ (KPC034, Newport) 及びシリンドリカルレンズによりモノクロメーターからの光を縦横同率となるよう拡大した後、Alミラーによりサンプル上部から照射し、サンプルからの拡散反射光をInGaAs素子の近赤外CCDカメラ (320 $\times$ 256 pixels, 30 μ m/pixel) (XEVA-245Xenics, Belgium) で2次元的に検出した。光源強度、モノクロメーターの対応波長、CCDカメラ感度のバランスから波長1150–1720 nmの画像データを10 nmごとに取得した。またカメラのフォーカスは波長1150 nmでサンプル表面に合うように設定した。

2.3 吸収画像、吸光度スペクトルの取得

近赤外吸収スペクトルの取得法²⁶⁾のひとつである拡散反射法⁴⁾に基づき、サンプルの測定画像を取得した。まず、波長ごとに試料からの拡散反射光強度 $I_{sample}(x, y, \lambda)$ 、標準反射板からの反射光強度 $I_{back}(x, y, \lambda)$ 、また非照射状態でカメラの暗電流強度 $I_{dark}(x, y, \lambda)$ を取得した。ここで、 x, y はピクセル位置、 λ は波長を示す。波長ごとの強度の不均一性を除き、暗電流によるノイズを除くため、式(1)により各ピクセルの分光反射率 $R(x, y, \lambda)$ を算出し

Fig. 2 Set up of NIR-HSI system. NIR super continuum light was delivered to a grating spectrometer for selecting a specific wavelength. The wavelength-limited light passed through the spectrometer was irradiated to the sample, and the diffuse reflection light on the sample was detected by the InGaAs CCD.

た。測定時は、波長ごとに $I_{back}(x, y, \lambda)$ が一定となるよう露光時間を調節した。

$$R(x, y, \lambda) = \frac{I_{sample}(x, y, \lambda) - I_{dark}(x, y)}{I_{back}(x, y, \lambda) - I_{dark}(x, y)} \quad (1)$$

次に式(2)のように、分光反射率 $R(x, y, \lambda)$ から吸光度 $A(x, y, \lambda)$ に変換し、吸収スペクトル及び吸収画像を取得した。

$$A(x, y, \lambda) = \log(1 / R(x, y, \lambda)) \quad (2)$$

3. 動脈硬化病変ファントムのHSI測定

3.1 測定サンプル

Fig. 3に作成した(ファントム)の構造を示す。正常血管ファントムとして、吸収媒体のヘモグロビン(H7379-10G, sigma-aldrich, USA)と散乱媒体のイントラリピッド(FB-01IL20, TERUMO, Japan)含有のゼラチン(G2500-500G, sigma-aldrich, USA)試料を作成した。組成はヘモグロビン0.15 mg/ml, ゼラチン0.1 g/ml, イントラリピッド2.0 vol%とし、正常動脈の光学特性値を模擬した。また粥状プラークファントム(病変部の模擬)としては波長1200, 1700 nm帯で類似の光学特性値を示す牛脂を使用した。1 mm厚みの正常血管ファントムを作り、中央部に5 mm角の穴を開けた。スライドガラスにこの正常血管ファントムを設置し、穴に融かした牛脂を流し込み、病変部1 mm厚み、5 mm角の露出病変ファントムを作成した。また、作成した露出病変ファントムに厚み0.5または1.0 mmの正常血管ファントムを重ね、表面から可視観察の困難な初期病変ファントムを作成した。露出病変ファントム、初期病変ファントム共にサンプル上部から測定を行った。

3.2 HSIデータ解析方法

取得したハイパースペクトルキューブの解析法として、スペクトル角マッパー(spectral angle mapper; SAM)法を基に演算を行った。SAM法はピクセル間の吸収スペクトルの類似度を画像コントラストとして描出する手法である。Fig. 4に演算方法の概念図を示す。まず、全ピクセルに対し吸収スペクトルのベクトル化を行った。吸収スペクトルは、横軸に波長、縦軸に吸光度を取った曲線である。多波長における吸収値をつないだものであり、その一点一点の吸光度を書きならべると、波長数 n

Fig. 3 Schematic diagram of atherosclerosis phantoms made by optical arterial tissue phantom and bovine fat.

Fig. 4 Basic concept of hyperspectral images based on principal component analysis.

点の値を持つ式(3)のようなベクトルに対応させることができる^{26,27)}。

$$\vec{a} = (a_1, a_2, a_3, \dots, a_{n-1}, a_n) \quad (3)$$

このベクトルは n 次元空間内の一点であり、原点からの方向がスペクトルの形に、原点からの距離がスペクトルの強度に対応する²⁷⁾。次に、牛脂の吸収ベクトルを画像中のピクセルから選択し基準ベクトルと定めた。その後全てのピクセルの吸収ベクトルに対し基準ベクトルとの角度差、すなわち類似度 $\cos\theta$ を計算し、この類似度を画像値に置き換えた。基準ベクトルを $\vec{A}$ 、画像中のあるピクセル $b(x_i, y_j)$ の吸収ベクトルを $\vec{B}$ とすると、類似度 $\cos\theta$ 値は下式(4)によって求められる。

$$\cos\theta = \frac{a_1b_1 + a_2b_2 + \dots + a_{n-1}b_{n-1} + a_nb_n}{\sqrt{a_1^2 + a_2^2 + \dots + a_{n-1}^2 + a_n^2} \sqrt{b_1^2 + b_2^2 + \dots + b_{n-1}^2 + b_n^2}} \quad (4)$$

但し

$$\vec{A} = (a_1, a_2, a_3, \dots, a_{n-1}, a_n) \quad (5)$$

$$\vec{B} = (b_1, b_2, b_3, \dots, b_{n-1}, b_n) \quad (6)$$

微小な $\cos\theta$ 値の違いを強調するため、値を整数倍し、画像ソフトImageJ(Wayne Rasband, NIH, Bethesda, Maryland)で画像を描出した。画像値は0-255の256段階に振り分け、類似度の最も高いピクセル(基準ベクトルに近いスペクトルを持つもの)を255(白)、類似度の最も低いピクセルを0(黒)と定めた。

3.3 解析画像の精度検討法

解析画像の精度を検討するために、検出部位の画像広がりの評価を行った。まず、mode法により病変部位(高輝度部分)の画像切り出しを行った。次に、切り出し画像のプロットプロファイルから切り出し部位の対角線方向のピクセル数をカウントした。露出病変ファントムにおけるピクセル数を100%とし、初期病変ファントムのピクセル増加割合を算出した。

4. 実験結果

4.1 吸収スペクトル

0.5 mm厚みの正常血管ファントムを重ねた初期病変ファントムの吸収スペクトルをFig. 5に示す。(a)が正常血管ファントム部分、(b)が牛脂存在部分の吸収スペクトルである。正常血管ファントム部分には波長1440 nm付近に大きな吸収帯が確認された。牛脂部分には波長1440 nm帯に加えて波長1200 nm付近に小さな吸収帯が観察された。

4.2 牛脂のハイパースペクトル画像

画像中央の牛脂部分を基準と定め、波長1200 nm帯

Fig. 5 Absorption spectra of an atherosclerosis phantom measured by NIR-HSI. (a): 1.5 mm optical arterial tissue phantom. (b): 1.0 mm bovine fat under 0.5 mm optical arterial tissue phantom.

Fig. 6 Images of atherosclerosis phantoms with and without covering a optical tissue model. (a): visible images, (b): Absorption images at wavelength 1200 nm, (c): Hyperspectral images in the wavelength range from 1150 to 1320 nm.

(波長1150–1320 nm)の吸収スペクトルを使用して牛脂部分のハイパースペクトル画像を描出した。得られた初期病変ファントムのハイパースペクトル画像をFig. 6に示す。露出病変ファントムは、可視画像、波長1200 nmの吸収画像、ハイパースペクトル画像全てで牛脂部分の観察が可能であった。初期病変ファントムは、重ねた正常血管ファントムの厚みが0.5、1.0 mm共に可視画像及び吸収画像での観察は困難であったが、ハイパースペクトル画像による観察が可能であった。

Mode法により牛脂部分を強調した画像をFig. 7に示す。Fig. 6に示した未処理のハイパースペクトル画像に比べ、牛脂部分の鮮明な境界を得る事ができた。病変部分(Mode法により切りだされた牛脂部分)のピクセル増加割合は、重ねた正常血管ファントムの厚み0.5 mmで約1.5%、1.0 mmで約6.4%であった。

Fig. 7 Hyperspectral images of atherosclerosis phantoms processed by Mode method.

5. 考 察

初期病変ファントムの測定において、波長1200 nm及び1440 nmに吸収帯が確認された。測定波長域1150–1720 nmの吸収は、主に生体組織中の水や脂質の構成分子であるCH基、OH基の振動に由来する。測定波長域においてCH基は主に波長1200 nm付近に伸縮振動第二倍音、波長1400 nm付近に伸縮振動第二倍音と変角振動の結合音、波長1700 nm付近に伸縮振動第1倍音の吸収ピークを持つ。またOH基は主に波長1440 nmに伸縮振動と変角振動の結合音第一倍音を持つ。よって、波長1200 nmは脂質由来、波長1440 nmは水由来の吸収帯であると考えられる。病変部位の吸収スペクトルでは、CH基由来の波長1400 nm及び1420 nmの吸収ピークは観察されなかった。波長1400 nmにおいて支配的な吸収を示すのは水である。牛脂の上に重ねた正常血管ファントムに含まれる水の吸収により、脂質の吸収ピーク観測が阻害されたと考えられる。以上より、近赤外HSIによる水分に富んだ生体内の脂質観察は、波長1200 nm帯が有効である事が示唆された。波長1200 nm帯は、不安定プラーク検出のための近赤外分光法²⁸⁾や、ヒト冠動脈の動脈硬化の血管内光音響イメージング¹⁷⁾等、他手法の動脈硬化診断技術の研究においても有効性が示唆されており、光による動脈硬化診断に有望な波長域である。

HSIにより、病変部分が0.5、1.0 mm組織下に存在する初期病変ファントムから、病変部分の検出を行うことができた。病変部分は重ねた正常血管ファントム厚みの増加に従い拡大する様子が確認された。描出画像の拡大は重ねた正常血管ファントムの散乱の影響によると考えられる。大動脈不安定プラークの繊維性被膜厚みは60 µm以下と言われている²⁹⁾。ゆえに、本研究で得られた結果より、近赤外HSIは血管内部から破断前の初期粥状動脈硬化病変が観察できる可能性が非常に高い。また、画像対角線の拡大は1.0 mm組織下で約590 µmであった。精度の高い画像診断には、散乱補正が必要であると考えられる。しかし、初期診断においては、病変の有無の確認が重要であるため近赤外HSIは有効な診断系であると考えられる。

臨床において、動脈硬化症の初期病変や不安定プラークを診断するためには、血管内視鏡下での病変観察が最も有効な手段である。近赤外HSIが使用可能な内視鏡システムの開発及び実際のヒト動脈硬化病変の観察が今後の課題である。

6. まとめ

形態変化の情報に依存しない新しい画像診断モダリティとして、近赤外HSI技術の検討を行った。構築したHSI系により、波長1150–1720 nm域において2種類の動脈硬化病変ファントム(露出病変ファントム及び初期病

変ファントム)の観察を行った。結果、波長1150–1320 nmの吸収スペクトルを用いたHSIの解析により、0.5及び1.0 mmの正常血管ファントム下であっても、粥状プラークを模擬した牛脂部分の描出を行うことができた。脂肪の吸収を持ち、水の吸収が比較的低い波長1200 nm付近の連続した波長データを用いる事で、粥状プラークを検出できる可能性がある。

参考文献

- 1) 高谷 典秀, 代田 浩之: 脈管学 **48** (2008) 456.
- 2) 栗津 邦男: 赤外レーザー医工学 (大阪大学出版, 尼崎, 2008) 第4章.
- 3) H. F. Grahm and P. Geladi (ed): *Techniques and Applications of Hyperspectral Imaging Analysis* (John Wiley & Sons Ltd, England, 2007).
- 4) 尾崎 幸洋, 河田 聡(ed): 近赤外分光法 ([日本分光学会測定法シリーズ32]学会出版センター, 東京, 1996).
- 5) P. R. Merono, R. A. Lodder, K. R. Purushothaman, W.E. Charash, W. N. O'Connor, and J. E. Muller: *Circulation* **105** (2002) 923.
- 6) 齊藤 康: 動脈硬化の臨床 (医薬ジャーナル社, 1997) p.133.
- 7) 平山 篤志: 生活習慣病News&Views **13** (2009) 12.
- 8) 中島 康秀, 太崎 博美: 動脈硬化最新の基礎と臨床 (永井出版, 2006) p.33.
- 9) 平山 篤志(ed): 血管内視鏡最新診療ガイド((株)メジカルビュー社, 東京, 2011) p.87.
- 10) F. G. Juan, W. B. David, K. W. Htut, L. A. Carlos, B. Angela, I. L. Eli, B. Roberto, G. S. Daryl, E. R. Albert, and L. K. Greg: *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **27** (2007) 387.
- 11) 山崎 睦夫, 島田 知明, 佐藤 俊一, 宮 隆雄, 大東 弘二, 芦田 廣, 小原 寛: レーザー研究 **30** (2002) 598.
- 12) C. E. Bissillon, M. M. Lanthier, A. L. Dufour, and G. Lamouche: *Proc. SPIE* **7161** (2009) 71612E.
- 13) 光武 良晃, 三浦 伸一郎, 朔 啓二郎: 脈管学 **50** (2010) 163.
- 14) N. Yamada, M. Higashi, R. Otsubo, T. Sakuma, N. Oyama, R. Tanaka, K. Iihara, H. Naritomi, K. Minematsu, and H. Naito: *Am. J. Neuroradiol.* **28** (2007) 287.
- 15) Z. Hajjarian, J. Xi, F. A. Jaffer, G. J. Tearney, and S. K. Nadkarni: *J. Biomed. Opt.* **16** (2011) 026005.
- 16) 佐藤 英俊, 小町 祐一, 朝倉 徹, 下瀬川 徹, 會澤 勝夫, 田代 英夫: 日本レーザー医学会誌 **25** (2004) 93.
- 17) K. Jansen, A. F. W. Van der Steen, H. M. M. Van Beusekom, J. W. Oosterhuis, and G. Van Soest: *Opt. Lett.* **36** (2011) 597.
- 18) N. Gat: *Proc. SPIE* **4056** (2000) 50.
- 19) 薦 瑞樹, 杉山 純一, 相良 泰行: 映像情報メディア学会誌 **56** (2002) 2037.
- 20) M. Milijakovic, T. Chernenko, M. J. Romeo, B. Bird, C. Matthaus, and M. Diem: *Analyst* **135** (2010) 2002.
- 21) A. M. Siddiqi, H. Li, F. Farque, W. Williams, K. Lai, M. Hughson, S. Bigler, J. Beach, and W. Johnson: *Cancer Cytopathol.* **114** (2008) 13.
- 22) H. Akbari, Y. Kosugi, K. Kojima, and N. Tanaka: *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **57** (2010) 2011.
- 23) B. S. Sorg, B. J. Moeller, O. Donovan, Y. Cao, and M. W. Dewhurst: *J. Biomed. Opt.* **10** (2005) 044004.
- 24) S. V. Panasyuk, S. Yang, D. V. Faller, D. Ngo, R. A. Lew, J. E. Freeman, and A. E. Rogers: *Cancer Biol. Ther.* **6** (2007) 439.
- 25) E. L. P. Larsen, L. L. Randeberg, E. Olstad, O. A. Haugen, A. Aksnes, and L. O. Svaasand: *J. Biomed. Opt.* **16** (2011) 026011.
- 26) 古川 行夫, 高柳 正夫: 赤外・ラマン分光法 ([日本分光学会分光測定入門シリーズ6]) 講談社サイエンティフィック, 東京, 2009) p.131, 144.
- 27) 長谷川 健: スペクトル定量分析 (講談社サイエンティフィック, 東京, 2005) 第2章.
- 28) J.D. Caplan, S. Waxman, R. W. Nesto, and J. E. Muller: *J. Am. Coll. Cardiol.* **47** (2006) c92.
- 29) 居石 克夫: 福岡医誌 **100** (2009) 6.