

Introduction

眼底における酸素飽和度の測定は、糖尿病網膜症(Diabetic Retinopathy)・網膜虚血(retinal ischemia)をはじめとする網膜における血管障害を早期に発見する際の重要なパラメーターと考えられ、早期発見を目的とした健康診断にも使用できる非侵襲的な測定装置の開発が重要である。そこで我々は、分光イメージング技術を眼底に適用し、眼底血管における酸素飽和度マップを作成することを試みた。

眼底での酸素飽和度の測定は、信頼のおける手法としては現在もなお、Swan-Ganz catheterを用いた侵襲を伴うものである。光学測定では、1963年に Hicham らが 640 nm と 800 nm の 2 つの波長帯域フィルターを用いた測定を行った。帯域幅が 100 nm 以上と広いため定性的な測定であったが、最初の非侵襲的な試みである。

その後、Cohen and Laing, Delori, Tiedeman et al., Smith et al., らによって改良が進められ、4 波長を用いてより高精度化が計られている。これら波長帯域フィルターを用いる手法は、簡便であるが、被験者によるデータのばらつきが大きいという問題もある。我々の手法は、分光測定であるため装置が従来より複雑であるが、汎用性の高い手法である。一方、分光測定を眼底計測に適用する際の困難は、光量の制約が大きいことであった。分光分析の波長分解を高くすると、検出光量が不足するため高速な測定が行うことが困難になる。眼底の測定においては絶え間ない眼球運動が生じているため、測定的高速性を犠牲にするのは適切ではない。そこで、十分な測定光量を保ちながらも、不要な光を入射することによる眼障害・眼疲労を避けるため、あらかじめ分光した光によって眼底を照明し、吸光度測定を行うことでこれを解決した。

Retinal Oxymetry

従来の波長帯域フィルターを用いた手法では、主に 2 つの波長が用いられており、これに使用する波長選択が重要なポイントである。酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンとでは、可視から近赤外における吸光度スペクトルが異なっているが、等量点が数カ所あり、これを基準とした波長を 1~2 つ選択する。もう 1 つの波長は、HbO₂ と Hb との差が大きい部分を選び出し、基準波長との差を測定することによって、酸素飽和度を算出する。この手法では、基準波長と、差の大きい波長との間でヘモグロビンの吸光度が大きく変化しているために、検出器のダイナミックレンジを両方の最適な範囲内に納めるのが難しい。特に白内障を有する人など、各個人により眼底にいたる透過光量が異なっているため、それぞれに光量設定を変えなければならない。530-580 nm 近傍の波長では両者の吸光度変化量が大きいという点では比較的測定しやすい範囲であるが、吸光度が大きいため、照射光量を大きくする必要がある。その結果、被験者の負担が大きくなり、検出レンジの点でも SN の良い測定が難しい範囲であると言える。

我々の手法では、特に基準波長を選ばない。このため、任意のダイナミックレンジにおいて測定が可能であり、照明光量・検出器に課される制約が少なくなり、測定のばらつきを

防ぐことが可能となる。一般に、パルスオキシメトリーにおいては、800 nm の等吸収点を挟む近赤外光が用いられるが、網膜血管は層が薄く、吸光度の低い近赤外光では測定精度が十分に得られないため、今回の測定には適切ではないと考えた。

以下に測定手法を述べる。図 1 は、被測定血管の吸光度スペクトルの模式図であり、この血管の酸素飽和度を x ($0 < x < 1$) とし、このときの吸光度スペクトル曲線を、 $f(x, \lambda)$ とする。波線は、酸素化ヘモグロビン(HbO₂, 酸素飽和度 100%)および脱酸素化ヘモグロビン(DeoxyHb, 酸素飽和度 0%)の可視光域での吸光度スペクトルであり、それぞれ、 $f(1, \lambda)$, $f(0, \lambda)$ と表せる。

図 1、酸素化ヘモグロビン(HbO₂)および脱酸素化ヘモグロビン(DeoxyHb)の可視光域での吸光度スペクトル

このとき、式(1)の関係がある。

式(1)

いま、吸光度が A となるときの被測定血管、HbO₂ の波長をそれぞれ λ_a , λ_m とすると、この位置での吸光度が互いに等しくなることから式(2)を満たす。

式(2)

式(1)を代入して、 x を求める。

式(3)

つまり、

式(4)

吸光度曲線 $f(1, \lambda)$, $f(0, \lambda)$ は標準値であり、波長 λ_a , λ_m は観測値であるため、酸素飽和度 x は求められる。

この方法では、1つの吸光度に対応する波長を観測すれば良いため、検出系のダイナミックレンジに依存することなく、算出することができる。個人によりヘマトクリット値が異なるために吸光度は異なるが、この方法では吸光度の基準とする λ_a を測定ごとに変化させても構わない。下記に、式(4) から求めた観測波長 λ_a , λ_m に対する酸素飽和度の例を表に示す。585nm の等吸収点以降においては、 λ_a はできる限り長波長側を取る方が酸素飽和度の精度が良くなる。

表 1, 観測波長 λ_a , λ_m に対する酸素飽和度

Experiment

眼底スペクトルを測定するために、図 2 に示す光学系を用いた。分光画像計測システムは、一般的な眼底カメラよりも強力な白色光源を必要とし、さらに分光のための波長可変フィルターを適切な位置に配置する必要がある。そのため、光学系設計の自由度を確保する目的で、60cm 四方の光学定盤上に素子を配置しシステムを構成した。幾何光学的な基本構成は一般的な眼底カメラと同様に、角膜表面からの鏡面反射を抑制するための構造を有する照明系と、眼底からの反射光を撮像カメラに導くための結像系からなる。

光源には、300W のキセノンランプを用い、波長可変フィルターは VariSpec を用いて、波長レンジ 500 - 700 nm、波長分解 7 nm とした。測定レンジ以外の波長は色ガラスフィルターによってカットしている。また、分光された後の光を眼底に照射するため、通常の眼底カメラに比べても露光量は少なくなっている。これらにより、眼に対する安全性は JIS C 6802 および IEC 60825-1 の基準を満たしている。

図 2, 光学系

図 2 において、キセノンランプの照明は拡散板により均一化し、リングスリット像が角膜上に結像されるよう照明系を配置する。角膜を通過した照明光はそのまま広がり、網膜を均一に照明する。リングスリットを用いているのは、角膜上における照明光を、結像系の光軸上から外すためである。もし、結像系の光軸上に照明スポットがある場合、角膜で反射した光はフレアとして結像系の画質を劣化させる。眼底イメージングにおいては、眼底からの反射光が少ないため、フレアの扱いは特に重要である。

式(4)から分かるように、血管の酸素飽和度 x は、被測定血管の吸光度と 100%の酸素飽和度を持つ血管の吸光度とが等しくなるときのそれぞれの波長 λ_a , λ_m から求められるが、この波長 λ_a , λ_m のペアは、設定吸光度によりいくつも求めることができる。しかしながら、波長 λ_m ができる限り長波長側である方が測定誤差を小さくできる。長波長側では吸光度が小さくなるが、590 nm-600nm であれば特に感度の高い CCD を用いずとも、測定が可能である。本手法では CCD のダイナミックレンジに依存しない測定ができるため、用いた CCD の検出下限に吸光度を設定し、できる限り長波長側で波長 λ_a , λ_m のペアを求めた。

測定結果を示す。596-600nm において 2nm ごとに測定した網膜像を図 3 に示す。このデータセットから等しい直径を有する動脈と静脈とのペアの検出輝度をプロットしたものを

図 4 に示す。

図 3, 596-600nm において 2nm ごとに測定した網膜像

図 4, 動脈および静脈における吸光度 (550 nm - 650 nm)

破線は CCD の検出下限に近くなるように決めた吸光度である。この吸光度となる動脈と静脈におけるでの波長は、 $\lambda_a = 597 \text{ nm}$, $\lambda_m = 612 \text{ nm}$ となっているため、式(4)に代入すると、被測定点での酸素飽和度 49 % と求めることができる。

眼底における吸収は、光が網膜に入射するときと、網膜色素上皮(retinal pigment epithelium)で反射されて検出器方向へ戻ってくるときとの両方で生じていると考えられるため、動脈と静脈とのモル吸光度係数を比較するためには、Lambert-Beer の法則に従って、吸収を受ける光路長が決定されていなければならない。図??に示されているように、波長 584 nm では酸素飽和度に関わらずモル吸光度係数が一定となっている。この波長における画像は光路長に比例しているはずであり、血管の奥行き方向の厚さを表していると考えられる。このため、584 nm での輝度が等しくなる点で規格化し、血管径の影響を補正した。今回の測定は、波長 550 nm から 650 nm の帯域を 2 nm ごとに測定した。1 波長帯での計測時間は約 150 ms であり、全測定時間は約 7.5 秒となっている。この測定時間中にも眼球運動によって眼底像はシフトするため、画像間マッチングによって各スペクトル画像の位置合わせを行った。

本論文では、ヘモグロビン測光に付随する困難、特に吸光度の急激な変化を伴う領域での定量測定における問題を解決し、普及している安価な計測手段を用いても正確な計測が行える測定手法の提案を行った。