卵巣内の卵子活動を可視化するリアルタイム光干渉断層計の開発

2041031 研究代表者 山形大学大学院 理工学研究科 准教授 渡 部 裕 輝

Development of real-time optical coherence tomography to visualize the ovum activity in the ovary

[研究の目的]

哺乳動物の卵巣には発達段階の異なる卵胞お よび卵母細胞が多数存在し,その数は個体の成 長・加齢に伴って減少する。卵巣内に存在する 卵胞の数の動的変化を把握することは生殖能力 を判断する上で極めて重要である。繁殖生物や 生殖医療の分野においては卵胞発育機構の解明 が進み,初期卵胞の体外培養や卵巣組織の凍結 保存技術が飛躍的に進歩している。初期卵胞の 定量化は、これら技術の実用化に向けて大きな 貢献を果たすとともに,不妊治療などで問題と なっている卵巣予備機能の新しい評価として期 待できる。

そこで本研究では、卵巣内の発達段階の異な る卵胞の形態の断面構造画像と同時に生命活 動に基づく機能変化をリアルタイム観察する ため、非接触、非侵襲、高分解能な光干渉断層 計(optical coherence tomography, OCT)と安 価に並列演算が可能である GPU (graphics processing units)を用いた超高速画像処理を 開発する。本研究により「生きたままで」診断 できる画期的な解析技術を提供し、卵巣の機能 評価への応用展開を促進させる。 [研究の内容、成果]

1. OCT システムの開発

本研究で構築した光ファイバを用いた OCT の実験系を図1に示す。光源には中心波長854 nm, 半値全幅 56 nm の Exalos 社製の Super luminescent diode (SLD) を用いた。光源から 出射した光はサーキュレータ、ファイバカプラ を通り、光ファイバの細いコアから射出され、 サンプル側と参照ミラー側へ9:1の割合で分 波される。サンプルに照射された光は反射・散 乱され、その一部が戻ってくる。戻ってきた光 のうちレンズを通り光ファイバの細いコアに結 合した光のみが光ファイバに入り、その光と参 照ミラーからの反射光は再びファイバカプラで 合波され, 回折格子で分光された後, ラインス キャンカメラ (AViiVA EM4 1014, 1024 画素, 126 kHz, 12 bit) で1 ラインの画像として検出 され. フレームグラバーを介してコンピュータ に取り込まれる。2つのミラーで構成されたガ



図1 OCT システムの概要

ルバノスキャナにより X 方向、Y 方向にプ ローブ光が走査され、2次元または3次元の干 渉信号のデータとなる。干渉画像(1024×1024) pixels)が110フレーム/秒で取得できた。

2. GPU プログラムの開発

本研究で開発した GPU を用いた画像処理シ ステムのフローチャートを図2に示す。ホスト コンピュータで干渉画像 (1024×1024 pixels, 16 bit) を取得し、GPU メモリへ転送、32bit 型変換、局所平均・差分処理、線形補間による 軸変換, 逆フーリエ変換を行い, 構造 OCT 画 像 (1024×512 pixels, 8 bit) を求める。機能画 像を得るためドップラー OCT 処理を適応する。 処理に必要なフレーム数の OCT 画像が生成さ れた時、閾値以上の部分で計算を行わせる。算 出された画像は、構造画像と共に8bit型変換、 ホストコンピュータへ転送される。GPU メモ リ上の構造画像は次のフレームの計算に用いる ため、データをコピーし保持しておく。

3. コントラストの比較

これまでの研究において、卵胞内の卵母細胞 付近において、OCT 信号が時間的に変化する のを確認している。本研究では、OCT 画像に おいて時間的に変化領域のみをコントラストよ く可視化するため、フレーム間での分散、相関、 差の二乗をそれぞれ計算し、その違いを評価し た。通常の OCT 画像はサンプル表面での反射 強度が大きいため, log スケール (10 log

時間

(Re²+Im²)) で表示することで内部構造を見 やすくする。ここで、Re及びImは逆フーリ エ変換した実部及び虚部である。しかし, log スケールではわずかな変化が現れにくいので. さらに強度 (Re²+Im²). 振幅 (√Re²+Im²) で表した OCT 画像を用いて評価した。

卵巣は、25.5日齢のマウスから採取し、すぐ に測定を行った。なお動物実験は山形大学動物 実験委員会の承認のもと実施した。

同一箇所で2次元データを100フレーム取得 した。図3は反射光強度を log スケールで表し た構造 OCT 画像 (2.9 mm (横)×1.4 mm (深 さ)) である。図4(a)-(c) は、強度、振幅、 log スケールの構造 OCT 画像を用いて得られ た分散画像である。ここで分散の計算には47 レームを用いており, 強度, 振幅においては表 面付近の反射の影響が大きいため、それぞれ平 均値で割った値を利用している。3つの卵母細 胞の領域が強調されたことが確認できる。コン トラストを比較した結果,強度,振幅,logの 順であった。図5は相関画像である。ここで相 関は3x3の領域で計算をおこなっている。相 関の計算では、いずれも場合においてもコント ラストはよくなく、3つの画像に違いは見られ なかった。図6は画像の差の二乗による結果で ある。ここで SN 比をよくするために 3x3 の平



図3 マウス卵巣の OCT 画像







図6 差の二乗画像 (a) 強度 (b)振幅 (c) log

(b)

均値を利用した。分散と同様に画像コントラス トは,強度,振幅,Logの順でよかった。分散 画像と比較した結果,差の二乗のコントラスト のほうがよかった。

4. GPU による処理時間評価

コントラストの評価で最も良かった画像の差 の二乗による方法について,GPU処理時間を 評価した。干渉画像のGPUメモリへの転送か ら処理結果をGPUから転送するまでの時間を 測定した結果,1.48 ms であり,これは,フ レーム間隔時間 9.09 msより十分短い時間で あった。この結果より構造画像と機能画像がリ アルタイムに表示できることがわかる。図7は 各処理ごとの時間を評価したグラフである。

5. 3次元 OCT による評価

次に3次元 OCT 計測により卵巣の評価を 行った。3次元計測はこれまでのX方向のプ ローブ走査に加えて、Y方向では250箇所で4 フレームずつ合計1000フレーム取得した。図 8(a) は構造 OCT 画像をZ方向へ平均した画



図7 GPUによる各処理時間





図8 卵巣の3次元OCT (a) 平均画像, (b) 差の二乗, (c) (a) と (b) の重ね合わせ



図9 ボリュームレンダリングした画像

像である。図8(b)は差の二乗を計算し,卵 母細胞を強調した画像である。46個の卵母細 胞が確認できた。図8(c)は図8(a)と図8 (b)を重ね合わせた画像である。

また図9はこれらの3Dボリュームデータを レンダリングした画像である。これにより卵巣 内の卵母細胞の位置が可視化できた。

[今後の研究の方向、課題]

現在は ex vivo の試料を用いて OCT 計測に よる卵巣の評価を行ったが、今後は in vivo 計 測による評価が必要であり、それに向けた OCT システムの改良も必要となってくる。

OCT 画像の時間変化が卵母細胞の位置を描 画するのに有効な情報であることがわかった。 しかし、その詳細なメカニズムはわかっておら ず、今後は OCT 計測のみならず他の計測技術 も用いた調査が必要である。

[成果の発表、論文等]

学術論文

 <u>Yuuki Watanabe</u>, Kei Takakura, Reiko Kurotani, Hiroyuki Abe, "Optical coherence tomography imaging for analysis of follicular development in ovarian tissue," Applied Optics, Vol. 54, Issue 19, pp. 6111–6115 (2015)

学会発表

1. Yuuki Watanabe, Kei Takakura, Reiko Kurotani,

Hiroyuki Abe, "Analysis of follicular development in ovary using optical coherence tomography," Optics in the Life Sciences Congress, JT3A. 22 (12-15 April 2015)

- 太田拓実,<u>渡</u>部裕輝, "GPU による OCT 画像のリ アルタイム数値分散補償の検討",日本光学会年次 学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014, 7pP27 (5-7 November 2014)
- 鎌田あやね,<u>渡部裕輝</u>,高倉 啓,黒谷玲子,阿部 宏之 "GPU-OCT によるマウス卵巣機能のリアル タイム画像化システムの開発",日本光学会年次学 術講演会 Optics & Photonics Japan 2014, 7pP28 (5-7 November 2014)
- <u>渡部裕輝</u>,高倉 啓,黒谷玲子,阿部宏之"OCT を 用いたマウス卵巣内卵胞のリアルタイム計測",日 本光学会年次学術講演会 Optics & Photonics Japan 2014, 7aA2(5-7 November 2014)
- 高倉 啓,黒谷玲子,渡部裕輝,阿部宏之,"ドップ ラー光干渉断層画像化法を応用した高感度卵胞3次 元イメージング,"第32回日本受精着床学会総 会・学術講演会 基-6(1 August 31 July 2014)
- 高倉 啓,黒谷玲子,渡部裕輝,阿部宏之,"ドップ ラー光干渉断層画像化技術を応用した3次元卵胞イ メージングシステムの開発",第55回日本卵子学会 第1 群卵巣・卵子① O-2 (17, 18 May 2014)