Osaka University Knowledge Archive

Title	In vivo imaging of the rat cerebral microvessels with optical coherence tomography
Author(s)	里村, 泰光
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45328
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【6】

氏　　名	里　村　泰　光（さと むら やす ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４３４　号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	*In vivo* imaging of the rat cerebral microvessels with optical coherence tomography （光コヒーレンス断層法によるラット脳微小血管の in vivo 計測）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　柳田　敏雄 （副査） 教　授　福田　　淳　　教　授　永井　克也

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕

微小循環系の観察、特に in vivo での観察には主に光学顕微鏡が用いられる。しかし、生体は光に対して非常に強い散乱体であるため、観察可能深度は数十ミクロン程度に制限される。そのため、微小循環系の研究対象は、腸間膜や脳軟膜など臓器表面の２次元的な組織に制限されている。これに対して、光コヒーレンス断層法（Optical Coherence Tomography、OCT）は、低干渉性の近赤外光源を用いることにより、生体組織に対して、10μm 程度の空間分解能で数 mm 程度の深さまでその断層像を得ることが可能であることから、組織内における血管の立体的な走行や断面形状などの微小循環系の最も重要な役割である酸素などの物質輸送を理解するのに不可欠な情報を３次元的に取得できる可能性がある。特に、その厚さが 2～3 mm 程度である脳皮質に対して本手法を応用した場合、微小血管だけでなく神経細胞の３次元構築をも in vivo に観察できる可能性がある。

そこで我々は、脳皮質における血管断層像と血流速度の同時計測、更には、微小血管と神経細胞の三次元構築の in vivo 観察を行なうことのできる装置を開発し、神経－循環カップリングおよび脳皮質におけるコラム間相互作用の観察・解析を行なうことを究極の目的とし、本研究では、OCT システムの開発およびラット脳皮質の in vivo 計測を行なうことで、OCT の脳計測への応用可能性を探った。

〔方法ならびに成績〕

本研究で試作した OCT システムは、MIT の Fujimoto 等に倣って、低干渉性の近赤外光源である superluminescent diode（SLD）と光ファイバを用いたマイケルソン型干渉計で構成され、空間分解能が深さ方向に 8－16μm、横方向に 14μm であることを確認した。また、本システムの観察可能深度を確認するため、アルミ板上に置いたラット脳切片を用いて、その信号強度を観察したところ、脳表からの信号が最大で、皮質内部に向かうに連れて指数関数的に減衰していくこと、脳皮質の光に対する屈折率が 1.4 程度であることが確認された。この屈折率の値は基礎的なデータではあるが、脳皮質に対する光計測を行なっていく上で重要である。これにより脳表から光路長で 1.3 mm（実距離で約 0.93 mm）の位置でアルミ表面からの反射ピークが見られることから、脳組織内に強い散乱体が存在すれば

1 mm 程度の深さまで観察可能であることが確認された。

つぎに、両側頭頂部に観察窓を設けたラットに対して、脳皮質断層像の in vivo 計測を行なったところ、脳表を覆う硬膜、クモ膜、その間の脳脊髄液、および軟膜微小血管など解剖学的構造と非常によく一致した断層画像がおよそ 0.8 mm の深さまで取得することができた。また、硬膜を残した群では軟膜微小血管がクモ膜下腔の脳脊髄液中に浮遊しているように観察されるのに対して、硬膜を除去した群では軟膜血管が脳皮質中に埋め込まれた状態になっている事が確認された。このことから、これまで軟膜血管の光計測の際、視野の明瞭さ、信号の S/N 比の改善といった理由から硬膜を取り除くことが一般的であったが、この様な血管状態の変化は微小循環ネットワークの３次元配置、ならびに血圧や血流分布に影響を与えると考えられることから、今後、脳微小循環計測を行なうにあたっては注意を要する。

また、in vivo での OCT 計測の直後に脳を取り出して OCT による断層像と同一断面を持つ切片を作製した。微小血管を強調するためこの切片を FITC-GSL-1 で蛍光染色した後、共焦点顕微鏡により観察し OCT 画像との比較を行なった。本研究で用いた OCT 装置の空間分解能の限界から、深部での血管形状を比較することはできなかったが、表面形状は非常によく一致した画像の得られていることが確認された。

さらに、神経活動に伴って大脳皮質深部組織からの OCT 信号が増大するとの報告がされており、OCT の脳機能イメージングへの応用が期待されている。そこで、我々は、ラット下肢に対する電気刺激を行ない、対応する体性感覚領野における OCT 信号の変化を計測した。計測は体性感覚領野の同一点で深さ方向スキャンを繰り返し行ない、刺激前後 30 秒間（刺激は３－７秒の４秒間）の OCT 信号を記録した。硬膜を除去した群では、刺激開始数秒後から軟膜表面が上昇し始め、30 ミクロン程度上昇後援やかに元の位置に戻った。これに対し硬膜を残した群では、硬膜表面の位置変化は観察されなかったが、刺激開始後６－９秒で軟膜表面の数十ミクロンの上昇が見られた。刺激開始１－２秒後から脳表の上昇が見られるのは、局所脳血流量の増大と同時期であることから、反応性充血に関係しているものと考えられる。一方、コントロール時に軟膜表面から 60 ミクロン程の深さに観察される反射強度のピークに関しては、その深さ位置に時間的な変化が見られらない。このことは、反応性充血が脳表の数十ミクロン程度の浅い範囲で起こっていることを示唆している。

〔総括〕

試作した光コヒーレンス断層システムを用いて、ラット脳皮質に対する in vivo 計測を行なうことで、軟膜微小血管の空間的配位が硬膜の有無というプレパレーションの違いによって異なることを明らかにした。また、ラット下肢に対して電気刺激を与えると、体性感覚領野において、脳表から数十ミクロン程度の浅い範囲で神経活動に伴う反応性充血による脳表の隆起が観察された。さらに、OCT を用いて軟膜動脈の血流による反射信号のドップラシフト成分の観察も可能であることから、微小血管における血流速度の断面分布や脳皮質での機能イメージングに対しても OCT が有効であると期待される。

論文審査の結果の要旨

光コヒーレンス断層法（Optical Coherence Tomography : OCT）は低干渉性の近赤外光源を用いることで、10 ミクロン程度の空間分解能で、1 mm 程度の深さまで生体組織の内部構造を可視化可能な断層法である。本研究では、OCT をラット脳皮質の in vitro および in vivo 計測に応用することで、光計測を行なう際に重要な脳皮質の光屈折率などの基礎的なデータ、脳循環計測を行なう際に重要な硬膜の有無による軟膜血管の走行の変化、更には、脳賦活時の体性感覚領野での反応性充血が脳表から数十ミクロンのごく浅い範囲で起こっていることを示唆するデータ、など通常の光学顕微鏡では得ることのできない重要な結果を得ることができた。

以上のように、本研究は OCT をラット脳皮質の in vivo 計測に応用することで、OCT が従来の手法では得られない情報を齎してくれるものであり、今後の脳科学研究において重要な計測法であることを示唆しており、学位論文に値する。