

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5358578号  
(P5358578)

(45) 発行日 平成25年12月4日 (2013. 12. 4)

(24) 登録日 平成25年9月6日 (2013. 9. 6)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 B 5/1459 (2006. 01)  
A 6 1 B 1/00 (2006. 01)

A 6 1 B 5/14 3 2 1  
A 6 1 B 1/00 3 0 0 D

請求項の数 24 (全 23 頁)

(21) 出願番号 特願2010-525423 (P2010-525423)  
(86) (22) 出願日 平成20年9月19日 (2008. 9. 19)  
(65) 公表番号 特表2010-538785 (P2010-538785A)  
(43) 公表日 平成22年12月16日 (2010. 12. 16)  
(86) 国際出願番号 PCT/GB2008/003174  
(87) 国際公開番号 W02009/037464  
(87) 国際公開日 平成21年3月26日 (2009. 3. 26)  
審査請求日 平成23年8月19日 (2011. 8. 19)  
(31) 優先権主張番号 0718291. 8  
(32) 優先日 平成19年9月19日 (2007. 9. 19)  
(33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 502355761  
キングス カレッジ ロンドン  
イギリス ロンドン ダブリュシー2アー  
ル 2エルエス アン インスティテュー  
ト インコーポレイテッド バイ ロイヤ  
ル チャーター オブ ストランド  
(74) 代理人 100092783  
弁理士 小林 浩  
(74) 代理人 100095360  
弁理士 片山 英二  
(74) 代理人 100120134  
弁理士 大森 規雄  
(74) 代理人 100141025  
弁理士 阿久津 勝久

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 撮像装置および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

器官または組織の脈管構造を撮像し、前記脈管構造中の血液酸素測定値をマッピングするための撮像装置であって、

前記器官または組織を照明するための光源と、

ハウジング内に取り付けられて、前記照明された器官または組織から光を収集するレンズと、

緑色の波長を前記光から分離させる第1の光学フィルタと、

前記光の赤外線の波長から前記光の赤色の波長を分離させ、または前記光の青色の波長から前記光の赤色の波長を分離させる第2の光学フィルタと、

それぞれ前記収集した光の前記緑色の波長、前記赤色の波長、および前記赤外線の波長を撮像するための、またはそれぞれ前記収集した光の前記緑色の波長、前記赤色の波長、および前記青色の波長を撮像するための画像捕捉デバイスとを備え、

前記装置がマッピングすべき前記脈管構造の血液酸素測定を可能にする撮像装置。

【請求項 2】

器官または組織の毛細血管を撮像するための、請求項 1 に記載の撮像装置。

【請求項 3】

前記緑色、赤色、および赤外線の画像、または前記緑色、赤色、および青色の画像が同時に測定される、請求項 1 または 2 に記載の撮像装置。

【請求項 4】

前記光源が少なくとも緑色、赤色、および青色の光を放射する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

【請求項 5】

前記光源が赤外光を放射しない、請求項 4 に記載の撮像装置。

【請求項 6】

前記装置を校正して、前記画像を各画像の対応する点と位置合わせされるように重ねて、酸素濃度を計算し、その酸素濃度値を前記脈管構造の特定の点に割り当てることができるようにする、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 7】

第 3 の光学フィルタをさらに備える、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

10

【請求項 8】

前記フィルタがダイクロイックフィルタである、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

【請求項 9】

前記画像捕捉デバイスが CCD カメラである、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

【請求項 10】

前記画像捕捉デバイスがコンピュータに接続され、前記赤色および赤外線の使用して前記脈管構造の酸素濃度を計算する、請求項 1 ~ 4 , 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

20

【請求項 11】

ハウジング内に取り付けられる前記レンズが内視鏡である、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

【請求項 12】

前記光源が前記内視鏡を介して前記組織または器官を照明する、請求項 11 に記載の撮像装置。

【請求項 13】

前記光源が前記レンズおよび前記器官または組織から距離を置いて配置され、光が光ガイドによって前記器官または組織に伝送される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

30

【請求項 14】

前記光ガイドが前記内視鏡内に配置される、請求項 11 に依存する場合の請求項 13 に記載の撮像装置。

【請求項 15】

器官または組織の脈管構造を撮像し、前記脈管構造中の血液酸素測定値をマッピングするための撮像装置の作動方法であって、

光源が光を放射する工程、

レンズが、前記器官または組織からの光を収集する工程、

光学フィルタが、前記光の緑色、赤色、および赤外線の波長を分離し、または前記光の緑色、赤色、および青色の波長を分離する工程、

40

画像捕捉デバイスが、それぞれ前記光の緑色、赤色、および赤外線の波長を撮像し、またはそれぞれ前記光の緑色、赤色、および青色の波長を撮像する工程、および

コンピュータが、前記赤色および赤外線の画像、または赤色および青色の画像を使用して、前記脈管構造の酸素濃度を計算する工程を含む、方法。

【請求項 16】

前記画像捕捉デバイスが、前記緑色、赤色、および赤外線の画像、または前記緑色、赤色、および青色の画像を同時に測定する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記光源が少なくとも緑色、赤色、および青色の光を放射する、請求項 15 または 16 に記載の方法。

50

## 【請求項 18】

前記光源が赤外光を放射しない、請求項 15 から 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 19】

前記コンピュータが、前記赤色と赤外線画像の比率、または前記赤色と青色の画像の比率を計算して、前記脈管構造の酸素濃度を決定する、請求項 15 から 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記コンピュータが、前記撮像プロセスを校正して、前記画像を各画像の対応する点に位置合わせされるように重ねて、前記酸素濃度を計算し、その酸素濃度値を前記脈管構造の特定の点に割り当てることができるようにするステップをさらに含む、請求項 15 から 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 21】

CCDカメラが、前記光の前記緑色、赤色、および赤外線の波長、または前記光の前記緑色、赤色、および青色の波長を撮像する、請求項 15 から 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 22】

内視鏡が前記光を収集する、請求項 15 から 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 23】

前記内視鏡が前記光源を有する、請求項 22 に記載の方法。

## 【請求項 24】

脈管構造の研究に使用される、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の撮像装置。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、器官または組織の血管構造および血管の血流を撮像する装置および方法に関し、特に、血管組織およびリアルタイムの生体内の毛細血管の血流を撮像する選択波長の落射照明型内視鏡撮像装置に関する。この装置および方法の 1 つの可能な適用例は、軟組織病変の診断における血管特性の指摘である。

## 【背景技術】

## 【0002】

30

内視鏡は、非侵襲的診断および治療介入、革新的診断、ならびに幾つかの状態の管理のための、接近し難い人体の領域を撮像する医療に長く使用されてきた(1)。大抵の現在の医療内視鏡検査は、広い視野、白色光、落射照明によるカラー撮像(一定の照明または再構成 RGB 走査)を含み、画像は表面と表面下の反射を合計したものである(2)。大部分の観察された組織のコントラストが不足すると、生体(生体内)の染色または生検後の病理組織学的処理を行わずに、個々の細胞、組織、および腫瘍の境界を明確にするのが難しくなる。色素内視鏡検査(chromo-endoscopy)とよく呼ばれる前者の技法は、局所メチレンブルーまたはヨウ素を使用することが多いが、一部の技法では、損傷を受けた組織に酢酸またはプロテアーゼが選択的に準備される(3~6)。生体に染色された障害核の良い例が、(約 80~100 倍までの)拡大内視鏡の助けにより、生体内で食道腫瘍から示されている(4; 5; 7)。内視鏡の光コヒーレンストモグラフィ、分光法、および低コントラスト構造の回避を試みる共焦点系のコントラストが向上された撮像の利点も示されている(6; 8)。

40

## 【0003】

蛍光を使用して様々な成功の度合いで腫瘍を目立たせることもできる。Abe 他(2000)は、胃腸腫瘍自動蛍光検出のための LIFE-GI システム(Light Induced(自動) Fluorescence Endoscopy)を記載している(9)。しかし、この方法は、粘膜の厚さを変えずにさらに分散して侵入する恐れがある未分化癌をあまり明確にすることができない(9)。Bhunchet 他(2002)は、フルオレセイン静注(intravenous fluorescein)後に、早期胃癌の蛍光が、関連する間質

50

および早期癌縁を表すことを示した(10)。しかし、I Vフルオレセインの使用に対する重症タイプ1過敏症(アナフィラキシー)反応(重篤0.05%および軽度の副作用21%)の危険性から、この方法は、臨床的に使用するにはあまり魅力がないものである(11)。

#### 【0004】

マイクロ内視鏡検査(micro-endoscopy)は、70年代後半に子宮検査(コルポヒステロスコピー(colpohysteroscopy))のために最初に開発され、90年代後半に喉頭鏡検査のためにさらに開発された(12)。Watson他(2002)は、血管を撮像し、ねじれたらせん状のパターンと一致する口腔の舌と唇の粘膜内の規則的な毛細血管網を示すことができる、ホプキンスパターン(Hopkins pattern)のコルポヒステロスコピーによる二重共焦点および落射照明の接触(contact)マイクロ内視鏡機器を開発した(8)。

Yao他は、拡大内視鏡を使用して、同様の規則的な非癌性の胃粘膜の上皮下毛細血管網を示し、胃中の正常な構造の変化を表した。胃の体部は収集細静脈を有する蜂巢状網を示したが、前庭部はコイル形状網パターンを示した(13)。

#### 【0005】

白色光照明でマイクロ内視鏡で観察された色変化は、早期胃癌の血管の構造および密度と良好に相関する(13~15)。分化癌腫は、正常な粘膜の毛細血管パターンと置換された増殖する口径不同の不規則な血管の明確な境界による領域を示すが(15~18)、未分化病変部は、相対的な毛細血管密度の損失を有する境界があまり明確でない領域を示す(13)。

#### 【0006】

Kumagai Y.他(2002)は、さらに進行した浸潤食道癌で、毛細血管ループパターンが、粘膜下組織に及び進行腫瘍に発生した腫瘍血管に完全に置換されるまで、進行性の拡張および伸長を示したことを同様に指摘した(5)。局所アドレナリンは、正常な(胃の)粘膜に、赤色から、予測される虚血および血管収縮を示す白色にバランスをとらせるが、癌病変部は同一の暴露後に腫瘍微小血管の強化を示し、腫瘍脈管構造内の正常なカテコールアミン制御からの逃避を示唆する(19;20)。

#### 【0007】

電子内視鏡画像から得られる赤色および緑色の画像を使用する比較アルゴリズムにより、Tsuji S.他(1991)は、胃潰瘍の共局在化画像からの画素によるヘモグロビン含量値の計算を可能にした。したがって、血管病変部のヘモグロビン含量が、正常な粘膜と比較すると、進行性潰瘍では下がり、活動的に治癒される潰瘍では上がった(21)。

同様の狭帯域照明撮像技法およびレーザ走査顕微鏡を使用して、Nakayoshi T他(2004)は胃腫瘍の微小血管の3D画像を構築した(22)。

#### 【0008】

病理組織学的アッセイの多血症は、脈管形成(新しい血管の形成、血管新生)が口腔悪性病変の進行および悪化に不可欠であり、異形成症、すなわち上皮内癌腫の新形成および侵入/悪化を示している恐れがあることを証明した(23~32)。しかし、この発見を裏付ける直接の体内画像研究はごく少数しか報告されていない。

#### 【0009】

Uppile他(2006)は、先ずフィルタにかけていない白色光落射照明のホプキンスパターンのマイクロ内視鏡を使用して、咽頭に転位位置された遊離空腸移植片の微小血管の開存性および流れを定性的に観察し、術中の茎血栓を監視することを主張している(33)。

#### 【0010】

従来技術は、明らかに、生検が不要な撮像構成が古典的な反射モード機器であるという興味深い難問を提示している。反射モード機器では、一般に、一部の著者によって指摘されているように、高倍率の内視鏡を使用しても、組織間のコントラストが不足する。血管組織の優れたコントラストを得る方法が不明瞭である。

#### 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0011】

【非特許文献1】(1) Hoffman A, Kiesslich R, Bender A, Neurath MF, Nafe B, Herrmann G et al. Acetic acid-guided biopsies after magnifying endoscopy compared with random biopsies in the detection of Barrett's esophagus: a prospective randomized trial with crossover design. *Gastrointest Endosc* 2006; 64(1): 1-8.

【非特許文献2】(2) Cotton & Williams. *Practical Gastrointestinal endoscopy*. London: Blackwell Scientific, 1996: 1-11.

【非特許文献3】(3) Suzuki S, Murakami H, Suzuki H, Sakakibara N, Endo M, Nakayama K. An endoscopic staining method for detection and operation of early gastric cancer. *Int Adv Surg Oncol* 1979; 2:223-241. 10

【非特許文献4】(4) Sugano K, Sato K, Yao K. New diagnostic approaches for early detection of gastric cancer. *Dig Dis* 2004; 22(4):327-333.

【非特許文献5】(5) Kumagai Y, Inoue H, Nagai K, Kawano T, Iwai T. Magnifying endoscopy, stereoscopic microscopy, and the microvascular architecture of superficial esophageal carcinoma. *Endoscopy* 2002; 34(5):369-375.

【非特許文献6】(6) Inoui H, Kudo S, Shiokawa A. Laser scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observations of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology and Hepatology* 2005;31-35.

【非特許文献7】(7) Kumagai Y, Michio I, Yamazaki S. Magnifying endoscopic observations of the upper gastrointestinal tract. *Digestive Endoscopy* 2006; 18:165-172. 20

【非特許文献8】(8) Watson TF, Neil MAA, Juskaitis R, Cook RJ, Wilson TF. Video rate confocal Endoscopy. *Journal of Microscopy* 2002; 207:37-42.

【非特許文献9】(9) Abe S, Izuishi K, Tajiri H, Kinoshita T, Matsuoka T. Correlation of in vitro autofluorescence endoscopy images with histopathologic findings in stomach cancer. *Endoscopy* 2000; 32(4):281-286.

【非特許文献10】(10) Bhunchet E, Hatakawa H, Sakai Y, Shibata T. Fluorescein electronic endoscopy: a novel method for detection of early stage gastric cancer not evident to routine endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2002; 55(4):562-571. 30

【非特許文献11】(11) Watson AP, Rosen ES. Oral fluorescein angiography: reassessment of its relative safety and evaluation of optimum conditions with use of capsules. *Br J Ophthalmol* 1990; Aug;74(8):458-461.

【非特許文献12】(12) Andrea M, Santos Dias O. Contact endoscopy during micro-laryngeal surgery. A new technique for the endoscopic examination of the larynx. *Ann Oto Rhino Laryngol* 1995 104 333-339.)

【非特許文献13】(13) Yao K, Iwashita A, Kikuchi Y, Yao T, Matsui T, Tanabe H et al. Novel zoom endoscopy technique for visualizing the microvascular architecture in gastric mucosa. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(7 Suppl 1):S23-S26.

【非特許文献14】(14) Yao K, Yao T, Matsui T, Iwashita A, Oishi T. Hemoglobin content in intramucosal gastric carcinoma as a marker of histologic differentiation: a clinical application of quantitative electronic endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2000; 52(2):241-245. 40

【非特許文献15】(15) Yao K, Oishi T, Matsui T, Yao T, Iwashita A. Novel magnified endoscopic findings of microvascular architecture in intramucosal gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2002; 56(2):279-284.

【非特許文献16】(16) Tajiri H, Doi T, Endo H, Nishina T, Terao T, Hyodo I et al. Routine endoscopy using a magnifying endoscope for gastric cancer diagnosis. *Endoscopy* 2002; 34(10):772-777.

【非特許文献17】(17) Otsuka Y, Niwa Y, Ohmiya N, Ando N, Ohashi A, Hirooka Y et 50

t al. Usefulness of magnifying endoscopy in the diagnosis of early gastric cancer. *Endoscopy* 2004; 36(2): 165- 169.

【非特許文献 1 8】(18) Ohashi A, Niwa Y, Ohmiya N, Miyahara R, Itoh A, Hirooka Y et al. Quantitative analysis of the microvascular architecture observed on magnification endoscopy in cancerous and benign gastric lesions. *Endoscopy* 2005; 37(12):1215-1219.

【非特許文献 1 9】(19) Hiki Y. Endoscopic diagnosis of mucosal cancer. *Semin Surg Oncol* 1999; 17(2):91-95.

【非特許文献 2 0】(20) Fukui H, Shirakawa K, Nakamura T, Suzuki K, Masuyama H, Fujimori T et al. Magnifying pharmacoendoscopy: response of microvessels to epinephrine stimulation in differentiated early gastric cancers. *Gastrointest Endosc* 2006; 64(1):40-44.

【非特許文献 2 1】(21) Tsuji S, Kawano S, Hayashi N, Tsujii M, Ogihara T, Kamada T et al. Analysis of mucosal blood hemoglobin distribution in gastric ulcers by computerized color display on electronic endoscopy. *Endoscopy* 1991; 23(6) :321-324.

【非特許文献 2 2】(22) Nakayoshi T, Tajiri H, Matsuda K, Kaise M, Dcegami M, Sasaki H. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video). *Endoscopy* 2004; 36(12):1080-1084.

【非特許文献 2 3】(23) Pazouki S, Chisholm DM, Adi MM, Carmichael G, Farquharson M, Ogden GR et al. The association between tumour progression and vascularity in the oral mucosa. *J Pathol* 1997; 183(1):39-43.

【非特許文献 2 4】(24) Macluskey M, Chandrachud LM, Pazouki S, Green M, Chisholm DM, Ogden GR et al. Apoptosis, proliferation, and angiogenesis in oral tissues. Possible relevance to tumour progression. *J Pathol* 2000; 191(4):368-375.

【非特許文献 2 5】(25) Tipoe GL, Jin Y, White FH. The relationship between vascularity and cell proliferation in human normal and pathological lesions of the oral cheek epithelium. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996; 32B(1):24-31.

【非特許文献 2 6】(26) El-Gazzar R, Macluskey M, Ogden GR. Evidence for a field change effect based on angiogenesis in the oral mucosa? A brief report. *Oral Oncol* 2005; 41(1):25-30.

【非特許文献 2 7】(27) Jin Y, Tipoe GL, White FH, Yang L. A quantitative investigation of immunocytochemically stained blood vessels in normal, benign, premalignant and malignant human oral cheek epithelium. *Virchows Arch* 1995; 427(2): 145-151.

【非特許文献 2 8】(28) Dunstan S, Powe DG, Wikinson M, Pearson J, Hewitt RE. The tumour stroma of oral squamous cell carcinomas show increased vascularity compared with adjacent host tissue. *Br J Cancer* 1997; 75(4):559-565.

【非特許文献 2 9】(29) Shieh YS, Lee HS, Shiah SG, Chu YW, Wu CW, Chang LC. Role of angiogenic and non-angiogenic mechanisms in oral squamous cell carcinoma: correlation with histologic differentiation and tumor progression. *J Oral Pathol Med* 2004; 33(10):601- 606.

【非特許文献 3 0】(30) Carlile J, Harada K, Baillie R, Macluskey M, Chisholm DM, Ogden GR et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in oral tissues: possible relevance to angiogenesis, tumour progression and field cancerisation. *J Oral Pathol Med* 2001; 30(8):449-457.

【非特許文献 3 1】(31) Tae K, El-Naggar AK, Yoo E, Feng L, Lee JJ, Hong WK et al. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in head and neck tumorigenesis. *Clin Cancer Res* 2000; 6(7):2821-2828.

10

20

30

40

50

【非特許文献 3 2】(32) Li C, Shintani S, Terakado N, Klosek SK, Ishikawa T, Nakashiro K et al. Microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and platelet-derived endothelial growth factor in oral squamous cell carcinomas. Int J Oral Maxillofac Surg 2005; 34(5):559-565.

【非特許文献 3 3】(33) Upile T, Jerjes W, El Maaytah M, Hopper C, Searle A, Wright A. Direct microvascular monitoring of a free autologous jejunal flap using microendoscopy: a case report. BMC Ear Nose & Throat Disorders 2006 6 (14) doi: 10.1186/1472-6815-6-14.

【非特許文献 3 4】(34) Fearnley SJ. Pulse Oximetry . Practical Procedures 1995; issue 5:article 2:1.

10

【非特許文献 3 5】(35) Upile T, Fisher C, Jerjes W, El Maaytah M, Singh S, Sudhoff H, Searle A, Archer D, Michaels L, Hopper C, Rhys-Evans P, Howard D, Anthony Wright A. Recent technological developments: in situ histopathological interrogation of surgical tissues and resection margins. BMC Head & Face Medicine 2007 3 (13) doi: 10.1186/1746-160X-3-13.

【非特許文献 3 6】(36) Silverman S Jr, Dillon WP. Diagnosis in Oral Cancer 3rd Edn. Churchill Livingstone London 1982 pp21-31.

【非特許文献 3 7】(37) Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow up study of 257 patients Cancer 1984 53 563 - 568.

20

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0012】

本発明の目的は、血管組織および毛細血管の血流の撮像を向上させるための撮像装置および方法を提供することである。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0013】

本発明は、器官または組織の脈管構造を撮像するための撮像装置であって、前記器官または組織を照明するための光源と、ハウジング内に取り付けられて、前記照明された器官または組織から光を収集する 1 つまたは複数のレンズ装置と

30

前記光の緑色の波長を撮像するための画像捕捉デバイスとを備える装置を提供する。

#### 【0014】

本発明は、器官または組織の脈管構造を撮像するための方法であって、前記器官または組織を照明すること、前記器官または組織から光を収集すること、および前記収集した光の緑色の波長を撮像することを含む方法も提供する。

#### 【0015】

本発明は撮像に緑色の波長の光だけを使用する。それによって、血管組織についてはるかに優れたコントラストを得ることができ、脈管構造を画像上で良好に画定することができるようになる。緑色光を使用すると、脈管構造内の個々の赤血球 (RBC) を可視化することもできる。これを使用して、時間をかけた特定の RBC の動きの測定によって、リアルタイムの生体内の血流を測定することができる。

40

#### 【0016】

本発明者らは、どの特定の理論にも結果に対する責任を望むものではないが、緑色光を使用して得られるコントラストの向上がヘモグロビン (Hb) の光吸収特性によるものであると仮定する。ヘモグロビンは、哺乳類の RBC に含まれた赤色の酸素運搬鉄含有メタロプロテインである。本発明者らは、RBC が、簡易の色素含有の 6 ~ 8  $\mu\text{m}$  の両凹面円板として、光学フィルタとして働き、より深部の組織および界面に入る光とそれから反射

50

されて戻る光の両方の長い波長以外の全ての光の通過を阻止すると仮定する。これは、緑色光を使用すると血管組織の良好なコントラストが得られる理由を明らかにするものである。なぜなら、RBCが緑色光を強く吸収するために、暗い輪郭が現れるが、周囲の組織はこの波長の光を通過させることができるからである。

【0017】

器官または組織は、体外からアクセスすることができる任意の器官または組織でもよい。たとえば、これは、皮膚、口、胃腸管、呼吸器管、尿生殖路、および女性生殖器系の器官でもよい。これには、たとえば、腹部および骨盤の腔など小さい切開部を通した体腔内部、胸の関節および器官の内部の撮像も含まれる。たとえば、脳、眼、脊椎、膀胱、腎臓、肝臓、脾臓、および他のこうした器官の撮像も可能である。これには、妊娠中の羊膜、胎児、および臍帯の撮像も含まれる。

10

【0018】

脈管構造は組織または器官の血液を含む循環系である。これには、動脈、細動脈、毛細血管、細静脈、および静脈が含まれる。撮像装置は毛細血管の撮像に使用されることが好ましい。

【0019】

光源は器官または組織を照明するための任意の適した光源でもよい。好ましくは、光源は、レンズおよび器官または組織から距離を置いて配置され、光が光ガイドにより器官または組織に伝送されることによって、器官または組織が照明される。光ガイドは、たとえば光ファイバまたは光ファイバケーブルなど、光を光源から器官または組織まで案内するための任意の適したデバイスでもよい。

20

【0020】

光源は、広いスペクトルの波長にわたる、可視スペクトルに限定されない電磁放射線を放射することができる。たとえば、標準の内視鏡の光源は赤外線および紫外線の範囲の波長を放射することができる。主に白色光（ならびに幾つかの他の波長）を放射する適した光源は、当業者に周知である。光源は、緑色の波長の光を放射しなければならないが、他の波長を放射することもできる。緑色の波長の光は、490 nmから590 nmであると定義される。光源は、連続スペクトルの緑色の波長の光を放射することができ、または別法として、1つの個別の波長、幾つかの個別の波長、1つの範囲の波長、または幾つかの範囲の波長の緑色光を放射することもできる。したがって、以下の範囲は、範囲中の波長の連続放射を含むことを指すものではないが、これも包含するものである。光源は、好ましくは約490 nmから約590 nm、より好ましくは約500 nmから約570 nm、さらに好ましくは約520 nmから約560 nm、最も好ましくは約540 nmの光を放射する。

30

【0021】

ハウジング内に取り付けられるレンズは、照明された器官または組織から光を収集するための任意の適したレンズでもよい。これは、接触または生体内で作動するように設計されたレンズでもよい。こうしたアセンブリは当業者に周知である。好ましくは、ハウジング内に取り付けられるレンズは内視鏡である。内視鏡は身体内部を見るための医療機器であり、当業者に周知である。

40

【0022】

光源は内視鏡を介して器官または組織を照明することができる。光源が、レンズおよび器官または組織から距離を置いて配置される場合、光は光ガイドを使用して器官または組織に伝送され、光ガイドは内視鏡内に配置されることが好ましい。

【0023】

光は、ハウジング内に取り付けられたレンズによって収集された後、画像捕捉デバイスに伝送されて、緑色の波長の光が撮像される。これは任意の適した画像捕捉デバイスでもよい。こうした画像捕捉デバイスは、たとえばCCD（電荷結合デバイス）カメラおよび（CMOSセンサとしても知られている）アクティブ画素センサイメージャなど、当業者に周知である。画像捕捉デバイスはCCDカメラであることが好ましい。CCDカメラは

50



冷却されることが好ましい。

【0024】

画像捕捉デバイスを使用して、緑色の波長の光を撮像する。すなわち、緑色の波長の光を捕捉し、それから画像を生成する。装置の一実施形態では、光源から放射される光は白色光であり、または単なる緑色光以外の他の波長の光を含む。この実施形態では、画像捕捉デバイスは緑色光だけを検出することが必要である。たとえば、緑色光だけを通過させるが、他の波長の光を吸収または反射することができる光ファイバを使用することによって、緑色光だけを画像捕捉デバイス内に通過させることができる。別法として、光ファイバを画像捕捉デバイス自体に含めることもできる。光ファイバは当業者に周知である。たとえば、吸収性フィルタ、ダイクロイックフィルタ、単色光フィルタ、（緑色および全ての比較的長い波長の光を通過可能にする）緑色透過フィルタまたは長波長透過フィルタを使用することができる。緑色透過または単色光フィルタを使用することが好ましい。フィルタは、好ましくは約490nmから約590nm、より好ましくは約500nmから約570nm、さらに好ましくは約520nmから約560nm、最も好ましくは約540nmの波長を有する光を通過させることができる。

10

【0025】

一代替実施形態では、光源によって放射される光は、緑色光または特定の1つまたは複数の波長の緑色光である。この実施形態では、レンズから画像捕捉デバイス内に通過する光は緑色の波長であるため、フィルタが不要である。別法として、フィルタを使用して、画像捕捉デバイス内に通過する緑色の波長の範囲を狭くすることもできる。

20

【0026】

好ましくは、画像捕捉デバイスをコンピュータに接続して、コンピュータを使用して画像を記憶し、処理することができるようにする。これは、通常は1秒当たり約24個のフレームを使用するリアルタイムの撮像に重要であり、画像を容易に記憶し、画像を瞬時に表示することができ、それを後で容易に再検討することができるようにするものである。

【0027】

撮像装置を使用して、脈管構造内にRBCを含むヘモグロビンを有する任意の生物の器官または組織の脈管構造を撮像することができる。たとえば、ヒト、霊長類、哺乳類、魚、および大抵の脊椎動物を検査することができる。撮像装置は、好ましくは、ヒトおよび哺乳類に使用され、より好ましくは、ヒトに使用される。

30

【0028】

上記の本発明による装置および方法は、緑色光を使用して、RBCと周囲の組織のコントラストを最大にすることによって、血管組織の撮像の向上を可能にするものである。たとえば、幾つかの適用例を挙げると、これを使用して、軟組織の病変、新たに移植された器官、移植片（たとえば皮膚移植片）内の脈管構造および血流、ならびに、胎児仮死の場合の臍帯内の血流を分析することができる。本発明の主な利点の1つは、ヒトと獣医学の両方の多数の用途に使用することができる多目的のツールを提供することである。

【0029】

本発明の装置および方法を追加の装置と併せて使用して、血液酸素測定、すなわち血液の酸素濃度の測定を行うこともできる。

40

【0030】

血液の酸素濃度の測定に使用される最も一般的な技法はパルス酸素測定法である。これは、酸素化および脱酸素化ヘモグロビンの2つの異なる波長の吸収率に基づくものである。血液の吸収特性は、酸素濃度の状態によってスペクトルの赤色と赤外線領域で大幅に異なる。酸素化ヘモグロビンは脱酸素化ヘモグロビンよりも赤外光（850～1000nm）を多く吸収し、赤色光（600～750nm）を多く通過させる。こうした2つの比率の差を時間をかけて監視し、他の組織の吸収による背景「雑音」を考慮することによって、非常に正確な血液酸素濃度の読み取りを得ることができる。しかし、この技法には、この技法が主に（数ミリメートル四方の）大きい光ダイオードによって記録されるアンサンブル測定に大きく依存するために、幾つかの問題がある。こうした問題には以下が含ま

50

れる。

１．一般に使用されるデバイスの幾何形状では、光センサを取り囲むＬＥＤによって放射される光が、不完全に配置されたセンサからの読み取りエラー（半影効果）を生じ、直接の光が流れ出る。

２．単一点測定には、背景を除去するための長期間（数分間）の記録が必要とされる。この期間中、読み取りの誤りを招く恐れがある患者の動き（静脈の動き）および不規則な血流（静脈の拍動およびうっ血）など複数の問題が起こることが多い。

３．パルス酸素測定法は、この単一点の技法で提供される画像の不足により、血管の構造に関する情報を全く提供することができない。したがって、酸素濃度測定法は平均的であり、小さい毛細血管内の問題を全て見逃す恐れがある。

10

#### 【００３１】

本発明の他の目的は、脈管構造を直接撮像し、前例のない横方向分解能でこの脈管構造中の正確な血液酸素測定値をマッピングすることができるようにする装置および方法を提供することである。

#### 【００３２】

本発明は、光から緑色の波長を分離させる第１の光学フィルタ、および赤外線波長の光から赤色の波長の光を分離させる第２の光学フィルタ、ならびに赤色および赤外線波長の光を撮像する２つの追加の画像捕捉デバイスをさらに備える、上記の撮像装置（すなわち、器官または組織を照明するための光源、ハウジング内に取り付けられて照明された器官または組織から光を収集するレンズ、および光の緑色の波長を撮像する画像捕捉デバイス）も提供する。別法として、第２の光学フィルタは赤色の波長の光を青色の波長の光から分離することができ、２つの追加の画像捕捉デバイスは赤色および青色の波長の光を撮像する。

20

#### 【００３３】

上記で論じたように、血液の吸収特性は、酸素濃度の状態によって、スペクトルの可視および赤外線の領域中で大幅に異なる。酸素化ヘモグロビンは脱酸素化ヘモグロビンよりも赤外光（８５０～１０００ｎｍ）および青色光（４５０ｎｍ～５００ｎｍ）を多く吸収し、赤色光（６００～７５０ｎｍ）を多く通過させる。こうした比率の２つの差を時間をかけて監視することによって、非常に正確な血液酸素濃度の読み取りを得ることができる。

30

#### 【００３４】

好ましくは、赤色および青色の波長の光を分離し、監視して、血液酸素濃度を決定する。本発明者らは、驚くべきことに、赤色および青色の波長の光の使用が、赤色および赤外線の波長の光を使用するのと同じく正確であることを発見した。赤色および赤外線ではなく、赤色および青色を使用する利点は、器官または組織の照明に使用する光が赤外線の波長の光を含まないことである。この利点は、組織または器官が、組織または器官に損傷を与える恐れがある熱をあまり受けないことである。さらに、ヘモグロビンは加熱されると、正常なヘモグロビンと比較すると異なる吸収スペクトルを有するメトヘモグロビンに変わる。したがって、これは血液酸素濃度測定の正確さに影響を与える。

#### 【００３５】

本発明は、緑色、赤色、および赤外線波長の光を分離すること、それぞれ緑色、赤色、および赤外線波長の光を撮像すること、ならびに赤色および赤外線の画像を使用して脈管構造の酸素濃度を計算することをさらに含む、上記の撮像方法（すなわち、器官または組織を照明し、器官または組織からの光を収集し、収集した光の緑色の波長を撮像すること）も提供する。別法として、この方法は、光の緑色、赤色、および青色の波長を分離すること、それぞれ光の緑色、赤色、および青色の波長を撮像すること、ならびに赤色および青色の画像を使用して脈管構造の酸素濃度を計算することをさらに含む。

40

#### 【００３６】

そのため、脈管構造の血液酸素含量を測定し、マッピングすることによって、血液酸素測定が可能になる。緑色光撮像部分は、上記と同様に働き、脈管構造の画像を生成するこ

50

とができるようにする。赤外線および赤色の波長の画像、または青色および赤色の波長の画像も生成される。赤外線および赤色の画像、または青色および赤色の画像を使用して、血液酸素含量の瞬時のマッピングを計算することができ、次いでそれを脈管構造の画像と相関させることができる。それによって、脈管構造の画像のどの特定の点でも血液酸素含量の決定を行うことができるようになり、特定の R B C の酸素含量を提供することもできる。

#### 【 0 0 3 7 】

本発明のこの実施形態では、器官または組織を照明する光源は、少なくとも緑色、赤外線、および赤色の波長の光、または少なくとも緑色、青色、および赤色の波長の光を含まなければならない。緑色光は 4 9 0 n m から 5 9 0 n m であると定義され、赤色光は 6 0 0 n m から 7 5 0 n m であると定義され、赤外光は 8 5 0 n m から 1 0 0 0 n m であると定義され、青色光は 4 5 0 n m から 5 0 0 n m であると定義される。上記のように、光源は連続スペクトルの波長の光を放射することができ、または別法として、それぞれ特定の光の帯域の 1 つの個別の波長、幾つかの個別の波長、1 つの範囲の波長、または幾つかの範囲の波長の光を放射することができる。光源は赤外線の波長の光を放射しないことが好ましい。

#### 【 0 0 3 8 】

上記のように、フィルタは光の波長を収集するように選択された任意の適したフィルタでもよく、こうしたフィルタは当業者に周知である。たとえば、吸収性フィルタ、ダイクロイックフィルタ、または単色光フィルタを使用することができる。ダイクロイックフィルタを使用することが好ましい。

#### 【 0 0 3 9 】

たとえば、一実施形態では、第 1 のフィルタは、収集した光から緑色光だけを緑色の波長を測定するように設定された画像捕捉デバイス内に反射するダイクロイックフィルタでもよい。第 2 のフィルタは、赤色の波長を測定し、赤外線および青色を含む他の波長を通過させるように設定された画像捕捉デバイス内に赤色光だけを反射するダイクロイックフィルタでもよい。透過した光中の赤外線または青色の波長を、赤外線または青色の波長だけを測定するように設計された画像捕捉デバイスで測定することができる。さらに、画像捕捉デバイス上またはその中にフィルタを設けて、どの波長の光が画像捕捉デバイスに入り、またはそれによって検出されるかを正確に制御することができる。

#### 【 0 0 4 0 】

他の実施形態では、第 3 のフィルタを設けて、ユーザが画像捕捉デバイス内に通過する光の波長を最大に制御することができるようにする。たとえば、上記の実施形態では、第 3 のフィルタを使用して、赤外線または青色の波長以外の全ての光を反射することができる。その場合、赤外線または青色の波長がフィルタを通過して、赤外線または青色の画像捕捉デバイス内に入るようにすることができる。別法として、フィルタは赤外線または青色の波長を赤外線または青色の画像捕捉デバイス内に反射することもできる。それによって、対象の光だけが任意の 1 つの画像捕捉デバイスに入るようにして、背景の低減を助けることができる。やはり、画像捕捉デバイス上またはその中にさらにフィルタを設けて、どの波長の光が画像捕捉デバイスに入り、それによって検出されるかを正確に制御することができる。たとえば、第 1 のフィルタが全ての緑色の波長の光を画像捕捉デバイス内に反射させ、画像捕捉デバイス上またはその中の追加のフィルタが 5 4 0 n m の波長の光だけを検出するようにすることができる。

#### 【 0 0 4 1 】

当業者には理解されるように、画像捕捉デバイスに入る光の波長を幾つかの方法で制御することができる。それは、光源によって放射される光の波長の制御、フィルタによって分離または反射される光の波長の制御、および、たとえば画像捕捉デバイス上またはその中のフィルタにより画像捕捉デバイスによって検出される光の制御である。様々な程度の制御をどの特定の段階にも適用することができる。たとえば、緑色の波長の光に関して、光源は全ての波長の光を放射することができ、第 1 のフィルタは 5 2 0 n m から 5 6 0 n

10

20

30

40

50

mの波長を画像捕捉デバイスに向けて反射させることができ、画像捕捉デバイス上またはその中のフィルタは540nmの波長だけを検出するようにすることができる。こうした制御手段の1つ、幾つか、または全てを使用して、1つの特定の波長の光だけを画像捕捉デバイスで検出することができる。好ましい波長の光が様々な画像捕捉デバイスによって検出されるが、それらは以下のように制御される。緑色光については、好ましくは約490nmから約590nm、より好ましくは約500nmから約570nm、さらに好ましくは約520nmから約560nm、最も好ましくは約540nmの波長が検出され、赤色光については、好ましくは約600nmから750nm、より好ましくは約600nmから約700nm、さらに好ましくは約640nmから約680nm、最も好ましくは約660nmの波長が検出され、赤外光については、好ましくは約850nmから1000nm、より好ましくは約900nmから約1000nm、さらに好ましくは約890nmから約930nm、最も好ましくは約910nmの波長が検出され、青色光については、好ましくは約450nmから約500nm、より好ましくは約460nmから約490nm、さらに好ましくは約470nmから約480nm、最も好ましくは約475nmの波長が検出される。

10

#### 【0042】

上記のように、2つの追加の画像捕捉デバイスは、対象の特定の波長、すなわち、緑色、赤色、および赤外線、または緑色、赤色、および青色の波長を撮像するための任意の適した画像捕捉デバイスでもよい。こうした画像捕捉デバイスは当業者に周知である。好ましくは、画像捕捉デバイスは対象の特定の波長に最大感度を有し、または対象の波長だけに感応するように設定される。好ましくは、画像捕捉デバイスはCCDカメラである。好ましくは、CCDカメラは冷却される。CCDカメラの利点は、画像をリアルタイムで前例のない光学分解能で捕捉できるようにすることである。

20

#### 【0043】

脈管構造の酸素濃度を赤外線および赤色の画像を使用し、または赤色および青色の画像を使用して任意の適した方法で計算することができる。たとえば、赤外線と赤色の画像の比率をパルス酸素測定法と同様の方法で計算して、血液酸素含量のマップを得、それを脈管構造の画像と相関させることができる。別法として、青色と赤色の画像の比率を計算して、血液酸素含量のマップを得、それを脈管構造の画像と相関させることもできる。好ましくは、画像捕捉デバイスをコンピュータに接続し、コンピュータを使用して画像を記憶し、処理することができるようにする。これは、通常は1秒当たり約24個のフレームを使用するリアルタイムの撮像に重要であり、画像を容易に記憶し、画像を瞬時に表示することができる、それを後で容易に再検討することができるようになる。好ましくは、脈管構造の画像中の血液酸素含量の決定にコンピュータを使用する。これは、血液酸素含量の決定に複雑なアルゴリズムを使用する必要があるために好ましい。上記の装置および方法は、緑色、赤色、および赤外線の画像、または緑色、赤色、および青色の画像を同時に測定することが好ましい。それによって、リアルタイムの撮像を行うことができるようになる。

30

#### 【0044】

好ましくは、装置は較正され、方法は較正ステップを含む。この較正により、画像を各画像の対応する点と位置合わせするように重ねて、酸素濃度を計算し、その酸素濃度値を脈管構造の特定の点に割り当てることができるようになる。

40

#### 【0045】

器官または組織の脈管構造の血液酸素含量を測定し、マッピングすることができる利点は、それによって特定の点における血液酸素濃度の測定が可能になることである。これは、特定の器官または組織が血液供給を受けるだけでなく、酸素化血液供給を受けることを確保するために有用である。たとえば、これを使用して、新しく移植された器官が健全な酸素化血液供給を確実に受けられるようにし、酸素化血液供給を受けていない可能性のある器官の領域を画定することができるようになる。これを使用して、十分な酸素化血液が移植片（たとえば皮膚移植片）および胎児仮死の場合に臍帯に確実に存在するようにすること

50

もできる。この装置および方法を多くの他の用途に使用することもできる。

【0046】

次に、添付の図を参照し、例を用いて本発明を記載する。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】使用される可撓性撮像アームを示す概略図である。光学台構成要素は、ホプキンスパターンのコルポヒステロスコープ(E)(Karl Storz UK)を支持する3本の接合された(Jt)フレームに構成された。接合部の45度に角度付けられた表面の反射鏡(Mi)が内視鏡の斜面を関節接合および軸方向回転によってヒト組織(S)と良好に接触できるようにした。適応光学系(O)が、長波長透過ダイクロイック(Di)を介して導入された、フィルタリングされた540nmの光源からの緑色の落照明反射光(血管撮像モード)と488nmの蛍光照明源からの蛍光照明の軸を平行にするために必要とされた。Yokogawa共焦点ヘッドは、落射照明モードのNDフィルタとして働き、光断面の蛍光撮像に不可欠であった。全ての画像は単色CCD(CCD)によって検出された。

10

【図2】24fps.でのフレーム数当たりの距離(D)を確立する、後の毛細血管ループに沿った(AからBへの)赤血球の特定の総計によって作成された流れ推定を示す図である。サイズバー-100ミクロン。

【図3】ヒトの血液塗抹標本の透過撮像を示す図である。径8ミクロンのRBCが、波長を漸進的に短縮したフィルタにかけていない背景照明に対するコントラストの向上を示している。単色照明(縦に対にした画像)では、細胞内のヘモグロビンがより短い波長でより暗く現れる。リン脂質二分子膜のエッジ効果が波長の延長とともにあまり目立たなくなる。(全ての画像60倍/1.40NA油:照明波長:青色436nm、緑色518nm、赤色600nm)

20

【図4】青色436nm、緑色518nm、および赤色600nmの波長を使用して撮像した半吸収半反射スライド背景に対して撮像された赤血球フィルムを示す図である。マッチしたグレースケール画像が右側にあり、最長の波長ではコントラストが失われることを示しているが、コントラストパターンは反射撮像システムで別の方法で維持された。適当な画像生成機構として反射された波長への透過効果をさらに支持する無反射背景(左の650ミクロンフィールド)に対して構造の詳細を見ることができなかった。60倍/1.4NA油レンズ

30

【図5】口腔粘膜の異なる毛細血管構造を示す3つの図である。A:頬粘膜-比較的深部の供給細動脈からの長いねじれた毛細血管ループ。B:角化付着歯肉粘膜内の毛細血管ループの針状先端部だけが見え、上皮網突起(epithelial rete process)の間に隆起しているところが見える。C:舌の背側の乳頭(フレームの左上に見える粘膜のひだ)内の粘膜片内に隆起する弓状栄養血管からの分岐したねじれた毛細血管。スケールバー250μm。

【図6】局所麻酔を含むアドレナリンの皮下送達後の数回(分)の経時的な共局在視鏡画像を示す図である。暴露5分未満で、細動脈は閉塞したが、幾つかの小さい毛細血管は各領域で開通したままであった。注射後30分から60分で、血管収縮効果が消散し、視野が暴露前の画像に似たものになった。フィールド幅1mm。

40

【図7】9人のボランティアの平均血管分布における変化を示すグラフであり、コントロールはアドレナリンが導入されたときに画像フレームの血管占有率の大幅な低下を示しているが(対応のないt-検定)、それと異なり、コントロールデータは、少し下降し、5分目と10分目の間にほぼ正常に回復したことを示し、前はアクティブとコントロールグループの間に大きな差があったが、60分後に差がなくなったことを示している(対応のないt-検定)。アドレナリン性血管の供給抑制は30分から60分で正常に戻る。

【図8】アドレナリン血管収縮薬への暴露からしばらくした後の毛細血管中のRBD流の変化を示す図である。大抵の被験者に注射後の最初の10分間に統計的に重要でない流れの増加が見られたが、傾向は、これらの栄養血管および比較的深部の栄養血管へのアドレ

50

ナリン効果に関係なく、流れが安定したままであることを示唆している。

【図9】ほぼ同時の蛍光の(A)非角化口腔粘膜の写真(0.25%局所フルオレセイン(水))、および(B)540nmの落射照明による下の脈管構造が、正常な重なる口腔粘膜であると予想されて撮像された。800nmフィールド幅。

【図10】本発明による装置を示す概略図である。この概略図では以下のキーが使用される：L - 複数波長照明源；IL - 照明ビーム；M1 - 落射照明ビームを試料と位置合わせするためのデバイス；S - 検体組織；Ref - 反射/透過の組合せ信号；D1 - ダイクロイック1 - 緑色/黄色を選択；G Det - 緑色選択検出器；D2 - ダイクロイック2 - 可視赤色を選択；R Det - 可視赤色選択検出器；およびIR Det - 赤外線選択検出器。

10

【発明を実施するための形態】

【0048】

(例1)

本発明者らは、緑色光を使用して得られるコントラストの向上がヘモグロビン(Hb)の光吸収特性によるものであると仮定する。本発明者らは、RBCが、簡易の色素含有の6~8μmの両凹面円板として、光学フィルタとして働き、より深部の組織および界面に入る光とそれから反射されて戻る光の両方の長い波長の光以外の全ての光の通過を阻止すると仮定する。これは、緑色光の使用によって、血管組織の良好なコントラストが得られる理由を明らかにするものであり、RBCが緑色光を強く吸収するために暗い輪郭が現れるが、周囲組織はこの波長の光を通過させることができるためである。

20

【0049】

本発明者らは、撮像仮定の試験を行い、発見を口腔粘膜検査に適用した。装置を評価し、局所麻酔効果が2~3時間持続するが、血管収縮、したがって比較的無血の小さい口腔外科手術野は1時間も続かないという、かねてからの歯科医の所信を評価できるようにするために、臨床的に周知の1:80,000アドレナリンベースの局所麻酔剤を使用し、制御かつ時間制限された血管収縮を誘発した。

【0050】

(材料および方法)

生体外：

高コントラストRBC撮像が実際に透過フィルタリング効果であるという最初の仮定を研究するため、ヒトのRBCの一連の画像を、赤色、緑色、および青色の波長で反射と透過の両方の照明シナリオで獲得し、得られた画像を比較した。ボランティアからの新鮮なヒトのヘパリン化血を同量の無菌の通常の食塩水で希釈して、浸透による細胞損傷を回避した。「Spectra master」光源(Perkin Elmer LSR、Cambridge、UK)からの単色光の赤色、緑色、および青色の落射照明(青色436nm、緑色518nm、赤色600nm)の透過(20倍/0.80油、60倍/1.40油、100倍/1.30油)で薄層血液塗抹標本を見た(Olympus BX60顕微鏡、Olympus UK、London、UK)。再構成により、同じ機器を使用するが、血液塗抹標本を50%の白色(反射)および50%の艶消し黒(無反射)表面のスライドを使用して再作成し、反射撮像が可能になった。血液試料のグレースケール(256 Houndsfield number - 重みなしの線形変換)とカラー画像の両方が得られた。前者を一定パラメータの単色Cohuカメラ(4912CCDカメラ、Cohu、Inc. San Diego、USA)を使用して記録し、後者をNikonデジタルカメラ(Coolpix 5000、Nikon、Japan)を使用して記録した。

30

40

【0051】

透過と反射の両方の撮像モードで、背景波長に対するRBCの外観のグレースケールの差が、Lucida 4.0ソフトウェア(Lucida Analyse 4.0、Kinetic Imaging、Nottingham、UK)を使用して、RBCを表す10の領域および背景を表す10の領域の相対グレーレベルのトレーシングおよび比較によ

50

って数学的に推定された。この相対データにより、使用した波長ごとに導入されたエネルギーの変化が考慮された。

#### 【0052】

生体内：

この研究の生体内部分は、二重共焦点および落射照明の接触マイクロ内視鏡機器による口腔粘膜下血管構造の撮像に関する（図1を参照）。本質的に、剛体の光学台構成要素は、45度に角度付けられた表面の反射鏡を使用して単一平面接合部を通る光軸の位置合わせを維持する、ホプキンスパターンのコルポヒステロスコープ（Karl Storz UK）を支持する3部関節式フレームに構成された。最終アームの軸方向回転機能により、内視鏡の斜面がヒトの口腔組織と快適に接触することができるようになった。長波長透過ダイクロイックミラーが、488nmの青色照明を、Yokogawa共焦点ヘッドを通過する単色CCDによって検出された励起蛍光および（540+/-5nmの帯域透過フィルタ（Knight Optical、Harriets Ham、UK）反射画像から分離した。Yokogawa共焦点ヘッドは、落射照明モードでNDフィルタとして働き、共局在化光断面の蛍光撮像に不可欠であった。

10

#### 【0053】

9人の医学的に適合するボランティアが、540nmの落射照明源を使用する機器で下方口唇粘膜の最初のリアルタイムの撮像を受けた。撮像された粘膜の領域の輪郭が外科用皮膚マーカーで描かれ、従来の27ゲージの歯科用注射器で周知の量（<0.5ml）の皮下Xylotox（2%リドカインおよび1:80,000アドレナリン）（Dentsply Ltd、Surrey、UK）の共局在投与後に5、10、15、30、および60分の設定時間間隔で同じ局所粘膜を見ることができるようにした。

20

#### 【0054】

グリセロールカップリングを使用して、接触機器と口唇粘膜の光学的一体化を維持した。注射された境界が描かれた表面領域内の機器の動きが、血管組織構造および注射前と後の変化の調査を可能にするリアルタイムのビデオ撮像として認められた。4912CCDカメラでデータが収集され、AQM6ソフトウェア（AQM6、Kinetic Imaging、Nottingham、UK）を使用して記録された。血管の変化に関して、注入流体体積に与える可能性がある影響を検査するため、1人のボランティアについて同一体積の普通の食塩水の注入後に撮像が繰り返された。評価のために各時点および各ボラnティアに10秒（240フレーム）のビデオごとに2つの静止フレームが選択された。

30

#### 【0055】

画像分析（Lucida Analyse 4.0、Kinetic Imaging、Nottingham、UK）により、開存していた血管領域をトレーシングし、各フレームのパターンと血管組織の占有率の両方を記録することによって、各画像の血管含有率の計算が可能になった。ボランティアごとの時点による平均血管分布が記録され図で示された。さらに、リアルタイムの撮像の使用によって、各ビデオシーケンスを再検討し、第2の構成分子につき24フレームに分解することができた。

#### 【0056】

一定のフレームサイズ表示により、フレームごとに移動した距離を流量に置換することができ、対象の間および時間の経過で比較することができるようになった（図2を参照）。

40

#### 【0057】

（結果）

生体外：透過撮像

予想されたように、透過では、RBC内のヘモグロビンが比較的短い照明波長を吸収し、単色撮像で比較的暗い細胞が生成されたが、比較的長い波長ではコントラストが低減され、背景に近づいた。細胞膜のリン脂質二分子膜の光学的効果のみで、赤色の照明で血球の輪郭が描かれた（図3）。

#### 【0058】

50

グレースケール画像は、全体で256グレーレベル、黒から白色へ0～255、への不偏の変換、および単一C o h uカメラ設定（非オートゲイン）による画像を使用し、比較可能性を確保した。背景および細胞透過からのグレーレベルの平均の差により、比較的長い波長では同様のコントラストが示されたが、選択された最長波長ではあまりコントラストが見られなかった（表1）。波長ごとの異なるエネルギーを考慮するため、抽出した最も暗い（最低グレースケールレベル）領域（0.94736 = Dark in Blue / Dark in Green : 1.31411 = Dark - Blue / Dark - Red）の比較によって、細胞と背景のグレーレベルの差を青色の波長のエネルギーに基準化し、検出器のエネルギーが照明波長と共に明らかに変化するにも関わらず、同一の吸収パターンが示された（表1）。

【0059】

【表1】

表1

視野照明波長 全て60倍/1.4n a油レンズで撮 像	グレーレベル10 の背景の平均お よびSD	グレーレベル10 の細胞の平均お よびSD	背景と細胞の グレーレベル の差	青色436nmエネ ルギへの波長 補正後の背景 と細胞のグレイ レベルの差
436nm青色	238.55 (2.13668)	213.946 (2.28335)	24.604	24.604
518nm緑色	251.804 (1.30742)	224.932 (2.28393)	26.872	25.457
600nm赤色	181.53 (1.59937)	180.482 (1.54174)	1.048	1.377

表1：RBCは赤色よりも青色および緑色の落射照明で比較的暗くなった。背景に対するRBC含量（Hb）のコントラストは赤色の波長ではかなり低い。値は平均強度のグレーレベルに関連し、細胞と背景の値の比較は生データとして、かつ青色の照明への基準化として与えられ、様々な波長から検出器に到達するエネルギーの変動を示す。

【0060】

（反射型撮像構成）

半反射／半吸収スライド面上の反射で撮像した場合、比較的短い照明波長での同じ赤色細胞の吸収パターンが白色反射背景に対して示された（図4）。細胞と背景の両方が一貫して黒色（Hounsfield値25未満）であったことは、より深部の表面および組織の反射、したがって、細胞透照（trans-illumination）効果がWatson他（2002）（8）からのオリジナルの生体内反射撮像を明らかにしたことを示す。細胞の輪郭は、100倍／1.3naの対物レンズを使用してからうじて見えた。これは、特に生体内の内視鏡装置に含まれる低い倍率および開口数のシステムでは、細胞膜からの内部反射機構がいずれも非常に小さいことを示唆する。透照効果が、細胞を通る軸上の直接反射した光、または深部反射面から検出器に戻る細胞を斜めに通る反射した光からの2つの透過であるかどうかは依然として不明である。表2で示したように、波長による平均の背景と細胞のグレーレベルの比較では、より長い波長でコントラストが失われ、より短い波長ではコントラストが同様であることが示された。パターンは、前に透過モードで使用した基準化形式（0.69768 = Dark - Blue / Dark - Green : 0.70304 = Dark - Blue / Dark - Red）で保持された（表2）。背景に対する細胞の輪郭、したがってコントラストが全く識別できなかった。



【 0 0 6 1 】

【表 2】

表 2

視野照明波長 全て60倍/1.4n a油レンズで 撮像	グレーレベル10 の背景の平均お よびSD	グレーレベル10 の細胞の平均お よびSD	背景と細胞の グレーレベル の差	青色436nmエネ ルギへの波長 補正後の背景 と細胞のグ レーレベルの差
青色 (436nm)	60.3301 (1.33568)	43.2952 (1.32313)	17.0349	17.0349
緑色 (518nm)	86.4721 (1.51121)	66.8916 (1.47235)	19.5805	13.6609
赤色 (600nm)	85.8131 (1.49087)	77.2436 (1.20937)	8.5695	6.0247

10

表 2：RBCの背景に対するコントラストが、比較的短い波長を使用した明るい表面に対する反射撮像で維持された。反射赤色光の透過が、青色光エネルギーレベルに補正した場合でも、平均強度のグレーレベルの差を大幅に低減した。

20

【 0 0 6 2 】

(生体内内視鏡の発見)

生体内では血管内のRBC循環が黒点として表され、局所血管パターンをはっきり画定した。局所麻酔注射前の口唇粘膜の撮像は、はっきり画定されたより大きい径の深部栄養血管の混合であり、戻る流れのために端部に遠位ループを形成してねじりを増加するさらに浅い毛細血管につながるところを示した(図5)。頬側および舌下の粘膜を撮像した場合に同様のパターンが示された。しかし、角化粘膜では、付着した歯肉および硬口蓋を特徴とする、毛細血管ループの針状先端部だけが見え、おそらく針状先端部が上皮網突起の間に隆起しているところが見えた。舌の背側の乳頭では、粘膜片内に隆起する弓状栄養血管からのねじれた毛細血管である、第3の血管パターンが示された。

30

【 0 0 6 3 】

血管収縮後の撮像は毛細血管および大きい血管パターンのはっきりした変化を示した(図6)。予想されたように、可逆のアドレナリン血管収縮効果が局所麻酔に暴露した後に示された。興味深いことには、より深部の(筋肉壁の)細動脈血管が大部分の毛細血管ループと共に閉塞し、残りの幾つかが開存したままであったが、おそらく組織への栄養のベースラインを提供するものである。

【 0 0 6 4 】

注射前とそれぞれ注射後の全ての被験者についての画像フレーム血管分布の平均の変化が図7に示されており、全てのボランティアおよびコントロールされた被験者に対して等しい量の生理食塩水だけが注射された。画像フレームの血管占有率の平均低下は、コントロールデータでの17.63%の低下に対して、局所が導入された場合はベースラインレベルの約62.2%であった。コントロールの5分目と10分目の間の早期回復で血管レベルが正常なレベル付近に戻るが、アクティブグループでは血管供給の抑制が維持され、30分目と60分目の間で正常に上昇する。基準化データの対応のないt-検定は、血管分布の変動がLA被験者とコントロールの間でかなり差があることを示す。コントロール血管分布の小さい初期の低下は、おそらく、唇組織が比較的弛緩していても、27ゲージの針の挿入によってもたらされる真皮の外傷および緊張によるものである。

40

【 0 0 6 5 】

50

リアルタイム撮像は、毛細血管弧内のRBCの流れを示し、全てのボランティアの全ての時点に関するデータが収集され、流量を表すものとしてフレーム当たりの(1/24秒)移動距離として図に描かれた(図8)。蓄積平均流速データは、開存したままの毛細血管内の流れのわずかな上昇の(統計的に小さい(対応のないt-検定))傾向を示し、ベースライン組織支持のためのカテコールアミン不感性血管の局所の存在を示唆した。

【0066】

(論述)

我々の結果は、反射構成に関係なく、透過撮像効果がこの技法に関係し、RBCが照明システムの透過フィルタとして働くことを示す。照明エネルギーはより深部の組織平面および界面によって反射され、長い可視波長だけが重ねられたヘモグロビン色素を透過することができる。撮像は、かなりの赤色の筋肉を含むほど十分深くなかったが、筋肉のミオグロビン色素は十分に透照された場合と同じ効果をもたらすことができる。この同じ効果が、指先を通過する赤色および赤外線波長の部分吸収を使用して、酸化ヘモグロビンの赤色ずれに基づく患者の酸素飽和度を測定する、パルス酸素濃度計に使用される(34)。

【0067】

Yao他が胃で発見したように、撮像パターンで口腔粘膜中の異なる毛細血管/小さい血管パターンが確認された(13)。また、毛細血管網が全く存在しないため、平滑筋の壁で囲まれた細動脈の画像から、予想された主な収縮および損失、血流の主な調節物が全く見られなかった。アドレナリン作動性血管収縮効果の作図により、アドレナリンを含む局所麻酔によって約45分間にわたり比較的無血管野が獲得されるが、鎮痛薬効果はさらに2時間持続するという外科的合意が確認された。

【0068】

細動脈の閉塞に関わらず、全うっ血が観察されなかったことは、最小限の流量維持が、関係する組織中に維持されたことを示す。不連続な撮像は、流れの傾向しか示すことができない。麻酔下の調整で、長期にわたる特定の毛細血管床の絶対値、逆流、および短絡化を確認することができる。内視鏡が遠位の光学系を提供するので、最小限の外科的アクセス技法により、最小限の組織傷害で、このタイプの機器を器官の血流評価実験に適合させることもできるようになる(33)。

【0069】

Fukui他(2006)は、胃腫瘍の微小血管のアドレナリン刺激に応答する正常な粘膜の微小循環と異なる動きを示し、口腔、通常は扁平上皮細胞の癌腫脈管構造の動きをさらに検査する大きな弾みを提供した(20)。

【0070】

Otsuka他およびSugano他(2004)、ならびにOhashi他(2005)は、早期胃病変の構造を血管構造と相関させることができ、組織の生検をせずに病変の縁を画定することができることを発見し、血管撮像を補足するための顕微鏡評価の価値を報告している。これらの結果は、胃病変の早期検出および鑑別の可能性を約束するものである(4; 17; 18)。

【0071】

伝統的に、大抵の口腔病変の診断は、臨床徴候、および症状、ならびに病理組織学的特徴に基づくものであり、外科的処置(生検)を必要とする。血管腫、血腫、およびカボジ肉腫など血管病変の場合、生検は、術後のかなりの出血および感染の危険性を含む。その場合は大抵、特に免疫無防備状態の患者では、生検は、出血および外科医師への交差感染のさらなる危険をもたらす、それは可能であれば回避すべきであるが、診断は主に臨床知識およびこの場合だけの経験に基づくものである。したがって、非侵襲的診断技法および機器の開発は、血管病変だけの診断に大きな利益をもたらす、未来の非外科的な腫瘍の特性指摘に貢献することができる。

【0072】

血管病変の場合は、それぞれ解剖学的構造領域の従来の血管パターンの先天性または悪性の変化が各病変の性質によって生じる。Hbのコントラスト効果を使用して、非侵襲的

10

20

30

40

50

であり、事前の標識付けまたは他の準備が全て不要の、血管病変部のリアルタイムの生体内画像を提供する機器の開発は、血管病変、腫瘍の血管新生、ならびに治療への反応の診断に大きな利益をもたらすことができる。

【 0 0 7 3 】

この機器の適用では、共焦点円板顕微鏡は、非共焦点撮像パスのNDフィルタとして働く以外に直接の働きをしなかった。

【 0 0 7 4 】

しかし、機器の設計は共焦点機器の完全性を損なわず、局所フルオレセインの助けで、唇の重なる上皮の488nmの表面蛍光共焦点撮像も1人のボランティアで行われ、機器が、ほぼ同時の撮像によって、下にある血管構造と上に重なる口唇上皮（本質的癌が由来）の両方の撮像を行うことができることを示した。2つのシステムが同時に行われた場合は互いに無効になることが前に示されたが（8）、外科的インターベンションが不要の、ほぼ同時の表面および表面下の血管組織の検査のための機構が提供される（11）（図9）。

【 0 0 7 5 】

生検は、上部気道消化管病変の診断における臨床検査を依然として現在も代表的に補完するものである。脱落細胞検査法および生体染色技法は高い無病誤診率を有する（35、36）。Upile他は、メチレンブルー化学内視鏡による口腔粘膜検査で、頬粘膜を伸長して、一様な核の配置を明らかにし、領域の変化の報告/測量におけるリアルタイムの動的撮像および臨床の切除端のより良好な局在化の利点を挙げた。上皮内異形成および癌腫は、口腔癌の発生の従来の先触れであるが、癌腫は、おそらく変化の速度により、臨床的に形成異常特性が認められずに発生することが多い（37）。血管パターン撮像は、領域の変化を良好に検出し、より適時に細胞検査およびインターベンションを行うことができるようにする。上皮細胞の自然の基底から離れる（ab-basal）移動は、マイクロ内視鏡および断面撮像が下の上皮病理の検出および描画に重要な共同の役割を有することを示唆する（37）。

【 0 0 7 6 】

（実施例2）

皮膚の真下の毛細血管構造の直接撮像を可能にし、この毛細血管構造中の正確な血液酸素測定値を前例のない横方向分解能でマッピングするハンドヘルドデバイス。このデバイスは、固体内視鏡を介した皮膚の白色光照明の脂肪層による反射およびスペクトル分析に基づくものである。固体管によって収集された光が、慎重に選択されたダイクロイックフィルタによって3つの異なる段階に分離されてから、3つの異なるCCDカメラに合焦され撮像される。

【 0 0 7 7 】

第1のフィルタリング段（図10のD1）で、（次のフィルタリング段に進む）比較的長い波長からの反射光の緑色および黄色成分に分離される。この緑色-黄色光は強いヘモグロビン吸収の最高点に相当し、皮膚と脂肪組織の間の毛細血管構造を直接撮像できるようにする。

【 0 0 7 8 】

第2段（図10のD2）で残りの光が赤色と赤外線成分に分離され、次いでそれぞれの波長に最適化された別々のCCDカメラに個々に撮像される。次いで、この2つの信号の割合がパルス酸素測定法と同様の方法で計算されて、血液酸素含量の測定値が瞬時に得られる。

【 0 0 7 9 】

この方法によって、皮膚下に存在する血管の2つの異なるマップを得ることができるようになる。第1のマップは個々の毛細血管の直接の位置を示し、第2のマップは各毛細血管に沿った酸素測定値の読み取りを提供する。現在の最新のCCDカメラの第1のデータ獲得により、各マップを前例のない光学分解能でリアルタイムで得ることができるようになる。各画像画素の非常に高速のコンピュータでのさらなるリアルタイムの後処理により

、現在のパルス酸素測定アルゴリズムを適用し、画像中の各位置の非常に正確な酸素濃度測定値を得ることができるようになる。病院環境でデバイスの快適な操作を確保するには、光およびコンパクトな設計が必要である。これは、短い金属リンカーによって支持される正確な光学系と小型形態ファクタのケージアセンブリの正確な組合せで達成される。我々の設計では、各フィルタリング段がリンカーキューブに埋め込まれ、正しい選択のダイクロイックフィルタと帯域透過フィルタを含む。この構成では、各CCDカメラが互いに90度に、かつデバイスの軸から1インチ未満に位置付けられる。一体型光ファイバ光送出系を含む市販の固体内視鏡がデバイスの主な光軸に沿ってデバイスの前部に直接取り付けられる。この構成により、光源を遠隔に配置することができるようになり、快適な使用のためにできる限り軽量にすることができる。処理および表示に必要な光源およびコンピュータは遠隔に配置され、CCDカメラ制御ワイヤと共に光ファイバだけがデバイスに取り付けられる。

10

# 【符号の説明】

## 【0080】

J t 接合されたフレーム

E ホプキンスパターンのコルポヒステロスコープ

M i 表面の反射鏡

S ヒト組織

O 適応光学系

D i 長波長透過ダイクロイック

20

L 複数波長照明源

I L 照明ビーム

M 1 落射照明ビームを試料と位置合わせするためのデバイス

S 検体組織

R e f 反射 / 透過の組合せ信号

D 1 ダイクロイック1 - 緑色 / 黄色を選択

G D e t 緑色選択検出器

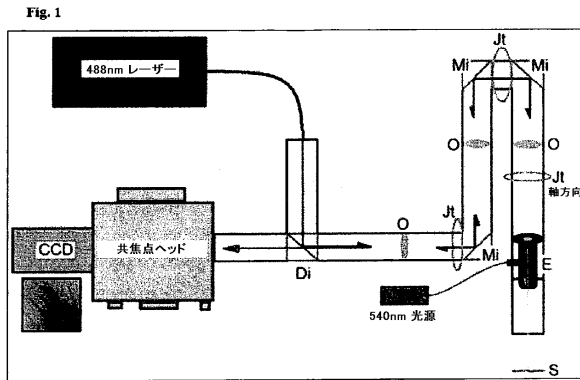
D 2 ダイクロイック2 可視赤色を選択

R D e t 可視赤色選択検出器

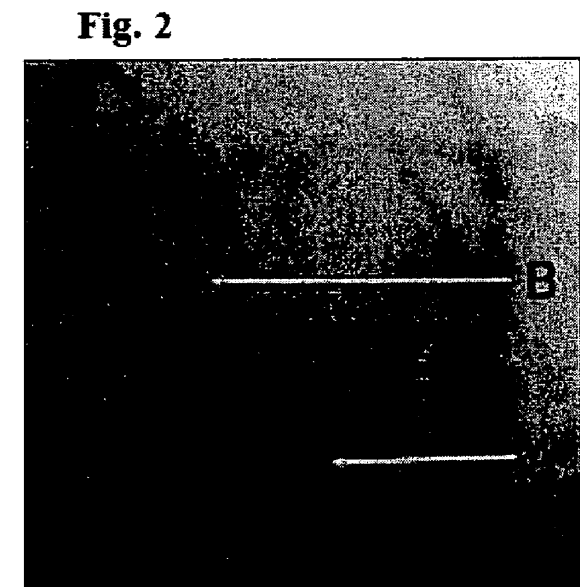
I R D e t 赤外線選択検出器。

30

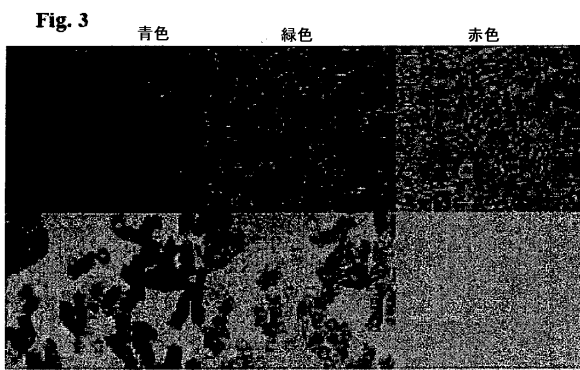
【図 1】



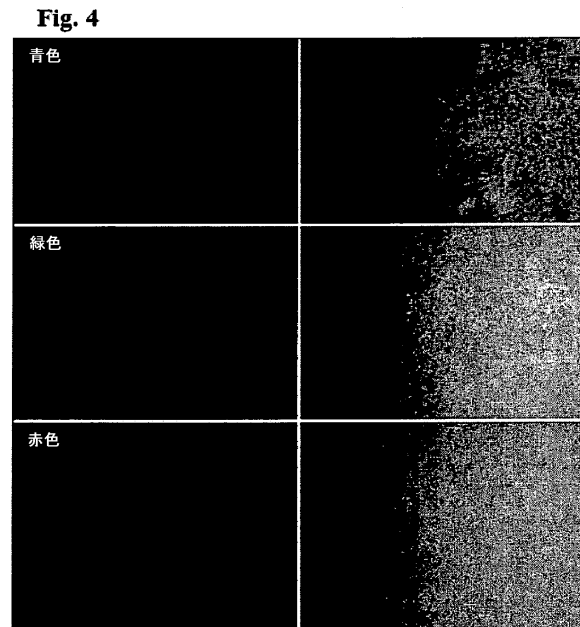
【図 2】



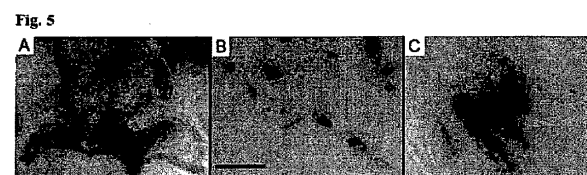
【図 3】



【図 4】

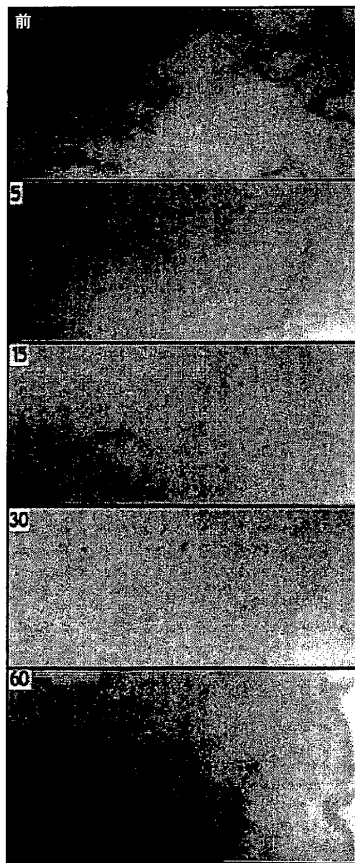


【図 5】



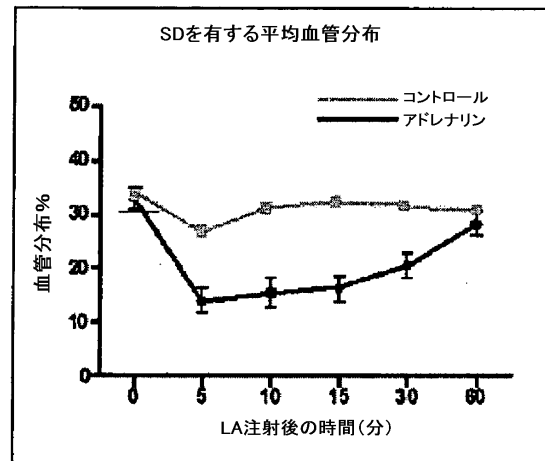
【図 6】

Fig. 6



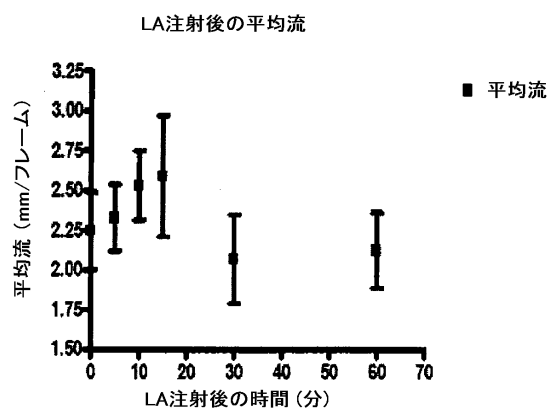
【図 7】

Fig. 7



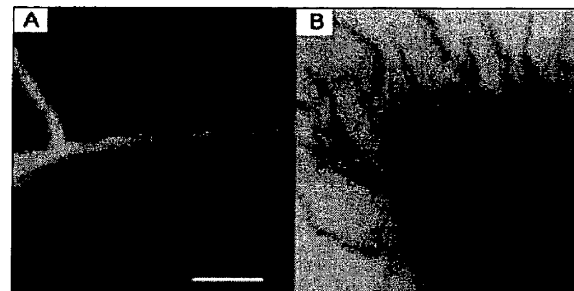
【図 8】

Fig. 8



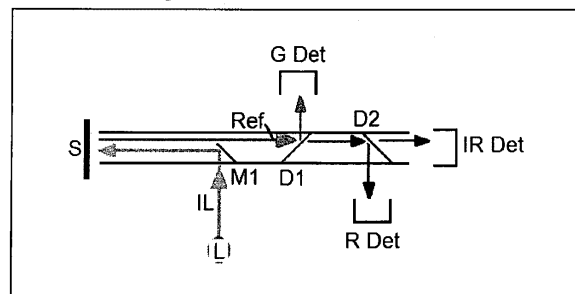
【図 9】

Fig. 9



【図 10】

Fig. 10



---

フロントページの続き

(74)代理人 100104282

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 クック, リチャード, ジェームズ

イギリス国 ロンドン エスイー1 9 アールティー, ロンドン ブリッジ, ガイズ ホスピタル  
, ガイズ タワー, フロア 17, デンタル インスティテュート, キングス カレッジ ロンド  
ン

(72)発明者 ワトソン, ティモティー

イギリス国 ロンドン エスイー1 9 アールティー, ロンドン ブリッジ, ガイズ ホスピタル  
, ガイズ タワー, フロア 17, デンタル インスティテュート, キングス カレッジ ロンド  
ン

(72)発明者 フェスティアー, フレドリック

イギリス国 ロンドン エスイー1 9 アールティー, ロンドン ブリッジ, ガイズ ホスピタル  
, ガイズ タワー, フロア 17, デンタル インスティテュート, キングス カレッジ ロンド  
ン

審査官 佐藤 高之

(56)参考文献 国際公開第01/015597(WO, A1)

国際公開第98/022018(WO, A1)

国際公開第99/066830(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61B 5/00 - 5/22

专利名称(译)	成像设备和方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP5358578B2</a>	公开(公告)日	2013-12-04
申请号	JP2010525423	申请日	2008-09-19
[标]申请(专利权)人(译)	伦敦国王学院		
申请(专利权)人(译)	伦敦大学国王学院		
当前申请(专利权)人(译)	伦敦大学国王学院		
[标]发明人	クックリチャードジェームズ ワトソンティモティー フェスティーフレドリック		
发明人	クック,リチャード,ジェームズ ワトソン,ティモティー フェスティーフレドリック		
IPC分类号	A61B5/1459 A61B1/00		
CPC分类号	A61B5/14542 A61B1/3137 A61B5/1459		
FI分类号	A61B5/14.321 A61B1/00.300.D		
代理人(译)	小林 浩 片山英二 铃木康仁		
优先权	2007018291 2007-09-19 GB		
其他公开文献	JP2010538785A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

用于对器官或组织的血管结构和血管的血流进行成像的装置和方法技术领域本发明涉及一种用于对器官或组织的血管结构和血管的血流进行成像的装置和方法，更具体地，涉及一种用于在体内实时成像血管组织和毛细血管的血流的装置照明型内窥镜成像设备。本发明还涉及确定器官或组织的血氧含量。

表1

視野照明波長 全て60倍/1.4na油 レンズで撮像	グレーレベル10 の背景の平均お よびSD	グレーレベル10 の細胞の平均お よびSD	背景と細胞の グレーレベル の差	青色436nmエネ ルギへの疲れ 補正後の背景 と細胞のグレ ーレベルの差
436nm青色	238.55 (2.13668)	213.946 (2.28335)	24.604	24.604
518nm緑色	251.804 (1.30742)	224.932 (2.28393)	26.872	25.457
600nm赤色	181.53 (1.59937)	180.482 (1.54174)	1.048	1.377