

眼球を対象とした超高精細ディジタイザーの開発と 人眼球のディジタイジング

横田 秀夫 (理化学研究所, hyokota@riken.go.jp)

川口 龍平 (東邦大第2眼科、理化学研究所)

中村 佐紀子 (理化学研究所)

矢部 比呂夫 (東邦大第2眼科、理化学研究所)

牧野内 昭武 (理化学研究所)

樋口 俊郎 (東大工, 理化学研究所)



生体情報の収集

生体のディジタイジング

- ・ X線CT
- ・ X線マイクロCT
- ・ MRI
- ・ 超音波診断装置
- ・ マイクロスライサを用いた3次元内部構造顕微鏡

力学的特性の収集

- ・ マイクロ引っ張り試験器
- ・ 引っ張り試験器
- ・ 試験片製作装置 (エキシマレーザ)

ボクセルデータ

力学的特性

ボクセルからのメッシュ生成

メッシュのスムージング化

3次元形状からのクラス分け

ボクセルデータからのメッシュ生成

六面体データ

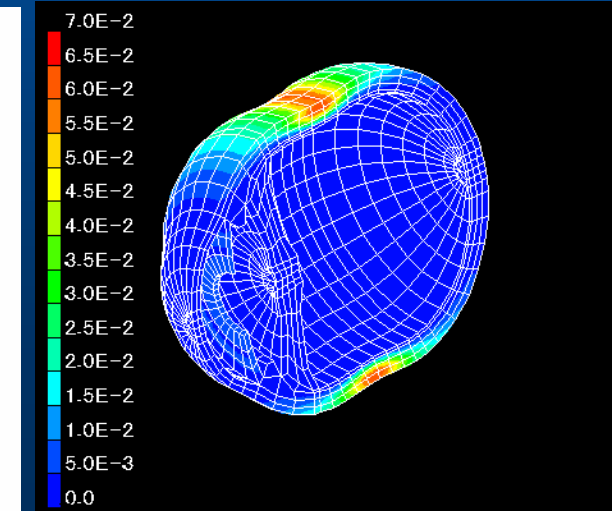
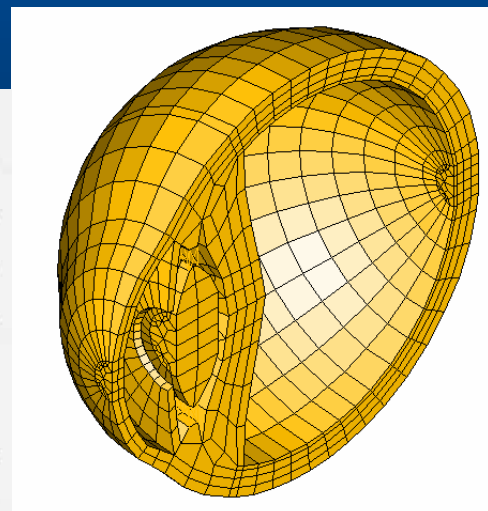
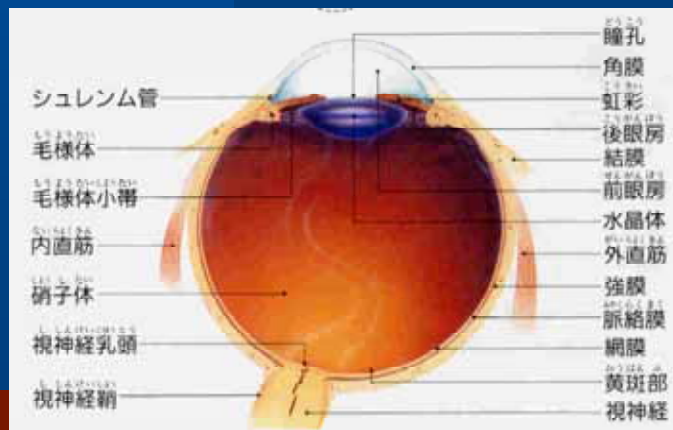
非線形FEMの開発

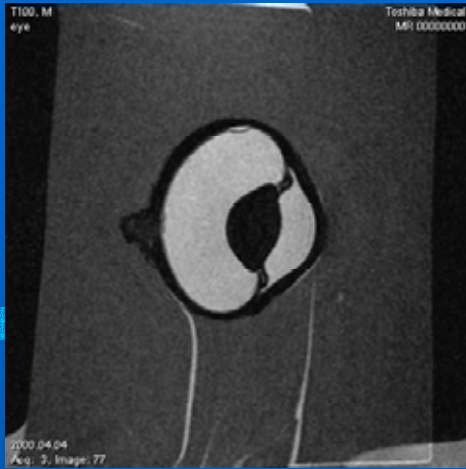
非線形FEMシミュレーション

器官の損傷シミュレーションチーム (眼球の傷害シミュレーション)

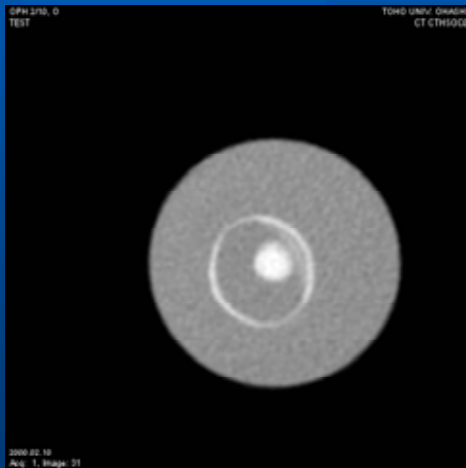
背景

- 我々は、眼球を対象としてFEMモデルを構築して、**現実に即した網膜剥離や眼球の外的損傷のシミュレーション**を目指した研究を進めている。
- このシミュレーションには生体の**形状情報が重要**であり、高精度のデジタル化手法が求められている。





豚眼のMRI画像



豚眼のCT画像

従来からの観察手法

観察方法	分解能	観察原理	問題点
MRI *A	mm	試料の核磁気	分解能, 高価
超音波CT *B	mm	超音波の反射率	分解能
X線CT *C	mm	X線透過率	分解能, 被爆
共焦点レーザー顕微鏡 *D	μm	試料中の蛍光	試料の透明度
Visible Human Project *E	mm	連続切片作製	切片間の位置

BUT



- ・試料の色情報が得られない。*ABC
(観察対象が1つのみである)
- ・観察の分解能が低い*ABCE
- ・観察対象物の範囲が小さい*D

生態試料の内部情報のデジタル化には不十分

3次元内部構造顕微鏡による生体試料のデジタル化

特徴：試料内部の形状データの取得が可能
 最小 1 μm の高精度デジタル化が可能
 色情報の取得が可能



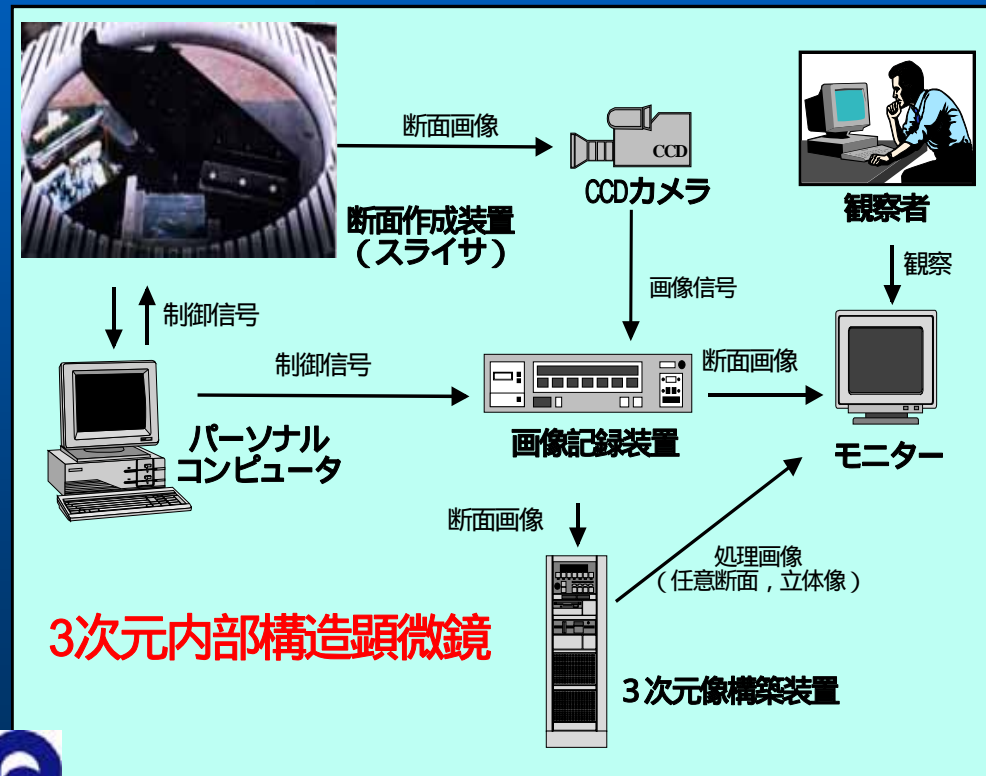
3次元内部構造顕微鏡と従来からの観察法の比較

3次元内部構造顕微鏡 (3D-ISM) とは？

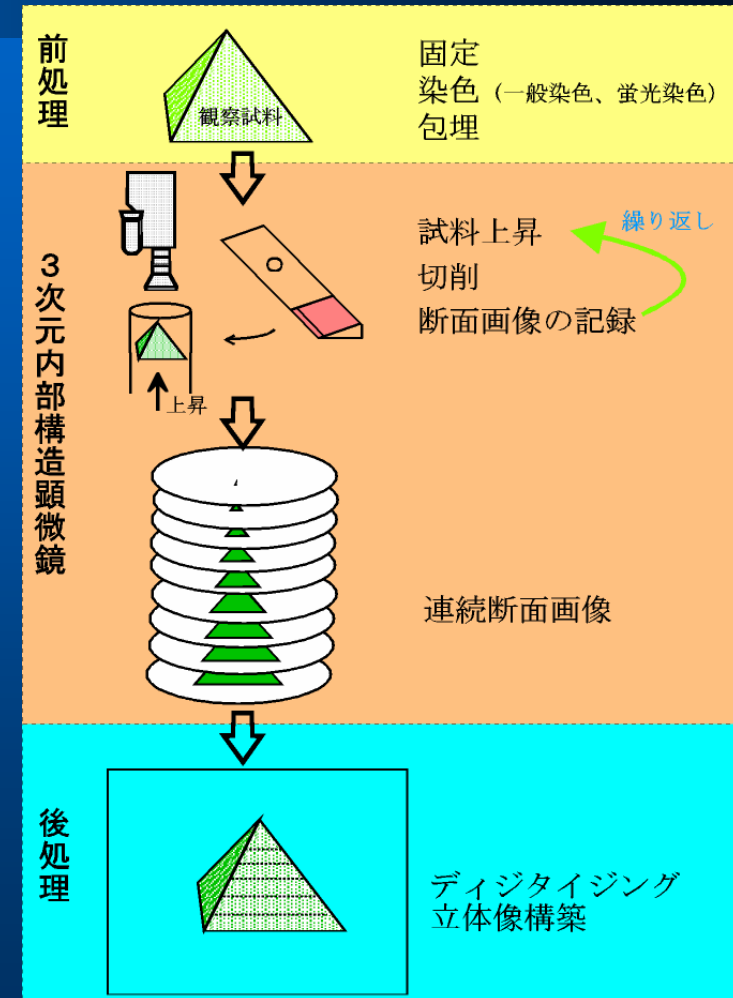
- 生体試料を固定した後、実際にその試料の上端を切断して、その断面画像を撮影する。その後切断したい量だけ試料を移動させる。この行程を繰り返すことにより、試料の内部情報を得る観察システムである。
- 得られた内部情報を元に画像処理により立体画像の構築が容易に可能である。
- また、実際に試料を切断することから、高分解能での観察や、試料の複数の部位を判別することが容易である。
- 1991年東京大学樋口教授提案



3D - ISM



システムブロック図

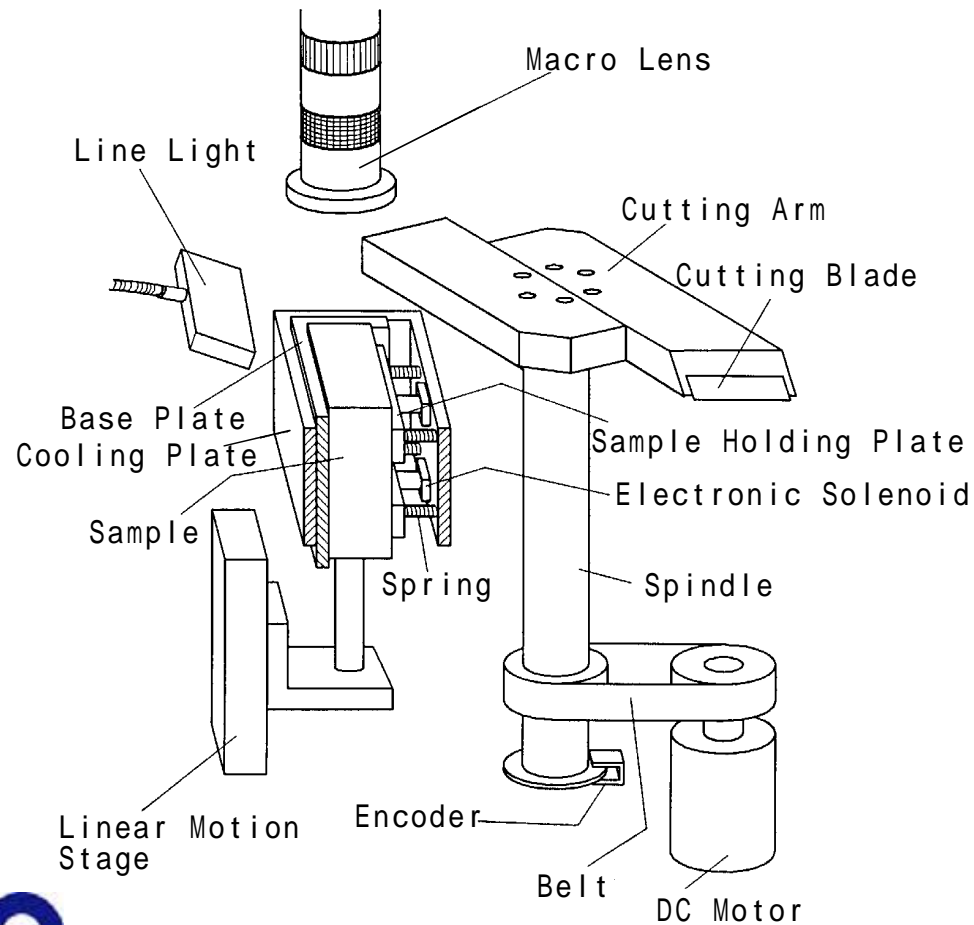


観察法の模式図

目的

- 厚さ100 μm の網膜を有する眼球の観察には高い分解能が必要である。
- 超高精細な分解能を有する3次元内部構造顕微鏡の開発
 - 試料の送り分解能: 10 μm
 - 34x25mmの撮影範囲の観察分解能: 20 μm
- 試作した装置を用いた人眼の観察

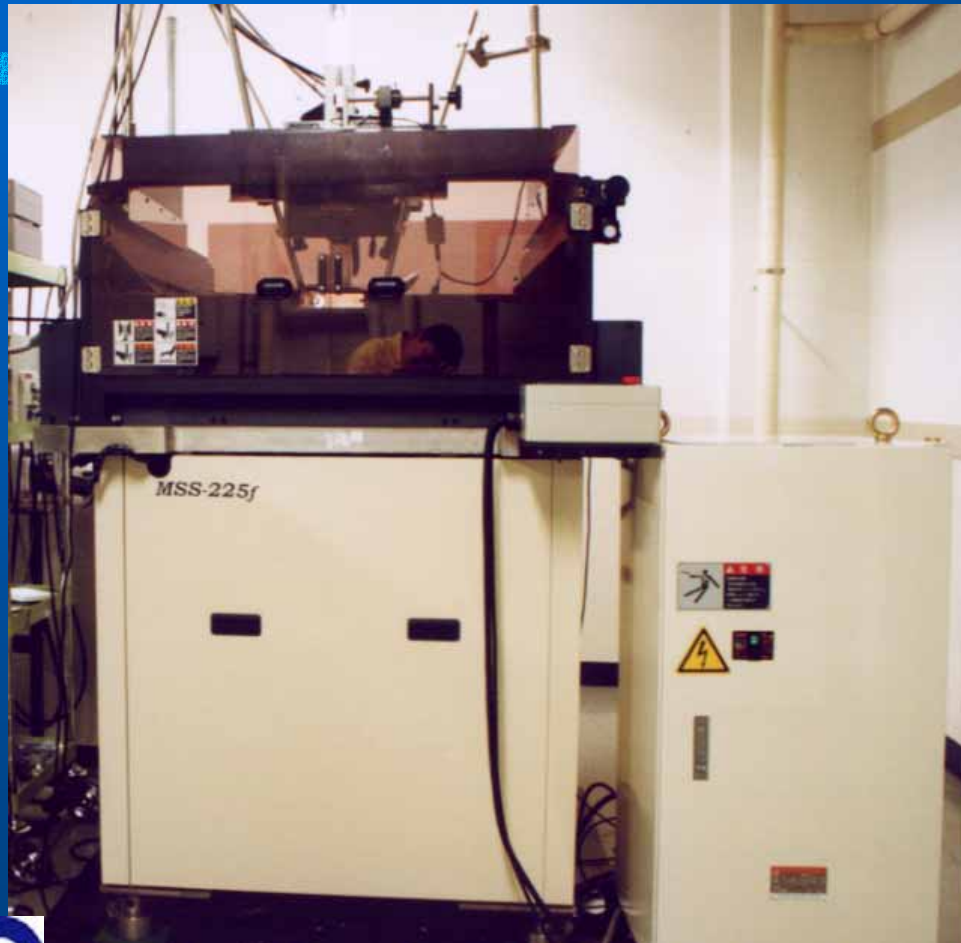
試作装置模式図と仕様



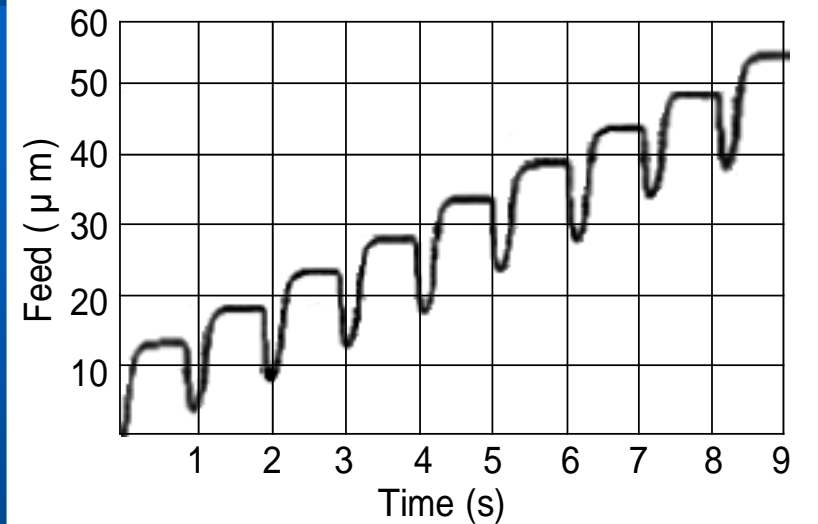
スライス部の模式図

- 試料サイズ
最大：180 × 135 × 200 mm
最小：15 × 12 × 100 mm
- 試料温度：-45 （凍結包埋可）
- 試料送り：最小10 μm
総送り量220 mm
最大速度20 mm / s
- 試料切削用ナイフ：超合金製ナイフ
マイクローム用ナイフ
- ナイフの回転数：30 ~ 90 rpm
- 切断面撮影：NTSC-CCDカメラ
35mm銀塩カメラ(ペンタカム)
ハビジョンCCDカメラ(1980*1025)
- 断面記録：追記型NTSCレーザーディスク
書換型NTSCレーザーディスク
追記型ハビジョンレーザーディスク
35mm銀塩フィルム
- 観察光源：白色光，蛍光(UV, B, G)

装置外観と装置性能



スライス部の外観

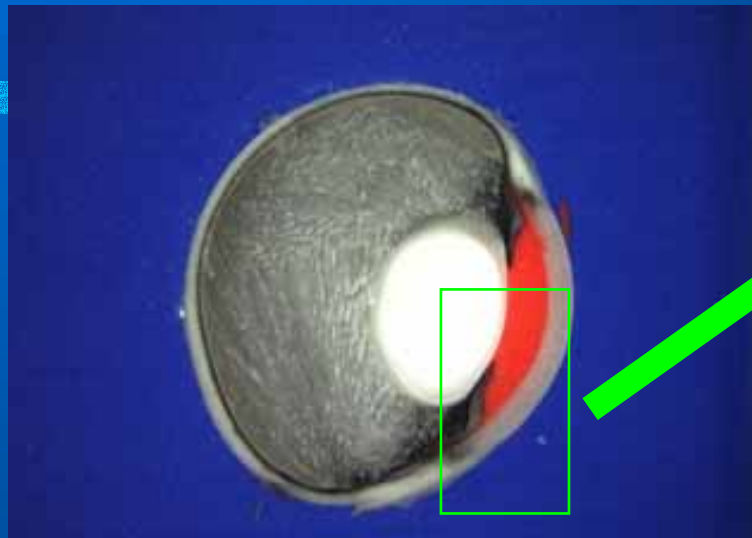


試料送り量

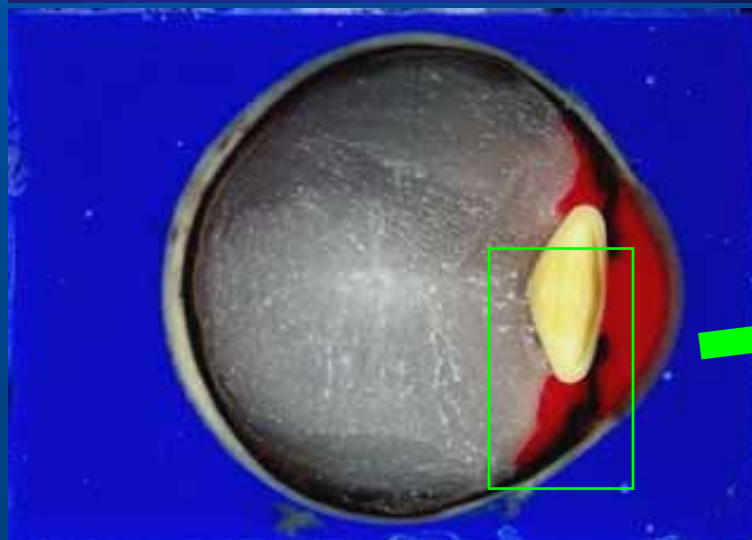
試料を移動させた際の試料上端部の移動量。

指令値 $5 \mu\text{m}$ とほぼ同一の移動量を示した (試料送り時の試料の落ち込みは試料送り時に試料の固定を開放すること起因する)。

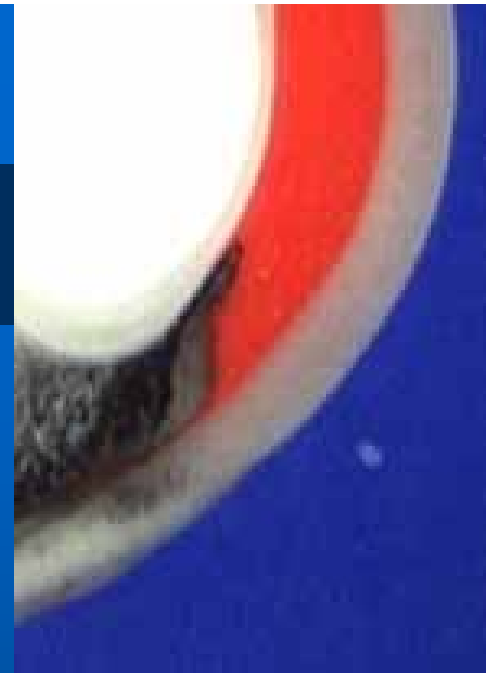
撮影分解能



NTSCカメラ: 豚眼
40 μm /pixel
(640x480ピクセル)



ハイビジョンカメラ: 人眼
20 μm /pixel
(1980x1025ピクセル)



人由来試料への対応(バイオハザード)

● 消毒への対応

- チャンバー内: グルタルアルデヒド噴霧可能
腐食対策のためステンレス鋼の使用

● エアロゾルへの対応

- 切削部: 飛散防止版により切削時の切屑の飛散を防止
観察時にレンズとチャンバーを閉鎖空間とする
- 装置空間: 装置全体をビニールシートにより閉鎖
閉鎖空間をHEPAフィルタを用いた排気装置により
陰圧に維持
装置稼働中は紫外線灯により空間を滅菌

● 清掃

- 観察終了後、グルタルアルデヒドにより装置、空間を滅菌
- 切り屑、清掃用具はオートクレーブ、乾熱滅菌器により滅菌



試料観察の様子

VTR

実験方法

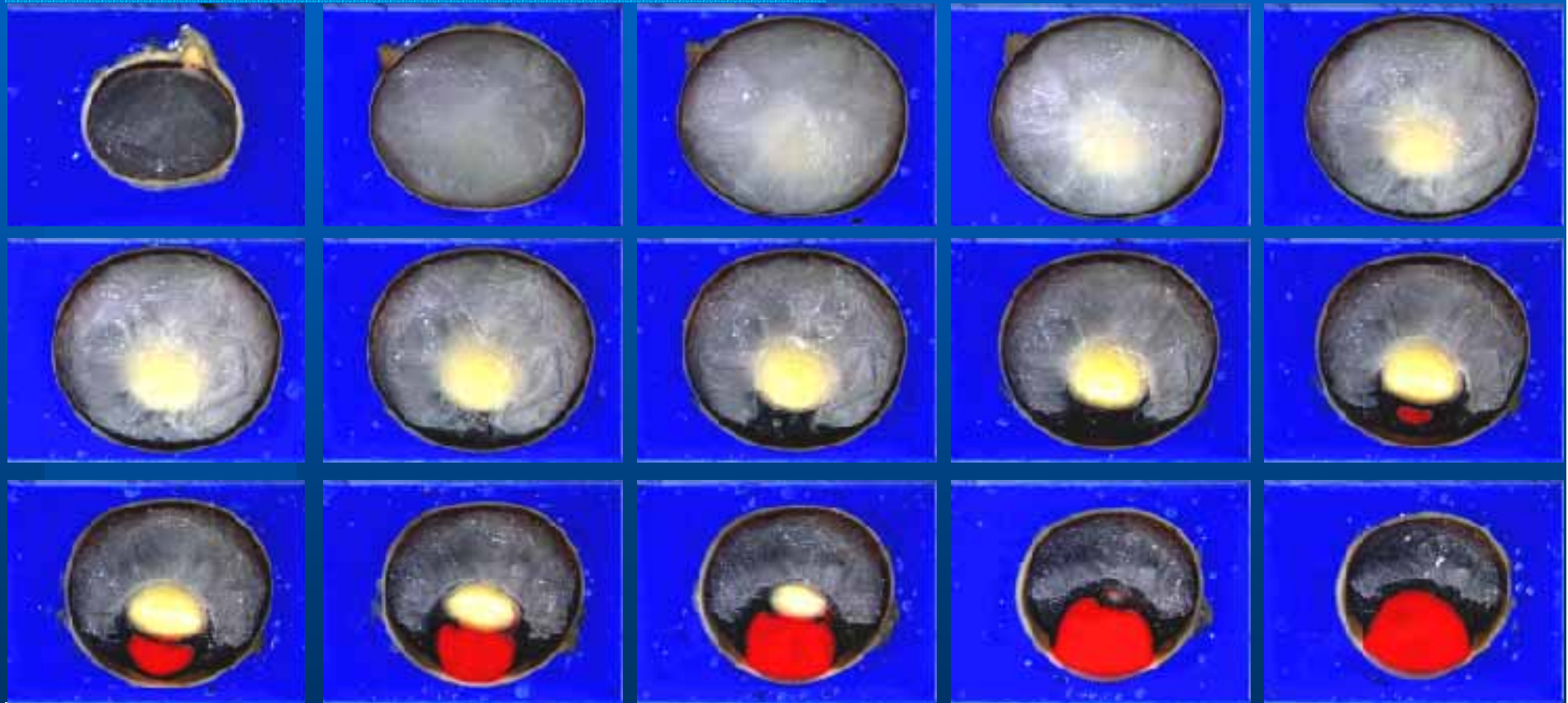
- 供試試料: 人眼球 (倫理委員会にて承認)
 - 新鮮人眼を摘出後直ちにホルマリン・グルタルアルデヒド溶液にて固定
 - 固定後日本に空輸、外観、MRI撮影
 - PBSにて3日間洗浄
 - 眼球前房内に色素注入
 - 着色凍結包埋剤を用いて金型内にて -35°C で凍結包埋
- 観察条件
 - 試料切削厚さ: $10\ \mu\text{m}$
 - ナイフ回転数: $90\ \text{rpm}$
 - 観察分解能: $20\ \mu\text{m}$
 - 切削用ナイフ: 超合金製ナイフ
 - 撮影断面数: 3000断面
 - 撮影時間: 30分間

実験結果



人眼の断面画像(連続再生)

実験結果

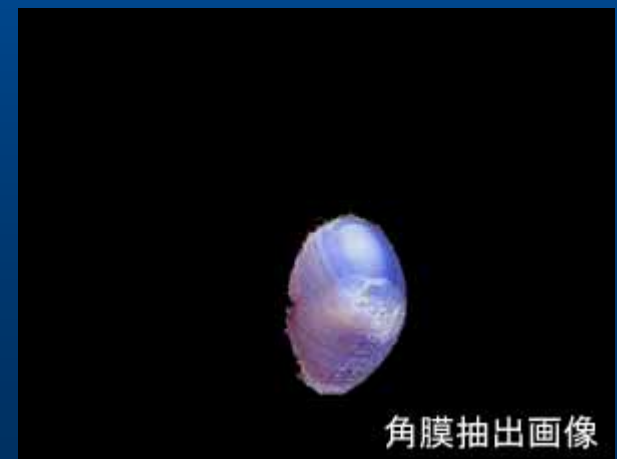
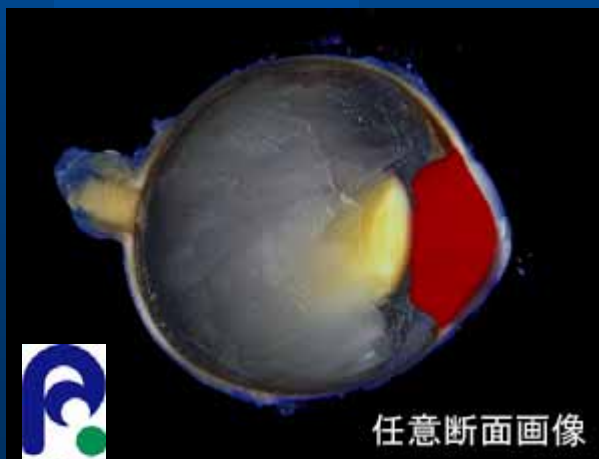
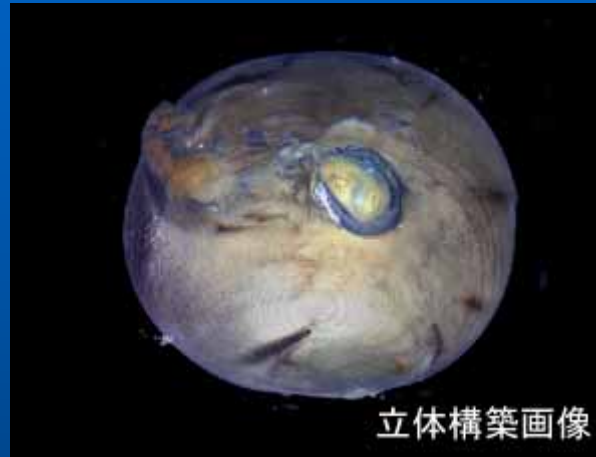
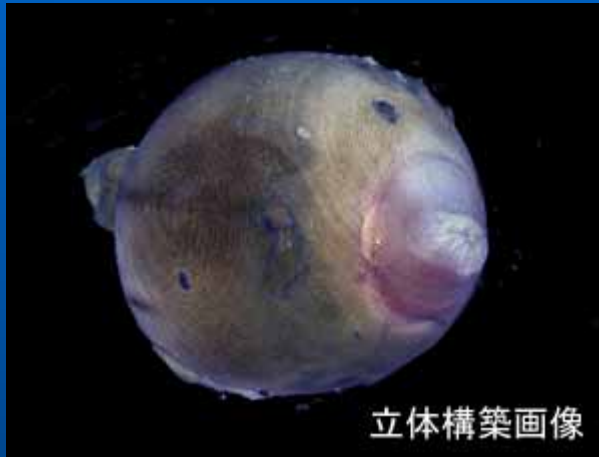


人眼の断面画像

立体構築画像

ホリウムレンダリング-レイキャスティングにより
立体画像を構築

ホリウムサイズ: 320x240x266Voxel



実験結果



人眼全体



人眼水晶体

まとめ

- 超高精度の3次元内部構造顕微鏡を開発した。
- 試作した装置の分解能は試料送り10 μm 、横方向の分解能20 μm (視野3.4x2.5 mm)であった。
- 試作した装置を用いて人眼球の観察を行った。
- 得られた断面画像を元に立体画像を構築することに成功した。
- 断面画像を元に水晶体、角膜を抽出することが可能であった。
- 今後20 μm の分解能を持つFEMモデルの構築を予定している。

