

微小血管系の多機能イメージングによる皮膚特性・機能の評価

山陽小野田市立山口東京理科大学工学部機械工学科

中道 友

It is known that there is a close relationship between skin function and microvascular structures and blood flow dynamics. To measure the microvascular structures and the blood flow dynamics, functional imaging with optical coherence tomography (OCT) has been attracting attention. OCT is a noninvasive micro-tomographic imaging technique based on low coherent interferometry of near-infrared light and can visualize the tissue structure of the skin, evaluate aging by visualizing capillaries, and measure functional information such as blood flow velocity. However, previous studies with OCT measured static functional information independently and thus were insufficient to evaluate skin functional properties. In other words, it is necessary to comprehensively analyze these dynamics to evaluate skin functional properties. Therefore, this study aimed to develop a novel method to evaluate skin functional properties by detecting multiple functional information of skin micro-vasculatures and by analyzing their dynamics. To realize this, I developed a novel functional OCT technique that can simultaneously detect micro-vasculatures, blood flow velocities, and blood flow angles. Furthermore, the technique was applied to human subjects, and the dynamics of micro-vasculatures and blood flows during stimulation were investigated. In this report, I report validation results of the developed technique and its application to human subjects during alcohol stimulation for evaluating alcohol tolerance.

1. 緒言

表皮、真皮、皮下組織から成る皮膚において、皮膚機能と組織内のミクロな血管構造・血流動態には密接な関係があることが知られている。例えば血管構造については、毛細血管およびリンパ管の構造が不安定化することによって、皮膚を構成する細胞への酸素や免疫細胞の運搬・回収が正しく行われず老廃物が溜まりやすくなることにより、加齢による皮膚老化を引き起こすことが報告されている¹⁾。また血流動態については、皮膚の血流量が年齢や血圧、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、総コレステロールといった血液生理値と相関を持つことや²⁾、肌荒れやほてり、敏感肌などの皮膚の肌状態に関係することが報告されている³⁾。この皮膚内部のミクロな血管構造・血流動態を計測するため、光干渉断層法 (Optical Coherence Tomography : OCT) を利用した機能計測が注目されている。OCTとは近赤外広帯域光を使った非侵襲なマイクロ断層画像法であり、皮膚の組織構造の可視化に加え⁴⁾、毛細血管の可視化による加齢の評価や⁵⁾、血流速度の検出などの機能計測が可能である⁶⁾。しかしながら、過去の研究ではこれらがそれぞれ独立に計測されており、また静的な情報を検出しているため、皮膚の特性や機能を評価するのに充分でなかった。言い換

えると、皮膚の特性・機能を正確に評価するためには、血管分布や血流速度、その他の情報を同時に検出し、これらのダイナミクスを包括的に解析することが必要であると考えられる。そこで本研究では、皮膚組織内の毛細血管分布や血流速度など複数の情報を同時検出し、さらにそれらの刺激に対する応答(ダイナミクス)を解析することで、皮膚の特性や機能を評価する新規手法の開発を目的とした。本報告では、研究期間内で開発した毛細血管分布を高SNで検出する方法と、毛細血管の血流速度・角度を検出する手法について報告する。また、皮膚特性・機能評価の検証として、開発した手法をアルコール刺激下におけるヒト皮膚に適用し、応答のダイナミクスからアルコール耐性を評価した結果も報告する。

2. 方法

2.1. OCT

OCTには計測原理の違いから時間領域OCT、スペクトラルドメインOCT、波長掃引OCTなどの種類があるが⁷⁾、本研究では波長掃引OCTを用いて実験を行ったため、以下にその原理について簡単に説明する。

波長掃引OCTに用いる光干渉計の概略を図1に示す。波長掃引レーザ光源からの光は、光カプラによって参照鏡方向とサンプル方向に分けられる。参照鏡とサンプルから反射したそれぞれの光は再び光カプラにて合波し、その干渉光の強度を光差分ディテクタで検出する。このとき、光源に波長掃引レーザを用いるため、干渉光強度を連続的に検出することで干渉光のパワースペクトルを取得することができる。この干渉光のパワースペクトルには、サンプル内の複数の反射位置に対応した振動成分が含まれているた



Evaluation of skin functional properties by multi-functional imaging of micro-vasculatures

Yu Nakamichi

Department of Mechanical Engineering,
Faculty of Engineering, Sanyo-Onoda
City University

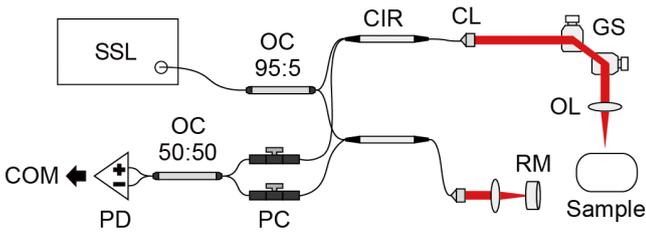


図1 波長掃引OCTの概略。SSL:波長掃引レーザ。OC:光カプラ。CIR:サーキュレータ。CL:コリメータ。GS:ガルバノスキャナ。OL:対物レンズ。RM:参照鏡。PC:偏光コントローラ。PD:光差分ディテクタ。COM:コンピュータ。

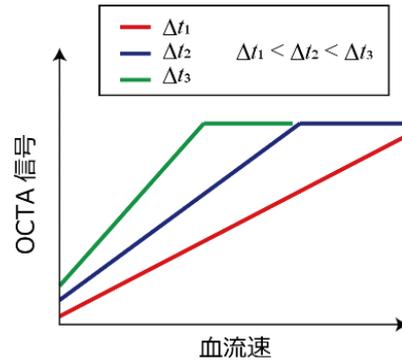


図2 OCTAの信号特性。Δt: OCT信号の計測時間間隔。

め、干渉光のパワースペクトル $S(k)$ (k :波数)を逆フーリエ変換することによって、サンプルの深さ z 方向の反射光強度分布 $I(z)$ を得ることができる。

$$I(z) = A(z)^2 = |F^{-1}\{S(k)\}|^2 \quad (1)$$

OCTでは、照射光をスキャンすることにより反射光強度分布 $I(z)$ をサンプルの複数位置で取得し、それらを並べることで2次元あるいは3次元の反射光強度分布を取得する。反射光強度はサンプルの構造や物性で変化するため、反射光強度分布よりサンプルの3次元構造を把握することができる。なお、式(1)の $A(z)$ は反射光の振幅分布を示しており、後述する解析に用いる。

本研究の実験では、中心波長1334 nm、掃引幅114 nm、掃引速度20kHzの波長掃引レーザ(HSL-2000、Santec)を備えた波長掃引OCT(IV-2000、Santec)を用いた。OCTの空間分解能は、深さ方向(z 方向)が $6.7\mu\text{m}$ 、光軸に垂直な方向(x 方向)が $14.6\mu\text{m}$ である。計測方法については、後述の解析を行うため同一照射位置でOCT信号を複数記録し、その後照射光のスキャンを行うMB-スキャンプロトコルを採用した⁸⁾。

2.2. 毛細血管構造検出手法

OCTで得る信号を解析し組織内の毛細血管分布を検出手法の総称をOCT Angiography (OCTA) という⁹⁾。OCTAには様々なアルゴリズムが提案されているが、基本的には血管内の赤血球の動きに伴うOCT信号の時間的なばらつきを定量することによって、毛細血管と非血管組織を判別する。このOCTAで得られる信号には、図2に示すように(i)血流速が大きくなるほどOCTA信号は大きくなる、(ii)OCTの計測時間間隔が大きいかほど流速に対するOCTA信号の傾きが大きい、(iii)OCTの計測時間間隔に関わらずOCTA信号はある一定の値でサチュレーションする、といった特性があることが明らかとなっている^{10,11)}。また、これらの特性から、サチュレーションを起こさない複数の小さな計測時間間隔のOCTA信号を解析することにより、血流速を定量できると考えられている。しかしな

がら、小さな計測時間間隔のOCTA信号はその値が小さく、血管検出のSNが低下するという課題があった。そこで本研究ではまず、小さな計測時間間隔のOCTA信号から高いSNで血管を検出する手法の開発を行った。

本手法では最初に、下式に示すMulti-timescale split-spectrum amplitude-decorrelation angiographyという手法を用い、複数の小さな計測時間間隔におけるOCTA信号 D を算出する¹⁰⁻¹²⁾。

$$D(x, z, \Delta t) = 1 - \frac{2}{L \left(M - \frac{\Delta t}{\tau} \right)} \sum_{m=1}^{M - \frac{\Delta t}{\tau}} \sum_{l=1}^L \frac{A_m^l(x, z) \cdot A_{m + \frac{\Delta t}{\tau}}^l(x, z)}{A_m^l(x, z)^2 + A_{m + \frac{\Delta t}{\tau}}^l(x, z)^2} \quad (2)$$

τ はOCT信号 A の取得時間間隔、 M は信号の取得回数、 Δt は任意の時間間隔(Δt は τ の整数倍)、 L はスペクトル S の分割数、 (x, z) は空間を表す。通常のOCTAでは、このOCTA信号 D の空間パターンから血管と非血管組織を判別する。一方、本手法では複数のOCTA信号の計測時間間隔に対する傾き G を算出し、血管と非血管組織の判別に用いる¹²⁾。なお、本研究では $M=40$ のOCT信号を $\tau=50\mu\text{s}$ 毎に計測し、 $\Delta t=0.05\sim 0.55\text{ms}$ のOCTA信号から G を算出した。

$$G(x, z) = \frac{\partial D(x, z, \Delta t)}{\partial \Delta t} \quad (3)$$

提案手法の有用性を検証するため、ヒト皮膚を用いた実験を行った。実験では、手の母指球を計測対象とし、従来法と提案手法で得られる血管パターンのSNについて評価を行った。なお、本研究の実験は全て山陽小野田市立山口東京理科大学の人を対象とする生命科学・医学系研究に係る倫理審査の承認(承認番号22003号)を受け行った。

2.3. 血流速・角度検出手法

最近、式(2)に示したような複数の時間間隔におけるOCTA信号を解析することによって、血流速を定量的に検出できることがHwangらにより報告された¹³⁾。しかし、OCTA信号は図2に示した特性の他にも複雑な非線形特性を持つことが明らかになっており¹¹⁾、Hwangらの手法

が適用できる条件は限られると考えられる。そこで本研究では、OCT、OCTA、ドップラーOCT¹⁴⁾と機械学習を組み合わせた新規の血流速・角度検出手法を開発した。ドップラーOCTとは、赤血球の動きに伴う光波のドップラー変調を検出することにより、光軸方向(対象深さ方向)の血流速 v_z を検出する手法である。

$$v_z(x, z) = v(x, z) \cos \theta(x, z) = \frac{4\pi n \tau}{\lambda} \Delta \rho(x, z) \quad (4)$$

v は血流速、 θ はドップラー角度(流れ角度)、 λ はOCTに用いる光源の中心波長、 $\Delta \rho$ は異なる時刻(時間間隔： τ)で得たOCT信号の位相差である。提案手法では、OCT信号強度 I 、OCTA信号 D 、ドップラー位相差 $\Delta \rho$ から、機械学習により血流速および角度を予測するモデル f_v 、 f_θ をそれぞれ求める。

$$v(x, z) = f_v\{I(x, z), D(x, z, \Delta t), \Delta \rho(x, z)\} \quad (5)$$

$$\theta(x, z) = f_\theta\{I(x, z), D(x, z, \Delta t), \Delta \rho(x, z)\} \quad (6)$$

本研究ではモデル f_v 、 f_θ を求めるため、OCT信号強度、血流速、角度の異なる192条件にて教師データの取得実験を行った。教師データからMatlab R2022bの回帰学習器(Statistics and Machine Learning Toolbox; MathWorks)を用いて異なる31のモデルを学習し、 v 、 θ の最小二乗誤差が最も小さなモデルをそれぞれ採用した(図3)。

上述した手法を評価するため、表面を平らにしたシリコンチューブにヒト血液(Blood A Type, Each EDTA-2K, Human、コスモ・バイオ)を送液し、提案手法を適用して血流速および角度の断層分布を検出した。血液の平均流速は8.3、16.6 mm/s、角度は $\pm 25^\circ$ の4条件にて計測を行った。

2.4. アルコール耐性の評価検証実験

本研究の目的は皮膚組織内の毛細血管分布や血流速などを同時検出し、それらの刺激に対する応答から皮膚特性・

機能を評価する手法の開発である。この実現可能性を検証するため、前述した手法を用いてアルコールを皮膚に塗布したときの毛細血管構造、血流速、角度を検出し、応答解析を行うことで被験者のアルコール耐性を評価した。

アルコール耐性を評価する従来手法にアルコールパッチテストがある。アルコールパッチテストはアルコールを皮膚に塗布した際の毛細血管の膨張に伴う赤みを見ることで被験者のアルコール耐性を評価する。通常、アルコールパッチテストにおけるアルコール耐性評価は定性的なものであるが、本研究ではアルコール塗布後0、7、17分後のデジタル画像データを主成分解析することによって、被験者のアルコール耐性を数値化した。このアルコールパッチテストで得たアルコール耐性と、提案手法で得たアルコール耐性を比較することにより、手法の妥当性を検証した。

3. 結果および考察

3.1. 毛細血管構造検出手法

図4(a)にヒト母指球の3次元OCT断層像を示す。また、図4(a)の任意位置における2次元OCT断層像を図4(b)に示す。図4(b)より、OCTにより皮膚の真皮、表皮といった層構造が可視化できている様子が分かる。ここで、皮膚では表皮と真皮の境界付近および真皮深層に血管が密に走行していることが知られているため¹⁵⁾、図4(b)の赤枠で囲んだ深さ範囲において従来法・提案手法のOCTA信号を投射し、図4(c)に示す血管パターンマップを算出した。結果より、従来法および提案手法ともに浅層と深層の異なる血管パターンを検出できているが、従来法に比べ提案手法のSNが高いことが定性的に確認できる。なお、試料を用いた定量的なSNの評価も別途行っており、開発した手法が図4(c)の従来法に比べ2~3倍高いSNで血管を検出できることを示している¹²⁾。

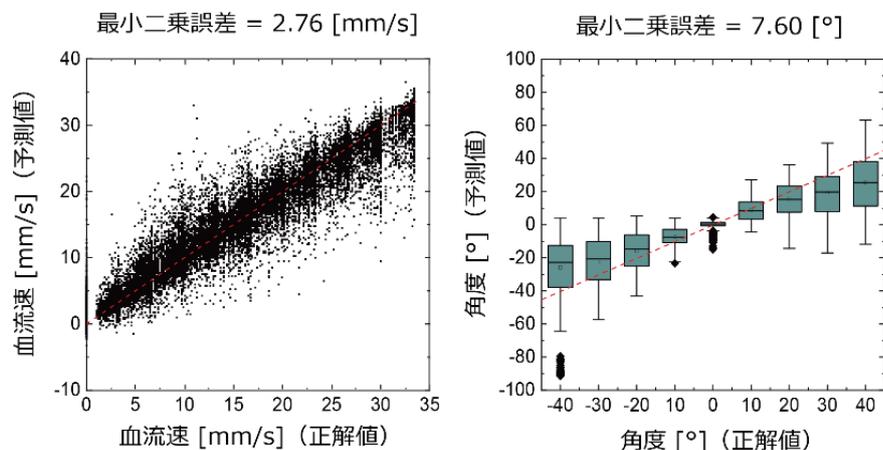


図3 血流速(左)と角度(右)の学習結果。

3.2. 血流速・角度検出手法

図5に開発した血流速・角度検出手法により得られた試料のOCT断層像、血流速分布、角度分布を示す。OCT断層像を見ると、画像中央に楕円型の流路部分が確認できるが、血流速および角度の変化による影響は確認できないことが分かる。一方、血流速分布と角度分布を見ると、それぞれの分布において血流速および角度の変化による顕著な違いが確認できる。血流速分布においては、8.3 mm/sの条件に比べ、16.6 mm/sの条件における流速が大きいことが分かる。また、流路中央における流速は平均流速を考慮すると妥当な値であり、分布も非ニュートン流体である血液の特徴¹⁶⁾を表している。角度分布においても、血流速に寄らず設定した角度である $\pm 25^\circ$ 程度の値を示しており、妥当な結果と言える。

3.3. アルコール耐性の評価検証実験

開発した毛細血管構造検出手法と血流速・角度検出手法をアルコール刺激中のヒト母指球に適用した。結果の一例として、アルコール耐性の高い被験者および低い被験者の結果を図6、7にそれぞれ示す。なお、図6、7では、真皮深層における3次元のOCTA信号を投射することにより、毛細血管(OCTA信号)、血流速・角度の2次元マップを求めている。図6のアルコール耐性が高い被験者の毛細血管の時間変化を見ると、アルコール刺激開始後時間が経過しても大きな構造変化はないことが分かる。血流速と角度についても、血流速は1~2 mm/s、角度は約 40° で時間的に大きな変化がないことが分かる。一方、図7のアルコール耐性が低い被験者の毛細血管の時間変化を見ると、アルコール刺激開始後60s程度から血管が拡張の様子が確認できる。また、血流速も血管が太くなるのに伴い

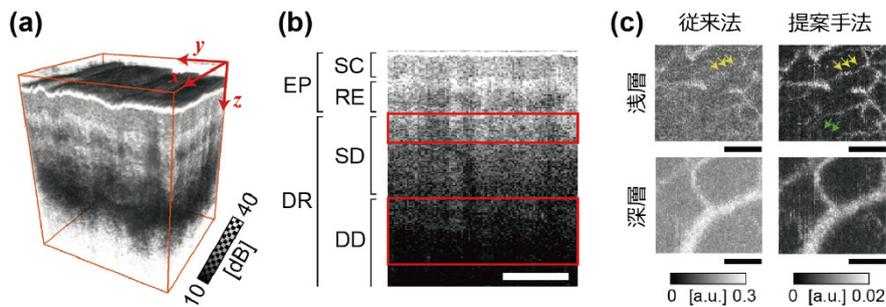


図4 開発した毛細血管構造検出手法の適用例¹²⁾。(a) ヒト母指球の3次元OCT断層像。(b) 皮膚の層構造。EP:表皮。DR:真皮。SC:角質層。RE:残表皮。SD:真皮浅層。DD:真皮深層。(c) 従来法(左)と提案手法(右)で得られた浅層および深層の血管パターン。スケールバーは0.5 mm。

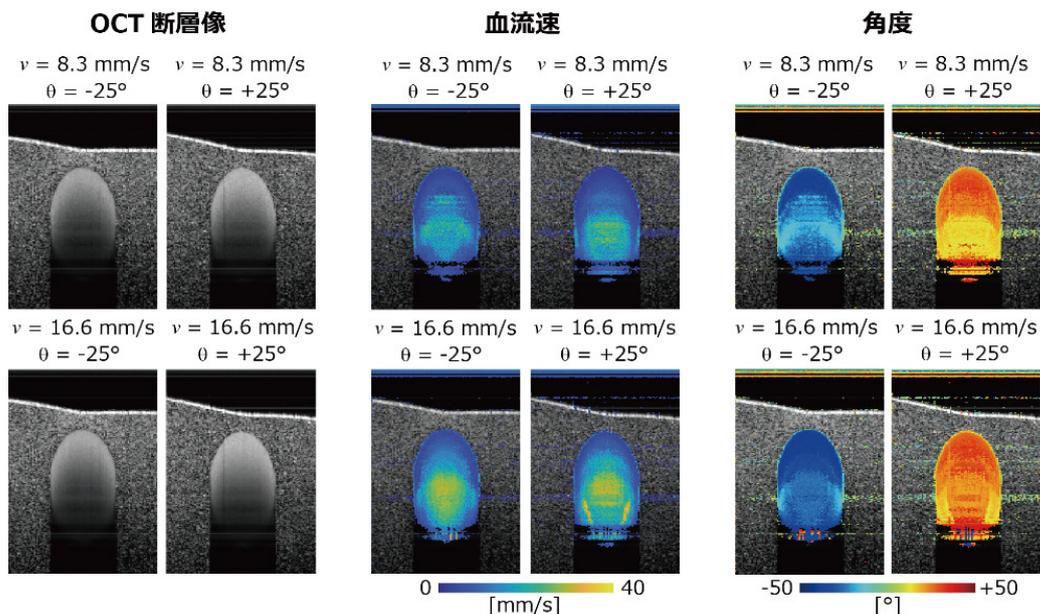


図5 開発した血流速・角度検出手法の適用例。(左) 試料のOCT断層像。(中) 血流速分布。(右) 角度分布。画像サイズは1.45 mm × 2 mm。

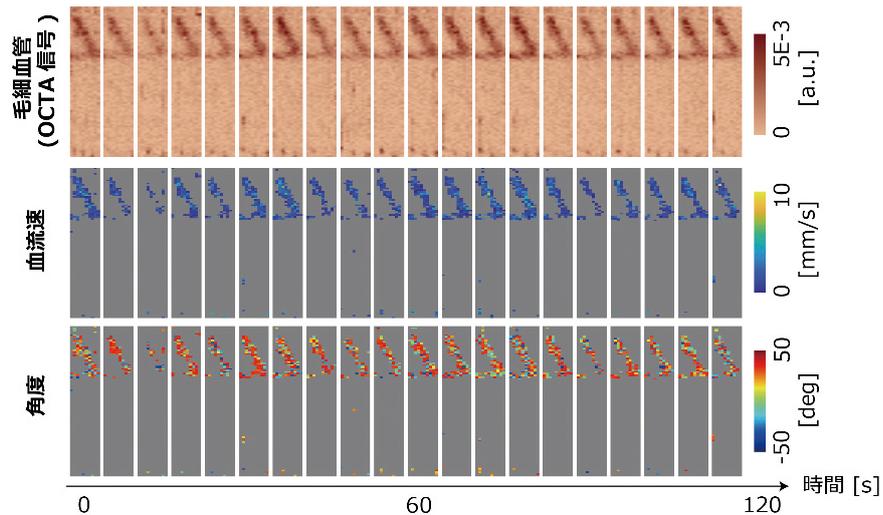


図6 アルコール耐性が高い被験者の毛細血管(上)、血流速(中)、角度(下)の時間変化。各画像サイズは約0.3mm × 3mm。

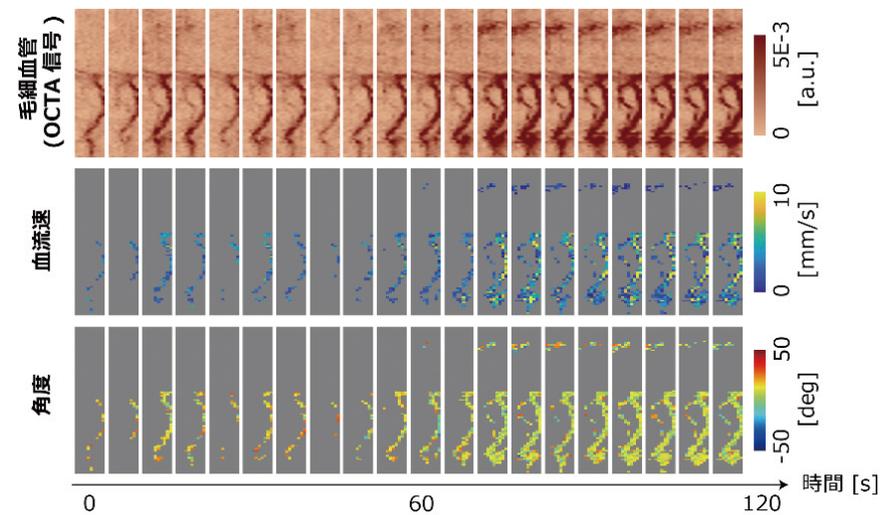


図7 アルコール耐性が低い被験者の毛細血管(上)、血流速(中)、角度(下)の時間変化。各画像サイズは約0.3mm × 3mm。

若干の増加傾向が見られる。血液の流れる角度については、約10°で時間的に大きな変化はなかったが、毛細血管の角度が実験の短い時間で変化することは考えにくいので、妥当な結果であると考えられる。

アルコールパッチテストで得たアルコール耐性と提案手法を比較するため、図8(a)に示す畳み込みニューラルネットワークを用い、提案手法で得た信号からアルコール耐性を予測するモデルを求めた。なお、アルコールパッチテストで得るアルコール耐性は血管の角度には依存しないと考えられるため、ここでは毛細血管の面積(ピクセル数)と平均血流速の時間変化データのみを教師データ(N=9)とし学習を行った。図8(b)にアルコールパッチテストで得たアルコール耐性と提案手法によるアルコール耐性の比較を示す。図中の白抜きのプロットはモデルの学習に使用したデータを示しているが、アルコールパッチテストと提案

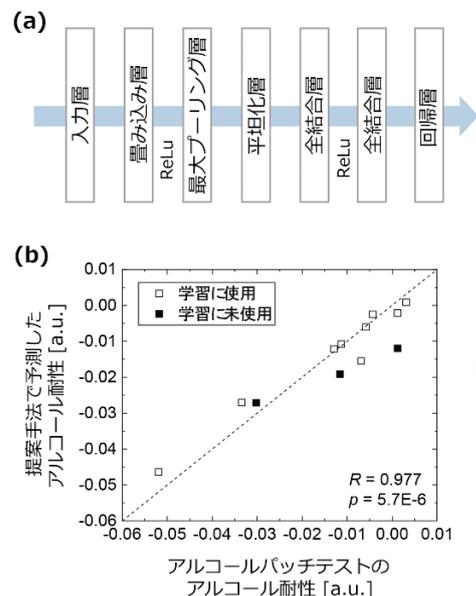


図8 (a)畳み込みニューラルネットワーク。(b)アルコールパッチテストによるアルコール耐性と提案手法によるアルコール耐性の比較。

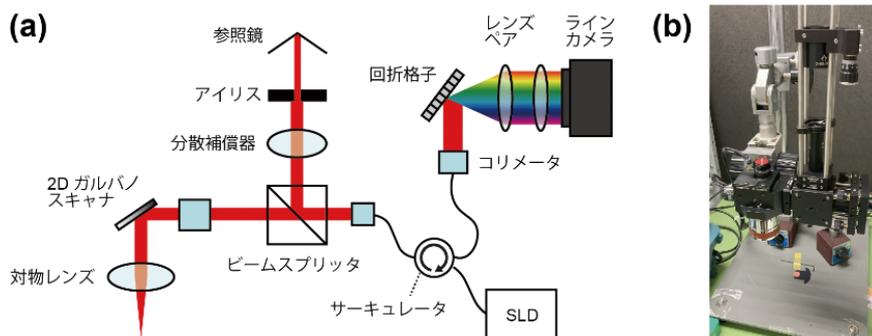


図9 構築した高速スペクトルドメイン OCT システムの概略 (a) と写真 (b)。

手法のアルコール耐性の相関は高く ($R=0.977$, $p=5.7 \times 10^{-6}$)、精度の良いモデルが得られたことが分かる。また、黒塗りのプロットは学習に使用していないデータをモデルに適用しアルコール耐性を求めたものであるが、これらについてもアルコールパッチテストと提案手法のアルコール耐性に相関があることが分かる。以上のように、アルコール刺激を開始してから 120 秒間の毛細血管構造と血流速のダイナミクスを解析することにより、アルコール耐性を評価可能であることが示された。

4. 総括

本研究では、皮膚組織内の複数の微小血管系情報を検出し、それらの刺激に対するダイナミクスを解析することで皮膚特性・機能を評価する手法の開発を目的とした。本稿では、提案手法の実現のため開発した、毛細血管分布を高 SN で検出する方法と毛細血管の血流速・角度を検出する手法について報告した。また、これらの手法をアルコール刺激下の皮膚に適用し、アルコール刺激に対する血管構造と血流速の応答を解析することでアルコール耐性を評価可能であることを示した。提案手法によるアルコール耐性の評価自体には大きな学術的意義は無いが、この結果により提案手法の妥当性が示されたとともに、適切な刺激を選択することによって提案手法により様々な皮膚機能・特性を評価できることを示唆した。また、提案手法は皮膚の機能・特性を計測するものであるが、化粧品や医薬品などの塗布を刺激とすれば、それらの効能評価にも応用が可能と考えられる。

本研究の今後の展望として、血液粘度計測など OCT の更なる多機能化を行うことで、計測可能な皮膚機能・特性を拡大することが挙げられる。しかし、本研究で使用した OCT では、計測速度が不十分であることから上記の実現が困難であった。そこで本研究では、報告した内容と並行して、これまでの研究で使用した OCT よりも 5 倍以上高速計測が可能なスペクトルドメイン OCT システムの構築を行った (図 9)。今後は、構築したシステムを用いた

OCT の更なる多機能化および様々な皮膚機能・特性を評価する方法を構築し、コスメトロジー分野や医療分野への実用研究を進めていきたい。

謝辞

本研究の遂行にあたり、ご支援いただきました公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団に心より感謝申し上げます。

(引用文献)

- 1) 澤根美加, 大田正弘, 山西治代, 本山晃, 高倉伸幸, 加治屋健太郎. 皮膚老化において重要な役割を担う血管・リンパ管. 日本化粧品技術者会誌. 46 (3), 188-196, 2012.
- 2) Tsuchida Y, Fukuda O, Kamata S. The correlation of skin blood flow with age, total cholesterol, hematocrit, blood pressure, and hemoglobin. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 88 (5), 844-50, 1991.
- 3) 塚田弘行, 武田あきら, 宇山侑男. 皮膚と微小循環の血流. 日本化粧品技術者会誌. 30 (2), 184-189, 1996.
- 4) Adabi S, Hosseinzadeh M, Noei S, Conforto S, Daveluy S, Clayton A, Mehregan D, Nasiriavanaki M. Universal in vivo Textural Model for Human Skin based on Optical Coherence Tomograms. *Scientific Reports*. 7, 17912, 2017.
- 5) Hara Y, Yamashita T, Kikuchi K, Kubo Y, Katagiri C, Kajiya K, Saeki S. Visualization of age-related vascular alterations in facial skin using optical coherence tomography-based angiography. *Journal of Dermatological Science*. 90 (1), 96-98, 2018.
- 6) Furukawa D, Saeki S, Ito T, Hishino Y. In vivo micro-tomographic visualization of capillary angiodynamics around upper dermis under mechanical stimulus using low coherence interferometer "optical coherence doppler velocigraphy". *American Journal of*

- Physics and Applications. 6 (4), 89-96, 2018.
- 7) 山成正宏. OCT技術の基本を紐解こう. 視覚の科学. 39 (3), 37-44, 2018.
 - 8) Zhu J, Merkle CW, Bernucci MT, Chong SP, Srinivasan VJ. Can OCT angiography be made a quantitative blood measurement tool? Applied Science. 7 (7), 687, 2017.
 - 9) Chen CL, Wang RK. Optical coherence tomography based angiography. Biomedical Optics Express. 8 (2), 1056-1082, 2017.
 - 10) Tokayer J, Jia Y, Dhalla H, Huang D. Blood flow velocity quantification using split-spectrum amplitude decorrelation angiography with optical coherence tomography. Biomedical Optics Express. 4 (10), 1909-1924, 2013.
 - 11) Nakamichi Y, Chiu KS, Sun CW. Signal properties of split-spectrum amplitude decorrelation angiography for quantitative optical coherence tomography-based velocimetry. Biomedical Optics Express. 12 (10), 5955-5968, 2021.
 - 12) Nakamichi Y. Gradient mapping of multi-timescale optical coherence angiography signals for enhancing signal-to-noise ratio of flow detection. Journal of Biomechanical Science and Engineering. 18 (2), 23-00035, 2023.
 - 13) Hwang Y, Won J, Yaghy A, Takahashi H, Girgis JM, Lam K, Chen S, Moulton EM, Ploner SB, Maier A, Waheed NK, Fujimoto JG. Retinal blood flow speed quantification at the capillary level using temporal autocorrelation fitting OCTA [invited]. Biomedical Optics Express. 14 (6), 2658-2677, 2023.
 - 14) Liu G, Chen Z. Advances in Doppler OCT. Chinese Optics Letters. 11 (1), 011702, 2013.
 - 15) Xu J, Song S, Men S, Wang RK. Long ranging swept-source optical coherence tomography-based angiography outperforms its spectral-domain counterpart in imaging human skin microcirculations. Journal of Biomedical Optics. 22 (11), 1-11, 2017.
 - 16) 辻岡克彦, 小笠原康夫, 梶谷文彦. 血流と血流速度分布計測のME. BME. 4 (11), 21-29, 1990.