

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03914

研究課題名(和文) 実験計算融合解析による血管壁近傍血流場が内皮細胞損傷に与える流体力学的影響の解明

研究課題名(英文) Clarification of fluid dynamical effect of near-wall flow field on endothelial cell damage by measurement-integrated-simulation

研究代表者

早瀬 敏幸 (Hayase, Toshiyuki)

東北大学・流体科学研究所・教授

研究者番号：30135313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：血管表面の内皮細胞の損傷は、動脈硬化や動脈瘤などの血管病変の発症の引き金になることが指摘されているが、その機序は未だ十分に理解されていない。本研究は、超音波計測と数値計算の融合解析手法を用いて、内皮細胞を培養した実験流路内に血管疾患の好発部位である頸動脈の血管壁近傍流れ場と圧力場を再現し、内皮細胞の損傷実験と超音波計測融合血流解析を行って、これまで未知であった生体内の血流場が内皮細胞損傷に与える影響を解明するための研究を行って、多くの知見を得た。本研究で得られた成果は、血管疾患の発症に対する内皮細胞近傍場の流体力学的寄与の正確な理解に基づく診断法の確立に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：It is known that damage on endothelial cells on the surface of a blood vessel causes diseases of blood vessels such as atherosclerosis or aneurisms. However, its mechanism is unknown. This study aimed to clarify the effect of flow field on the endothelial cells' damage. A complex flow field near the surface of a carotid artery was reconstructed in a flow chamber and experiment of cell peeling by the flow load was conducted. Ultrasonic measurement integrated simulated was also performed to clarify the complex flow field in a carotid artery. Results obtained in this study are expected to be used in developing new diagnostic method of circulatory diseases based on understanding of fluid dynamical effect on cell damages.

研究分野：流体工学

キーワード：バイオ流体力学 計測融合シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

血管表面の内皮細胞の損傷は、動脈硬化や動脈瘤などの血管病変の発症の引き金になることが指摘されている。これまで数多くの研究がなされているが、流体力学的パラメータが内皮細胞の損傷に及ぼす効果についての正確な理解には未だ至っていないのが現状である。

問題の解決には、血管表面の血流による内皮細胞への流体力学的刺激を正確に知ることが本質的に重要であるが、計測によっても、数値解析によっても正確に知ることが難しいのが現状である。申請者は、臨床用の超音波診断装置から得られる部分的な血流情報を流れの数値シミュレーションにフィードバックすることにより、計算により実際の血流の詳細な情報を得ることが可能な「超音波計測融合シミュレーション」を提案している。これまで、3次元解析のための基礎研究や臨床応用のための2次元解析システムの提案を行うとともに、超音波計測と光電脈波計測に本手法を用いた血流場と血圧場の同時解析システムを開発し、血管内皮細胞に作用するせん断応力と圧力の同時解析が可能となった。

一方、血液の主要な固形成分である赤血球と内皮細胞の相互作用に関して、申請者らは「傾斜遠心顕微鏡」による実験を行い、傾斜遠心力下での赤血球と内皮細胞の摩擦特性を明らかにするとともに、そのメカニズムを数値解析で明らかにしている。

一般に、内皮細胞上には数十ナノメートル～数マイクロメートルの糖タンパクの層(内皮表面層)が存在し、また血管壁近傍には数マイクロメートル程度の赤血球の存在しない血漿層が存在すると言われているが、これまで内皮細胞が損傷を受けた血管壁近傍での計測例はなく、損傷部位では赤血球が内皮表面層を介して内皮細胞に影響を及ぼしている可能性がある。

超音波計測と数値計算の融合解析手法により、内皮細胞を培養した実験流路と赤血球を分散した流体を用いて、これまで計測例のない生体内の血流条件下での血管壁近傍の血流場と圧力場を培養内皮細胞近傍に再現した解析が可能となり、内皮細胞損傷に対する近傍血流場の流体力学的寄与の正確な理解が可能となるとの着想を得た。

2. 研究の目的

本研究は、超音波計測と数値計算の融合解析手法を用いて、内皮細胞を培養した実験流路内に血管疾患の好発部位である頸動脈の血管壁近傍流れ場と圧力場を再現し、内皮細胞の損傷実験と超音波計測融合血流解析を行って、これまで未知であった生体内の血流場が内皮細胞損傷に与える影響を解明することにより、血管疾患の発症に対する内皮細胞近傍場の流体力学的寄与の正確な理解に基づく診断法の確立に貢献することを目的と

する。

3. 研究の方法

斜流負荷実験における作動流体中の赤血球が内皮細胞のはく離に及ぼす影響に関する研究方法について述べる。血管の内壁を構成する内皮細胞の損傷はアテローム性動脈硬化症などの血管疾患につながる事が知られており、例えば冠動脈における内皮細胞のはく離は冠動脈硬化症の原因となる。内皮細胞の損傷に関してこれまで様々な研究が行われているが、我々の知る限り、内皮細胞の流れ負荷実験の作動流体は細胞培地が用いられており、赤血球の存在による影響は調べられていない。なお血管表面近傍の血漿層の存在はよく知られているが、流れ状態によっては赤血球が内皮細胞に直接影響を及ぼす可能性も否定できない。本研究グループはこれまで平行平板流れ負荷実験により内皮細胞損傷に対する赤血球の影響を評価したが、斜流を負荷した場合の内皮細胞損傷に対する赤血球の影響は不明である。そこで、本研究は斜流中の赤血球の内皮細胞損傷への影響の解明を目的とし、作動流体として培地単体と赤血球を分散した培地を用いた斜流負荷実験を行い、内皮細胞のはく離率とはく離の様子を比較した。

臍帯静脈由来の正常ヒト血管内皮細胞をアクリル製試料容器に、標準的な細胞培養プロトコルに従ってコンフルエントになるまで培地増殖添加剤を加えた基礎培地で培養した。作動流体には培地とヤギの赤血球を分散させた赤血球分散培地を用い、ヘマトクリット値は約35%とした。斜流負荷実験装置によって試料容器底面に培養した内皮細胞にマイクロシリンジポンプを用いて、0.6mmのノズル孔より斜め45°で培地と赤血球分散培地を流量2.5ml/minから30ml/minまで2.5ml/min刻みで噴射した。各流量において30秒間斜流負荷を内皮細胞に与えた後、内皮細胞のはく離の様子を倒立顕微鏡で位相差観察し、はく離率を求めた。

次に、2次元超音波計測融合血流解析におけるエイリアシングと逆流の判別と補正方法について述べる。2次元超音波計測融合(2D-UMI)血流解析システムは、超音波カラープラデータを数値計算にフィードバックすることにより、生体内の血流動態を詳細に再現する。臨床における超音波計測データには計測誤差の一つであるエイリアシングを含み、UMIシミュレーションはエイリアシングを逆流として再現してしまう。本研究では、2D-UMI血流解析システムにより正確な血流場を得るため、エイリアシングと逆流を判別し、補正する方法を提案し、その有効性を逆流とエイリアシングを含む計測データに対する検証実験により検討した。

2D-UMIシミュレーションの基礎方程式は2次元非定常非圧縮性Navier-Stokes方程式と圧力方程式である。Navier-Stokes方程式の

外力項として、超音波計測と数値計算により得られるドプラ速度の差にフィードバックゲインを乗じて求める仮想的な体積力を与える。

上流断面平均流速 U は、評価領域におけるドプラ速度誤差の総和が最小となる値を黄金分割法により探索するが、これまでエイリアシングを含む場合は正しい推定が困難であった。本研究では、最初にドプラ速度の符号が正しく表示されている領域を評価領域とし仮の上流端流速を推定した後、仮の上流端流速を用いて解析を行い、エイリアシングの検出と補正を行う手法を新たに提案した。エイリアシング検知にはドプラ速度誤差 $V_c - V_m$ を指標として用いた。ドプラ速度誤差が $V_{min} \leq V_c - V_m \leq V_{max}$ の範囲にない場合をエイリアシングとして検知した。

検証実験の解析対象は 20 歳代健康男性ボランティアの総頸動脈分岐部付近とし、逆流部を含む流れを計測した。超音波診断装置 (GE Healthcare Japan, LOGIQ S8) とリニア型超音波プローブ (GE Healthcare Japan, ML6-15-D) を用いて計測を行った。

4. 研究成果

斜流負荷実験における作動流体中の赤血球が内皮細胞のはく離に及ぼす影響に関する研究成果について述べる。培地および赤血球分散培地の斜流負荷実験では、ともに 5ml/min 前後より内皮細胞ははく離し始め、30ml/min でほぼすべての内皮細胞がはく離し、流量とはく離率の関係において両者に差異は見られなかった (図 1)。はく離の様子については、培地実験のはく離領域に多数の内皮細胞の残留が見られるのに対し、赤血球分散培地実験では内皮細胞の残留はほとんど見られず、赤血球の影響が考えられる。

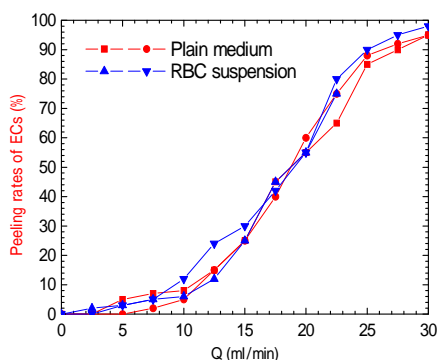


図 1 流量とはく離率の関係

次に、2次元超音波計測融合血流解析におけるエイリアシングと逆流の判別と補正の結果について述べる。エイリアシングと逆流が同時に発生した時刻 ($t = 0.592$ s) のドプラ速度分布を図 2(a) に示す。A と B がエイリアシング、C が逆流領域である。エイリアシングと逆流の判別、補正後の結果を図 2(b)

に示す。図 2(a) のエイリアシング B と逆流 C を含む断面のドプラ速度の y 方向分布を図 2 中に示す。逆流に対しては補正が行われず、エイリアシングのみが補正されていることがわかる。以上から、本手法によりエイリアシングと逆流を正しく判別し、補正できることが確認され、提案手法の有効性が示された。

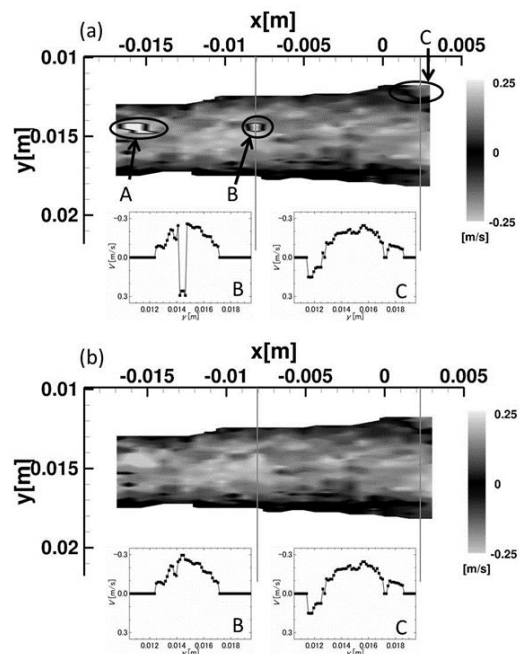


図 2 カラー Doppler イメージ、(a) エイリアシングと逆流を含む元データ、(b) 補正後の結果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- Shusaku Sone, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, Atsushi Shirai, Photoplethysmography and ultrasonic measurement-integrated simulation to clarify the relation between two-dimensional unsteady blood flow field and forward and backward waves in a carotid artery, Medical & Biological Engineering & Computing, (2016-7-27) DOI 10.1007/s11517-016-1543-4. (査読あり)
- Hiroko Kadowaki, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, and Nobuyuki Taniguchi, Study of Estimation Method for Unsteady Inflow Velocity in Two-Dimensional Ultrasonic-Measurement-Integrated Blood Flow Simulation, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 63, No. 2 (2016-2-1) 403-414. (査読あり)
- Takaumi Kato, Shusaku Sone, Kenichi Funamoto, Toshiyuki Hayase, Hiroko Kadowaki, Nobuyuki Taniguchi, Effects of

inflow velocity profile on two-dimensional hemodynamic analysis by ordinary and ultrasonic - measurement - integrated simulations, Medical & Biological Engineering & Computing, DOI 10.1007/s11517-015-1376-6, (2015-8-26) 1-9. (査読あり)

4. Hiroko Kadowaki, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, Shusaku Sone, Tadashi Shimazaki, Takao Jibiki and Koji Miyama, Blood flow analysis in carotid artery bifurcation by two-dimensional ultrasonic-measurement-integrated simulation, Journal of Biomechanical Science and Engineering, Vol. 10, No. 1 (2015-4-30) DOI:10.1299/jbse.14-00266. (査読あり)

[学会発表](計 18 件)

1. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 2次元超音波計測融合血流解析により再現された血流場の可視化に関する研究, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, Vol. , No. 17-33 (2017-12-14) 148.
2. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 2次元超音波計測融合血流解析におけるエイリアシングと逆流の判別と補正, 日本超音波医学会第 90 回学術集会プログラム・講演抄録集, Vol. 44, No. (2017-5-27) S634.
3. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 2次元超音波計測融合血流解析における計測誤差の検出と補正, 東北大学・統計数理研究所合同ワークショップ, Vol. , No. (2017-4-25) .
4. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 2次元超音波計測融合血流解析における高精度エイリアシング検出と補正, 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集(CD), Vol. , No. 16-76 (2017-1-20) 2C17.
5. 井上浩介, 早瀬敏幸, 宮内優, 鈴木美利亜, 血管壁近傍血流場が内皮細胞損傷に与える流体力学的影響の解明(流れ負荷実験における作動流体中の赤血球が内皮細胞の損傷に及ぼす影響), 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集(CD), Vol. , No. 16-76 (2017-1-19) 1C23.
6. 鈴木美利亜, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 血管壁近傍血流場が内皮細胞損傷に与える流体力学的影響の解明(流れ負荷実験における作動流体中の赤血球が内皮細胞のはく離に及ぼす影響), 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集(CD), Vol. , No. 16-76 (2017-1-19) 1C24.
7. Miria Suzuki, Toshiyuki Hayase, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Determination of

Fluid Mechanical Effects Caused by Near Wall Blood Flow Field on Endothelial Cell Damage: Effect of Red Blood Cells in Working Fluid, Abstracts book of the 16th International Conference on Biomedical Engineering, Vol. , No. (2016-12-8) 57.

8. Daisuke Harada, Toshiyuki Hayase, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Two-Dimensional Ultrasonic-Measurement-Integrated Simulation of Blood Flow in a Carotid Artery Considering Deformation of the Blood Vessel, Abstracts book of the 16th International Conference on Biomedical Engineering, Vol. , No. (2016-12-8) .
9. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 血管の変形を考慮した頸動脈血流の2次元超音波計測融合シミュレーション, 日本機械学会第 27 回バイオフロンティア講演会講演論文集, Vol. , No. (2016-10-23) 93-94.
10. Hiroko Kadowaki, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Tadashi Shimazaki, Takao Jibiki, Koji Miyama, Determination of optimum feedback gain of two-dimensional ultrasonic-measurement-integrated blood flow analysis system, Proceedings of the 12th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2015), Vol. , No. (2015-10-29) 460-461.
11. Daisuke Harada, Toshiyuki Hayase, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Hiroko Kadowaki, Tadashi Shimazaki, Takao Jibiki, Koji Miyama, Two-Dimensional Ultrasonic-Measurement-Integrated Blood Flow Analysis Considering Deformation of Blood Vessel by Pulsation: Extraction of Unsteady Vessel Shape from B-mode Images, Proceedings of the 13th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2016), (2016-10-11) 452-453.
12. Miria Suzuki, Toshiyuki Hayase, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Determination of Fluid Mechanical Effects Caused by Near Wall Blood Flow Field on Endothelial Cell Damage: Effect of Shear Stress on Cell Peeling of Cultured Endothelial Cells, Proceedings of the 13th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2016), Vol. , No. (2016-10-11) 336-337.
13. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 門脇弘子, 船本健一, 島崎正, 地挽隆夫, 見山広二, 拍動に伴う血管の変形を考慮した2次元超音波計測融合血流解析システム, 日本超音波医学会第 89 回学術集会プログラム・講演抄録集, Vol. 43, No. Supplement (2016-5-28) S766.
14. 原田大輔, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 門脇弘子, 島崎正, 地挽隆夫, 見山広二, 拍動に伴う血管形状の変形を考慮した 2

次元超音波計測融合血流解析 (Bモード画像による非定常血管形状抽出), 日本機械学会東北支部第51期総会・講演会講演論文集(USB), Vol. , No. 2016-1 (2016-3-11) 183-184.

15. 門脇弘子, 早瀬敏幸, 宮内優, 井上浩介, 島崎正, 地挽隆夫, 見山広二, 2次元超音波計測融合血流解析における速度ベクトルの解析精度の検証, 日本機械学会第28回バイオエンジニアリング講演会講演論文集(USB), Vol. , No. 15-69 (2016-1-10) 2F42-1-5.
16. 門脇弘子, 早瀬敏幸, 船本健一, 宮内優, 谷口信行, 2次元超音波計測融合血流解析における上流端流速推定手法の実血管形状による検証, 日本流体力学会年会2015講演論文集(USB), Vol. , No. (2015-9-27) 192-1-2.
17. Hiroko Kadowaki, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, Suguru Miyauchi, Kosuke Inoue, Tadashi Shimazaki, Takao Jibiki, Koji Miyama, Effect of speckle noise in ultrasonic measurement on two-dimensional ultrasonic-measurement-integrated blood flow analysis, Proceedings of the World Congress on Electrical Engineering and Computer Systems and Science, Vol. , No. (2015-7-14) 323-1-323-8.
18. 門脇弘子, 早瀬敏幸, 船本健一, 井上浩介, 島崎正, 地挽隆夫, 見山広二, 2次元超音波計測融合血流解析システムにおける最適フィードバックゲインの決定, 日本超音波医学会第88回学術集会講演抄録集, Vol. 42, No. Supplement (2015-5-22) S407.

〔その他〕

ホームページ

<http://www.ifs.tohoku.ac.jp/sme/index-j.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早瀬 敏幸 (HAYASE, Toshiyuki)
東北大学・流体科学研究所・教授
研究者番号: 30135313

(2) 研究分担者

西條 芳文 (SAIJO, Yoshifumi)
東北大学・医工学研究科・教授
研究者番号: 00292277

下山 幸治 (SHIMOYAMA, Koji)
東北大学・流体科学研究所・准教授
研究者番号: 80447185