

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21700459

研究課題名 (和文) 小動物のための超音波計測を融合した超高分解能血流解析

研究課題名 (英文) Blood flow simulation integrated with ultrasonic measurement of small animals

研究代表者

船本 健一 (FUNAMOTO KENICHI)

東北大学・流体科学研究所・助教

研究者番号：70451630

研究成果の概要 (和文)：

動物実験に用いられる小動物の血行力学の正確かつ詳細な情報を得るため、血流の超音波計測と数値解析を融合した超音波計測融合シミュレーション手法のフィージビリティスタディを行った。実際の血管と同様の超音波画像を提供する微小流路の作成が PVA ゲルを用いて可能となり、それらの流路内部の流れや、マウスの頸動脈およびヒトの指の動脈内の血流を対象とした実験により、解析精度の向上と生体計測への有用性が確認できた。

研究成果の概要 (英文)：

Feasibility study of ultrasonic-measurement-integrated (UMI) simulation, in which feedback signals are added to the governing equations based on errors between ultrasonic measurement and numerical simulation, was performed to obtain accurate and detailed information of hemodynamics in small animals. Flow channel whose ultrasound image was similar to that of an artery in a small animal was made from PVA gel. By experiments measuring flows in flow channels and real blood flows in mouse carotid artery or in human finger artery, the computational accuracy of UMI simulation was improved, showing the feasibility of *in vivo* measurement.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：生物・生体工学，流体工学，計測融合シミュレーション，血行力学，超音波計測，微小流路，ポリビニルアルコール，画像解析

1. 研究開始当初の背景

心血管系の病的状態である循環器系疾患の発症および進展の機序については、*in vitro* の細胞実験や *in vivo* の動物実験、血流の数値シミュレーションにより、血管内の

血流場（速度場および圧力場）により血管壁に作用する血行力学的な応力（せん断応力や法線応力）が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。例えば、小動物を用いた動物実験により血管の内皮細胞上のタ

ンパク質の発現や病態の経時的変化の観察が可能であり、これまでに血流による壁せん断応力と動脈硬化の鍵となる細胞接着分子 (VCAM-1 や ICAM-1) の血管内皮細胞における発現との関連性が指摘された。このように、循環器系疾患の機序を解明し、画期的な診療および予防方法を確立するためには、血管内の血行力学の正確かつ詳細な情報が必要不可欠である。しかし、既存の血流計測方法は時間・空間分解能に限界を有し、しかも血流場の限られた情報しか得られないという問題を有する。一方、血流の数値シミュレーションにより血流場の詳細な情報が得られるが、初期条件や境界条件の正確な設定が本質的に困難であるため、計算結果が実際の血流場と完全には一致していないのが現状である。

流れ場の情報の取得において計測と計算が有する上記の問題点の解決策として、計測結果と計算結果の間に生じる誤差をフィードバックしながら数値シミュレーションを行う「流れのオブザーバ (状態観測器)」が提唱されてきた。この概念に基づき、研究代表者はヒトの血管内の血流場の再現を目的に、超音波カラー Doppler 計測により得られる複数点における Doppler 速度 (超音波ビーム方向の速度成分) と血流の数値シミュレーションにより得た Doppler 速度の間の誤差を求め、それを補正する体積力をフィードバックしながら数値シミュレーションを行う「超音波計測融合シミュレーション」を開発した。しかし、マウスのような小動物の血管内の血流場を把握しようとする場合、血管が非常に細く ($\phi 1\text{mm}$ 以下)、正常時でもヒトの 10 倍近い拍動を有し、小動物用超音波計測装置による超音波カラー Doppler 計測の時間分解能が不十分 (装置の機構上、数 fps) であったため、ヒト血流に対するものと同じ計測融合手法は用いることができなかった。一方で、同装置は数 $10\mu\text{m}$ の高空間分解能を有し、生体組織の 2 次元断面の輝度画像 (B モード画像) 中に、血管内の血球や超音波造影剤 (マイクロ/ナノバブル) の粒子を可視化できた。そこで、高い時間分解能で超音波 B モード計測を行い、得られる時系列の B モード画像を PIV (粒子画像流速測定法) 解析することにより計測断面上の血流の速度分布を獲得し、それと血流の数値シミュレーションによる速度分布との間の誤差を補正する体積力をフィードバックする「小動物の血流の超音波計測融合シミュレーション」を提案した。そして、最も単純な直円管の微小流路内の流れ場 (発達層流や拍動流) を題材に、数値実験や、超音波計測可能かつ透明な合成樹脂のポリビニルアルコール (PVA) ゲルの微小流路を用いた実験によりフィードバックの有効性を

検証してきた。しかし、動物実験に用いるためには、実際の複雑な血管形状内の流れ場や、生体の超音波計測データを用いた場合における有用性の検討が必要不可欠であった。

2. 研究の目的

本研究では小動物の血流の超音波計測融合シミュレーションの確立と実用化を最終目的とし、小動物の血管形状や超音波計測時の B モード画像を模擬する微小流路を作成し、小動物の血流の超音波計測融合シミュレーション手法の検証実験を行う。また、実際に生体計測を行い、開発手法の実用性の検証を行うと共に、それらの検証実験を通して、高精度化および汎用化に取り組む。

3. 研究の方法

まず、実際の生体内の血流に近い状態を模擬した微小流路を作成し、その内部の流れ場の再現を題材に、超音波計測融合シミュレーションの計算精度の評価と改善を行った (図 1 参照)。具体的には、超音波計測融合シミュレーションの計算結果をマイクロ PIV 計測結果と比較することにより計算精度を明らかにし、計算精度の改善するための方法の導入と様々な血管形状へ対応するための汎用化に取り組んだ。さらに、実際の生体計測への実用性を検証するために、マウスの頸動脈やヒトの指の動脈 (ϕ 約 1mm) を対象にした生体計測を行い、得られる計測結果を用いて超音波計測融合シミュレーションを行うことにした。

微小流路の作成においては、小動物を計測した際に得られる超音波 B モード画像を模擬したりアリスティックな画像を提供できる微小流路の作成について検討した。まず、

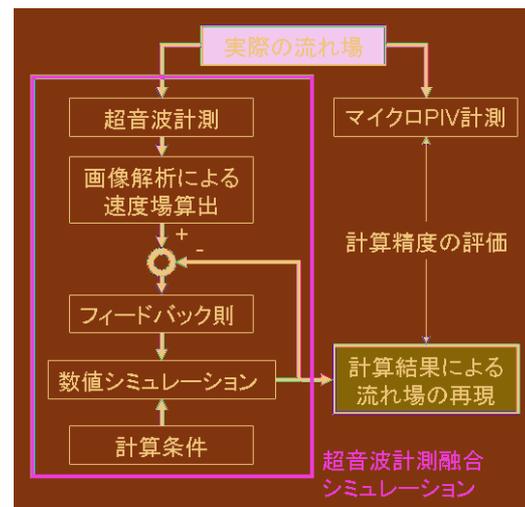


図 1 小動物の血流の超音波計測融合シミュレーションの開発

形状に関して、動脈硬化の研究に実際に用いられているマウスの大動脈や頸動脈の形状を参考に、分岐や曲がり、狭窄または動脈瘤などの疾患部分を有する微小流路の作成を透明な PVA ゲルを用いて行った。また、実際の複雑な血管形状を正確に模擬するため、小動物の動脈にワックスや金属を流し込んで固定して得られる中実の血管モデルを PVA ゲル内に配置し、血管形状を転写して微小流路を作成する方法についても検討を行った。ここで、通常用いられる材料組成による PVA ゲルは生体よりも超音波を透過させ、その超音波 B モード画像は小動物の画像とは大きく異なる。この特徴は、画像中の作動流体の粒子が捕らえ易くなるため、本研究の基礎開発段階においては有利であったが、実際の解析対象が小動物の血流であるため、より現実的な状況下において計算精度の検証を行う必要がある。そこで、PVA の溶媒中のジメチルスルホキシド (DMSO) の濃度調整と分散体 (ガラスビーズ) の配合により、微小流路の音響特性 (音速および減衰率) を実際の小動物のそれに近づけて作成した。ここで、PVA ゲルは高い含水量を有するため超音波計測が可能である一方で、乾燥に弱いという欠点があり、保存状態や日数の経過により収縮する。数日間以上保存した微小流路を実験に用いる際は、マイクロフォーカス X 線 CT 装置を用いて計測し、常に正確な形状を把握することにした。

微小流路とポンプを接続した微小流路実験システムにより、マウスの頸動脈内の平均流速 (数 cm/s) 程度の定常流や拍動流を流し、微小流路内部の作動流体の流れの様子を小動物用超音波計測装置とマイクロ PIV 計測装置を用いて計測した。作動流体としては、超音波計測時には実際の物性と音響特性が実際の血液に近い値を有する疑似血液を用い、マイクロ PIV 計測においては、水に蛍光粒子を配合した液体を作動流体として用いた。

また、実際の生体計測に対する有用性の評価においては、マウスの頸動脈やヒトの薬指の動脈を計測対象にし、超音波計測融合シミュレーションを行った。動物実験の実施に当たっては、東北大学の動物実験倫理委員会の承認を受けた。

超音波計測融合シミュレーションでは、基礎方程式として以下に示すナビエ・ストークス方程式と、連続式より導出される圧力方程式を離散化し、有限体積法の一つである SIMPLER 法により解いた。

$$\rho \left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} \right) = \mu \Delta \mathbf{u} - \nabla p + \mathbf{f} \quad (1)$$

$$\Delta p = -\nabla \cdot \rho (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} + \nabla \cdot \mathbf{f} \quad (2)$$

ここで、 \mathbf{f} はフィードバック信号を表し、計算結果と計測結果の間の速度の誤差ベクト

ルの最適推定値に比例する仮想的な外力として、以下の式により与えられる。

$$\mathbf{f} = -K_v^* \frac{\Phi_d (\mathbf{u}_c - \mathbf{u}_s)}{U} \left(\frac{\rho U^2}{L} \right) \quad (3)$$

ここで、 K_v^* はフィードバックゲイン、 \mathbf{u}_s および \mathbf{u}_c は実際の流れ場と計算結果の流れ場の速度ベクトル、 \mathbf{u}_e は速度の誤差ベクトルを表す。また、 Φ_d は射影関数を表し、3次元の速度ベクトルを計測により得られる速度情報に変換する関数である。さらに、 U および L は、計算において用いる代表速度および代表長さである。

計測により得られる速度情報として、時系列の超音波 B モード画像中の作動流体の粒子の PIV 解析により流路内の 2 次元速度分布を求め、流れの数値シミュレーション過程において適用するフィードバックに用いながら超音波計測融合シミュレーションを実行した。超音波 B モード画像の PIV 解析には、解析精度がある程度保証されている汎用アプリケーション (Koncerto, Seika Corporation, Japan) を用いた。しかし、後述の理由により、計画当初用いていた機械走査式の超音波プローブ (RMV-704, VisualSonics, Canada) を用いる超音波計測装置 (Vevo 770, VisualSonics, Canada) から電子走査式の超音波プローブ (MS-550D) を使用する後継機種 (Vevo 2100) に変更したことから、装置の変更以降は、ヒトの血流の超音波計測融合シミュレーションにおいて用いた方法と同じく、カラードブラ計測により得られる複数点の位置におけるドブラ速度をフィードバックに用いる方法を用いて研究を進めた。これは、この装置の変更により、最大 1,000Hz での超音波 B モード画像が獲得できるようになると共に、別の利点として、これまで不可能であった複数点の位置におけるドブラ速度 (速度の超音波ビーム方向成分) が取得できるようになったためである。

血管形状は、超音波 B モード画像をパターンマッチング処理して血管断面形状を抽出し、それと同時に超音波プローブの位置と姿勢を 3次元位置検出装置 (FaroArm Platinum, FARO Technologies, USA) を用いて検出し、両者のデータを合わせることで得た。血管断面間については補間を行い、円筒座標系を適用して計算格子を生成した。

一連の超音波計測融合シミュレーションの解析には、オリジナルの解析プログラムを用い、東北大学流体科学研究所未来流体情報創造センターのスーパーコンピュータ (Altix 3700 Bx2, SGI Japan, Japan) により実行した。流路形状の実験中の変化については、ここでは簡単化のため無視し、剛体であると仮定して与えた。フィードバックにお

けるゲインは、計算が安定して行え、誤差を効果的に減少させることができる値を探りながら決定した。また、収束判定値等の収束条件については、テスト計算の結果に基づいて設定した。

ここで、実際の超音波計測においては、必ず何らかの計測誤差が含まれ、超音波計測融合シミュレーションの結果に影響を与えることが考えられた。そこで、ガウシアンノイズ、エイリアシング、ウォールフィルターおよびデータの欠落の4つの主な計測誤差の影響とその検出方法に関し、数値実験による検討を行った。数値実験には、ヒトの血流の超音波計測融合シミュレーションの研究において行った下行大動脈に発症した動脈瘤内の3次元非定常の血流の数値実験データを使用した。ある条件を与えて行って得られた数値解を基準解と定義し、その基準解のドブラ速度に各計測誤差を模擬した変動を加え、それを用いて超音波計測融合シミュレーションを行った場合の基準解に対する計算精度を評価した。この方法により、計測誤差の影響を調べると共に、計算精度の悪化を防ぐ方法を考案した。

4. 研究成果

まず、PVAゲルを用い、複雑な形状を有する微小流路の作成に取り組み、そのノウハウを得た。実際に、PVAゲルを用いて曲がりや狭窄を有する流路を作成することができ、小動物の血管を転写した流路も作成できた。図2にラットの脳血管形状を転写した流路を示す。ここで、血管形状の転写のための中実の血管モデルをワックスにより作成した場合、PVAゲル中のDMSOにより溶解して上手く転写ができないことが分かった。図2に示す微小流路は、金属を用いて作成した中実モデル（図の右側）を使用して得られた。また、PVAゲルの音響特性についてはPVA濃度15wt%、溶媒中のDMSO濃度98mol%、ガラスビ

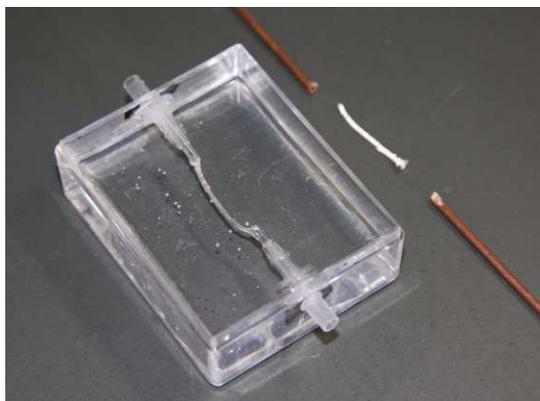


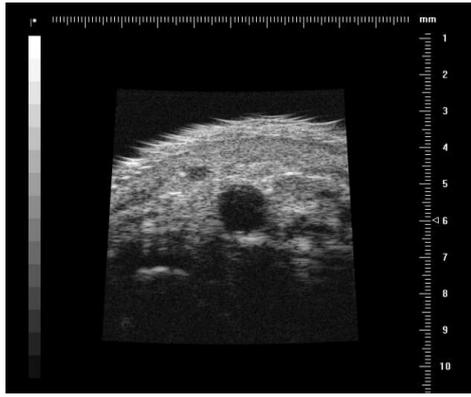
図2 ラット脳血管形状を転写したPVAゲルの微小流路（左側）と作成に使用した金属製の血管の中実モデル（右側）

ーズを2.8wt%追加して材料を作成することにより、生体の音響特性（1540m/s, 40dB/cm）に近い値が得られ、複雑な微小流路の作成も可能であることがわかった。超音波Bモード画像において、血管中の血球同様、作動流体の粒子が不鮮明になったが、PIV解析により速度を得ることは可能であった。

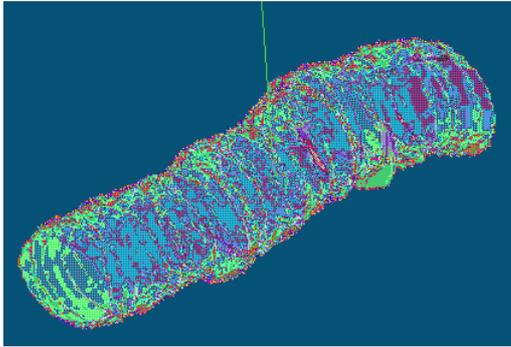
超音波計測融合シミュレーションを行うため、作成した微小流路内に流れを発生させ、超音波PIV計測により流速の情報を得ることを試みた。しかし、機械走査式の超音波プローブを用いる超音波装置による超音波Bモード計測では80Hzの計測が限界であり、流速をマウスの血流に近付けた場合、精度が良くないことが分かった。そこで、使用する超音波計測装置を変更し、超音波プローブも機械走査式から電子走査式のものに交換した。その結果、最大1000 frame/sのBモード計測と、血流速度の情報を提供するカラードブラ計測が可能となった。これに伴い、超音波計測融合シミュレーションのフィードバックに用いる計測情報として、血流のドブラ速度を用いることにし、プログラムを修正した。

次に、超音波Bモード画像から血管の輪郭をパターンマッチングにより取得し、それと同時にプローブの位置と姿勢を3次元位置検出装置で認識することにより、超音波計測融合シミュレーションの実行に必要な血管形状を得る方法を開発した。ファントムを使った動作検証の後、ヒトの指の動脈やマウスの頸動脈を計測対象に、生体計測への応用性を確認した。図3(a)にヒトの指の動脈の断面の超音波Bモード画像を示す。中心部付近の黒い円形の部分が血管（ ϕ 約1mm）であり、周囲の灰色の部分は指の組織である。動画で見た場合、血管が拍動に応じて若干膨らむ様子が観察されたが、その変形量は血管径に対して数%であった。位置情報と合わせた解析により得られた血管形状と計算格子を図3(b)および(c)に示す。血管形状では、超音波Bモード画像の分解能の制限、ノイズの影響、パターンマッチングの精度により断面のブレも確認されるが、3次元の血管形状を100 μ m程度の精度で抽出できるようになった。

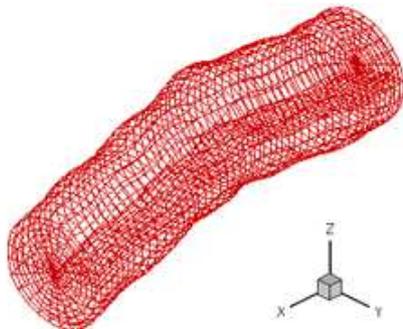
計測誤差による超音波計測融合シミュレーションに対する誤差を評価した結果として、フィードバック領域内の速度の基準解に対する誤差の1心周期内の時間変化を図4に示す。図4(a)に示すように、計測データに含まれるガウシアンノイズは基礎方程式を解く過程において有効なフィードバックとしては作用せず、計算結果にはほとんど影響を与えないことがわかった。一方、エイリアシングはその発生時に超音波計測融合シミュレーションの計算精度を悪化させ、その後も影響が残った。ウォールフィルターやデータの欠落は、フィードバックに用いられると



(a)



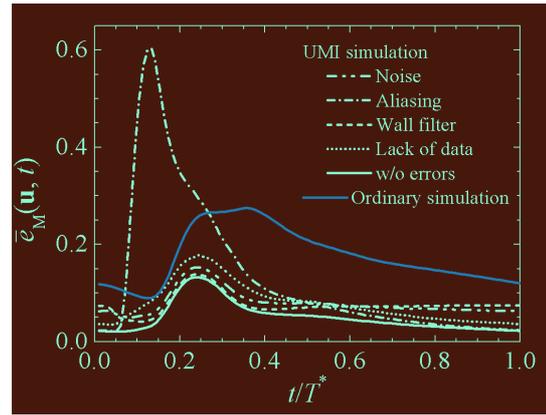
(b)



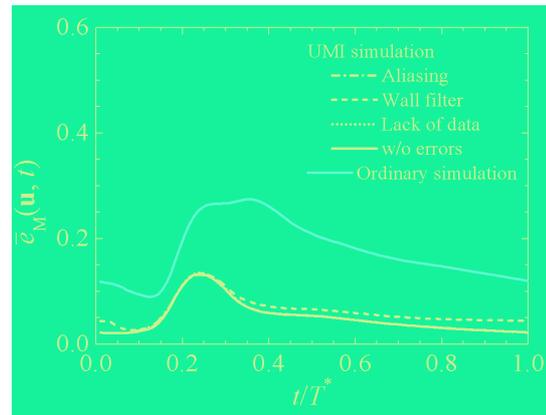
(c)

図3 ヒトの指の血管断面の(a)超音波Bモード画像とそれに基づいて得られた(b)血管形状および(c)超音波計測融合シミュレーションの計算格子

ドプラ速度をゼロにするように作用するため、特に心拡張期と心収縮期においてそれぞれ影響が現れた。それらの計算精度の悪化への対策を講じた結果を図4 (b)に示す。エイリアシングについては、フィードバック信号の大きさに注目することによりその発生を検知でき、その位置におけるフィードバック信号をゼロにリセットすることにより計算精度の悪化を抑えることができた。計測データをゼロとして提供するウォールフィルタとデータ欠落については、いずれの問題も



(a)



(b)

図4 フィードバック領域内の速度ベクトルの誤差ノルムの1心周期内の時間変化：(a)各計測誤差を含むデータをフィードバックに用いた場合と(b)それらへの対策を講じた場合

ドプラ速度がゼロの位置ではフィードバックを行わないことにすることにより解決できた。以上のことから、超音波計測の計測誤差の影響を抑えた超音波計測融合シミュレーションを実行でき、血行力学の詳細な情報を正確に得ることが可能となった。

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1件)

1. Kenichi Funamoto, Toshiyuki Hayase, Yoshifumi Saijo, Tomoyuki Yambe, Numerical Analysis of Effects of Measurement Errors on Ultrasonic-Measurement-Integrated Simulation, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 58, No. 3, 653-663, 2011、査読有

〔学会発表〕（計4件）

1. 船本健一、早瀬敏幸、医療計測との融合による血流解析、第88期日本機械学会流体工学部門講演会、2010年10月31日、山形大学
2. Kenichi Funamoto, Toshiyuki Hayase, Tetsuya Kodama, Visualization of Microcirculation Based on Brightness Variation in Contrast-Enhanced Ultrasound, ASME 2010 Summer Bioengineering Conference, 2010年6月17日、Naples, USA
3. 船本健一、早瀬敏幸、小玉哲也、超音波Bモード画像の輝度値の変動に基づく微小循環の可視化、第22回バイオエンジニアリング講演会、2010年1月10日、岡山理科大学
4. 船本健一、早瀬敏幸、西條芳文、山家智之、血流の超音波計測融合シミュレーションに関する研究 第9報：計測ノイズの影響、第20回バイオフィロンティア講演会、2009年11月8日、和歌山県民文化会館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

船本健一 (FUNAMOTO KENICHI)
東北大学・流体科学研究所・助教

研究者番号：70451630

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者