

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500563

研究課題名(和文)超音波スペクトロスコピー法に基づく血液粘性の非侵襲計測法に関する研究

研究課題名(英文)Noninvasive measurement of blood viscosity based on ultrasonic spectroscopy

研究代表者

佐藤 隆幸 (Sato, Takayuki)

首都大学東京・理工学研究科・助教

研究者番号：90326017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：血液粘度と強い相関のある赤血球凝集度を超音波反射スペクトルのピーク周波数から高感度・高精度で推定する方法を検討した。実際の血液の代わりに、赤血球と同サイズのグラファイトまたはアクリルの粒子を用いて静水及び流水の環境下で基礎研究を行った。単分散粒子での実験では、流れの有無に関わらない粒径とピーク周波数の関係が見られた。また二分散粒子を用いた実験では、混合比に対応したピーク周波数の変化が見られた。実際の血液を用いた実験への準備段階として、赤血球の模擬試料の凝集技術も確立した。

研究成果の概要(英文)：A novel technique of detecting the peak frequency of an ultrasonic reflection spectrum was proposed, with the aim of enhancing the sensitivity and accuracy of estimating the aggregation size of red blood cells (RBCs). Peak frequencies for stagnant and running suspensions prepared with monodisperse particles of graphite and acryl that were used to mimic aggregated RBCs were acquired. As a result, the relationships between particle diameter and peak frequency, which were independent of the material of the particles and flow rate, were obtained. For bidisperse samples, i.e., mixtures of two different sizes of particle samples, quantitative relationships corresponding to changes in the mixing ratio were observed. As a preparatory step for the experiments with real blood sample, a control method of sample particle aggregation was also established.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：赤血球凝集 血液粘性 ピーク周波数

1. 研究開始当初の背景

血液粘度(サラサラ・ドロドロの度合い)の上昇は健常者の体内においても日常的に起こる現象である。今日では、血液粘度の上昇が末梢循環の停滞や血栓の形成に関わっていることは、一部の研究者だけでなく一般に広く知られるようになった。血液粘度の上昇は赤血球の凝集現象の進行と非常に強く関連し、それらが同時に起こることが明らかとなっている。我が国における血液粘度への関心は極めて高く、一度上昇した粘度を正常値に戻すための健康情報や薬剤の価値は非常に高い。特に、糖尿病患者(予備軍を含めると国内で約1370万人)などに対して、日常のセルフチェック手法の確立は、予防医療の強化・充実に極めて大きな役割を果たすものと思われる。

光学的あるいは音響的特性の変化を捕捉して赤血球の凝集状態を測定しようとする試みは以前より存在した。国内外での赤血球凝集度測定に関する光学的アプローチでは、血液を細径の流路に通す必要がある、という測定方法の短所のほか、人体測定時には皮膚などの表層組織が光の強散乱媒体であるため中～太径の血管情報の取得が困難、といった根本的な問題がある。

これに対して音響的手法は、人体内部からの信号を容易に取得できるという長所を持つ。実用化にはさらなる改善が必要であり、主なものを問題点と共に出現順に挙げる。

(a) 心疾患患者の血液粘度測定法(疾患者のみに適用可能)

(b) 超音波後方散乱スペクトルによる赤血球凝集度測定(測定範囲=超音波焦点部分が凝集体サイズと比べて十分に大きくないため統計的誤差を生ずる)

(c) パワースペクトルによる赤血球凝集度測定(高周波測定のため組織深さ数mmが測定限界。また(b)と同じく測定範囲が狭小。)

血液粘度の非侵襲測定を実現するためには音響的手法を採用した上で、上記(a)～(c)の欠点を改善する必要があると考えられた。

2. 研究の目的

血液粘度は食事や運動状態といった生活因子によっても大きく上昇・下降するため、病状と血行状態が大きく関連した糖尿病等の患者のみならず、健常人にとっても非常に重要な健康指標である。しかしながら現在では注射針の皮膚刺入による採血のみによって測定が可能であり、患者の苦痛及び費用の負担から頻回の測定が不可能となっている。このため、非侵襲的測定法の確立は予防医学上極めて重要な開発課題であるが、過去の光学的測定及び超音波測定に関する研究報告では実用性が依然乏しい段階にある。本研究課題においては、これまでの研究展開を踏まえて実用性の高い血液粘度の測定手法を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

基本的に申請者本人1名のみでの研究体制とし、以下の工程によって最終目的への到達を図った。

【平成23年度】

(1) 様々な擬似凝集体試料のサイズの創出及び制御

凝集現象が発生している血液内では、単独赤血球(直径 $8\mu\text{m}$)から1mmを超える凝集体までが存在する。血液あるいは赤血球の実物を用いた試料調整は、その材料入手や凝集サイズ制御が困難である。グラファイトやアクリルの粒子を含む溶液内に混入する凝集剤濃度によって凝集サイズを変化させることができ、ここでは顕微鏡観察によって正確な凝集体サイズの測定を行った。

(2) 装置の構成

静水時における粒径ピーク周波数の関係を明らかにするため、グラファイトやアクリルの粒子懸濁液で満たしたステンレス容器内において、容器底のアルミ反射板に正対する位置に設置した超音波トランスデューサによって反射スペクトルを取得した。静水環境を維持したまま粒子の沈降を防ぎ、均一な懸濁状態を保持するために、本研究では増粘剤を懸濁液に混合した。増粘剤の超音波スペクトルへの影響がないことは予備実験にて確認した。

(3) 凝集度算出アルゴリズムの構築

3-1. 単分散系の測定

グラファイト及びアクリルの粉末を赤血球凝集体の代替試料として用い、粒径の変化がもたらす超音波反射スペクトルのピーク周波数の変化を測定した。

【平成24年度】

3-2. 多分散系の測定

一般に、溶液中に様々なサイズの凝集体を含む場合、凝集径分布が近似的に修正対数正規分布で表現できることを利用して、超音波減衰測定データから凝集径分布を求めることができる。この最小化アルゴリズムを開発することによって、汎用性の高い凝集度推定が可能となる。ここでは小粒子と大粒子から成る混合粒子懸濁液を試料とし、混合比を変化させた時のピーク周波数を測定した。

【平成25年度】

(4) 流れ環境下での実験

溶液タンク、バルブ、シリコンチューブ、流量計からなる流路に10MHz超音波トランスデューサを据え付けることにより反射スペクトルを取得した。流速は上腕皮膚表層に浮出する太い静脈の血流に倣い、5～10cm/secとした。

(5) 赤血球凝集制御法の検討

実際の赤血球の凝集機序は、代替試料として用いた工業粉体のように汎用の凝集剤を用いて生ずるものとは異なる。赤血球は血漿内のデキストラン等の高分子濃度が上昇し、赤血球表面に鎖状の“ひげ”が形成されること

によって、他の赤血球との連絡（架橋）を生じて凝集体を成長させる。
 本研究ではブタ血液を試料として用い、高分子量を持つデキストラン 70 の混合濃度を变化させることによって凝集サイズの制御を試みた。

4. 研究成果

(1) 様々な擬似凝集体サイズの創出・制御
 赤血球と同等のサイズの工業粉体を代替試料として用い基礎検討を行った。この粉体試料が水の中で分散した懸濁液に市販の凝集剤を混合して凝集サイズの制御を試みた。その結果、表1のように凝集剤濃度による凝集サイズの制御が可能となった。

表1 凝集剤濃度と凝集径の関係

凝集剤溶液濃度 [%]	粒子懸濁液に対する凝集剤溶液濃度	凝集径分布のピーク [μm]
0.1	100:0.1	11.9
0.1	100:0.2	14.5
0.1	100:0.3	17.5
0.1	100:0.4	26.7
0.1	100:0.5	56.5
0.2	100:0.1	25.4

(2) 装置の構成

凝集サイズの制御方法を確立した一方で、その凝集径分布が広がることも観察された。試料のサイズが既知でかつ可能な限り揃えられた条件で実験を行う必要があるため、あらかじめ所望の凝集径を持つ工業粉体を試料として導入した。静水条件での粒径 ピーク周波数の特性を得るため、図1のような実験装置を構成した。ステンレス容器底に反射板を配置し、そこに10MHz水浸型超音波トランスデューサを正対させた。

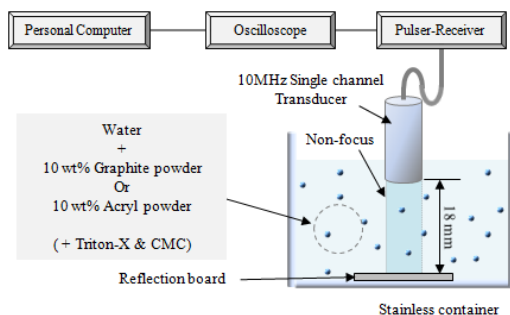


図1. 反射スペクトル取得装置

(3) 凝集度算出アルゴリズムの構築

3-1. 単分散系の測定

工業粉体試料として5~20 μm のグラファイト粉末及び6~46 μm のアクリル粉末を用いて10%濃度の懸濁液を作製し、反射スペクトルのピーク周波数を求めたところ図2のような結果を得た。材料に依らず、粒径によってピーク周波数が得られることがわかった。

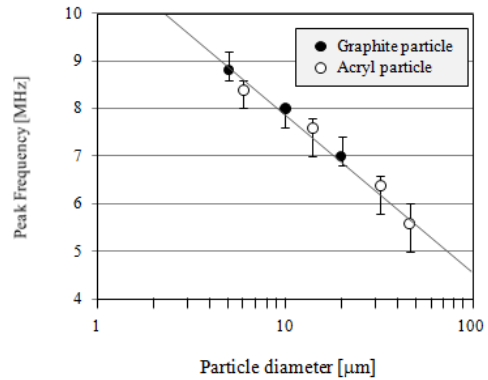


図2 粒径 ピーク周波数の関係

3-2. 多分散系の測定

6 μm 及び46 μm のアクリル粒子の混合比を変えてピーク周波数を測定したところ、図3のようになった。混合比によってピーク周波数が低周波側にシフトした。混合比に従ってピーク周波数がシフトし、実用化の際に凝集径が広く分布している場合でもその分布中心を捉えられる可能性を示しているといえる。

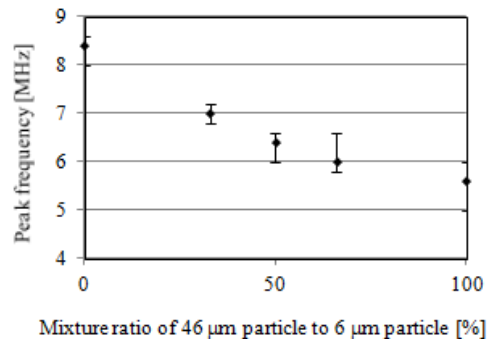


図3 混合比を変化させた二分散懸濁液におけるピーク周波数の変化

(4) 流れ環境下での実験

人体に対して実用する際の測定好適部位は上腕表層の太い静脈であると考えている。この場合の血流速は5cm/s付近であることが知られている。図4に示すような流路系を構成することにより、グラファイト及びアクリル粉末の懸濁液を最大流速10cm/sで流せることが装置内の流量計によって確認された。

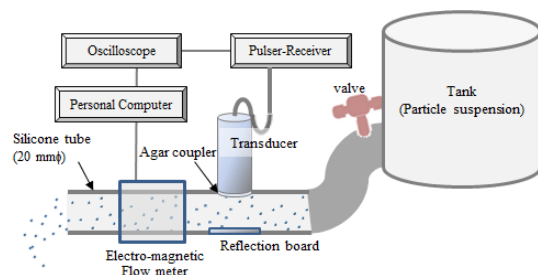


図4 流れ条件創出装置

この測定装置を用いて流速を変化させ、測定試料を 6~46 μm のアクリル粉末懸濁液(重量比 10%)とした際のピーク周波数の変化を図 5 に示す。

実験条件として設定した範囲では、流速の影響は測定値のばらつきという形で現れたのみで、ピーク周波数の平均値としては変化が見られなかった。

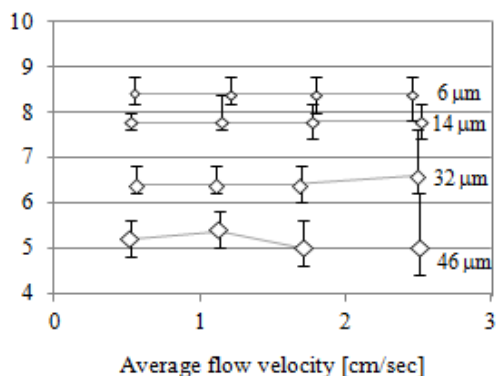


図 5 流れ条件下でのピーク周波数

(5) 赤血球凝集制御法の検討

デキストラン 70 水溶液をブタ血液内に混入して緩やかに攪拌し、光学顕微鏡によって各濃度時の凝集径を 300 サンプルより取得したところ、図 6 のようになった。デキストラン 70 の濃度によって凝集径の制御が可能であることが示された。

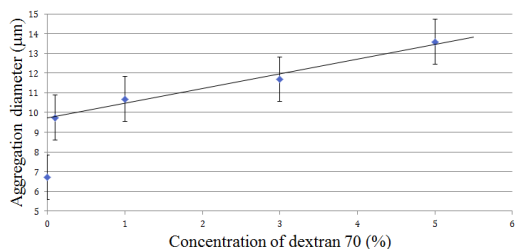


図 6 デキストラン 70 を凝集剤として用いた際のブタ血液内赤血球凝集実験結果

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 2 件)

T. Sato, H. Tojo, Y. Watanabe, Highly sensitive detection of red blood cell aggregation with ultrasonic peak frequency, Jpn. Appl. Phys., Vol. 52, 07HF18-1-07HF18-6, 2013, 査読有
有馬正浩, 佐藤隆幸, 渡部泰明, 超音波スペクトロスコピー法における小粒子凝集体と代替大粒子の実験的補正法, 電気学会論文誌 C 分冊, 134 巻, pp.28-34, 2014, 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

有馬正浩, 佐藤隆幸, 渡部泰明, 超音波スペクトロスコピー法における小粒子凝集体と代替大粒子の際の検討, 平成 24 年電気学会電子・情報・システム部門大会, 2012 年 11 月, 弘前
高橋暢, 佐藤隆幸, 渡部泰明, Detection of RBC Aggregation in Blood Flow Based on Ultrasonic Echo Correlation Method, 第 33 回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム講演論文集, 2012 年 11 月, 千葉
佐藤隆幸, 東條寛之, 渡部泰明, High Sensitive Detection of Red Blood Cell Aggregation with Ultrasonic Peak Frequency, 第 33 回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム講演論文集, 2012 年 11 月, 千葉
T. Sato, Yasuaki Watanabe, High Sensitivity Estimation of Red Blood Cell Aggregation with Ultrasonic Peak Frequency, Proceedings of 2013 IEEE International Ultrasonic Symposium, pp.868-871, 2013 年 7 月, プラハ
T. Sato, Suspension Viscosity Dependency of Ultrasonic Peak Frequency in Estimation of Red Blood Cell Aggregation 35th Annual International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2013 年 7 月, 大阪

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者

佐藤隆幸 (SATO, Takayuki)
首都大学東京・大学院理工学研究科・助教
研究者番号：90326017

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：