

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700575

研究課題名(和文)体外補助循環における出血・血液凝固の非侵襲連続光診断法の確立

研究課題名(英文)Development of optical non-invasive and continuous diagnosis of bleeding and thrombosis in extracorporeal circulation therapies

研究代表者

迫田 大輔(SAKOTA, Daisuke)

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・研究員

研究者番号：40588670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：体外補助循環における出血や血液凝固に関する非侵襲診断法の開発を目的とした研究を行った。可視から近赤外光による定量的な血液診断を確立するため、体外循環回路血流内光伝播モデルの開発、血漿の光診断を達成する血漿層境界反射分光法の開発、連続流血液ポンプ内血栓形成の非侵襲光イメージング法の開発を行った。結果として、開発したモデルを使用してヘマトクリットを誤差約1%の精度で非侵襲に予測できた。また、血漿層境界反射分光法によって、血漿遊離ヘモグロビン濃度を5mg/dLの分解能で定量できた。近赤外ハイパースペクトラルイメージングにより、連続流血液ポンプ内に形成された血栓の非侵襲イメージングを達成した。

研究成果の概要(英文)：The objective of study is to develop non-invasive and continuous diagnosis of bleeding and thrombosis in extracorporeal circulation therapies such as percutaneous cardiopulmonary support and extracorporeal membrane oxygenation. Visible or near-infrared light is useful tool to diagnose blood condition or components non-invasively. To achieve the quantitative optical methods, we developed (1) the photon propagation model of flowing blood in the extracorporeal circuit tubing, (2) the plasma surface reflectance spectroscopy (PSRS) to quantify the plasma component in whole blood, and (3) the imaging method of thrombus formation in a rotary blood pump. As a result, the developed model predicted the hematocrit level within 1% error rate. The PSRS method quantified the plasma free hemoglobin level at the accuracy of 5 mg/dL. The thrombus formation in the rotary blood pump was imaged non-invasively by near-infrared hyperspectral imaging.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：光計測 血液 可視・近赤外分光 人工心臓 循環器系疾患

1. 研究開始当初の背景

経皮的心肺補助や体外膜型人工肺などに代表される体外循環補助は、血液ポンプ及び人工肺を用いて体外により心肺補助を行い、生体心肺を休ませることで回復を図る治療法である。近年の血液ポンプ及び人工肺の発展に伴い、長期的な体外循環補助を行うことが可能になりつつあり、数週間から1ヶ月程度の体外循環補助を行い、回復が見込まれれば循環補助の離脱を行うか、もしくは埋め込み型人工心臓へ移行するかを見定める橋渡し BTB(Bridge to Bridge) という概念も確立しつつある。このようにして、今後の体外補助循環の用途の多様化や補助期間の長期化が期待されている。しかしながら、回路充填液による血液希釈、血液ポンプによる血球損傷、抗凝固剤の過不足による出血または血液凝固などの問題が生じるケースが少なくないのが現状である。また、体格が小さく、血液量の少ない小児患者では特にその危険性が高く、輸血は不可欠であるが、輸血による感染症や炎症反応が起こる危険性も問題となる。そこで補助循環中の血液に可視～近赤外光を照射して、ヘマトクリット、酸素飽和度、血液凝固等を非侵襲的かつ連続的にモニタリングすることで、上記のリスクを最小限に抑え、安全に長期的な体外循環補助を実現するシステムの確立を目指した。

2. 研究の目的

(1) 定量的な血液の光診断を達成するために、体外循環回路血流内の光伝播モデルの開発を行った。

(2) 血液の散乱は主に赤血球と血漿の屈折率差によって起こる。したがって赤血球数の減少や酸素飽和度の変化は血液の散乱を変化させるが、血漿の屈折率変化によっても散乱は変化する。体外循環においては非生理的なせん断流れや、血栓形成に伴う溶血によって血漿中にヘモグロビンが遊離し、血漿の光学特性が変化する。そこで、血漿の光学特性を把握するための計測手法を開発し、キャリブレーションや、溶血モニタリングへの応用を検討した。

(3) 血液凝固の光診断を達成するために、血液凝固反応に伴う血液の光学特性変化を調査した。

3. 研究の方法

(1) 血液内光伝播シミュレーション”photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC)”シミュレーションを開発した(Sakota et al, Journal of Biomedical Optics 15(6), 2010)。pciMCでは図1に示すように、biconcave 形状の赤血球がモデリングされており、赤血球の散乱を幾何光学理論に基づいて表現することができる。

pciMC を用いて体外循環回路を流れる血液の光伝播モデルを開発した。連続流血液ポンプ、人工肺、リザーバパックから成る模擬循環回路を構成し、ブタ血液を循環させた。1/4 inch ポリ塩化ビニルチューブを流れる血液に He-Ne レーザーを照射し、その散乱光を受光した。血液の光散乱は流量によって変化するが、その理由を赤血球が流れに対して配向するためであると考え、pciMC によって計測結果と適合する様な赤血球配向を探索した。

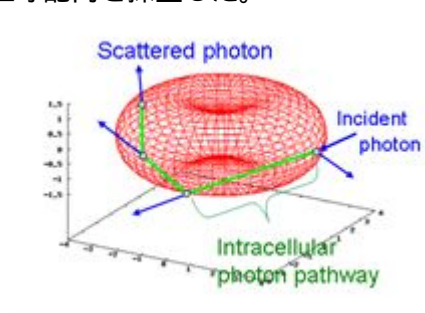


図1 pciMC シミュレーション

(2) in vitro において、図2に示す様な模擬人工心肺回路を構成し、ブタ血液を循環させた。人工心肺回路チューブにガラスセルを取り付けた。フローセル面に対して 45°の入射角で、ハロゲン白色光(波長 400～900nm)を光ファイバで導いて入射した。ここで液体パラフィンファイバ固定器具内に満たすことで、フローセル表面反射光を除去し、血漿-フローセル内面の境界層での反射光を受光ファイバにて取込み、小型分光光度計にて分光した。実験中、血液のヘマトクリット HCT[%]及び血漿遊離ヘモグロビン濃度 fHb[mg/dL]を変化させた。HCTについては、血液を遠心分離して抽出した自己血漿を回路内に注入することで変化させた。fHbについては、ヘモグロビン溶液を注入することで変化させた。HCTを変動させる実験ではfHbが一定であること、fHbを変動させる実験ではHCTが一定であることを確認した。

(3) in vitro における模擬循環回路において、活性凝固時間 ACT=200sec のウシ血液を循環させた。ポンプには当研究室で開発中の動圧浮上遠心血液ポンプを使用し、流量 1L/min、回転数 2780rpm で駆動した。図3に示す様に、ポンプの下面からハロゲン白色光を照射して、その反射光をハイパースペクトラルカメラにて撮影し、波長 600～750nm(分解波長 2nm)でハイパースペクトラルイメージング(HSI)を行った。実験時間の経過に伴って、血液ポンプ内に血栓が形成し、ポンプ流量が下回ったときに実験を終了した。

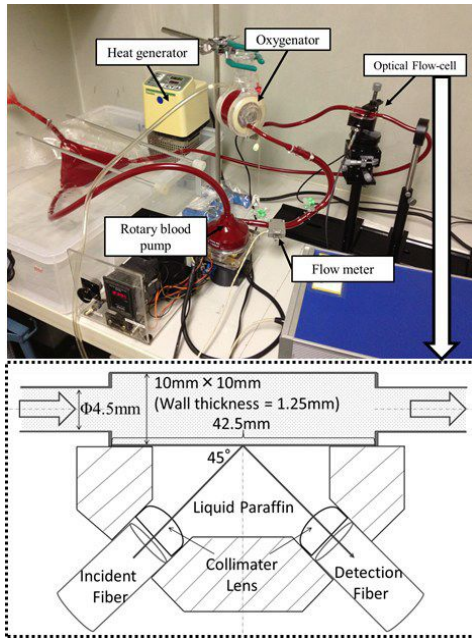


図 2 血漿層境界反射分光

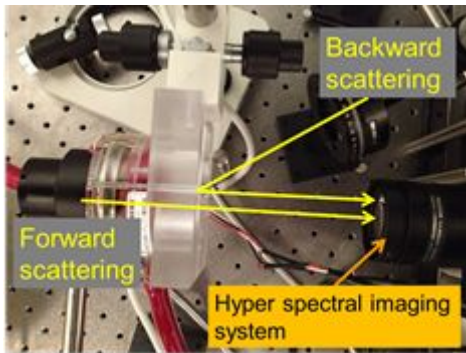


図 3 連続流血液ポンプの HSI

4. 研究成果

(1) 実験の結果、体外循環回路に He-Ne レーザーを照射すると、光は血流方向に延長する様に、入射点を中心として楕円形に広がっていった。図 4 に体外循環回路に光を照射したときの光散乱分布のシミュレーション結果を示す。血流中の赤血球の配向について、赤血球が体外循環回路の管中心を向くことで、実験結果と同様の光散乱分布になることがわかった。血液全体の赤血球の内、このような配向をしている赤血球の割合を配向率 (Orientation Ratio: OR [%]) とし、各 OR における散乱分布を図 5 に示す。配向率 OR が高くなるにつれて、散乱光の分布が、流れ方向に伸びる様に楕円形に変形していることがわかる。実験の結果、せん断速度 200 s^{-1} のときに、最も配向率が高くなり、そのときの配向率は $\text{OR}=15\%$ であった。完成したモデルを使用してヘマトクリットをモデルから求め、採血測定結果と比較したところ、誤差約 1% の精度で予測でき、モデルの妥当性が示唆された。

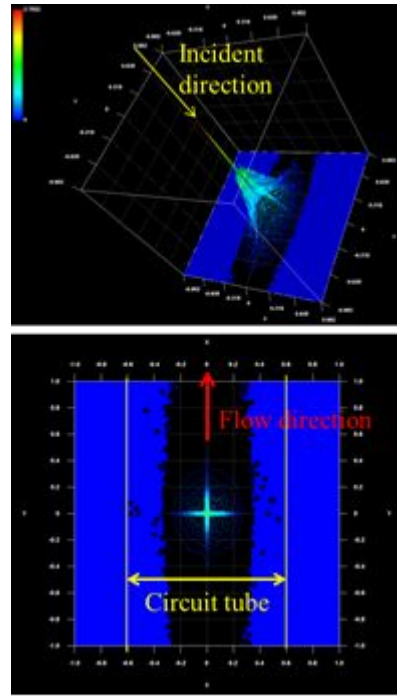


図 4 体外循環回路血流による光散乱のシミュレーション結果

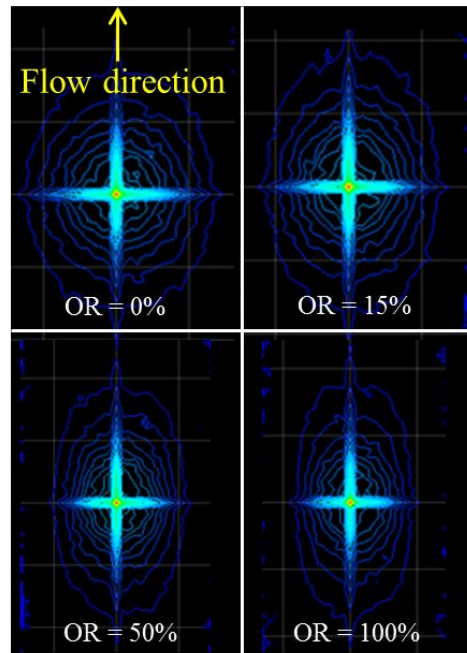


図 5 赤血球配向率(OR [%])と散乱光分布

(2) 図 6 に図 2 のシステムによって得られたスペクトルの変化を示す。図 6(a)は、元のヘマトクリットを $\text{HCT}=31.6\%$ として、ヘマトクリットの変化幅 HCT と、光学密度 (Optical Density: OD) の変化率 OD の関係を示している。OD は $\text{OD}(\lambda) = -\log_{10}\{I_{\text{Blood}}(\lambda)/I_{\text{Saline}}(\lambda)\}$ で求めた。ここで、 λ は波長 (nm)、 I_{Blood} は、血液を循環させたときの受光強度、 I_{Saline} は、生理食塩水を循環させたときの受光強度である。図 6(b)は、血漿遊離ヘモグロビンの変化幅 fHb と OD との関係を示している。波長が

600nm 以下では、OD は HCT について応答せず、fHb にのみ応答することを確認した。これは波長 600nm 以下ではヘモグロビンによる吸収が非常に大きいため、血液内に浸達した光が赤血球に衝突した際に、ほぼ吸収され消失してしまうために HCT について応答しなかったと考えられる。つまり波長 600nm 以下の光を使用することによって血漿境界での反射光のみが得られ、fHb による吸光情報だけを取得できたことが示唆された。2 波長($\lambda_1 = 505\text{nm}$, $\lambda_2 = 542.5\text{nm}$)の OD の差分と HCT 及び fHb の関係を図 7 に示す。この結果より、血液中の赤血球数に依存せず、血漿遊離ヘモグロビン濃度変化による血漿の屈折率変化情報のみを抽出可能であることが示唆された。本装置を使用して、溶血診断、血液の光計測のキャリブレーション法への応用等が期待できる。

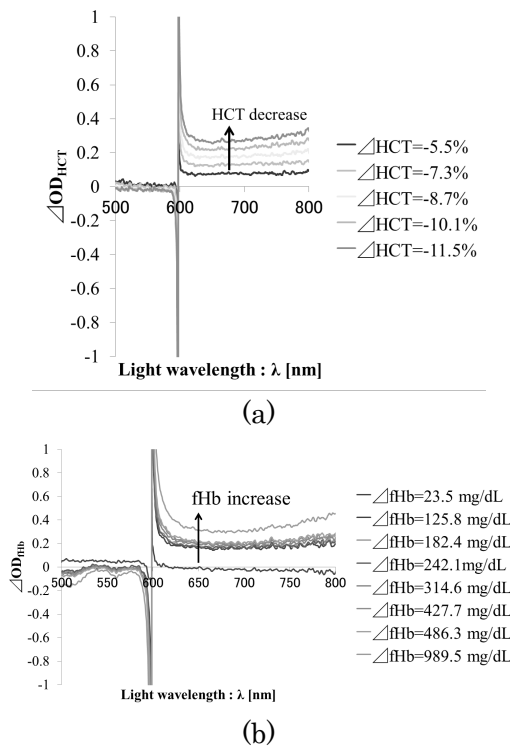


図 6 血漿層境界反射分光法によって得られたスペクトル: (a) ヘマトクリット (HCT)と光学密度(OD)の関係, (b) 血漿遊離ヘモグロビン(fHb)と光学密度(OD)の関係

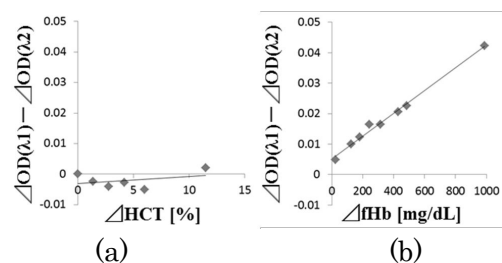


図 7 波長 600nm 以下における血漿層境界反射分光の 1 例: (a) ヘマトクリット変化

(HCT に影響を受けていない, (b)血漿遊離ヘモグロビン変化(fHb)にのみ応答している

(3) 図 8 に、実験で使用した血液ポンプ底面の RGB 画像を示す。通常のデジタルカメラで撮影した場合は、血液のために内部は見えない。これに対し、波長 600 ~ 750nm の HSI の結果を図 9 に示す。波長 600nm 以上の光を使用することで、血液による光散乱及び吸収が少ないため、鮮明な画像を取得することができた。図 9 は、実験終了後のポンプの HSI 画像であり、ポンプ中心付近に赤色の領域が確認できるが、これは波長 750nm 付近の波長成分を表している。図 9 の白枠内(ROI)におけるスペクトルを図 10 に示す。実験開始時($t=0\text{min}$)におけるスペクトルと比較して、実験終了後($t=60\text{min}$)におけるスペクトルは、反射光強度の低下が認められ、スペクトルの重心が長波長側へシフトしていることがわかる。そこで、このスペクトルシフトを表現する指標 $\tau(\text{nm})$ を提案した。 τ は 750nm の輝度値と等しくなる波長を表す。実験開始時を τ_{Blood} とし、実験終了後を τ_{Thrombus} として図 10 に示している。血栓ができた領域では τ 値が増加していると考え、 τ 分布を画像化した。その結果を図 11 に示す。

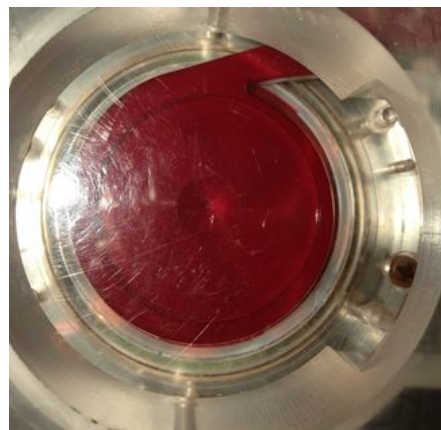


図 8 血液ポンプの RGB 画像

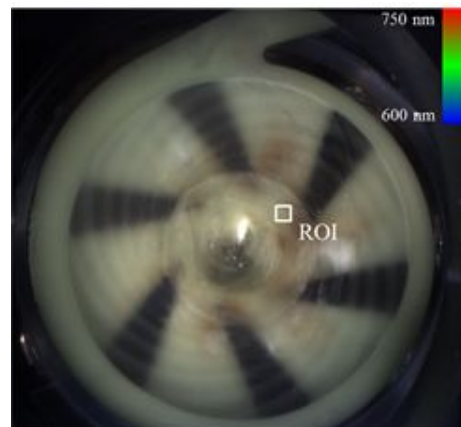


図 9 血液ポンプの HSI 画像

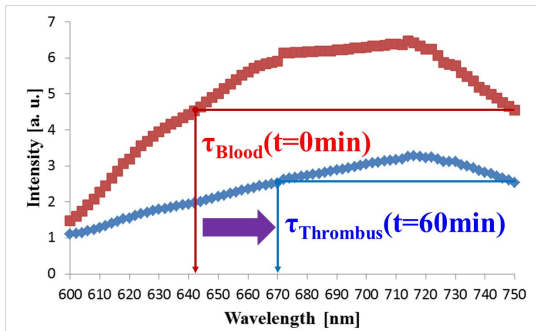


図 10 実験前後におけるスペクトル変化

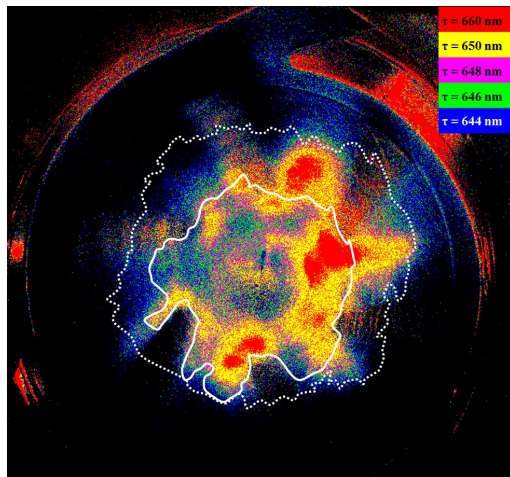


図 11 τ 分布

図 12 に生理食塩水で血液ポンプ洗浄後の写真を示す。血液ポンプインペラ中心付近に血栓が形成されていることを確認した。図 11 の白枠域は、図 12 に示す厚く強固に血栓ができた領域であり、白点線枠域は、薄い膜上の血栓ができた領域である。 τ の変化領域と血栓形成領域に対応があることを確認し、血液ポンプ内血栓をイメージング可能であることが示唆された。

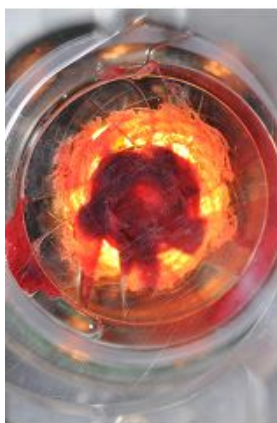


図 12 ポンプ内血栓

図 10 より、血栓形成領域の反射光強度が低下していることがわかるが、血液の光散乱体は主に赤血球であるため、このことから血栓形成領域では、周囲の血液と比較し

て赤血球密度が低下していることが考えられた。したがって赤血球の密度にムラが生じ、これをイメージングすることが図 11 に相当すると考えられる。血栓の赤血球密度が周囲血液と比較して低下するのは、血液ポンプ内の流れによって、赤血球がフィブリン繊維から逃れるためであることが考えられる。

可視および近赤外域の血栓光学特性を明らかにし、光を用いて血栓を非侵襲に検出およびイメージングが可能であることが示唆された。本研究を応用した血栓検出光センサーの開発を行い、実用化していく予定である。

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 11 件)

Sakota D (他 3 名), “Simultaneous determination of hemolysis and hematocrit in extracorporeal circulation by plasma surface reflectance spectroscopy”, *Proc. of IEEE EMBC*, 2013, pp.6764-6767.

DOI: 10.1109/EMBC.2013.6611109

迫田大輔, 高谷節雄, “赤血球の光散乱特性のモデル化と血流中の光伝搬解析”, *光学* 41(8), 2012, pp.436-443.

Sakota D, Takatani S, “Quantitative analysis of optical properties of flowing blood using a photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) code: Effects of red blood cells’ orientation on light scattering”, *Journal of Biomedical Optics* 17(5), 2012, 057007(12 pages).

DOI:10.1117/1.JBO.17.5.057007

Sakota D, Takatani S, “Plasma surface reflectance spectroscopy for non-invasive and continuous monitoring of extracellular component of blood”, *Proc. SPIE* 8439, 2012, 84392K(6 pages).

DOI:10.1117/12.921331

迫田大輔, 高谷節雄, “Photon-cell interactive Monte Carlo シミュレーション”, *日本レーザー医学会誌* 32(4), 2012, pp. 411-420.

Sakota D, Takatani S, “Newly developed photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) simulation for non-invasive and continuous diagnosis of blood during extracorporeal circulation support”, *Proc. SPIE2011* 8092, 80920Y(8 pages), 2011.

DOI:10.1117/12.889327

〔学会発表〕(計 17 件)

迫田大輔、”動圧浮上遠心血液ポンプ内血栓形成の近赤外光ハイパースペクトラルイメージング”、第 42 回人工心臓と補助循環懇話会学術集会、2014/03/07、越後湯沢ナスパニューオータニ。

Sakota D, ”High speed near-infrared spectral imaging of thrombogenic process in rotary blood pumps”, ISRBP2013, 2013/09/07, Pacifico Yokohama.

Sakota D, ”Simultaneous determination of hemolysis and hematocrit in extracorporeal circulation by plasma surface reflectance spectroscopy”, IEEE EMBC, 2013/07/07, Osaka International Convention Center.

迫田大輔、”血液内光伝播モデルの開発と体外循環治療における非侵襲連続モニタリングへの応用”、生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 2013、2013/09/04、山梨大学。

Sakota D, ”Plasma surface reflectance spectroscopy for non-invasive and continuous monitoring of extracellular component of blood”, SPIE Photonics Europe, 2012/04/16, Brussels.

Sakota D, ”Newly developed photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) simulation for non-invasive and continuous diagnosis of blood during extracorporeal circulation support”, SPIE European Conferences on Biomedical Optics, 2011/06/02, Munich.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 5 件)

名称：血栓や血液の凝固の形成その成長を観察する方法及びその装置
発明者：迫田大輔、丸山修
権利者：(独)産業技術総合研究所
種類：特許
番号：特願 2014-027586
出願年月日：平成 26 年 2 月 17 日
国内外の別：国内

名称：血液情報測定装置及び測定方法
発明者：迫田大輔
権利者：(独)産業技術総合研究所
種類：特許
番号：特願 2013-138836
出願年月日：平成 25 年 7 月 2 日

国内外の別：国内

名称：血液情報の測定方法及び装置
発明者：迫田大輔、高谷節雄
権利者：国立大学東京医科歯科大学
種類：特許
番号：特開 2013-164372
出願年月日：平成 24 年 2 月 13 日
国内外の別：国内

名称：血液情報の測定方法及び装置
発明者：迫田大輔、高谷節雄
権利者：国立大学東京医科歯科大学
種類：特許
番号：PCT/JP2013/053321
出願年月日：平成 25 年 2 月 13 日
国内外の別：外国(PCT 出願)

名称：血液情報の測定方法及び装置
発明者：迫田大輔、高谷節雄
権利者：国立大学東京医科歯科大学
種類：特許
番号：201341779
出願年月日：平成 25 年 2 月 18 日
国内外の別：外国(台湾)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

迫田 大輔 (SAKOTA, Daisuke)
(独)産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・研究員
研究者番号：40588670