

平成 30 年 9 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14272

研究課題名(和文) 駆血時の超音波後方散乱特性計測による赤血球凝集度と疾病との相関に関する研究

研究課題名(英文) A study on correlation between red blood cell aggregation measured by ultrasound scattering property due to blood flow cessation and diseases

研究代表者

金井 浩 (Kanai, Hiroshi)

東北大学・工学研究科・教授

研究者番号：10185895

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、非侵襲な赤血球集合度評価の臨床応用を目指し、赤血球に超音波を入射した際の後方散乱波の周波数解析による散乱変化パラメータの算出について血糖パラメータとの相関度の検討を行った。まず、散乱体サイズによる散乱特性の違いで生じる周波数特性とそれに伴う散乱特性の抽出による散乱変化パラメータ算出を検討した。次いでマイクロ粒子を用いた基礎実験において本提案手法の散乱変化パラメータの推定精度を確認した。最後にヒト手背静脈において in vivo 計測を行い、上の手法を用いて、安静期間と駆血期間後半のパワースペクトルから散乱変化パラメータを算出した。さらに赤血球集合度推定法の臨床応用性について検討した。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we evaluated the degree of Red Blood Cell (RBC) aggregation at a low shear rate robustly by introducing new two parameters determined from changes in the scattering power spectrum of the echoes from the intravascular lumen before and after cessation of blood flow. We also considered the clinical significance of these parameters and the change in sizes estimated in the previous method by comparing them with the blood glucose level obtained just before the ultrasonic measurements. We applied the measurements on one healthy subject and 11 diabetic patients. The correlation was obtained between one of the proposed parameters and the blood glucose level. However, the p value was not so high and one of the reasons for the decline of the correlation will be that some factors other than blood glucose also affect the RBC aggregation. Thus, the proposed method has a potential in clinical applications by figuring out the various factors affecting RBC aggregation.

研究分野：医用超音波工学

キーワード：超音波後方散乱特性 赤血球凝集度 糖尿病 血液性状 血糖値 医用超音波 高周波超音波 手背静脈

1. 研究開始当初の背景

静脈血の凝集のし易さについて、従来から医師の間では、被験者によって差があることが知られていた。しかし、凝集の程度を、非侵襲に定量計測する方法がなかった。そこで申請者は、高周波超音波を用いて、赤血球凝集の程度の定量計測を非侵襲的に行うための計測原理を検討してきた(Jpn. J. Appl. Phys. 2011; 50, 07HF02-1-8)。しかし、臨床応用段階までには幾つかの課題解決の必要があった。

2. 研究の目的

本申請では、

- ① これら未解決な課題を解決し、
- ② 超音波による赤血球凝集の非侵襲定量計測システムを構築し、
- ③ 化学検査で炎症の程度が分かっている被験者に適用することで、
- ④ 「静脈血の凝集のし易さ」の定量計測の医学的意義を示す。

3. 研究の方法

- ① 既に本研究者が行った予備実験において、血管壁などからの反射波のスペクトルを用いて、皮膚近くの静脈内の赤血球からの散乱超音波のスペクトルの特性を「正規化」して、散乱パワーの理論特性、さらに、散乱体の大きさの推定方法を検討する。
- ② そのため散乱体の直径の真値の既知なマイクロファイアを用いた模擬実験を行う。
- ③ 手法の効率化を進め、臨床応用可能な超音波計測システム的设计製作を行う。
- ④ そのシステムを用いて臨床応用し、健康者と各種疾病を有する被験者の赤血球凝集に差があるかを検討し、医学的意義を明らかにする。
- ⑤ 同時に、血管内の散乱体の大きさの空間分布を算出するという非常に難しい課題に挑戦する。

4. 研究成果

① はじめに

国際糖尿病連合によると、2015年に世界の糖尿病患者が約4億1500万人に達したと報告されており、これは成人人口の8.8%にあたるといわれている。日本では約720万人が糖尿病患者であり、世界で9番目に糖尿病患者数が多い。糖尿病関連の医療費は約81兆円であり、主要国での全医療費の5~20%にあたるといわれている。このように糖尿病は重大かつ身近な病気であるが、コントロールできる病気でもある。糖尿病患者は最適な血糖状態をコントロールするために、1日複数回の血糖値測定を行い、自身の血糖値変化を観察し、薬剤を服用している。しかし、現在の血糖値測定は皮膚穿刺を用いた侵襲的な手段であることや使い捨てセンサが高コストであることなど負担が大きい。そこで非侵襲的かつ低コストの血糖値測定のための研究が長年行われ

てきた。血中グルコースの酸化により生じる熱の測定や血中グルコースによる光吸収の測定などのアプローチがあるがどれも臨床的に利用可能になっていない。

一方で、医用超音波は非侵襲的で患者に与える負担が少なく、反復的に使用できることから、臨床の場において様々な診断のために広く利用されている。医用超音波を用いた血液性状評価において、赤血球からの後方散乱エコー特性を評価した研究が複数報告されている。特に、可逆的接着現象である赤血球集合は血液性状評価に重要な役割を果たす。赤血球集合は血流が低ずり速度状態のときに発生しやすく、血液粘度の上昇と相関があると報告されている。さらに血中グルコース濃度が高いときに血液粘度が上昇することが確認されており、特に血流が低ずり速度状態のときにその上昇は顕著になると報告されている。つまり、血流が低ずり速度状態において血糖値は赤血球集合度に影響を与える要因の一つであるといえる。

超音波画像診断においては赤血球集合度に応じて血管内腔にもややエコーが発生することが知られているが、この評価は定性的なものである。そのため、赤血球集合度を定量的に評価するための診断指標の開発が必要となっている。

本研究では、散乱パワーおよび周波数特性の変化を解析する新たなパラメータを算出し、各推定パラメータのロバスト性を議論する。また、これら推定結果と血糖パラメータとの相関をとり、数ある発生要因の要因である血糖値がどの程度赤血球集合に影響しているかを調べることで、赤血球集合体サイズ推定法の臨床応用に関する検討を行う。

② 散乱特性変化抽出の原理

散乱特性 $S(f)$ とは散乱パワーの周波数特性を示し、以下の式で表される。

$$|S(f)|^2 = C \times f^n$$

ここで、 C は係数、 n は周波数依存度を示す。対象となる散乱体が入射超音波の波長に対して十分小さい場合、散乱体からのエコー信号のパワースペクトルはレイリー散乱の現象に従い、周波数の4乗に比例する($n=4$)。しかし、対象となる散乱体が入射超音波の波長に対して十分大きい場合は、散乱体からのエコー信号のパワースペクトルは反射の現象に従い、周波数の0乗に比例する($n=0$)、つまり周波数とは無関係で一定となる。このように散乱体サイズと入射超音波波長の関係によって、散乱特性が変化する。本研究では、赤血球単体の長径である約 $8 \mu\text{m}$ より大きく、赤血球が集まって巨大化した集合体サイズ約 $125 \mu\text{m}$ より小さい、幅広いサイズにアプローチできる約 $40 \mu\text{m}$ の超音波波長(中心周波数 40 MHz)を用いている。

本研究で用いる周波数帯域幅(27~45 MHz)において理論散乱パワースペクトルの近似直

線の傾きより散乱体サイズ(2a)ごとの周波数依存度 n を求めた。散乱体サイズ(2a)と理論散乱パワー周波数依存度(n)の関係から、対象となる散乱体サイズによって散乱パワーおよび散乱パワーの周波数依存度 n が変化することが分かる。

伝搬経路差のないように、本研究の提案手法では、解析深さを d_0 に固定した異なるサイズの散乱体からのパワースペクトルを用いて正規化を行う。2つの異なる散乱体として、小散乱体を赤血球、大散乱体を赤血球集合体と仮定し、血流停止前後に RF 信号を取得することで2つの異なる散乱パワースペクトル算出が可能となる。これより上記の伝搬経路差は生じず、伝搬減衰は正規化により除去される。小さいサイズの散乱体から計測した信号のパワースペクトルを $PS_{rest}(f, d_0)$ 、大きいサイズの散乱体から計測した信号のパワースペクトルを $PS_{ava}(f, d_0)$ とすると、正規化によって、異なるサイズ間の散乱特性変化を $PS_{norm}(f, d_0) = |S_{ava}(f)|^2 / |S_{rest}(f)|^2$ として抽出できる。

ここで、 $|S_{ava}(f)|^2$ および $|S_{rest}(f)|^2$ はそれぞれ小散乱体および大散乱体の散乱特性を示す。式(2.1)より、それぞれの散乱特性は $|S_{rest}(f)|^2 = C_{rest} \times f^{n_{rest}}$ 、 $|S_{ava}(f)|^2 = C_{ava} \times f^{n_{ava}}$ と表すことができる。 C_{rest} 、 C_{ava} はそれぞれ小散乱体および大散乱体の係数を示し、 n_{rest} 、 n_{ava} はそれぞれ小散乱体および大散乱体の散乱パワー周波数依存度を示す。一定の帯域であればこれら4つは定数とみなせる。正規化パワースペクトル $PS_{norm}(f, d_0)$ は次式で表される。

$$PS_{norm}(f, d_0) = (C_{ava} / C_{rest}) \times f^{n_{ava} - n_{rest}}$$

周波数帯域幅(27~45 MHz)における、この (C_{ava} / C_{rest}) の平均値を散乱パワー比 ρ 、周波数依存度変化 $\Delta n = n_{ava} - n_{rest}$ を検出する。以上、提案する手法では、異なるサイズの散乱体からエコー信号を取得し、それら2つのパワースペクトルを用いて、新たに2つの散乱変化パラメータを定義した。

③ 基礎実験による散乱変化パラメータの推定精度評価

Tomey 社製超音波診断装置 UD-8000 (標本化周波数 240 MHz) および超音波プローブ (メカセク IP21, 中心周波数 40 MHz, 波長約 40 μm , ビーム本数 113 本, 焦点距離 9mm) を使用して RF 信号計測を行った。計測対象には直径が $5(\pm 4)\mu\text{m}$, $20(\pm 15)\mu\text{m}$ の2種類のマイクロ粒子(Dantec Dynamics 製のポリアミド粒子)を用いた。界面活性剤を加えたマイクロ粒子を攪拌脱泡機で攪拌1分、脱泡1分行い、その後精製水を加えて、さらに攪拌1分、脱泡4分行うことで、血液模擬液体を作製した。界面活性剤を加え、攪拌脱泡機を用いることで、粒子の集積を防ぎ、気泡のない模擬液体を作製した。作製直後は攪拌脱泡の際に生じる乱流などにより液内の濃度が一定ではないため、作製10分後に計測を行った。粒子の沈殿には長時間を要したため計測時にはまだ沈殿していないと考えられる。RF 信号を5秒間

隔で計19回計測し、19フレームのBモード像を形成した。5 μm , 20 μm 粒子による血液模擬液体の濃度は 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 g/l とした。駆血を行っても体内に存在する赤血球の濃度は変わらないため、異なる粒子径に対して同じ濃度のものを比較した。

例えば、濃度 3.0 g/l のときに、散乱パワー比 $\rho = 16.9$ 、周波数依存度変化 $\Delta n = -2.30$ と計測された。このときの理論値は、 $\rho = 16.9$, $\Delta n = -2.60$ であり、測定値にかなり近い値が得られている。

赤血球単体および赤血球集合体を模擬したマイクロ粒子を用いた基礎実験により散乱変化パラメータ推定精度の検討を行った。散乱パワー比 ρ は全濃度において理論範囲内に推定された。しかし、周波数依存度変化 Δn は理論範囲外に推定されるものがあつた。実測値にはノイズ成分が含まれており、それによる影響を低減できる ρ は散乱変化パラメータとしてよりロバストであることが示唆された。

④ ヒト手背静脈における in vivo 計測

次に、ヒトの手背静脈内腔を対象とした in vivo 計測において、赤血球集合度評価を行う。焦点付近に血管後壁を合わせて RF 信号を取得した後、焦点付近に血管内腔を合わせて、血流停止前の安静期間に加え、上腕を駆血することで血流を停止させた駆血期間に RF 信号を取得した。さらに、健常者および複数の糖尿病患者に対して本手法を適用し、計測の直前または直後に測定した血糖パラメータとの比較を通じて本手法による赤血球集合度評価の臨床応用性を検討した(Approval No. H26-79, Institutional Review Board of Iwate Medical University)。

本研究では、40 MHz の高周波超音波を用いるため、通常の超音波診断装置に比べて伝播媒質による減衰が大きい。そこで、伝搬減衰の影響を考慮し、皮膚近くに表在する手背静脈を対象として計測を行った。赤血球集合は、血流の低ずり速度状態で発生しやすいため、血流停止前の安静期間に加え、上腕を 180 mmHg の圧力で駆血することで血流を低ずり速度状態とした駆血期間にも行った。

計測は血管後壁と血管内腔で別に行った。血管後壁の計測は焦点付近に血管後壁を合わせて RF 信号を取得した。血管内腔の計測は焦点付近に血管内腔を合わせて安静期間に1分間、駆血期間に2分間の計3分間、RF 信号を10秒間隔で取得した。

また、20代健常男性1名において in vivo 計測直後に皮膚穿刺により測定した血糖値との比較を行った。皮膚穿刺にはニプロフリースタイルフリーダムライトを用いて、電量測定法によって血糖値を測定した。計測は16回行った。食前や食後に計測することで、幅広い血糖値状態での計測を実現した。

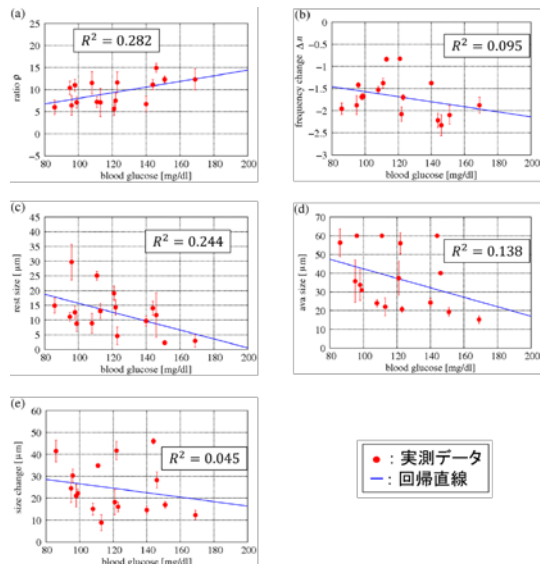


図 1: 健常者 1 名に対して計測された血糖値と 5 種のパラメータの比較. (a) 散乱パワー比 ρ , (b) 周波数依存度変化 Δn , (c) 安静期間平均サイズ, (d) 駆血期間後半平均推定サイズ, (e) 平均サイズ変化.

その結果, 図 1 のように, (a) 散乱パワー比 ρ が最も高い決定係数となった. また, 推定サイズ法を用いて算出したパラメータ (c), (d), (e) は全て負の相関となった. 特に (c) 安静期間の平均推定サイズでは比較的高い決定係数となっているが, これは血糖値が高くなるにつれ推定サイズが小さくなる傾向だった.

また, 11 名の糖尿病患者でも同様の計測および解析を行った. 各被験者において *in vivo* 計測直前に血液検査により測定した血糖値, グリコアルブミン (GA), ヘモグロビンエワンシー (HbA1c) と 5 種のパラメータをそれぞれ比較した. 計測は 1 名あたり 1 回行った. ここで, GA および HbA1c は, 各々過去 2 週間, 2 ヶ月間の平均血糖値を示すパラメータであり, それぞれ糖化されたアルブミン, 糖化されたヘモグロビンの割合から算出される.

図 2 に血糖値と 5 種のパラメータの関係を示す. これらの結果より, 血糖値は (a) 散乱パワー比 ρ との相関が相対的に高く, GA および HbA1c は, (d) 駆血期間後半の平均推定サイズ, (e) 平均サイズ変化との相関が高かった.

血糖値との相関は, 健常者の計測および糖尿病患者の計測で同様に ρ が最も高い決定係数となったが, 両者を比べると糖尿病患者計測で低い値となった. これは多被験者比較による被験者差が影響していると考ええる. また, GA および HbA1c で (a) 散乱パワー比 ρ との相関が低くなった原因として, これらパラメータの測定対象はアルブミンおよびヘモグロビンであり, *in vivo* 計測時の血中グルコース濃度を直接測定した値ではない, つまり, 薬の投与などの治療により症状が改善した可能性があるためと考える. すなわち, 本提案手法で算出される散乱変化パラメータ ρ は瞬時的

な血中グルコース濃度を反映し得ることが示唆された.

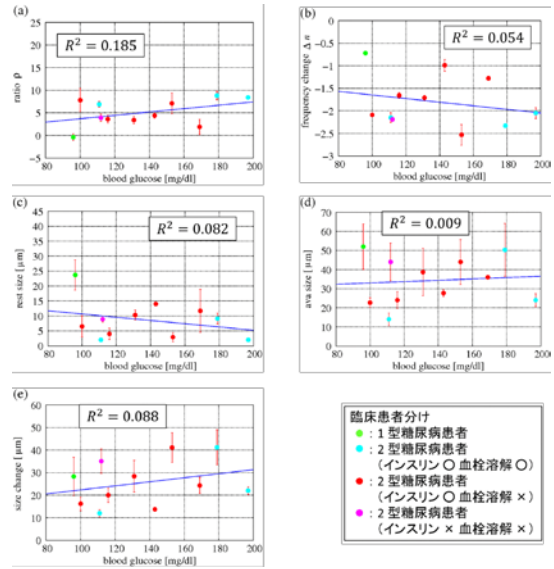


図 2: 糖尿病患者 11 名に対して計測された血糖値と 5 種のパラメータの比較. (a) 散乱パワー比 ρ , (b) 周波数依存度変化 Δn , (c) 安静期間平均サイズ, (d) 駆血期間後半平均推定サイズ, (e) 平均サイズ変化.

一方, もう 1 つの散乱変化パラメータ Δn は健常者の比較結果も糖尿病患者の比較結果も相対的に決定係数が低くなった. Δn にこのような差が生じた理由として, 前述したようなロバスト性の問題が考えられる.

GA および HbA1c と駆血期間後半の平均推定サイズで比較的高い相関が見られたのは, 瞬時的に変化する血糖値とは異なり, GA および HbA1c は長期的に変化しない血糖パラメータであるため, 健常者と糖尿病患者において明確な差が生じる. つまり, 糖尿病患者の方が GA および HbA1c が高かったため, 推定サイズ差が生じたと考えられる.

現時点で課題が残されているが, 本研究を通して提案手法による非侵襲的かつ定量的な赤血球集合度評価の可能性を示すことができたと言える.

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 8 件)

- ① Mototaka Arakawa, Hiroshi Kanai, Kazuo Ishikawa, Ryo Nagaoka, Kazuto Kobayashi, and Yoshifumi Saijo: "A method for the design of ultrasonic devices for scanning acoustic microscopy using impulsive signals," *Ultrasonics* Vol. 84, pp. 172-179 (November, 2017)
- ② Takahiko Otani, Masao Fukunaga, Kosei Yho, Takami Miki, Kaoru Yamazaki, Hideaki Kishimoto, Mami Matsukawa, Nobuyuki Endoh, Hiroyuki Hachiya, Hiroshi

- Kanai, Saeko Fujiwara, and Yoshinori Nagai: "Attempt at standardization of bone quantitative ultrasound in Japan," Journal of Medical Ultrasonics Vol. 45, No. 1, pp. 3-13 (September, 2017)
- ③ Kohei Takahashi, Hirofumi Taki, and Hiroshi Kanai: "Identification of the heart wall and chamber based on temporal change of ultrasonic scatterer distribution," Japanese Journal of Applied Physics Vol. 56, No. 7S1, pp. 07JF09-1—07JF09-7 (July, 2017)
- ④ Yuya Matsuno, Hirofumi Taki, Hiroaki Yamamoto, Michinori Hirano, Susumu Morosawa, Hiroaki Shimokawa, and Hiroshi Kanai: "Ultrasound imaging of propagation of myocardial contraction for non-invasive identification of myocardial ischemia," Japanese Journal of Applied Physics Vol. 56, No. 7S1, pp. 07JF05-1—07JF05-6 (July, 2017)
- ⑤ Yumi Tobinai, Hirofumi Taki, and Hiroshi Kanai: "Mechanism of synchronized change in ultrasonic integrated backscatter across human heart wall," Japanese Journal of Applied Physics Vol. 56, No. 7S1, pp. 07JF04-1—07JF04-6 (July, 2017)
- ⑥ Kazuki Takahashi, Hirofumi Taki, Eiko Onishi, Masanori Yamauchi, and Hiroshi Kanai: "Imaging of human vertebral surface using ultrasound RF data received at each element of probe for thoracic anesthesia," Japanese Journal of Applied Physics Vol. 56, No. 7S1, pp. 07JF01-1—07JF01-5 (July, 2017)
- ⑦ Takuma Asai, Hirofumi Taki, Hiroshi Kanai: "Near Real-time Measurement of Myocardial Contraction and Relaxation Based on High-frame-rate Ultrasound with a Graphical Processing Unit System," IEEJ Transactions on Electronics, Information and Systems Vol. 137, No. 4, pp. 573-578 (April, 2017)
- ⑧ Motonao Tanaka, Tsuguya Sakamoto, Shigeo Sugawara, Yoshiaki Katahira, Kaoru Hasegawa, Hiroyuki Nakajima, Takafumi Kurokawa, Hiroshi Kanai, Hideyuki Hasegawa: "Deformability of the pulsating left ventricular wall: A new aspect elucidated by high resolution ultrasonic methods," Journal of Cardiology Vol. 69, No. 2, pp. 462-470 (February, 2017)
- [学会発表] (計 8 件)
- ① 榊紘輝, 荒川元孝, 八代諭, 石垣泰, 金井浩, "赤血球集合に着目した糖尿病患者に対する超音波の散乱特性解析," 超音波研究会 US2017-56, 仙台, October 2017.
- ② 榊紘輝, 荒川元孝, 八代諭, 石垣泰, 金井浩, "超音波散乱特性の解析による糖尿病患者の赤血球凝集度評価," 第 38 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 2P5-14, 多賀城, October 2017.
- ③ 榊紘輝, 荒川元孝, 八代諭, 石垣泰, 金井浩, "糖尿病患者の赤血球集合における超音波散乱の特性解析," 日本超音波医学会第 54 回東北地方会学術集会 54-5, 福島, September 2017.
- ④ 榊紘輝, 荒川元孝, 八代諭, 石垣泰, 金井浩, "超音波散乱特性の計測による糖尿病患者の赤血球集合度評価," 第 1 回先端生体超音波シンポジウム, 仙台, September 2017.
- ⑤ 榊紘輝, 瀧宏文, 八代諭, 長澤幹, 石垣泰, 金井浩, "高周波超音波により散乱特性解析した赤血球集合体サイズ推定に関する検討," 日本超音波医学会第 90 回学術集会 90-基-007, 宇都宮, May 2017.
- ⑥ 榊紘輝, 瀧宏文, 八代諭, 長澤幹, 石垣泰, 金井浩, "糖尿病患者における超音波散乱特性解析で推定された赤血球凝集体サイズに関する検討," 日本音響学会 2017 年春季研究発表会講演論文集 1-9-14, p. 29, 川崎, March 2017.
- ⑦ 榊紘輝, 瀧宏文, 八代諭, 石垣泰, 金井浩, "超音波散乱パワー特性解析による赤血球凝集体サイズ長時間計測," 日本超音波医学会第 52 回東北地方会学術集会 52-11, 秋田, September 2016.
- ⑧ 榊紘輝, 瀧宏文, 八代諭, 長澤幹, 石垣泰, 金井浩, "超音波散乱パワー特性解析による赤血球凝集体サイズの長時間測定に関する検討," 平成 28 年度電気関係学会東北支部連合大会講演論文集 2F10, 仙台, August 2016.
- [その他]
ホームページ等
<http://www.ecei.tohoku.ac.jp/~hkanai/index.html>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
金井 浩 (KANAI, Hiroshi)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：10185895
- (2) 研究分担者
瀧 宏文 (TAKI, Hirobumi)
東北大学・大学院医工学研究科・非常勤講師
研究者番号：40467460
- 石垣 泰 (ISHIGAKI, Yasushi)
岩手医科大学・医学部・教授
研究者番号：50375002