

平成21年 5月25日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19860008
 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手法の開発
 研究課題名（英文） Development of blood flow simulation integrated with ultrasonic measurement for 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：

動物実験に用いられる小動物の血管内の血流場を再現するため、超音波 B モード画像を用いた PIV 計測と数値シミュレーションの間の速度情報の誤差をフィードバックしながら計算を行う超音波計測融合シミュレーション手法を開発した。モデル材料の PVA の音響特性の計測や調整を行って微小な直円管モデル流路を作成し、内部の流れを題材に超音波計測融合シミュレーションを実行して計算精度を評価し、本手法の有用性を確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,360,000	0	1,360,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,710,000	405,000	3,115,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：流体工学

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，音響特性

1. 研究開始当初の背景

循環器系の疾患による年間の死亡者数は約 30 万人に上り、日本国民の死因の約 30% を占めている。循環器系疾患の機序には未だ不明な点が多く、診断においては疾患部位のサイズなどの経験的な指標に頼らざるを得ないのが現状である。

循環器系疾患の発症および進展には、血管内の血流場（速度場および圧力場）に起因して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、*in vitro* の実験により明らかとなってきた。また、最近の小動物を用いた動物実験により、血管の内皮上において、壁せん断応力と動脈硬化の鍵となる VCAM-1 や ICAM-1 遺伝子の発現の関連性が指摘された。そのため、循環器系疾患の機序の解明や、画期的な診断方法の確立のためには、血流場の詳細かつ正確な情報を獲得する手法が必要不可欠である。しかし、既存の血流計測手法は時間分解能や空間分解能に限界を有し、また、血流場の限られた情報しか獲得できない

という問題を有する。一方、血流の数値シミュレーションを行うことにより、詳細な血流場の情報が得られるが、本質的に重要な初期条件および境界条件の正確な設定が困難であり、通常の数値解析結果の血流場が実際の血流場と完全には一致しない。

計測と計算が有する問題の解決策として、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計算を行う、「流れのオブザーバ (状態観測器)」が提唱されている。これまでに、流れのオブザーバの概念に基づき、ヒト血管内の血流場の再現を目的に、超音波計測により得られる複数点の超音波ビーム方向の速度成分(ドプラ速度)と流れの数値シミュレーションによるドプラ速度の間の誤差を体積力としてフィードバックする、ヒト血流の超音波計測融合シミュレーションを考案し、その有用性を示した。

マウスのような小動物の血管は細く (数 mm 以下)、内部の血流が正常時でもヒトの 10 倍近い拍動を有する。循環器系疾患の機序解明を目的とした動物実験において、その体内の血流場の詳細を把握しようとする場合、既存の小動物用超音波計測装置は超音波プローブの機構上の問題上、ドプラ速度の血流可視化画像 (カラードプラ画像) は毎秒数フレームしか出力できず、小動物の拍動に対しては精度の良い血流計測が行えないに等しい。そのため、ヒト血流に対するものと同じ超音波計測融合シミュレーション手法は用いることができず、新たな手法の開発が必要である。

2. 研究の目的

小動物のミクロンレベルの血管内の 3 次元非定常の血流場を詳細かつ正確に再現し、これまでに得ることが困難であった血行力学の情報を把握するため、小動物の血流の超音波計測融合シミュレーションを実現するためのアルゴリズムを構築し、微小流路モデルを用いた流動実験により、その計算精度を明らかにする (図 1 参照)。

3. 研究の方法

本研究で用いる小動物用超音波計測装置 (Vevo770, VisualSonics Co. Ltd., Toronto, Canada) は、数 10 μ m の空間分解能を有しており、超音波 B モード画像上に小動物の生体組織の 2 次元断面形状を鮮明に撮像できるとともに、血液中の赤血球や造影剤としてのマイクロバブル、作動流体の混合物の粒子を捉えることができる。このことに着目し、超音波 B モード画像を用いて PIV

(Particle Image Velocimetry) 計測を行い (超音波 PIV 計測)、計測断面上の 2 次元速度分布を得る。そして、超音波 PIV 計測による速度分布を、一方において実行する対象とする微小流路内の流れの数値シミュレーションの速度分布と比較し、誤差が存在する場合にはそれを補正するフィードバック信号を数値シミュレーションに加えることにより、超音波計測融合シミュレーションを実現する。すなわち、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、以下の非定常非圧縮性のナビエ・ストークス方程式と圧力方程式を解く。

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

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

ここで、 \mathbf{f} はフィードバック信号を表し、超音波 PIV 計測と数値シミュレーションによる断面上の速度情報の誤差に比例する仮想的な外力として、式(3)により定義される。

$$\mathbf{f} = \begin{pmatrix} f_x \\ f_y \\ f_z \end{pmatrix} = -K_v^* \begin{pmatrix} \frac{u_c - u_s}{U} \\ 0 \\ \frac{w_c - w_s}{U} \end{pmatrix} \frac{\rho U^2}{L} \quad (3)$$

ここで、 K_v^* はフィードバックゲイン (無次元) を表し、任意の値に設定することが可能である。添え字 s および c は、それぞれ計測結果と計算結果であることを意味する。

上述の方程式に基づく実際の計算には、各代表量を用いて無次元化し、有限体積法の一つである SIMPLER 法を用いて解くオリジナルのプログラムを用いた。また、超音波 PIV 計測には、精度がある程度保証されている市

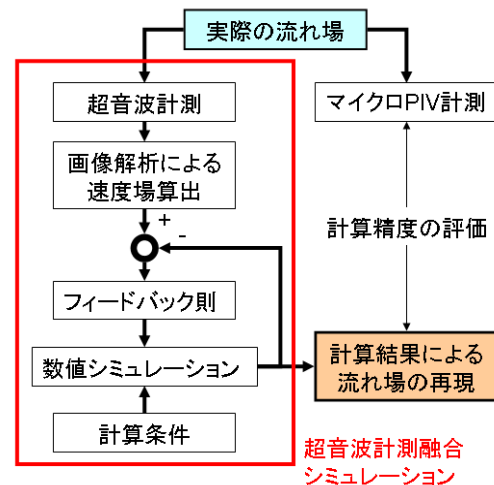


図 1 微小流路内流れの超音波計測融合シミュレーションの検討方法

販の PIV 解析ソフトウェア (Koncerto, Seika Corp.) を用いた。

本研究では、微小なモデル流路内の流れを研究対象に、超音波計測融合シミュレーションの計算結果を理論解やマイクロ PIV 計測装置による計測結果と比較することにより、計算精度の評価および検証を行った (図 1 参照)。この実験のために、微小流路モデルをポンプ (KD210, KD scientific または HV-7550-50, Masterflex) に接続した微小流路実験システムを構築して用いた (図 2 参照)。ここで、流路モデル材料に関しては、超音波計測と光学的な PIV 計測の両方を行うことが可能なものを用いる必要があった。そこで本研究では、モデル材料としてポリビニルアルコール (PVA) ゲルに着目した。PVA ゲルは、PVA を水と有機溶剤のジメチルスルホキシド (DMSO) から成る溶媒に混ぜてゲル化させることにより、透明性を持たせることが可能である。また、含水率が高いために超音波を通し易く、超音波計測を行うことも可能である。しかし、PVA ゲルを用いて生体軟組織を模擬し、超音波計測を行うためには、音響特性 (音速および減衰率) を調整する必要があった。そこで、超音波トランスデューサ (IT-3S, Toray Engineering Co. Ltd.) とデジタルオシロスコープ (Wavesurfer62Xs, LeCroy) を組み合わせ、図 3 に示すような音響特性計測装置を構築した。この装置を用いてパルス周期 2kHz のパルサーにより中心周波数 50MHz の超音波を送受信し、超音波計測に用いる超音波プローブ (RMV-704, VisualSonics Co. Ltd.) の中心周波数 40MHz の超音波に対する PVA ゲルの音速や超音波減衰率の音響特性を、PVA の配合割合や、溶媒中の水とジメチルスルホキシド (DMSO) の比率を様々に変化させて計測した。さらに、PVA ゲルに超音波散乱体としてグラファイ

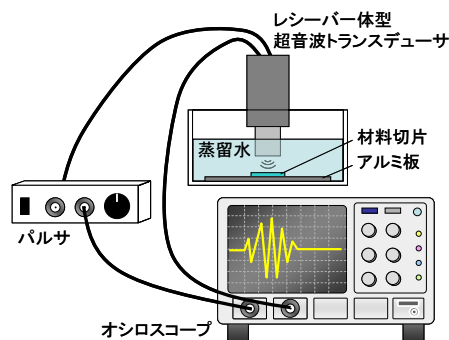


図 3 音響特性計測装置の概略図

トの粉末やガラスビーズを混ぜた場合の音響特性についても計測を行い、超音波 B モード画像における流路周囲の様子が、生体計測を行ったときに得られる軟組織の様子を模擬するように検討を行った。

流動実験では、モデル流路内の平均流速、超音波 B モード計測のフレームレートや計測領域、超音波 PIV 計測における観察窓のサイズなどのパラメータを様々に変化させて、最も精度の良い結果の得られる超音波 PIV 計測の設定について検討を行った。その後、得られた計測結果を用いて超音波計測融合シミュレーションを実行した。

4. 研究成果

まず、超音波計測融合シミュレーションの計算精度の評価のための微小流路実験システムを構築した。特に、流路モデル材料の PVA ゲルの音響特性について詳細な検討を行った。音響特性の計測には、図 3 の音響特性計測装置を用いたが、PVA ゲルの音響特性の計測に先立ち、文献値が存在する寒天材料の音響特性を計測し、装置の計測結果の妥当性を確認した。

PVA ゲルの音響特性の計測の結果、溶液に対する PVA 濃度を 10 または 15wt%、溶媒中の DMSO 濃度を約 98mol%、ガラスビーズを 2.8wt% の割合で配合した場合に、音響特性を生体軟組織の値 (1540m/s, 40dB/cm) に近づけることができた。特に、PVA 濃度が 15wt% の場合は、直円管のモデル流路を作成することができ、擬似血液を流して超音波計測を行うことが可能であった。実際に作成した直径 2mm の直円管の微小流路モデルを図 4(a) に示す。このモデル流路はある程度の透明性も有するため、図において観察されるように、白色の擬似血液が上流側 (図の右側) から流れてくる様子も確認できた。ここで、作動流体に関しては、粘度および粒子サイズが小動物の血液に近く、超音波計測時に実際の血液に類似した画像を提供できるもの

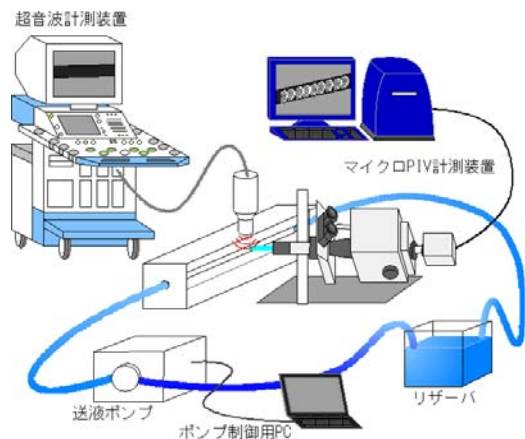
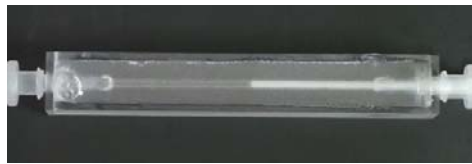
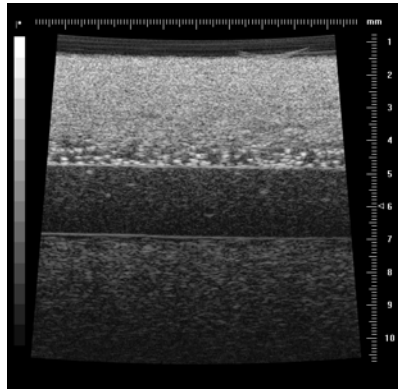


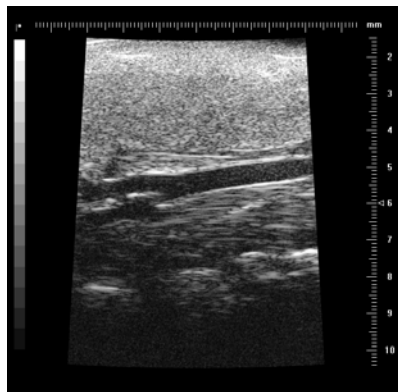
図 2 微小流路実験システムの概略図



(a)



(b)



(c)

図4 透明かつ生体に近い音響特性を有する PVA を用いて作成した(a)直円管モデル (流入している白色の液体は擬似血液) の(b)超音波 B モード画像と(c)マウスの頸動脈の超音波 B モード画像

(Model 046, CIRS) を選定して用いた。擬似血液を流して行った超音波 B モード計測による画像を図 4(b)に示す。実際のマウスの頸動脈を計測した場合 (図 4(c)) と比べて、非常に良く似た画像が得られている。

次に、時系列の超音波 B モード画像を解析して得られる断面内の速度ベクトルと、それに対応する計算結果を比較して得られる誤差をフィードバックしながら計算を行う超音波計測融合シミュレーションのプログラムを作成した。そして、直円管内の層流の再現を題材にした数値実験により、フィードバックによる計算精度を評価した。超音波計測融合シミュレーションでは、上流境界速度条件に誤差を含む場合でも、フィードバックの適用により、時間の進行に伴い計算結果を基

準とする解に収束させ、計算精度が向上することが確認された。また、計算結果はフィードバックゲインに依存し、ゲインを大きくすることにより、収束が早くなり計算精度も一層改善するが、ある一定の値以上の大きな値に設定すると計算が発散した。

以上の内容を踏まえ、微小流路実験システムを用いた流動実験を行った。流動実験では、第一段階として、通常的配合 (PVA25wt%, DMSO48mol%, ガラスビーズなし) の PVA ゲルを用いて直径 2mm の直円管流路を作成し、内部に平均流速 0.5cm/s の擬似血液の定常流を流し、フレームレート 60fps で超音波 B モード計測を行った。得られた時系列の超音波 B モード画像を用いて PIV 計測を実行し、計測断面上の 2 次元の速度場を算出した結果の一例を図 5 に示す。図のように、超音波 PIV 計測は、画像両端近傍において精度の良い計測が行えず、直円管内の放分布の流れ場は、中心部付近のみにおいて得られた。

上記の超音波 PIV 計測を流路に平行な複数の断面上において行い、計測誤差の影響を減らす目的で、各断面の超音波 PIV 計測結果を 50 フレーム分時間平均した結果を用いて超音波計測融合シミュレーションを実行した。ただし、境界近傍の計測結果は誤差を多く含んでいるため、フィードバックは $-2.25\text{mm} \leq z \leq -0.75\text{mm}$ の領域において適用し、フィードバックゲインは計算を安定に行える値 ($K^* = 5$) に設定した。超音波 PIV 計測結果やフィードバックを行わない通常の数値シミュレーションと超音波計測融合シミュレーションのそれぞれの計算結果を、直円管内流れの理論解と比較した。ここで、マイクロ PIV を用いて光学的な計測も行ったが、計測対象が直円管内の層流であったため、その計測結果を精度の評価に用いることはせず、理論解と一致する流れが流路内に生

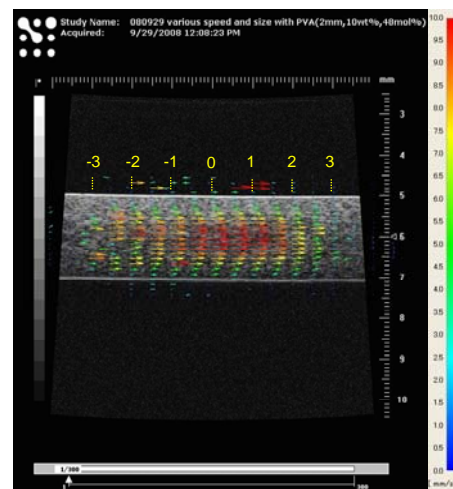
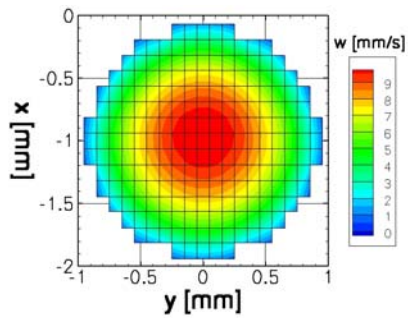
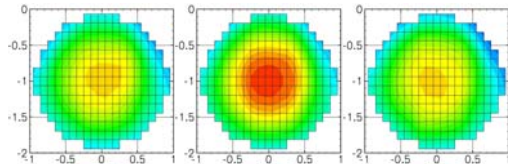


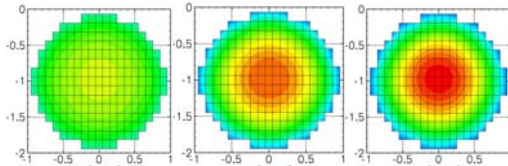
図5 直円管内発達層流の超音波 PIV 計測による速度ベクトル (座標の単位は mm)



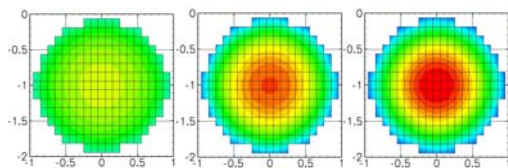
(a) 理論解



(b) 超音波 PIV 計測



(c) 通常の数値シミュレーション



(d) 超音波計測融合シミュレーション

図 6 3つの xy 断面における管軸方向速度の比較 (左列から $z = -2.75\text{mm}$, -2.25mm , 2.75mm)

じていることを確認するためのみに用いた。3つの位置における直円管の断面上の軸方向速度分布を図6に理論解と比較して示す。図6(b)の超音波PIV計測では、上述したように上流端および下流端において計算精度が悪く、図6(a)の理論解とは大きく異なる。研究対象とした流れ場は、レイノルズ数が低いため助走距離が短く、図6(c)に示すように、フィードバックを行わない通常の数値シミュレーションにおいても計算領域中盤以降でポアズイユ流が得られた。図6(d)の超音波計測融合シミュレーションでは、上流端近傍の軸方向速度分布は通常の数値シミュレーションよりも早く放物分布に発達し始めていることが確認され、下流端では超音波PIV計測では得ることが困難な放物分布が得られている。このように、超音波PIV計測と数値シミュレーションを融合した超音波計測融合シミュレーション手法の有用性が確認できた。ここで、フィードバックに伴う計算時間の増加はみられなかった。

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2件)

- ① Kenichi Funamoto, Toshiyuki Hayase, Yoshifumi Saijo, Tomoyuki Yambe, Numerical Experiment of Transient and Steady Characteristics of Ultrasonic-Measurement-Integrated Simulation in Three-Dimensional Blood Flow Analysis, *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 37, No. 1, 34-49, 2009、査読あり
- ② Kenichi Funamoto, Toshiyuki Hayase, Yoshifumi Saijo, Tomoyuki Yambe, Numerical Experiment for Ultrasonic-Measurement-Integrated Simulation of Three-Dimensional Unsteady Blood Flow, *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 36, No. 8, 1383-1397, 2008、査読あり

[学会発表] (計2件)

- ① 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8報: 計測誤差の影響、第21回バイオエンジニアリング講演会、2009年1月24日、札幌コンベンションセンター
- ② 船本健一、劉磊、早瀬敏幸、超音波計測融合シミュレーションにおける直円管内層流の解析 (非軸対称フィードバック則による3次元解析)、第20回バイオエンジニアリング講演会、2008年1月26日、芝浦工業大学

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