

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23370107

研究課題名(和文) 周波数解析およびマルチスケール解析による皮膚血液循環の個体差出現メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of individual variability on the skin blood flow by frequency analysis and multi-scale analysis

研究代表者

工藤 奨 (KUDO, Susumu)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70306926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚血流は暑熱、寒冷、精神ストレスなどの影響を受け変化することが知られている。しかしながら、血流変化のメカニズムに関しては不明な点が多い。本研究では、ドップラー血流計により計測した血流波形をウェーブレット解析し、血管調節に関連がある5つの要因(血管内皮細胞、神経活動、血管平滑筋、呼吸、心拍)の影響を各環境下で調べた。その結果、各環境下で内皮細胞、神経活動、平滑筋の影響が異なることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Skin blood vessel will dilate and constrict with changes in peripheral temperature. Cold induced vasodilation (CIVD) in the finger tips occurs after the start of local cold exposure of the extremities. Heat induced vasoconstriction (HIVC) elicited by local heating have been observed. However, the mechanism of CIVD and HIVC is still not clear. Wavelet analysis of blood flow reveals various peaks in the power spectrum corresponding to specific origins: (1) cardiac activity, (2) respiratory activity, (3) myogenic activity, (4) neurogenic activity, and (5) endothelial activity. We investigated which factors are dominant to CIVD and HIVC. We also investigated the effect of light exposure on skin blood flow. It was found that endothelial, neurogenic, and myogenic activity were related to CIVD, and neurogenic and myogenic activity was related to HIVC. It was also found that endothelial, neurogenic, and myogenic activity related to decrease of blood flow under blue light exposure.

研究分野：生理人類学、機械工学

キーワード：皮膚血流 内皮細胞 ウェーブレット解析

1. 研究開始当初の背景

ヒトの皮膚血液循環に関しては、寒冷、暑熱、精神ストレスなどが及ぼす影響について多くの研究がおこなわれてきた。人類学的には古くは当時の用語で人種的な側面から、また地域や気候などの側面からヒトの皮膚血流状態に関して個体差の存在が報告されてきた。しかしながら、身体内部の生理的なメカニズムの違いを明らかにした上で個体差を論じた研究例はほとんどおこなわれていない。

本来ヒトに対して要素還元論を適用し議論することは困難であり、創発メカニズムが強く働く脳では特に困難である。しかしながらヒトに限らず基本的な生命システムである血液循環系に関しては、要素還元論を適用する範囲が広く、個体差に関連する要素を抽出する事が可能であると考えられる。そして要素抽出のためには、マクロからミクロまで細分化されたマルチスケールな解析が必要となってくる。

血流調節は、神経要因、内分泌性要因および血管内皮細胞からの一酸化窒素放出を中心とした局所的要因に大別される。さらに皮膚の場合、直接外気に接しており、応募者の研究からも皮膚の血管を含む組織自身が環境の影響を受けるため、皮膚の血流調節機構は一層複雑となる。さらに、ヒトを計測する場合、計測器の直接刺入や阻害剤などの使用による侵襲的計測は制限が多く、侵襲的に皮膚の血流調節メカニズムを明らかにすることは依然として困難を伴っている。

ウェーブレット変換は、フーリエ変換と比較して過度的応答の解析に適しており、血流解析において詳細な情報を得ることができる。この利点を活かし、Stefanovska 等(IEEE Trans Biomed Eng, 1999)はレーザードップラ式血流計の信号からウェーブレット変換により、皮膚血流状態に影響を及ぼす5つの生理的要因を周波数帯の強度で抽出できることを報告した(Ⓐ血管内皮細胞: 0.0095-0.02Hz, Ⓑ神経活動: 0.02-0.06Hz, Ⓒ血管平滑筋: 0.06-0.15Hz, Ⓓ呼吸: 0.15-0.4Hz, Ⓔ心拍: 0.4-1.6Hz)。それ以降、ウェーブレット変換を用いて多くの研究例が報告されてきたが、生理的要因の違いを明らかにした上で、ヒトの皮膚血液循環の個体差に言及した研究例はない。

2. 研究の目的

本研究では、ウェーブレット変換による周波数解析によりヒトの皮膚血流状態に影響を及ぼす5つの生理的要因(Ⓐ血管内皮細胞, Ⓑ神経活動, Ⓒ血管平滑筋, Ⓓ呼吸, Ⓔ心拍)が抽出できることを利用し、寒冷、暑熱、精神ストレスなどの影響下で、ヒト皮膚血液循環にあらわれる個体差を5つの生理的要因の違いで分類すること。さらに、5つの要因を①ヒト, ②細胞・遺伝子発現, ③動物のマルチスケールで詳細に解析をおこなうこと

により、ヒト皮膚血液循環の個体差出現メカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 寒冷、温熱刺激時における血流解析

環境温変化に関する研究に関しては、以下に示す方法で研究をおこなった。

実験には、年齢 21-25 歳、健康な男子大学生及び大学院生を被験者とした。被験者には事前に実験の方法、手順、危険性を十分に説明し了解を得た。被験者は実験前日から飲酒と激しい運動を避け、実験当日は朝食とカフェインの摂取を控えた。

被験者は左右の手の第3指末節の腹側に血流計、皮膚温計のプロープをテープで固定した。胸部に肺呼吸トランスデューサ(TSD201: BIOPAC SYSTEMS INC.)を専用のバンドで取り付け、左右の手首及び右足首には第1誘導に基づき電解質ジェル(GEL102: BIOPAC SYSTEMS INC.)を満たした心電図トランスデューサ(EL258s, EL258: BIOPAC SYSTEMS INC.)をサージカルテープで取り付けた。それぞれのトランスデューサは専用アンブ(SKT100C, RSP100C, ECG100C: BIOPAC SYSTEMS INC.)に接続し、データ収集解析システム(MP150: BIOPAC SYSTEMS INC.)に接続した。測定したデータは解析ソフトウェア(AcqKnowledge: BIOPAC SYSTEMS INC.)にサンプリングレート 200 Hz で取り込んだ。

昼食 1 時間後に実験室へ移動し、1 時間安静後、各計測器を取り付け、それぞれの計測値が安定後に実験を開始した。被験者は椅子に座り 10 分間安静後、右手第3指を第2節まで CIVD(Cold induced vasodilation)実験の際は 7 の冷水に、HIVC (Heat induced vasoconstriction)実験の際は 43 の温水に 30 分間浸し、それぞれ 40 分間計測を行った。

CIVD 時の内皮細胞、神経、平滑筋細胞、呼吸、心拍の変化を調査するために、計測した血流データをウェーブレット変換の手法を用い、周波数分解した。ウェーブレット変換は基底関数を拡大・縮小、また時間軸上に移動させることで、元の波形を表現する方法であり、突発的な変化に対応でき、かつ時間情報を得ることができる。

計測した血流量データを 40 Hz でリサンプリングした後、100 秒で移動平均したデータで減じ、5 Hz にリサンプリングする。この波形に対して解析ソフト(BIOMAS: ELMEC Incorporation Limited)でウェーブレット変換を行う。ウェーブレット変換はモルレーの基底関数を用いておこなった。得られた結果から相対エネルギーを求め、それぞれの周波数帯の時間変化を調べた。

(2) 光刺激時における血流解析

光環境変化に関する研究に関しては、以下に示す方法で研究をおこなった。

被験者は、健康な大学院生 7 名を対象としておこなった。被験者には、本実験内容を十分に説明し、書面による了承を得た。実験室

は、室温 25℃, 湿度 50% の暗室環境下でおこなった。

暗室内において、17 インチ液晶ディスプレイ (SyncMaster743: Samsung) に、異なる色の画面を映し出し、液晶面から 50 cm 離れた場所で測定をおこなった。光の明るさと色の影響調べるため、明暗 2 種類の輝度条件を用いて測定した。

明るい輝度条件では、赤、青、緑色の輝度はそれぞれ 32.2 (cd/m²), 32.2(c d/m²), 31.2 (cd/m²) とした。色度の座標は、赤 (x=0.599, y=0.353), 青 (x=0.175, y=0.126), 緑(x=0.290, y=0.533) とした。輝度と色度座標は、色度輝度計 (CS-100A: Konica Minolta) を用いた。

測定は以下に示す手順ですすめた。被験者にトランスデューサーを取り付け、暗室環境下にて測定を行った。測定開始 5 分間は閉眼安静状態 (non stimulate) とし、その後光刺激を 5 分間おこなった。光刺激後 5 分間、被験者を閉眼させることで休憩させた。刺激状態は、光刺激なし (以下、黒刺激 (black stimulate) とする)、青 (blue stimulate)、赤 (red stimulate)、緑 (green stimulate) 光とした。閉眼安静後の 5 分間は黒ディスプレイを 5 分間見ることによる刺激なし条件とした。測定終了後に光刺激による主観評価をおこなった。主観評価は、興奮、好み、快・不快、眠気、温冷感の 5 項目に対して SD 法を用いた。

被験者は、頭部に脳波キャップ (CAP100C: BIO-PAC SYSEM INC) を被り、国際 10-20 法で、後頭部付近の O1, O2 から左耳朶を基準とした単極導出測定をおこなった。心電図は両手首及び右足首に第 1 誘導に基づき心電図トランスデューサー (EL258, EL258S: BIOPAC SYSTEM INC) を取り付けた。血流は、両手中指の中節にレーザー Doppler 血流計 (moorVMS-LDF: moor instrument) を取り付けた。脳波キャップ、心電図トランスデューサー、血流計は専用アンプシステム (EEG-100C, ECG-100C, MP150: BIOPAC SYSTEMS INC.) に接続し、データ収集解析システム (MP150: BIOPAC SYSTEMS INC.) で測定した。測定したデータは、解析ソフトウェア (AcqKnowledge: BIOPAC SYSTEMS INC.) を用いてサンプリングレート 200 Hz で取り込んだ。

ウェーブレット変換を用いて血流波形解析をおこなった。取り込んだ 15 分間の血流データを 5 Hz で再サンプリングした後、解析ソフト (BIOMAS: ELMEC Incorporation Limited) でウェーブレット変換を行った。ウェーブレット変換を行ったデータは、1 分間隔のデータから 0.0095~0.02Hz, 0.02~0.06Hz, 0.06~0.15Hz のエネルギーを算出した。

心電図は、解析ソフトウェア (AcqKnowledge: BIOPAC SYSTEMS INC.) より 15 分間の R 波ピークを求め、R-R 間隔を算出した。算出した R-R 間隔を 5 Hz で再サンプリングを行い、解析ソフト (BIOMAS: ELMEC Incorporation Limited) でウェーブレッ

ト変換を行った。1 分間ずつの低周波数帯域 LF (0.05~0.15 Hz) と高周波数帯域 HF (0.15~0.5 Hz) のパワースペクトルを算出し、LF/HF から交感、副交感神経への影響を確認した。

4. 研究成果

本研究成果報告書には主にヒト計測に関する成果を報告する。

(1) 寒冷、温熱刺激時における血流解析

CIVD 反応時の血流量、HIVC 反応時の血流量の解析をおこなった。CIVD 反応は冷水曝露後に血流量が下がり、その後上昇した時点を反応時として、その前後での血流波形の周波数帯エネルギーを算出した。また HIVC 反応は温水曝露後に血流量が減少した時点を反応時として、その前後での血流波形の周波数帯別エネルギーを算出した。

CIVD 反応前後での各周波数帯エネルギーを解析したところ、内皮由来 0.0095-0.02 Hz の周波数帯エネルギーでは CIVD 反応が起こる 1 分前、反応後 1 分、反応後 2 分と比較すると、反応後 3 分でそれぞれに対して有意な増加がみられた。神経由来 0.02-0.06 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応後 1 分、反応後 2 分と比較して、反応後 3 分でそれぞれ有意な増加がみられた。平滑筋由来 0.06-0.15 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応後 1 分と比較して、反応後 3 分で有意な増加がみられた。呼吸波由来 0.15-0.4 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応前後で有意な差はみられなかった。心拍由来 0.4-1.6 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応前後で有意な差はみられなかった。

HIVC 反応前後での各周波数帯エネルギーを解析したところ、内皮由来 0.0095-0.02 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応前後で有意な差はみられなかった。神経由来 0.02-0.06 Hz の周波数帯エネルギーでは反応が起こる 1 分前と比較して、反応後 2 分で有意な増加がみられた。平滑筋由来 0.06-0.15 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応が起こる 1 分前と比較して、反応後 2 分で有意な増加がみられた。呼吸波由来 0.15-0.4 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応前後で有意な差はみられなかった。心拍由来 0.4-1.6 Hz の周波数帯エネルギーでは、反応前後で有意な差はみられなかった。

(2) 光刺激時における血流解析

刺激直後 1 分間を基準とした刺激前と刺激中の血流量の増減を検討した。青光と赤光は、2 分間と比較して刺激直後 (6 分) で有意に減少を示した。その後、青光および赤光は 7 分、8 分で血流量は増加傾向、青光は 10 分後に減少傾向を示した。刺激なしと緑光は血流量に変化は観察されなかった。

青色および赤色刺激において、血流量が変化したことから、この二条件の血流に関してウェーブレット解析をおこなった。青色刺激においては、内皮、神経、平滑筋由来の周波

数帯で刺激直後1分と比較すると、刺激3分で有意な減少を示した。赤色刺激においては、内皮、平滑筋では有意な差を示さなかったが神経帯において、刺激直後1分と比較して3分でエネルギーが減少した。各刺激の刺激時間中の1分間毎のLF/HF値を計測したところ、青色光は5分が刺激1~4分と比較して有意に増加を示したが、他の色刺激では時間毎に変化は観察されなかった。

本研究により、温度環境および光環境の影響を受け、皮膚血流が変化することがわかり、さらに血流波形をウェーブレット解析することにより、血流変化に影響を与える因子を推測す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4件)

工藤 奨,血管内皮細胞の力学・化学環境と物質輸送,伝熱,査読無, 53, 222, 16-21, 2014.

Tateki Sumii, Ryosuke Fujita, Kazuo Tanishita, Susumu Kudo, Effect of flow load on hepatic function in co-culture of hepatocytes with hepatic stellate cells and endothelial cells:Relationship between hepatic function and nitric oxide concentration in vitro, Journal of Biomechanical Science and Engineering, 査読有, 7, 237-247, 2012.

川崎那緒人, 島田知弥, 福井武和, 濱崎啓太, 工藤奨, フォトクロミック蛍光タンパク質を用いた血管内皮細胞細胞膜タンパク質拡散の可視化解析, 日本機械学会論文集, 査読有, 78, 194-205, 2012.

工藤奨, 細淵誠人, 紅床省吾, 隅井干城, 島田知弥, 寺田麻理枝, 谷下一夫, せん断流れ場でのIP3誘導による内皮細胞Ca²⁺応答伝播, 日本機械学会論文集, 査読有, 77, 2431-2441, 2011.

[学会発表](計37件)

Tateki SUMII, Yohei NAKANO, Kazuhiro NAKASHIMA, Toshihiro SERA, Susumu KUDO, Direct load of nitric oxide affect hepatic function, The Seventh Kyushu University-KAIST Joint Workshop on Frontiers in Mechanical Engineering. 2014.09.25-26 「Fukuoka (JAPAN)」

Tateki Sumii, Ryosuke Fujita, Kazuhiro Nakashima, Susumu Kudo, Effect of Shear Stress on Migration of Hepatic Stellate Cells, The 15th International on Biomedical Engineering, 2013.12.06. 「Singapore (Singapore)」

Shuhei Okura, Kazuhiro Nakashima, Susumu Kudo, Wavelet Analysis of Oscillations in the Peripherala Blood Flow during Cold-induced Vasodilation and Heat-induced Vasoconstriction, The

11th International Congress of Physiological Anthropology, 2013.08.09. 「Banff (Canada)」

Susumu Kudo, Tomoya Shimada, Marie Terada, Keita Hamasaki, Translocation of Protein Kinase C alpha in Endothelial Cells Following Mechanical Stimulation, International Symposium on Bio Medical Engineering Interface, 2013.03.15. 「Sendai (JAPAN)」

Tateki SUMII, Ryosuke FUJITA, Kazuo TANISHITA, Susumu KUDO, Roles of Mechanical Stress and Nitric Oxide on Hepatic Function, The Sixth KAIST-Kyushu University Joint Workshop on Frontiers in Mechanical and Aerospace Engineering, 2012.09.13. 「Daejeon (Korea)」

Susumu Kudo and Keita Hamasaki, Wavelet Analysis of oscillations in the peripheral blood flow during cold induced vasodilation, ICPA2012, 2012.09.04. 「Beijing (China)」

Susumu Kudo, Tomoya Shimada, and Keita Hamasaki, Movement characteristics of protein kinase C α in vascular endothelial cells following single, 14th International Congress of Biorheology and 7th International Conference on Clinical, 2012.07.07. 「Istanbul (Turkey)」

[図書](計1件)

日本整理人類学会編, 丸善出版, 人間科学の百科事典, 782頁, 2015

[その他]

ホームページ等

<http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/K004580/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

工藤 奨 (KUDO, Susumu)

九州大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号: 7036926

(2) 研究分担者

世良 俊博 (SERA, Toshihiro)

九州大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号: 40373526

多田 茂 (TADA, Shigeru)

防衛大学校・応用科学群・教授

研究者番号: 70251650

濱崎 啓太 (HAMASAKI, Keita)

芝浦工業大学・工学部・教授

研究者番号: 50348900