

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650300

研究課題名（和文） 高周波数超音波を用いたソノサイトメトリーの開発

研究課題名（英文） Development of Sono-cytometry by High Frequency Ultrasound

研究代表者

西條 芳文 (SAIJO YOSHIFUMI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号：00292277

研究成果の概要（和文）：流体中に分散させた微粒子を細い流路内に流し、高速 CCD カメラで観察するとともに、120MHz の高周波数超音波を照射し、その反射スペクトルの形状をニューラルネットワークの手法で解析した。微粒子の大きさや内部構造の複雑さの解析が可能であり、将来的に生体内の血流・リンパ流を応用した生体内ソノサイトメトリーの実現が期待される。

研究成果の概要（英文）：Microfluidic circulation with suspension of micro-molecules was observed by high speed CCD camera. High frequency ultrasound of 120 MHz was emitted to the model and the spectrum of the reflected ultrasound was analyzed by neural network. The dimensions and structures of the micro-molecules were evaluated by the method. Application of the blood flow or lymph flow to the method in living subjects may realize *in vivo* “sono-cytometry” in the near future.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

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：高周波数超音波、サイトメトリー、マイクロ流路、ニューラルネットワーク

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ

フローサイトメトリーは、流体中に分散した細胞が1列になって通過するような細い流路内にレーザー光を照射し、その前方散乱により細胞の大きさ、側方散乱により細胞内の複雑さを分析することで細胞を分類する方法である。種々の細胞に特異的な蛍光物質を標識することで免疫学、分子生物学や移植学など医学の幅広い分野で活用されている。

マラリアは赤血球中のマラリア原虫の存在により確定診断されるが、簡便な診断方法がないため、採血が困難な地域を中心に21世紀に入っても年間100万人近くが死亡している。先進医療においてもがん細胞のリンパ節転移の術中診断は重要で、生体内サイトメ

トリーの開発が切望されている。

(2) 応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯

研究代表者は、80～500MHz領域の医学・生物学用超音波顕微鏡を開発実用化し、超音波の音速によって細胞の悪性度やコラーゲンの質の診断などが可能であることを示してきた。また、血管内超音波法の反射超音波のスペクトル解析による組織分類法も確立した。これらの成果から、フローサイトメトリーのセンサとして高周波数超音波を用い、流路として体表近くの血管やリンパ管を用いた生体内ソノサイトメトリーを開発するという着想に至った。

2. 研究の目的

マラリアの簡便な診断や術中リンパ節診断に対して生体内サイトメトリーのニーズは高いが、1列になって流れている細胞にレーザー光を照射し、その散乱を高精度に解析することを原理とした既存のフローサイトメトリーを、光の散乱・吸収が大きい体内で応用することは困難である。

本研究では、流体中に分散させた微粒子を細い流路内に流す際に 120MHz の高周波数超音波を照射し、その反射スペクトルの形状をニューラルネットワークの手法で解析することで、微粒子の大きさや内部構造の複雑さを解析するソノサイトメトリーのプロトタイプを作製し、原理の確認を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マイクロ流路の作製

3本の流路を1本に合流させるようなマイクロ流路を作製し、3台のマイクロシリンジポンプによって、中央から細胞に相当するポリスチレン微粒子を含む液体、両脇から微粒子を含まないシースフローを流し、マイクロ流路の上方に設置した高速 CCD カメラで微粒子を含む液体の挙動を観察し、3台のマイクロ輸液ポンプの最適な流量を決定する。

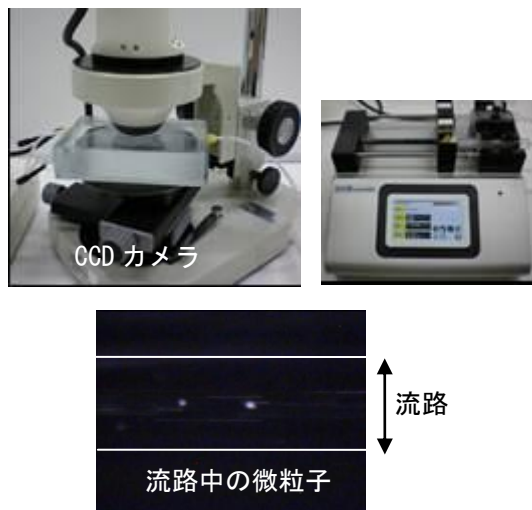


図1 マイクロ流路

(2) 高周波数超音波計測システム・信号解析

中心周波数 120 MHz、直径 2.4 mm、焦点距離 3.2 mm の PVDF 製の凹面超音波振動子を、流路にほぼ 30 度の角度で設置し、作製したマイクロ流路の中央に焦点が一致するように固定する。超音波振動子にパルス幅 100 ps、電圧 50 V、繰り返し周波数 3000Hz の電気パルスを入力し、高周波数超音波を発生させ、デジタルオシロスコープにより超音

波信号が取得できていることを確認する。

(3) 自己組織化マッピング

モデルを単純化するために、粒径 2.5 ミクロンおよび 6 ミクロンのポリスチレン微粒子が混在した液体をマイクロ流路に流し、超音波反射スペクトルを数値化し分類する。

4. 研究成果

(1) マイクロ流路の作製

図1は PVA (ポリ塩化ビニル) により作製したマイクロ流路中を流れる微粒子を CCD カメラで観察した画像である。

(2) 高周波数超音波計測システム・信号解析

中心周波数 120 MHz、直径 2.4 mm、焦点距離 3.2 mm の PVDF 製の凹面超音波振動子にパルス幅 100 ps、電圧 50 V、繰り返し周波数 3000Hz の電気パルスを入力し、デジタルオシロスコープにより超音波信号が取得できていることを確認した。

(3) 自己組織化マッピング

図2は周波数スペクトルの一例で、波形の自己組織化マッピングのために、Midband fit、最大値を示す周波数、直線の傾き、ゼロ切片の4つのパラメータを数値化して分類を行った。

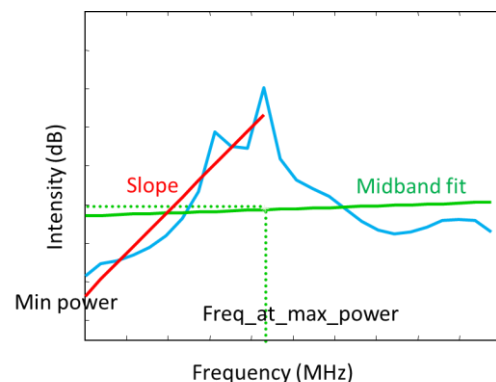


図2 周波数スペクトル

以上の結果から、反射スペクトルの形状をニューラルネットワークの手法で解析することで、微粒子の大きさや内部構造の複雑さの解析が可能であり、将来的に生体内の血流・リンパ流を応用した生体内ソノサイトメトリーの実現が期待される。

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)

- ① Kumagai K, Koike H, Nagaoka R, Sakai S, Kobayashi K, Saijo Y. High-resolution ultrasound imaging of human skin in vivo by using three-dimensional ultrasound microscopy. *Ultrasound Med Biol.* 査読あり, Vol. 38, No. 10, 1833-8, 2012. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.05.012
- ② Hagiwara Y, Ando A, Onoda Y, Takemura T, Minowa T, Hanagata N, Tsuchiya M, Watanabe T, Chimoto E, Suda H, Takahashi N, Sugaya H, Saijo Y, Itoi E. Coexistence of fibrotic and chondrogenic process in the capsule of idiopathic frozen shoulders. *Osteoarthritis Cartilage.* 査読あり, Vol. 20, No. 3, 241-9, 2012. doi: 10.1016/j.joca.2011.12.008
- ③ Hagiwara Y, Saijo Y, Ando A, Onoda Y, Suda H, Chimoto E, Hatori K, Itoi E. Comparison of articular cartilage images assessed by high-frequency ultrasound microscope and scanning acoustic microscope. *Int Orthop.* 査読あり, Vol. 6, No. 1, 185-90, 2012. doi: 10.1007/s00264-011-1263-1

[学会発表] (計 61 件)

- ① Saijo Y, Kojima T, Khmyrova E, Omori A, Nakajima H, Kurokawa T, Tabuchi H, Kameyama T, Tanaka M. Feasibility of echo-dynamography in comparison of blood flow vectors obtained from echocardiography and phase contrast magnetic resonance angiography. *Asian Pacific Society of Cardiology 2013 Congress (19th APCC or APSC 2013)*, February 21-24, 2013, Pattaya, Thailand.
- ② 小島貴則, 中島博行, 黒川貴史, 大森愛子, 西條芳文. 超音波ドブラデータに基づく心臓内渦流の可視化. 第 15 回日本栓子検出と治療学会、2012 年 10 月 5~6 日、大阪.
- ③ 小松洋介, 長岡亮, 太田信, 船本健一, 早瀬敏幸, 金井浩, 西條芳文. 細動脈を模擬した生体ファントムの作製. 第 15 回日本栓子検出と治療学会、2012 年 10 月 5~6 日、大阪.
- ④ Saijo Y. Application of acoustic microscopy for prostate biopsy tissues. Key Note Lecture, 8th International Symposium on Ultrasonic Biomedical Microscanning, St- Paulin, Quebec, Canada, September 24-27, 2012.
- ⑤ 西條芳文, 小島貴則, 亀山剛義, 中島博行, 田淵晴名, 田中元直. 心エコーと

MRI のハイブリッドイメージングによる左室内渦流の三次元評価. 第 60 回日本心臓病学会学術集会、2012 年 9 月 14~16 日、金沢.

- ⑥ Saijo Y. Recent development on biomedical acoustic microscopy. *International Conference on Sensing, Imaging and Signal Processing.* July 18-20, 2012, Santa Barbara, CA, USA.
- ⑦ Saijo Y. High resolution biomedical imaging - Multimodal ultrasound microscope and combination with optics. Invited Paper in The Acoustics 2012 Hong Kong conference consisting a joint meeting of the 163rd meeting of the Acoustical Society of America (ASA), the 8th meeting of the Acoustical Society of China (ASC), the 11th Western Pacific Acoustics Conference (WESPAC) and the Hong Kong Institute of Acoustics (HKIOA) organized by the Hong Kong Institute of Acoustics, May 13 - 18, 2012, Hong Kong, China.
- ⑧ Saijo Y. Evaluation of tissue components, biomechanics and blood flow by high frequency ultrasound. Invited Lecture in American Institute of Ultrasound in Medicine (AIUM) 2012 Annual Convention, March 29 - April 1, 2012, Phoenix, AZ, USA.

[図書] (計 3 件)

- ① Saijo Y, Koike H, Izumi T, Miida Y, Matsuura Y, Hozumi N. Color dependence of photoacoustic micro imaging. Andrzej Nowicki, Jerzy Litniewski, Tamara Kujawska eds. *Acoustical Imaging Vol 31*, Springer, 323-330, 2012.
- ② Saijo Y. Clinical applications of ultrasonic nondestructive evaluation. Tribikram Kundu ed. *Ultrasonic and Electromagnetic NDE for Structure and Material Characterization: Engineering and Biomedical Applications* CRC Press, 740-770, 2012.
- ③ Saijo Y. Biomedical application of multimodal ultrasound microscope. Jinlong Wu ed. *Technological Advancements in Biomedicine for Healthcare Applications*, IGI Global, 27-35, 2012.

[その他]
西條研究室
<http://www.ecei.tohoku.ac.jp/imaging/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

西條 芳文 (SAIJO YOSHIFUMI)
東北大学・大学院医工学研究科・教授
研究者番号：00292277

(2)研究分担者

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
早瀬 敏幸 (HAYASE TOSHIYUKI)
東北大学・流体科学研究所・教授
研究者番号：30135313