

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：53203
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26350523
研究課題名(和文) 動脈硬化を診断・予知するための近赤外レーザ血管血流画像情報計測技術の臨床応用

研究課題名(英文) Clinical application of laser blood flow image information measurement technology to diagnose and predict arteriosclerosis

研究代表者
八賀 正司 (Hachiga, Tadashi)

富山高等専門学校・商船学科・教授

研究者番号：80123305
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの腸間膜血管内のin-vivo計測を行い、血流速度分布のイメージングを行った。線計測 μ LDV法により、乳癌を植え付けたマウスのin-vivo測定により乳癌移植前、移植後1日目、3日目、6日目の写真と乳癌まわりの血流画像を示し、乳癌部位の異常流速分布の検出とその血流場の考察を行った。健常マウスのマウス頸動脈の2次元血流速度分布画像と血流速度の時間変化からマウス拍動の時間変化の計測とその有効性を確認した。狭窄のある人工流路に水、グリセリン溶液、マウス血液を流入させ面計測 μ -MLDV法による血流速度分布計測を行い、CFD解析と実験結果とを比較検討し、粘度による流動状態の違いを確認することが出来た。

研究成果の概要(英文)：The developed L-MLDV system can realize velocity distribution imaging of the carotid artery in a living mouse by means of traverse laser light. We subsequently developed a cross-sectional multiple-point laser Doppler velocimetry (CS-MLDV) system, which can measure the instantaneous two-dimensional flow velocity. An instantaneous 2D velocity distribution can be obtained even for the case of flowing blood. We carried out in-vivo measurement in a mesenteric vessel of a mouse in order to demonstrate the potential of the CS-MLDV. The instantaneous velocity distribution in the flow channel around the obstruction was measured using the MLDV system. Velocity distribution images were obtained by scanning the rectangular flow channel. We attempted to perform non-invasive breast cancer imaging using a MLDV system to monitor blood flow. The validity of the MLDV results was verified through comparison with the results of a computational fluid dynamics (CFD) analysis.

研究分野：複合領域 生体医工学

キーワード：血流速度 in-vivo計測 血管血流画像計測 血流速度分布 LDV 多点同時計測

1. 研究開始当初の背景

生命を脅かす心血管病、特に動脈硬化性疾患は日本の死因の30%を占めるに至り、動脈硬化の予防医学は大きな課題であり、メタボリックシンドロームに代表される高脂血症、動脈硬化や動脈瘤など、血管や血流の異常に関する疾患が急激に増加している。また、高脂血症によるアテロームプラークの形成や動脈硬化による血流障害は、心筋梗塞や脳梗塞など死に繋がる重度疾患へと導く。

動脈硬化などの血管疾患を主因とする心筋梗塞や、脳梗塞発症の予知・予防は重要な課題であり、血圧測定では得られない、動脈血管情報と血流情報も非常に有用視されている。

2. 研究の目的

本研究では、動脈硬化症の早期診断及び心筋梗塞を予知するために、独自に開発してきた近赤外レーザー光を用いた非侵襲 *in vivo* 血管血流画像装置による血管情報【狭窄、閉塞、拡張、拍動に合わせた血管径の時間変化(膨張⇔収縮)】及び血流情報【血管内の血流速度分布の2D画像及び時間変化、動脈の血流量と拍動血流の時間変化】の測定技術及び血管血流の画像情報計測技術を臨床応用へと展開するための研究基盤を確立する。

3. 研究の方法

(1) 線計測 μ -MLDV 装置、面計測 μ -MLDV 装置を使って、健常マウスによる頸動脈・腸間膜の *in vivo* 計測によるレーザー血管血流情報計測の実施

(2) 狭窄のある流路モデル内に脈動流を流した *In-vitro* 計測において、作動流体をポリエチレン粒子と蒸留水、生理食塩液と血液とした場合のドップラー信号のスペクトラムを比較する → 本システムの流速を求める解析の手順(バリデーション)等についての検討を行う。

(3) 狭窄のある流路モデル内に脈動流を流した *In-vitro* 計測において、生理食塩液と血液とした場合のCFD解析を行い、面計測 μ -MLDV の実験結果と比較検討し、狭窄部のある矩形流路内脈動を対象とした解析を行い、狭窄部のある矩形流路内脈動を対象とした流れ場の情報(狭窄部の瞬時血流速度分布、粘度、脈動)の違いを調べる。狭窄部の有るモデル流路内・動脈流れの *in-vitro* による線計測MLDV計測結果とCFD解析結果の比較検討を行う。

(4) 狭窄部(突起物)の有るマイクロ流路内に容積ポンプによる脈動流を供した脈動流速計測実験を行う。ポンプの回転数を変えながら脈動周波数と脈動振幅、その時間変動、流速分布を測定し、計測結果の妥当性を検証する。流量又は流体の粘度を変えた流速を得ることで粘性の影響を考慮した突起物まわりの脈動流れ場を実験的に明らかにする。

(5) 実験で得られた流れ場の情報と数値流

体力学(CFD)による3次元流動数値解析との比較を行い、数値流体力学(CFD)の流速分布とマイクロ-MLDVの実験によって得られる流速分布に関する結果を同定することで、流体の粘度を流速計測で予測する手法を構築する

(6) 実験の作動流体を動物の血液とすることで赤血球をシーリングとする流速計測を行う。同時にCassonの式で粘度を与える血液相当流体のCFD解析手法を構築する。両者で得られる知見からせん断応力と血液粘度の関係を突起物の条件(高さ、幅、形状)と関連付けて明らかにする。

(7) 血管内の狭窄部の後流では渦が生じている。渦のスケールは最大でも狭窄部の大きさ程度と考えられる。また、渦の大きさや周期は流体の粘度にも依存すると考えられる。現有の生体計測用の線計測 μ MLDV装置を、逆流を検知可能にするため、送光系にブラッグセル(AOM)を導入し、光信号処理を行うハードウェア、信号処理ソフトウェアもブラッグセルを導入するためのシステムの改良を行う。

(8) 狭窄部(突起物)の有るマイクロ流路内に容積ポンプによる脈動流を供した脈動流速計測実験を行う。ポンプの回転数を変えながら脈動周波数と脈動振幅その時間変動、流速分布を測定し、計測結果の妥当性を検証する。作動流体に水と動物血液を用い流量又は作動流体を変えることにより、粘性の影響を考慮した突起物まわりの脈動流れ場を順流と逆流の挙動にも注目して詳細に考察する。

(9) マウス乳癌モデルを使った血流異常・血流障害を *in-vivo* で検出するための実験を行う。線計測 μ -MLDV装置を使って健常マウスと乳癌モデルマウスの *in-vivo* 計測によるレーザー血管血流情報の3次元計測を実施し乳癌の成長により形成される新生血管や腫瘍に養分を供給するために血流量の変化する様相を腫瘍撮影画像と乳癌部位の血流障害や血流異常を伴う血管血流情報の3次元血流場について考察する。

(10) MLDV法は、生体外からレーザー光を照射することで皮膚下部の血管・血流情報を取得し、完全非侵襲を実現する。測定領域は生体内部に形成される。より高精度な計測機器へ展開するために、皮膚の構造がレーザー光計測領域に及ぼす影響を定量的に評価する。

4. 研究成果

(1) 1点計測LDV法を基盤技術として、多点同時2次元面計測LDV計測手法へと展開させた *in-vitro* CS-MLDV法を提案し、本手法によりマイクロ流路内の2次元の流速分布の計測が可能となった。また、数値計算との比較により本計測手法が非正常の流速分布の計測に適していることを確認した。

(2) 狭窄のある流路モデル内に脈動流を供

給した流速計測において、作動流体をポリエチレン粒子と蒸留水、生理食塩液と血液とした場合のドップラー信号のスペクトラムを比較することで本システムの流速を求める解析のアルゴリズム等についての検討を行うことができた。CFD 解析を行い、CS-MLDV の実験結果と比較検討し、狭窄部のある矩形流路内脈動を対象とした解析、狭窄部のある矩形流路内脈動を対象とした流れ場の情報（狭窄部の瞬時血流速度分布、粘度、脈動）の違いを調べた。周期は実験と精度良く一致している。

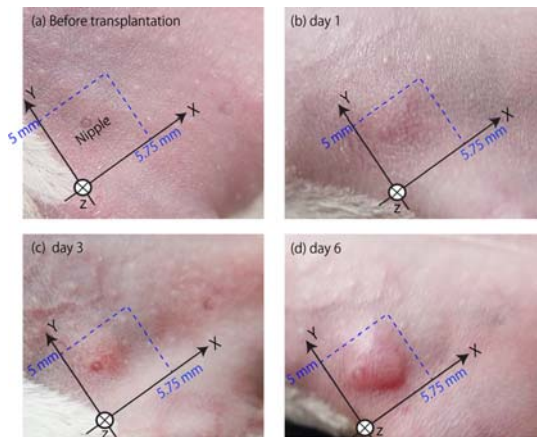


Fig. 1. Time course of lesion development over 6 days after transplantation: (a) before transplantation; (b) and (c) a lesion was not identified on day one or day three after transplantation respectively; (d) a lesion of approx. 4mm was identified on day six after transplantation. The boxed areas indicate the areas chosen to be scanned for blood flow.

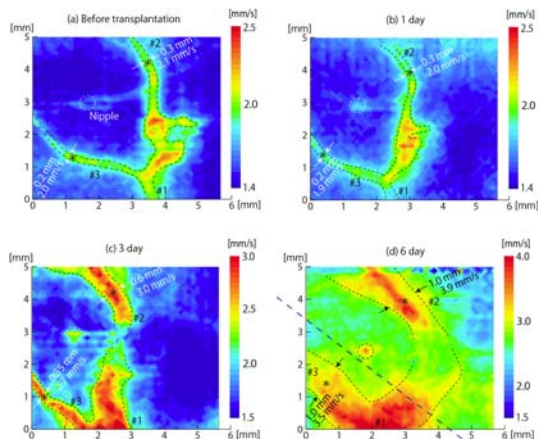


Fig. 2. Blood flow velocity images of skin areas corresponding to the photographs in Fig. 1: The boxed areas shown in Fig. 1 were scanned (a) before transplantation and (b) 1, (c) 3, and (d) 6 days after transplantation. Flow velocities are expressed using a 30-level color scale. Asterisks indicate points at which blood flow and blood vessel diameter were measured as shown.

速度に関しては狭窄していない部分では実験結果より十数%遅い結果となったが、突起物周辺における速度は実験結果と精度よく一致し、実験と計算の結果は全体的に概ね一致した。また、水とグリセリン溶液の流動状態の比較から、粘度による流動状態の違いを確認することが出来た。これらの結果から血管・血流のイメージングとして機能することが確認できた。

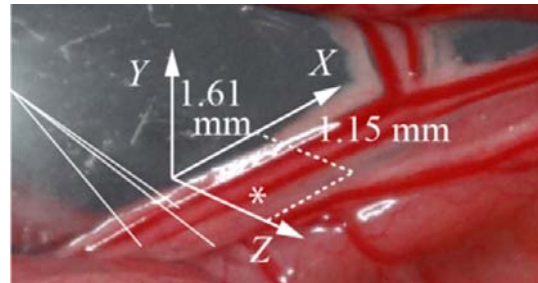


Fig. 3. Blood velocity image of mesenteric blood vessel using CS-MLDV. Photograph of mesenteric blood vessel in mouse.

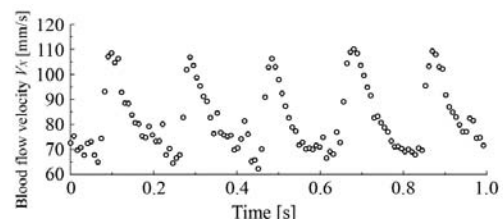


Fig. 4 Temporal change in pulsation.

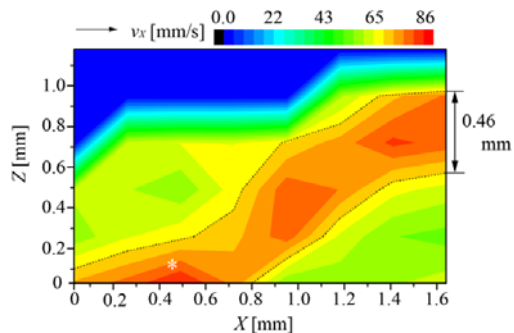


Fig. 5 Image of mesenteric blood vessel obtained by CS-MLDV.

(3) 狭窄のある人工流路にマウス血液を流入させ CS-MLDV による血流速度分布計測を行った。ドップラー信号のスペクトラムの重心を求めることで、その周波数をドップラー信号とし、流速値の推定を行った。ここで得られた血流速度は GTT コードによる血流シミュレーションとよく一致する結果が得られた。

(4) MLDV による血流関連疾患の診断技術への展開に取り組んだ。生体計測用の線計測 μ LDV 法により、乳癌を植え付けたマウスの in-vivo 測定により乳癌移植前、移植後 1 日目、3 日目、6 日目の写真と乳癌まわりの血

流画像を示し、乳癌部位の異常流速分布の検出とその血流場の考察を行った。癌の成長により新生血管が形成されること、腫瘍に養分を供給するために血流量が指数関数的に増加する様相を腫瘍撮影画像と比較し、検討を行った。図1及び2参照。

(5) 健常マウスのマウス頸動脈の2次元血流速度分布画像と血流速度の時間変化からマウス拍動の時間変化の計測とその有効性の確認、ならびに血流関連疾患の検出に有望な手法であることを示した。

(6) in-vitro 及び in-vivo の両計測に使用できる2次元面計測 LDV (CS-MLDV) を開発・改良した。マイクロ流れの新たな in-vivo 計測ツールとして、時空間分解能が良く、5秒以上の時間変動計測が可能な xy 空間の時間変化を取得できる CS-MLDV の開発・改良を行った。多点同時2次元 LDV 面計測手法へと展開させた in-vivo CS-MLDV 法を提案し、その場観察システムの開発を行った。

麻酔下のマウスを対象に、腸間膜血管内の in-vivo 計測を行い、血流速度分布のイメージングを行った。血流速度の時間変化から使用したマウスの拍動は約 300 bpm であること、1.0秒で平均した血流速度のイメージングの結果からの血流量は 0.90 ml/min となり、超音波による血流量計測を実施した他文献とよく一致する結果が得られた。健常マウスのマウス頸動脈の2次元血流速度分布画像と血流速度の時間変化からマウス拍動の時間変化の計測とその有効性の確認、血管血流関連疾患の検出に有望な手法であることを示した。

図3、4、5及び6を参照

(7) 生体計測用の線計測 μ MLDV 装置を、逆流を検知可能にするため、送光系にブラッグセル (AOM) を導入し、光信号処理を行うハードウェア、信号処理ソフトウェアのシステムの改良を行い、狭窄部 (突起物) の有るマイクロ流路内に容積ポンプによる脈動流を供した脈動流速計測実験を行った。ポンプの回転数を変えながら脈動周波数と脈動振幅その時間変動、流速分布を測定し、計測結果の妥当性を検証した。

(8) MLDV 法は、生体外からレーザー光を照射することで皮膚下部の血管・血流情報を取得し、完全非侵襲を実現する。測定領域は生体内部に形成される。より高精度な計測機器へ展開するために、皮膚の構造がレーザー光計測領域に及ぼす影響を定量的に評価した。

(9) マウスの皮下組織に形成された干渉縞の写真を撮った。皮膚表面から深さを変えて、顕微鏡の対物レンズで2本のビームの交点を拡大し、スクリーンに投影し、赤外線カメラで画像を撮影した (図6参照)。血流計として採用されている2ビーム LDV の場合、皮膚表面から浅い場所で測定すると、レーザービームの交差部の縞模様がほとんど維持される。深い場所で測定すると、レーザー光は皮膚または皮下組織によって大きく散乱

される。非常に薄い組織 (厚さ 0.2mm まで) の場合、縦縞のパターンがほとんど維持されていた。しかし、これらの垂直ストライプは、組織の厚さが増加するにつれて消失し、パターンは、レーザースペckルと同様の干渉パターンに変わった。皮下組織に指向性のないspeckle様パターンが形成された。この干渉パターンによって全方向の血流を測定することが可能であると考ええる。赤血球がこのようなspeckleのようなパターンを通過すると、高いコントラストが得られ、赤血球によって散乱光が生成されると示唆していると考えている。

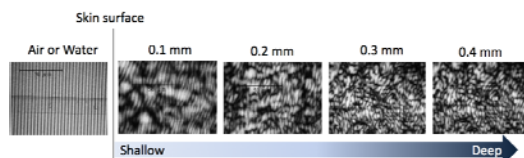


Fig. 6. Photographs of the interference pattern formed in the subcutaneous tissue of a mouse. The fringe width of the interference fringe pattern is 4.1 μ m. (a) In air, (b) - (d) a depth of 0.2mm (b), 0.5mm (c), and 0.8mm (d).

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 6 件)

① T. Kyoden, N. Shoji, S. Akiguchi, H. Ishida, Y. Takada, N. Momose, T. Homae, T. Hachiga, In vivo visualization method by absolute blood flow velocity based on speckle and fringe pattern using two-beam multipoint laser Doppler velocimetry, Journal of Allied Physics, 査読有, 120, 2016, pp. 084701-1~8, DOI: 10.1063/1.4961611

② S. Akiguchi, H. Ishida, Y. Takada, T. Teranishi, T. Andoh, T. Hachiga, Examining the Relationship between Blood Flow Velocity and Movement of Erythrocytes in a Capillary using Laser Doppler Velocimetry, IEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering, 査読有, Vol. 11 No. 4, 2016, 451-456, DOI: 10.1002/tee.22262

③ T. Kyoden, S. Abe, H. Ishida, S. Akiguchi, T. Andoh, Y. Takada, T. Teranishi, T. Hachiga, High-resolution in-situ LDV monitoring system for measuring velocity distribution in blood vessel, Optics Communications, 査読有, 353, 2015, pp. 122-132, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.optcom.2015.04.075>

④ H. Ishida, T. Andoh, S. Akiguchi, T. Kyoden, T. Hachiga, Observation of tumor

microvessels that are controlled by blood flow in breast cancer、Applied Physics Letters、査読有、106、2015、pp. 173703(1)-173703(5)、DOI: 10.1063/1.4919103

⑤ T. Kyoden、Y. Yasue、H. Ishida、S. Akiguchi、T. Andoh、Y. Takada、T. Teranishi、T. Hachiga、Multi channel laser Doppler Velocimetry using a two-dimensional optical fiber array for obtaining instantaneous velocity distribution characteristics、Japanese Journal of Applied Physics、査読有、54、2015、pp. 012501(1)-(6)、DOI: <https://doi.org/10.7567/JJAP.54.012501>

⑥ H. Ishida、Y. Yasue、T. Hachiga、T. Andoh、S. Akiguchi、Y. Kuraishi、T. Shimizu、Power spectrum and blood flow velocity images obtained by dual-beam backscatter laser Doppler velocimetry、Optical Review、査読有、Vol 21、Issue 4、pp 461-467 (2014)、DOI: 10.1007/s10043-014-0071-4

[学会発表] (計 13 件)

① N. Shoji、Live blood flow imaging using cross-sectional multipoint LDV、International Conference of “Science of Technology Innovation” 2017、長岡技術科学大学 (新潟県・長岡市)、2017 年 1 月 5～7 日

② S. Akiguchi、Measurement of Relationship between Red Blood Cell Velocity and Movement of Erythrocytes、International Conference on Engineering and Technology 2016、富山県民会館 (富山県・富山市)、2016 年 10 月 13 日

③ N. Shoji、Study on Multipoint Temperature Measurement Using Laser Interferometry、International Conference on Engineering and Technology 2016、富山県民会館 (富山県・富山市)、2016 年 10 月 13 日

④ 服部純暉、脈動流の完全非侵襲 3 次元イメージング手法に基づく流量計測システムの提案、日本伝熱学会 北陸信越支部 2016 年春季セミナー、富山県立大学大講義室 (富山県・射水市)、2016 年 5 月 7 日

⑤ 荘司成熙、多点同時 LDV による in-vivo 血流イメージングに影響を及ぼす皮膚の存在とその有効性、第 55 回日本生体医工学会、富山国際会議場 (富山県・富山市)、2016 年 4 月 26～28 日

⑥ 秋口俊輔、近赤外レーザー Doppler 流速

分布計測装置の皮膚癌診断と治療への応用、第 55 回日本生体医工学会、富山国際会議場 (富山県・富山市)、2016 年 4 月 26～28 日

⑦ 荘司成熙、面計測 LDV による時間変動流速場の計測—生体計測への応用と今後の展開、日本伝熱学会北陸信越支部秋季セミナー、信州大学長野キャンパス (長野県・長野市)、2015 年 10 月 30～31 日

⑧ 百生登、レーザー干渉法を利用した多点同時温度センサーの開発に向けた基礎検討、日本伝熱学会北陸信越支部秋季セミナー、信州大学長野キャンパス (長野県・長野市)、2015 年 10 月 30～31 日

⑨ T. Kyoden、In-situ LDV monitoring system using two-dimensional optical fiber array、The 5th International Symposium on Organic and Inorganic Electronic Materials and Related Nanotechnologies (EM-NANO 2015)、ManuscriptID:287 No. P3-32、新潟コンベンションセンター (新潟県・新潟市)、2015 年 6 月 16～19 日

⑩ 荘司成熙、血管内血流動場をリアルタイムでモニタリングする計測手法と解析ソフトウェアの基盤構築、日本伝熱学会北陸信越支部平成 27 年度春季セミナー、富山大学 (富山県・富山市)、2015 年 5 月 9 日

⑪ 高橋里奈、近赤外レーザー Doppler 流速分布測定装置の生体計測への応用、日本機械学会流体工学部門講演会講演論文集、富山大学 (富山県・富山市)、2014 年 10 月 25～26 日

⑫ 安部将太郎、狭窄部のある矩形流路内の脈動流を対象とした流動解析、日本伝熱学会北陸信越支部 2014 年度秋季セミナー、長岡技術大 (新潟県・長岡市)、2014 年 10 月 17 日～18 日

⑬ 谷野恭平、マイクロ多点同時計測 LDV 法の生体計測への応用 (狭窄部のあるマイクロ流路内の脈動流速分布の瞬時計測)、日本伝熱学会北陸信越支部 2014 年度春季セミナー、富山高専射水キャンパス (富山県・射水市)、2014 年 5 月 10 日

[その他]

ホームページ等

<http://research.kosen-k.go.jp/researcher-list/read0060635>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八賀 正司 (Hachiga Tadashi)

富山高等専門学校・商船学科・教授

研究者番号：80123305

(2) 研究分担者

寺西 恒宣 (Teranishi Tunenobu)
富山高等専門学校・機械システム工学科・
教授
研究者番号：20141880

(3) 研究分担者

秋口 俊輔 (Akiguchi shunsuke)
富山高等専門学校・電子情報工学科・
准教授
研究者番号：50462130

(4) 研究分担者

安東 嗣修 (Andoh Tsugunobu)
富山大学・医学薬学研究部 (薬学)・
准教授
研究者番号：50333498

(5) 研究分担者

清水 忠道 (Shimizu Tadamichi)
富山大学・医学薬学研究部 (医学)・教授
研究者番号：70260396

(6) 研究分担者

高田 洋吾 (Takada Yogo)
大阪市立大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：70295682

(7) 研究分担者

石田 弘樹 (Ishida Hiroki)
岡山理科大学・理学部・准教授
研究者番号：50413761