

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26630046

研究課題名(和文)人工臓器内の高せん断場血栓検出と赤血球膜破断シミュレーションとの融合

研究課題名(英文) Fusion of the high shear field thrombus detection and the red blood cell membrane rupture simulation in the artificial organ

研究代表者

武居 昌宏 (TAKEI, MASAHIRO)

千葉大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90277385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：赤血球と血漿からなる固液混相流のせん断力場で血栓形成の実験と誘電緩和周波数による血栓計測を行った。その結果緩和周波数は時間的に増加しピークポイントが出現したあと減少した。さらにACT(Activated Clotting Time)の計測とフィブリノゲン量の計測を行った。ACT値はピークポイントの時点で正常値を下回り、フィブリノゲン量はピークポイントの時点で急激に下がった。これらから緩和周波数のピークポイントが赤血球凝集の開始によるものであることが明らかとなった。また血栓形成過程の一連の現象をモデル化したシミュレーションでは、赤血球凝集が緩和周波数に実験結果と同様の影響を与えることが示された。

研究成果の概要(英文)：Experiments of thrombus formation and thrombus measurement using relaxation frequency have been carried out at shear force field of solid liquid two phase flow of red blood cell and plasma. The relaxation frequency is increased as the time elapses, and is decreased after reaching the peak point. At the peak point, the value of ACT fell below the reference value, and the amount of fibrinogen is sharply decreased. It becomes clear that the peak point of the relaxation frequency matches the start of the RBCs aggregation. Calculation results of the simulation modeling of the thrombus formation process indicated that RBCs aggregation affects the relaxation frequency similarly to the experimental results

研究分野：固液二相流

キーワード：血栓 誘電緩和法 緩和周波数 ACT シミュレーション 赤血球凝集

1. 研究開始当初の背景

現在、人工心臓、人工弁、人工肺、人工血管、ステント、および、人工腎臓などの人工臓器が実用化されつつあり、人類の寿命が劇的に変化しようとしている。しかしながら、その人工臓器内の流路では血栓が生じやすく、その理由は、1)せん断場における赤血球膜崩壊(溶血)による抗凝固因子(一酸化窒素)の無機能化と、2)血流のよどみを起因とする凝固因子の発現に大別される。人工臓器設計開発においては、2)の原因を最小限にするべく流路設計がなされているものの、1)については、*insitu* 検出の難しさ等から、血栓検出法とシミュレーション法の確立がなされていない。従来の血栓検出法については超音波ドップラ法が一般的であるが、凝固した赤血球と赤血球単体との音響強度はほぼ同じで、mm オーダの血栓検出は可能であるが、「微小」血栓検出までは至っていない。一方、従来の血栓シミュレーションでは、“よどみ”の評価が主流であり、溶血性の血栓形成評価はない。すなわち、人工臓器が実用化されつつあるが血栓が生じやすく、「いつ」「どこで」「どれだけ(大きさと量)」の微小血栓検出と、「なぜ」の血栓シミュレーションとの融合技術が求められている。これにより、人工臓器の微小血栓を早期に検出し原因探索できる融合システムの実用化可能性を見出す。本研究成果により、これまで経験に頼る人工臓器設計に革新的な進歩をもたらすものと思われる。

2. 研究の目的

そこで本研究は、誘電緩和法において、微小血栓形成時の緩和周波数を求め、その周波数を用いて微弱な交流電圧を血流に印加し、血栓形成時の電気特性から、微小血栓検出が可能なオンライン検出法を確立する。血栓形成原因の力学的な検討を行い、実験とシミュレーション結果を精査し、人工臓器設計のひとつの指針をまとめることを目的とする。

3. 研究の方法

せん断場での血栓形成過程における血液の電気特性の変化を調べるために、体外循環装置を模擬した血液回路を作成し、血栓形成の実験を行った。これにより、正常な血液と血栓の電気特性の違いを明らかにし、血栓検出の可能性を見出す。特に電気特性として図1に示す血液の Cole-Cole プロットの緩和周波数に着目して解析を行った。

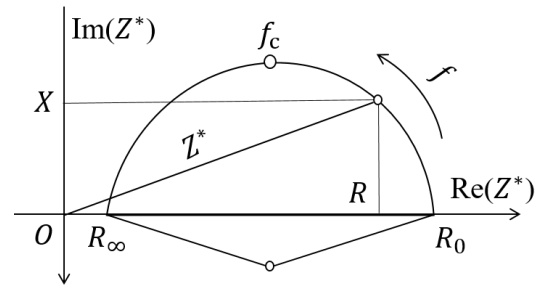


図1 血液の Cole-Cole プロット

Z^* :インピーダンス	[Ω]
R :抵抗値	[Ω]
X :リアクタンス	[Ω]
f :交流周波数	[Hz]
f_c :緩和周波数	[Hz]
R_0 :周波数が 0 のときの抵抗値	[Ω]
R_∞ :周波数が無限大のときの抵抗値	[Ω]

(1) 実験

図2に示すように恒温槽で 37 に保たれた流路を 900mL のブタ血液で満たし、ポンプ出力 50 (流量 2.16L/min) で約 10 分血液を循環させ、赤血球の沈降や偏りを取り除いた。CaCl₂ 溶液 120mL の添加直後に計測を開始した。インピーダンスのほかに、ヘマトクリット Hct、ACT を計測した。ACT (Activated Clotting Time: 活性化全血凝固時間) は異物 (本実験ではガラス粒) が全血に接触してからの外因系による凝固時間のことであり、血液の固まりやすさを表している。基本的には ACT の値だけ計測に時間がかかる。例えば ACT が 200 の場合は計測に 200 秒程度の時間を要する。購入した血液には抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムが添加されているため、ACT は非常に大きく計測できない。

インピーダンス測定前にケーブル長 1m において、OPEN 補正、SHORT 補正を行った。測定周波数は 1kHz から 5MHz の範囲で線形的にとった 201 点であり、印加交流電流は 1.0mA、実験 B では 0.1mA である。計測された 201 点のインピーダンスから、その時間の緩和周波数を求めた。

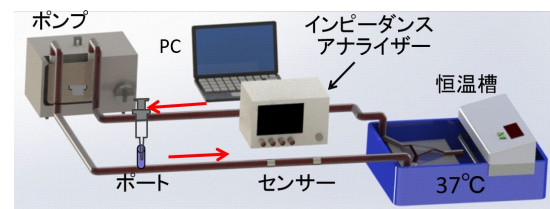


図2 実験装置

(2) シミュレーション

花井の式を用いて、図3に示すような血漿タンパクの変化に伴う血漿の複素誘電率の

増加と血栓形成に伴う赤血球凝集の2つのモデルを計算し、緩和周波数の変化を求めた。結果は図4に示される通りであり、血漿誘電率の増加に伴って緩和周波数は増加し、赤血球の凝集によって緩和周波数は減少した。

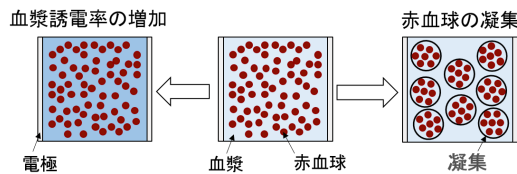


図3 血漿変化と赤血球凝集のモデル

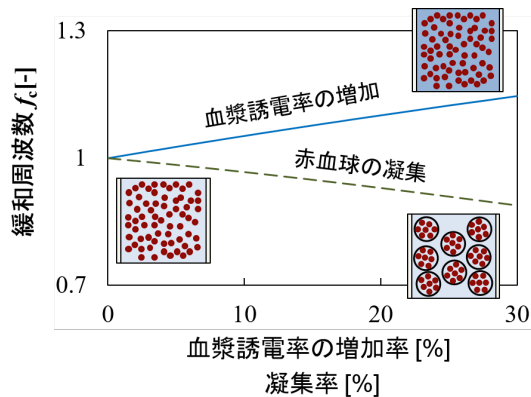


図4 血液状態による緩和周波数の変化

4. 研究成果

図5は血栓形成過程の Cole-Cole プロットを示したものであり、図6は血栓形成過程の時間変化を示したものである。これらの図から、ACTから推測される血液の凝固時間(約85分のとき)と緩和周波数がピークをもつ時間が一致している。すなわち、緩和周波数のピークは血液の凝固の開始を表していることがわかる。また、シミュレーションの結果からまず血漿タンパクの変化が緩和周波数の増加に寄与し、続く血液の凝固が緩和周波数の減少に寄与することで緩和周波数にピークが現れたと推測される。このことは、緩和周波数を時間的に連続的に監視し続けて増減のパターンを見ることで、血栓検出やその予測ができる可能性を示している。

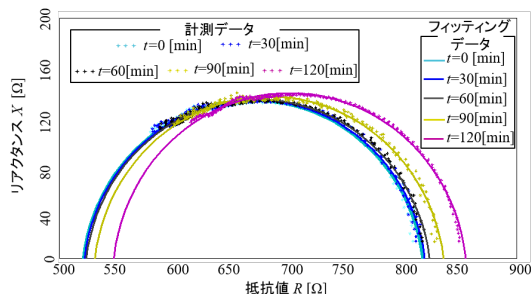


図5 血栓形成過程の Cole-Cole プロット

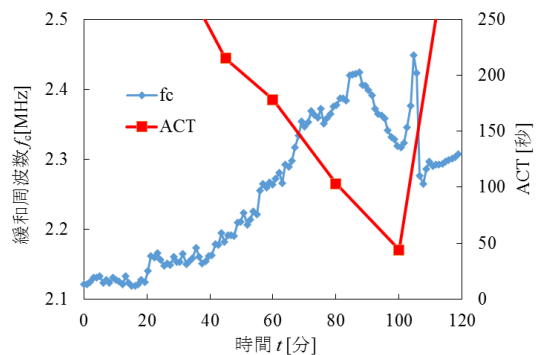


図6 血栓形成過程の緩和周波数

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計3件)

A.Sapkota, T.Fuse, M.Seki, O.Maruyama, M.Sugawara, and M.Takei, Application of electrical resistance tomography for thrombus visualization in blood, *Flow Measurement and Instrumentation*, [DOI:10.1016/j.flowmeasinst.2015.06.023] (2015) (査読有)

Y.Asakura, A.Sapkota, O.Maruyama, R.Kosaka, T.Yamane, M.Takei, Relative permittivity measurement during the thrombus formation process using the dielectric relaxation method for various hematocrit values, *Journal of Artificial Organs*, [DOI:10.1007/s10047-015-0847-8] (2015) (査読有)

T.Fuse, A.Sapkota, O.Maruyama, R.Kosaka, T.Yamane, M.Takei, Analysis of the influence of volume and red blood cell concentration of a thrombus on the permittivity of blood, *Journal of Biorheology*, Vol.29, pp.15-18, [DOI: 10.17106/jbr.29.15] (2015) (査読有)

(学会発表)(計8件)

Achyut Sapkota, Huu Dung Nguyen, Osamu Maruyama, Masahiro Takei, Blood Coagulation Detection by Analyzing Multifrequency Impedance Data, 2016 IEEE International Conference on Biomedical and Health Informatics, Las Vegas(USA), 2016.2.24

菊地大輔、フンゲン、サブコタアチュタ、丸山修、武居昌宏、体外循環における血栓の電気計測、第5回血流会、2015.11.21、東京大学医学部付属病院(東京)

グエンフン、サブコタアチュタ、菊地大輔、丸山修、武居昌宏、電気計測を用いた体外循環装置における血栓のモニタリング、日本人工臓器学会、東京ドームホテル(東京)、2015.11.20

グエンフン、菊地大輔、サブコタアチュタ、丸山修、山根隆志、武居昌宏、体外循環流路における血液の誘電特性によ

る血栓検出、日本レオロジー討論会、神戸大学(神戸)、2015.9.24

D. N. Huu, A. Sapkota, T. Fuse, M. Sek, O. Maruyama, M. Takei, Cole-Cole Analysis of Thrombosis Visualization Method Using Electrical Impedance Tomography, 7th International Symposium on Process Tomography, 2015.9.2, Dresden(Germany)

Achyut Sapkota, Huu Dung Nguyen, Osamu Maruyama, Masahiro Takei, Online Detection of Thrombosis in Blood by Capacitance Measurement, 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2015 August, Milano(Italy),2015.8.28

Nguyen Huu Dung、Sapkota Achyut、丸山修、武居昌宏、体外循環装置における血栓形成の検出～電気計測とACTの比較検討～、第38回日本バイオレオロジー学会年会、国立情報学研究所(東京)、2015.6.7

関雅俊、グエンフコン、布施拓士、サブコタアチュタ、山根隆志、武居昌宏、電気計測による血栓形成過程 Cole-Cole 解析、第54回日本生体医工学会大会、名古屋国際会議場(愛知)、2015.5.8

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.em.eng.chiba-u.jp/~takei/top.htm>

6. 研究組織

(1)研究代表者

武居 昌宏 (TAKEI, Masahiro)

千葉大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90277385

(2)研究分担者

中村 匡徳 (NAKAMURA, Masanori)

埼玉大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：20448046

丸山 修 (MARUYAMA, Osamu)

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・研究グループ長

研究者番号：30358064