

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870902

研究課題名(和文)インテリジェント人工臓器創成を目指した人工臓器内血流の分光イメージング

研究課題名(英文)Spectral imaging of blood flow in an artificial organ to promote it to an intelligent device

研究代表者

迫田 大輔(SAKOTA, DAISUKE)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・研究員

研究者番号：40588670

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)：従来は血液で満たされている遠心血液ポンプ内の様子を可視化することはできなかったため、血栓形成の原因、起源、凝固時間、飛散による血栓梗塞症リスク評価等、動的な抗血栓性評価は全くできていなかった。これらを可視および近赤外光により世界で初めて可視化することに成功し、循環器デバイスの抗血栓性は、周囲デバイスの抗血栓性と相互に関係していることを証明できた。本研究成果は、臨床における血栓梗塞症の防止、最適な抗凝固療法への指針になると考えられる。また、循環器デバイス開発段階においても、動的かつ定量的な抗血栓性評価法ともなり、この様な高リスクの治療機器実用化のために不可欠な技術となっていくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Thrombus formation during mechanical circulatory support is one of the primary problem. We developed a hyperspectral imaging (HSI) method to visualize the thrombus growth process in a rotary blood pump. A hydrodynamically levitated centrifugal blood pump developed by our laboratory was used. The bottom surface of the pump was illuminated with white light pulsed at the same frequency as the pump rotation. Using stroboscopic HSI and an image construction algorithm, dynamic spectral imaging within the rotating pump was achieved. In vitro thrombogenic testing and animal experiment using swine of extracorporeal circulation was conducted to evaluate the developed imaging system. Both results showed successful imaging of the thrombogenic process in the pump. The non-invasive and real-time imaging technique of the thrombus formation would provide valuable information towards understanding the mechanism of thrombogenic process and optimal anticoagulation management.

研究分野：人工臓器工学

キーワード：血液 血栓 ハイパースペクトラルイメージング 人工心臓 体外補助循環

### 1. 研究開始当初の背景

平成24年における厚労省人口動態統計では、心疾患は日本人死因の第2位であり、透析患者数は30万人を超え、人工心臓、人工肺、人工腎臓（血液透析）等の人工臓器の必要性は今後も高まることが予想される。しかしながらこれらを用いる医療は、あらゆる医療の中で特に侵襲性が高く、患者に対する負担が大きい医療行為である。次世代の人工臓器のテーマは、侵襲性の高い医療機器でありながら、「安全性を保證できる人工臓器」とであると考えている。これを実現するために、生体や血液にとって非侵襲な可視・近赤外光を用いた血液の光モニタリング技術の開発に取り組んできた。現在の人工臓器は、臓器としての役割（循環、酸素化、血液浄化）を果たすのみであったが、それだけでなく患者の状態（出血、呼吸、老廃物量）及び人工臓器自身の状態（血流分布、血栓形成）を常時把握することができる人工臓器システムを確立したいと考えている。

### 2. 研究の目的

(1) 遠心血液ポンプ及び人工肺等を用いて体外により心配補助を行い、生体心肺機能の補助及び回復を図る体外補助循環において、可視・近赤外光による非侵襲イメージングによる補助循環回路内血流の観測および血栓形成の可視化システムを確立する。この結果に基づき、血液凝固に伴う血液光学特性変化のメカニズム解明を行う。

(2) 大型動物を用いたが体外補助循環の前臨床試験を用いて、開発した可視化システムの実用性を評価する。また、体外補助循環用遠心血液ポンプの抗血栓性について考察する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 動圧浮上遠心血液ポンプの Hyperspectral imaging (HSI)

イメージングの対象として、研究代表者所属研究グループで開発中の動圧浮上遠心血液ポンプを使用した。図1に示す様に、ポンプ回転数と同周波数のキセノンパルス光源を照射し、ストロボ効果によりインペラ静止像を得た。光は図2に示すポンプの下面隙間(72 $\mu$ m血液層)を通過して、厚さ4.9mmのインペラ内流路の血液層に達し、散乱した。ポンプからの後方散乱光をHSIカメラで撮影した。HSIは取り込んだ光を回折格子により分光し、各波長成分の画像を取得できるイメージング法である。ヘモグロビンによる吸光度が急激に減衰する608~752nmの範囲で、4nm間隔で画像を取得した。取得した画像を図3に示す。インペラ上に記した位相マーカーを基に、各波長像についてインペラ領域をアフィン変換により画像回転処理を行い、全ての波長像の位相を一致させた後、608nmから752nmにかけてRGB成分を付加し画像を重ね合わせ

てスペクトル画像を作成した。

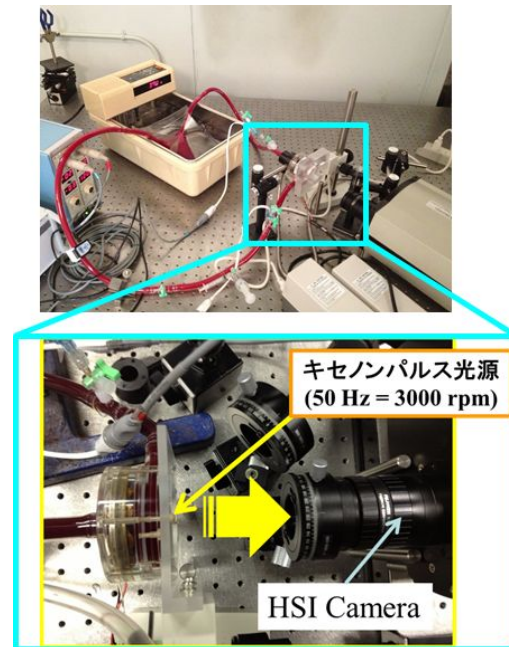


図1：撮影の様子

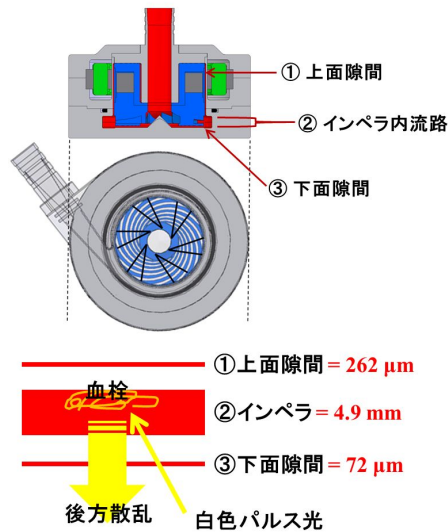


図2：動圧浮上遠心血液ポンプ

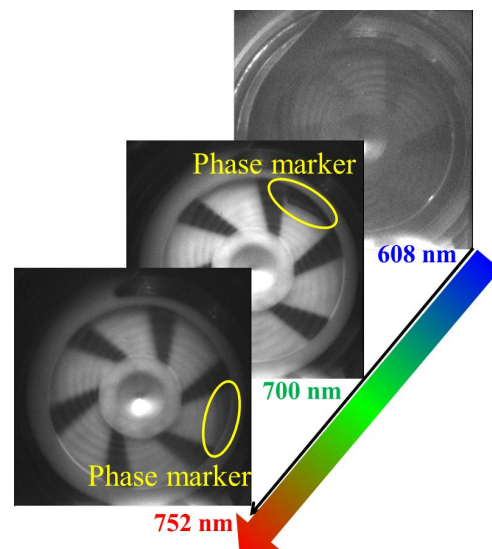


図3：HSIで得た各波長画像

開発したイメージングシステムの妥当性を評価するため、図 1 に示す様に in vitro において模擬循環回路を構成し、動圧浮上遠心血液ポンプを 3000rpm、1L/min でヘパリン抗凝固ブタ血液を循環させた。図 2 に示す様に撮影をしながら、硫酸プロタミンを回路に注入してヘパリンを中和した。血液ポンプ内に血栓が形成され、ポンプ流量が 0.8L/min を下回ったとき、生理食塩水をポンプに流し実験を終了し、ポンプ内血栓を確認した。

## (2) 体外補助循環大型動物実験における動圧浮上遠心血液ポンプ内血栓の動的イメージング

図 4 に示す体重 43kg の SPF ブタを用いた体外補助循環大型動物実験を行った。本実験は、東京医科歯科大学および産業技術総合研究所の動物実験倫理委員会審査にて承認を得て行った。ポンプ駆動条件は in vitro における実験と同様であった。術中はヘパリンで活性凝固時間 ACT を 200sec 以上とし、ポンプ循環開始から硫酸プロタミンによりヘパリン抗凝固をリバースした。循環開始からの ACT は  $83 \pm 11$ sec であった。図 1 及び図 2 と同様にイメージングを行った。

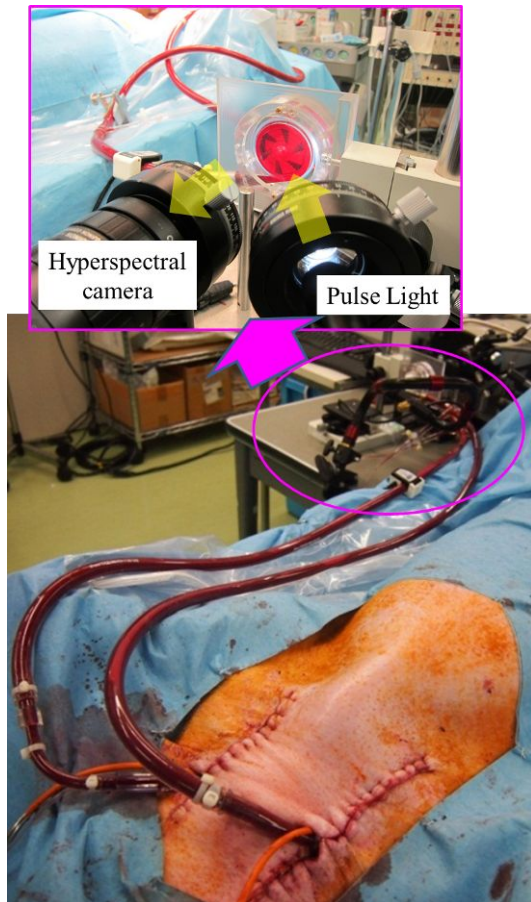


図 4：体外補助循環大型動物実験

## 4. 研究成果

(1) 図 5 に in vitro 血栓試験を驗における HSI 結果を示す。実験開始から 124 分後に、インペラ中央部から低輝度領域が出現し、それが

インペラ径方向へ向かって成長していく様子を撮影した。この低輝度領域形状と実験後のポンプ内の血栓形状が一致していた。図 5 に示すスペクトルの変化は、血液ヘマトクリット低下に伴う変化に酷似していた。これより血栓形成域における赤血球密度が低下していることが示唆された。

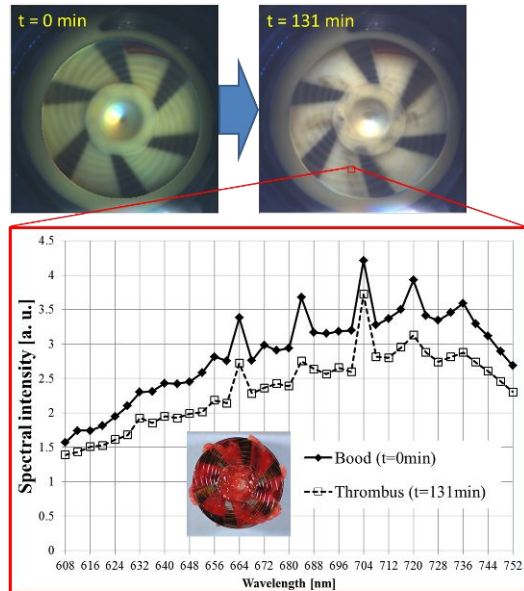


図 5：in vitro 血栓試験における HSI 結果

生体内における血栓には、主に動脈部で形成される白色血栓と、静脈部で形成される赤色血栓があるが、これは血流によって血栓に取り込まれる赤血球量が異なることを意味している。実験後、インペラに形成された血栓を回収し、内部ヘモグロビン濃度を測定を行った。その結果を図 6 に示す。血栓に含まれるヘモグロビン濃度は全ヘモグロビン濃度より優位に低値であった。したがって、血栓のイメージングは血液凝固域のヘモグロビン濃度変化を検出することにあることがわかった。

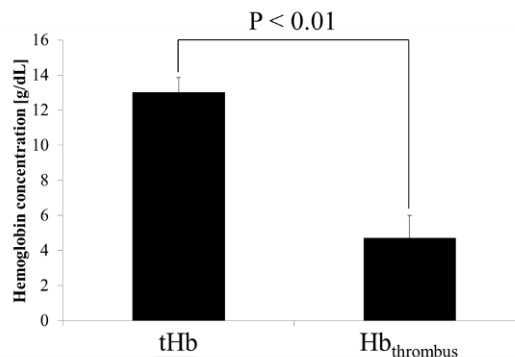


図 6：全ヘモグロビン濃度(tHb)と血栓内ヘモグロビン濃度(Hb<sub>thrombus</sub>)の比較 (N=3)

本研究により、図 7 に示す様に「光による血栓検出とは血栓周囲の赤血球のふるまい



を捉えることにある」と結論付けられた。補助循環回路内は高せん断流場であるため、フィブリンが生成されたとき、フィブリンは赤血球と取り込もうとするが、血流によって一部の赤血球が離脱することができるため、結果として周囲と血栓域で赤血球密度差が生じ、これをイメージングすることで血栓形成の可視化が可能であることがわかった。

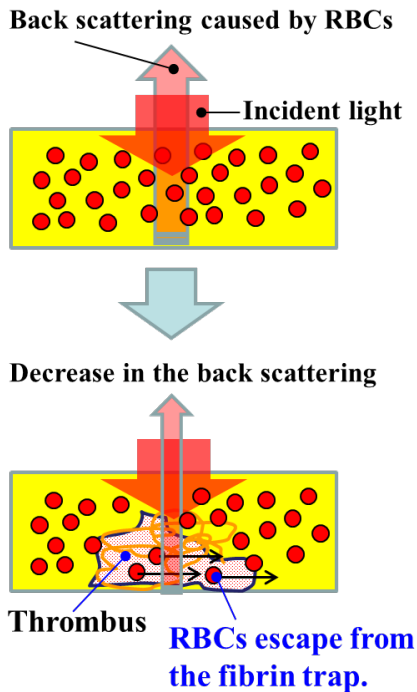


図 7：光による血栓検出の原理

(2) 図 8 に体外補助循環大型動物実験における HSI 結果を示す。invitro 血栓試験と同様に、低輝度領域が出現していく様子を撮影することができた。最終的な低輝度領域形状とポンプ内血栓を比較すると良好な一致を得た。Invitro 血栓試験においては、血栓が確認されてから 10 min 程度でインペラを血栓が埋め尽くす速度で成長していったが、動物実験における血栓の成長速度は 2~3 時間をかけてもそれほど成長することは無かった。これは血液全体の凝固活性が起こる invitro 血栓試験に対し、大型動物実験においては、生体内の一部の血液が補助循環回路内にて活性し、再び生体内に戻ることで凝固活性が再抑制されるためであると考えられる。この血液凝固過程の違いの理解は、invitro における循環器デバイスの抗血栓性評価法を進展させるために重要な知見となると考えられる。

大型動物実験は計 6 回実施されたが、invitro 血栓試験と比べると、血栓形状や血栓発見時間が一定ではなかった。実験中のポンプ内の様子を詳細に確認すると、図 9 に示す様にポンプ内に血栓が突然出現し、再び消失する様子を撮影することに成功した。これは脱血カニューラに形成された血栓が剥がれ、ポンプに飛来してきたものと考えられた。

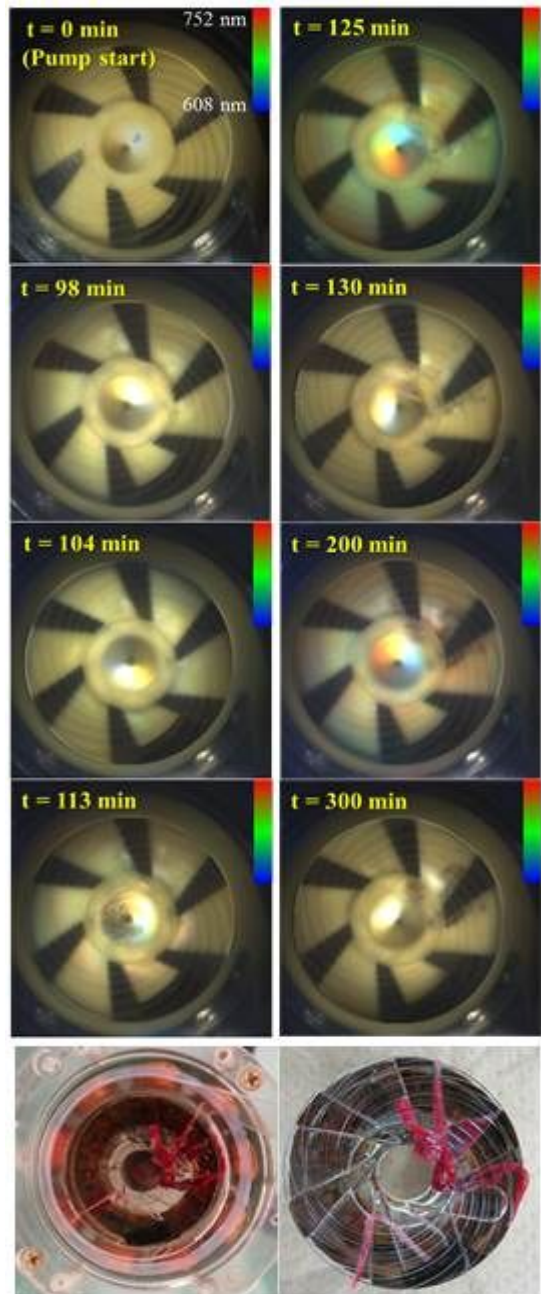


図 8：体外補助循環大型動物実験における HSI

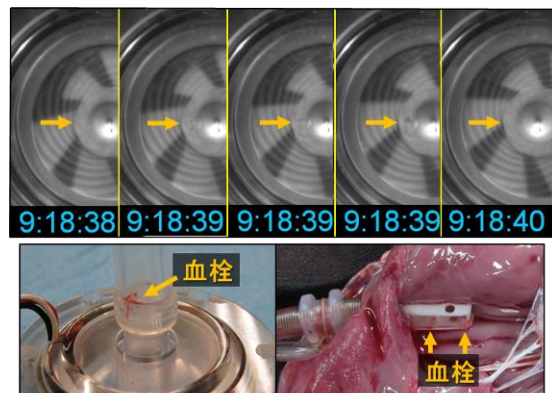


図 9：脱血カニューラ血栓のポンプへの飛来

脱血カニューラからの飛来血栓は、ポンプインペラベーンに付着し、成長した後に再び離脱

していく様子を確認した。即ち本実験におけるポンプ内血栓形成は、ポンプ自身の抗血栓性が不足であったからではなく、脱血カニユラの抗血栓性が影響したものであることがわかった。脱血カニユラからの血栓飛来は偶発的なものであるため、ポンプ内血栓の再現性に一貫性がなかったことが考えられた。

従来は血液で満たされているポンプ内の様子を可視化することはできなかつたため、血栓形成の原因、起源、凝固時間、飛散による血栓梗塞症リスク評価等、動的な抗血栓性評価は全くできていなかった。本研究成果はこれらを視覚的に評価できた世界初の報告であり、循環器デバイスの抗血栓性は、周囲デバイスの抗血栓性と相互に関係していることを証明したものである。光による非侵襲血液凝固モニタリングの発展は、臨床における血栓梗塞症の防止、最適な抗凝固療法への指針になると考えられる。また、循環器デバイス開発段階においても、動的かつ定量的な抗血栓性評価法ともなり、この様な高リスクの治療機器実用化のために不可欠な技術となっていくことが期待される。

#### 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8件)

D. Sakota, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Optical aggregometry of red blood cells associated with the blood-clotting reaction in extracorporeal circulation support. *Journal of Artificial Organs* DOI:10.1007/s10047-016-0895-8, 1-8 (2016).

D. Sakota, E. Nagaoka, O. Maruyama : Hyperspectral imaging of vascular anastomosis associated with blood flow and hemoglobin concentration. *Proc. of IEEE EMBC* 4246-4249 (2015).

D. Sakota, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Development of a photon-cell interactive Monte Carlo simulation for non-invasive measurement of blood glucose level by Raman spectroscopy. *Proc. of IEEE EMBC* 6409-6412 (2015).

D. Sakota, T. Murashige, R. Kosaka, T. Fujiwara, M. Nishida, O. Maruyama : Real-time observation of thrombus growth process in an impeller of a hydrodynamically levitated centrifugal blood pump by near-infrared hyperspectral imaging. *Artificial Organs* 38(8):710-714 (2015).

D. Sakota, T. Murashige, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Feasibility of

the optical imaging of thrombus formation in a rotary blood pump by near-infrared light. *Artificial Organs* 38(9):733-740 (2014).

M. Nishida, K. Nakayama, D. Sakota, R. Kosaka, O. Maruyama : Effect of impeller geometry on lift-off characteristics and rotational attitude in a monopivot centrifugal blood pump. *Artificial Organs* 40(6): E89-E101 (2016).

T. Murashige, R. Kosaka, D. Sakota, M. Nishida, Y. Kawaguchi, T. Yamane, O. Maruyama : Evaluation of a spiral groove geometry for improvement of hemolysis level in a hydrodynamically levitated centrifugal blood pump. *Artificial Organs* 39(8):710-714 (2015).

T. Murashige, R. Kosaka, D. Sakota, M. Nishida, Y. Kawaguchi, T. Yamane, O. Maruyama : Evaluation of erythrocyte flow at a bearing gap in a hydrodynamically levitated centrifugal blood pump. *Proc. of IEEE EMBC*, 270-273, (2015).

[学会発表](計17件)

田原禎生、迫田大輔、藤原立樹、大内克洋、荒井裕国、丸山修：動圧浮上遠心血液ポンプ内血栓の動的挙動イメージング法の開発、第44回人工心臓と補助循環懇話会学術集会、2016/03/04-05、松島大観荘。

迫田大輔：体外循環における非採血式血液凝固・生化学検査を実現する血液内近赤外光散乱モデルの開発、第53回日本人工臓器学会、2015/11/19-21、東京ドームホテル。

D. Sakota, T. Fujiwara, K. Ouchi, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Investigation of optical changes in blood associated with thrombogenic process. 23<sup>rd</sup> Annual Congress of the International Society for Rotary Blood Pumps, 2016/09/27-29, Hotel Excelsior, Dubrovnik.

T. Fujiwara, D. Sakota, K. Ouchi, T. Murashige, R. Kosaka, M. Nishida, S. Endo, E. Nagaoka, K. Oi, T. Mizuno, O. Maruyama, H. Arai : The real-time optical monitoring of thrombus formation inside the blood pump during extracorporeal circulation using hyperspectral imaging in acute animal experiments. 23<sup>rd</sup> Annual Congress of the International Society for Rotary Blood Pumps, 2015/09/27-29, Hotel Excelsior, Dubrovnik.

藤原立樹、迫田大輔、大内克洋、遠藤衆、

山野春樹、田原禎生、関晴永、村重智嵩、小阪亮、西田正浩、丸山修、荒井裕国：Hyper-spectral imaging を用いたポンプ内血栓リアルタイムモニタリングシステムの大型動物実験における検証、定常流ポンプ研究会 2015、2015/11/19-19、東京ドームホテル。

迫田大輔、藤原立樹、大内克洋、小阪亮、西田正浩、丸山修：循環器デバイス内血液凝固過程における工学特性変化のメカニズム、LIFE2015、2015/09/07-09、九州産業大学。

D. Sakota, E. Nagaoka, O. Maruyama : Hyperspectral imaging of vascular anastomosis associated with blood flow and hemoglobin concentration. 37<sup>th</sup> Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2015/08/25-29, Milano Conference Center, Milan.

藤原立樹、迫田大輔、大内克洋、遠藤象、村重智嵩、田原禎生、関晴永、小阪亮、丸山修、荒井裕国：Hyper-spectral imaging 法による血液ポンプ内血栓検出装置の大型動物実験における検証、第 37 回日本血栓止血学会術集会、2015/05/21-23、甲府市総合市民会館。

迫田大輔、藤原立樹、大内克洋、田原禎生、村重智嵩、小阪亮、西田正浩、荒井裕国、丸山修：循環器デバイス内リアルタイム血栓形成イメージング法の開発、第 38 回日本バイオレオロジー学会年会、2015/06/06-07、東京学術センター。

D. Sakota, T. Fujiwara, K. Ouchi, T. Murashige, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Optical imaging method of thrombus formation in mechanical circulatory supports. 15<sup>th</sup> International Congress of Biorheology(招待講演), 2015/05/24-28, Korea University, Seoul.

迫田大輔：循環器デバイス使用下における血液の光計測、第三回医用アクチュエーション研究会(招待講演)、2015/03/04-04、産総研臨海副都心センター。

迫田大輔、小阪亮、西田正浩、丸山修：体外循環における赤血球凝集能モニタリング法の開発と血液凝固反応モニタリングへの応用、第 43 回人工心臓と補助循環懇話会学術集会、2015/02/20-21、熱海後楽園ホテル、熱海。

迫田大輔、村重智嵩、小阪亮、西田正浩、丸山修：In vitro 抗血栓性試験における赤血球凝集能のオンライン光モニタリング、第 52 回日本人工臓器学会、2014/10/17-19、京王プラザホテル札幌、札幌。

迫田大輔、村重智嵩、小阪亮、西田正浩、丸山修：定常流ポンプ内血液の光診断技

術の開発、定常流ポンプ研究会 2014、2014/10/17-17、京王プラザホテル札幌、札幌。

D. Sakota, T. Murashige, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Hyperspectral imaging of thrombus growth process in a hydrodynamically levitated centrifugal blood pump. 22<sup>th</sup> annual congress of the ISRBP, 2014/09/25-26, Hotel Nikko, San Francisco.

D. Sakota, R. Kosaka, M. Nishida, O. Maruyama : Optical continuous monitoring erythrocyte aggregability associated with the blood-clotting reaction. ASAIO 60<sup>th</sup> annual conference, 2014/06/18-21, Washington Hilton Hotel, Washington, D.C.

迫田大輔、村重智嵩、小阪亮、西田正浩、丸山修：連続流血液ポンプ内血栓の光イメージング、第 37 回日本バイオレオロジー学会年会、2014/06/05-06、大宮ソニックスシティ、大宮。

[図書](計 0 件)

[産業財産権]  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

[学術表彰]

バリアフリーシステム開発財団奨励賞  
[学会発表]

第 31 回ライフサポート学会 若手プレゼンテーション賞 [学会発表]

第 38 回日本バイオレオロジー学会年会 学術奨励賞 [学会発表]

第 43 回人工心臓と補助循環懇話会学術集会ポスター賞, [学会発表]

[ホームページ]

[https://unit.aist.go.jp/hri/group/2015\\_ao-4/](https://unit.aist.go.jp/hri/group/2015_ao-4/)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

迫田 大輔 (SAKOTA, Daisuke)

国立研究開発法人 産業技術総合研究所・健康工学研究部門・研究員

研究者番号：40588670