

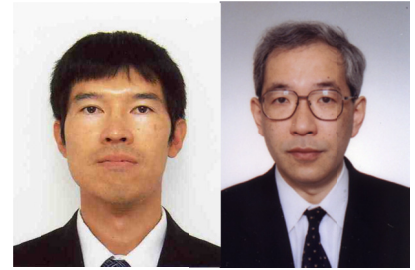
赤血球凝集度の超音波計測に関する研究

長谷川英之

金井 浩

医工学研究科 医工学専攻
計測・診断医工学講座 准教授
工学研究科 電子工学専攻
電子制御工学講座 准教授
E-mail: hasegawa@us.ecei.tohoku.ac.jp

工学研究科 電子工学専攻
電子制御工学講座 教授
医工学研究科 医工学専攻
計測・診断医工学講座 教授
E-mail: hkanai@ecei.tohoku.ac.jp



1. はじめに

医療診断用超音波は非侵襲的で患者に与える負担が少なく、初期患者の経時的変化を見る反復診断が可能であるため、臨床の場において様々な器官に適用されている。血管に関しては、血管壁の形状や動き、弾性率の評価に超音波が広く活用されており、超音波画像による動脈硬化の診断等が行われている[1, 2]。

一方、血液性状の診断に超音波は十分に活用されていない。これは、血管の動脈硬化の診断に使用されている超音波の波長(数十 μm)が、血液内の血球成分(数 μm)に比べて大きいことや、血球と血漿との音響インピーダンスの差が小さいことから、血球からの超音波散乱信号の振幅が小さく、Bモード断層像を用いた診断、評価が困難なためである。しかし、血液の性状の変化は、血管壁の形態的变化と共に動脈硬化や血栓症等の循環器疾患の早期発見につながる有用な指標の一つである[3]。また、血管壁の形態的变化は血液の粘性や流速等の血液の性状に強く影響を受けるため[4]、血液の性状の評価は循環器疾患の極早期段階における診断に有用であると考えられる。

最近では、わが国では稀な疾患として考えられてきた肺動脈血栓塞栓症が、エコノミークラス症候群として広く知られ始め、その塞栓源として下肢深部静脈血栓も注目を集めている[5]。エコノミークラス症候群とは、長時間同じ姿勢(座位)でいることによる血流停滞のため深部静脈に血栓が生じ、立ち上がる際に血栓が遊離し、肺動脈に詰まり肺動脈血栓塞栓症を引き起こすものである。そのため、血液の性状の評価は肺動脈血栓塞栓症の早期発見につながる重要な要素となっている。

血液の性状の評価に関して、血液中の血球成分の大部分を占める赤血球の凝集度は血液の粘性を決定する要素の一つであり、血液のレオロジー

に重要な役割を果たす指標として注目されている[3, 6]。

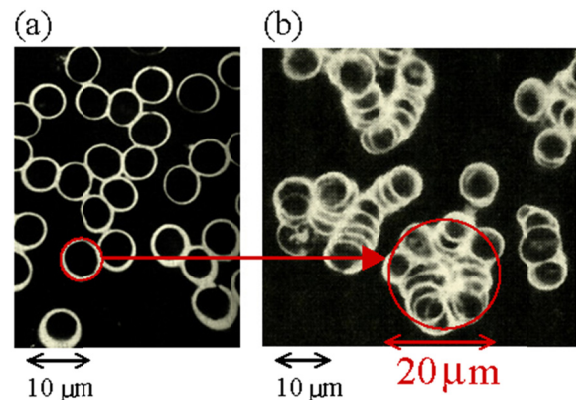


図 1. Microscopic images of red blood cells (RBCs) [7]. (a) Normal RBCs. (b) Aggregated RBCs.

図 1 に正常な赤血球と凝集した赤血球の顕微鏡像を示す[7]。正常な赤血球は、外膜に負の電荷を帯びているため赤血球同士の静電気力により、隣り合うことはあっても反発して接着することはない。しかし、血液中に糖や飽和脂肪酸、タンパク質といった高分子物質が含まれると、それらが赤血球に付着し静電気力を弱めるため、赤血球連鎖や赤血球凝集が形成される[4]。

赤血球は酸素や栄養素を保持し、体中の各器官にそれらを運搬する役割を担っているため[8, 9]、赤血球凝集の生成により酸素や栄養素の運搬能が低下する[10]。さらに、赤血球凝集は血液の粘性との強い関係性が報告されており[3]、赤血球凝集の形成に伴い血液の粘度が上昇する[4]。そのため、過剰な赤血球凝集は、各器官に運搬されない糖や脂質が慢性的に血液中存在する状況を引き起こすことから、糖尿病や脂質異常症といった疾患につながる要因となる[11, 12]。さらに、過剰な赤血球凝集は、血管壁に与えるずり応力を低下させ、血管壁の内皮障害や平滑筋の形質変化を引き起こすことから、血栓症や動脈硬化といった疾患にも

つながる要因となるため[13, 14], 赤血球凝集度の評価は重要な課題となっている[15].

健常者の血液と糖尿病及び脂質異常症の疾患をもつ患者の血液を使用して, 一定の流速下での *in vitro* 計測より, 赤血球凝集が発生する時間や生成された赤血球凝集塊の大きさに違いが生じることが報告されている[16]. 本研究では, *in vivo* 計測時に上腕を駆血することにより, 血流速度を低下させ, 赤血球同士の接着を防ぐずり応力を低下させている. そのような, 赤血球凝集が発生しやすい状況で計測を行い, 赤血球凝集が発生するまでの時間や生成された赤血球凝集塊の大きさの検討を行った. 図 2 に, 赤血球凝集が発生する機序及び赤血球凝集と循環器疾患との関係をチャート図で示す.

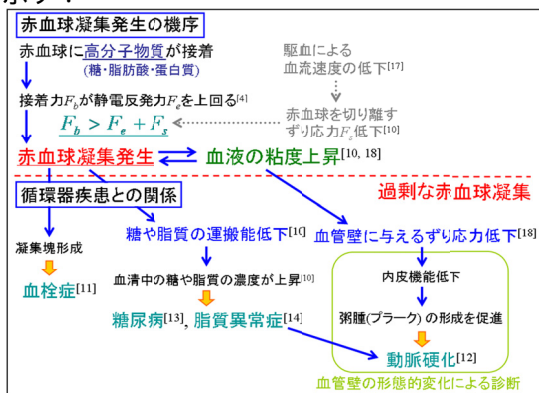


図 2. Mechanism of formation of red blood cell (RBC) aggregation and relationship between RBC aggregation and circulatory diseases.

超音波による赤血球凝集の計測として, 超音波像中の血管内に強い輝度を示す部分が観測されることが報告されている. これらはもやもやエコーと呼ばれ, 赤血球凝集体による散乱との関係性が指摘されている[19]. 循環中の赤血球は存在場所毎の赤血球密度, 流速等の環境により刻々赤血球凝集度の平衡状態を変えているものと推測されており[19], 正常な血管でも指圧による血流の一時的な停滞や摂食等の影響によって, 超音波像中の血管内の輝度の変化が観測されている[19].

Shung らは, 赤血球懸濁液を用いた模擬実験において流速を変化させることにより, 内腔中央部に高輝度部位が発生することに着目した[20]. また, *in vivo* 計測において心周期中における血液からのエコーの輝度の変化を観測することで, 赤血球凝集の形成について検討している[21, 22].

Lizzi らは, 様々な生体組織を用いた *in vivo* 計測により, 後方散乱された信号のスペクトル解析

を行った[23]. また, 後方散乱された信号の周波数依存性が散乱体サイズによって変化する点に着目し, スペクトルの正規化による散乱体サイズの推定について検討を行った[24].

Cloutier らは, シミュレーションおよび *in vitro* 計測において赤血球凝集とずり速度, ヘマトクリット値の関係について調査を行った[25, 26]. また, *in vivo* 計測においてパッキングファクターを用いて, 対象物の散乱体サイズ, 減衰特性, 後方散乱係数の推定, 評価を行っている[27].

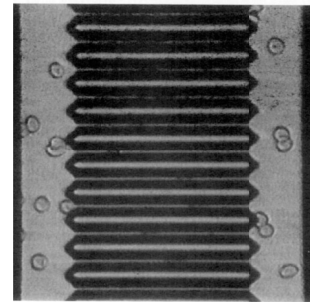


図 3. MC-Fan method [28].

さらに, 超音波以外の血液の性状に関する計測方法としては, 図 3 に示す MC-FAN 法[28] がある. これは, 採血を行った血液がシリコンチップで形成された擬似毛細血管を流れる時間や様子を観測する方法である. しかし, 採血を行った血液を計測しているため侵襲的であるとともに, 計測結果が採血を行う際に使用した注射器の影響や血液の凝固を防ぐために投与した抗凝固剤の影響を受けている可能性が考えられる[17].

本研究では, 非侵襲な計測が可能である超音波により, 赤血球凝集度の定量的評価方法の検討を行う. また, 実際に体内を流れる血液の赤血球凝集度の評価を目指し, 模擬実験と *in vivo* 計測の結果より, 凝集度評価の可能性を示す. 齋藤らは, 模擬実験および *in vivo* 計測において, 正規化を行ったパワースペクトルの傾きを推定することによる赤血球凝集度の評価方法を検討した[29]. 本論文では, 信号に含まれるランダムノイズの影響を低減すると共に, 計測信号の SN 比を考慮した赤血球凝集度の評価方法についての検討を行う [30].

2. 原理

2.1 赤血球からの超音波後方散乱特性

赤血球は長径でおよそ $8 \mu\text{m}$ と数十 MHz 超音波の波長(数十 μm) と比較して十分小さい散乱体で

ある．さらに，赤血球と血液中の血漿成分との音響インピーダンスの差が小さいため，血液からの受信超音波RF信号の振幅は非常に小さく，Bモード断層像を用いた診断，評価が困難である．そのため，本研究では散乱体の周波数特性に着目し，血球からの超音波RF信号に高速フーリエ変換 (FFT) を適用することで周波数解析を行う．

血液中の赤血球からの超音波散乱波の散乱特性はレイリー散乱に従い，周波数の4乗に比例することが知られている[31]．一方，凝集した赤血球からの超音波散乱波の散乱特性には周波数依存性がない反射成分が含まれる．そのため，周波数依存性に対応するパワースペクトルの傾きは散乱体のサイズが大きくなるに従い減少する[32]．本研究では，凝集の起きていない血液を径の小さい散乱体が無数に存在している状態とし，赤血球凝集の発生に伴い，血液中の散乱体の粒子直径が増大すると仮定している．つまり，散乱体サイズの変化による散乱波の周波数特性の変化により凝集度の評価を行う．

本論文では，球状の散乱体の表面に無限小の点音源が無数位置しているモデルを仮定し，それぞれの点音源より放射される球面波の総和を球の表面積($4\pi a^2$)で割ることにより，散乱波のパワーの理論分布を表す．平面波が散乱体に入射した際の散乱波から得られるパワースペクトル $Q(ka)/4\pi a^2$ は以下の式で表される[33]．

$$\frac{Q(ka)}{4\pi a^2} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{2n+1}{(ka)^2} \sin^2[\delta_n^*(ka)] \quad (1)$$

ここで， $Q(ka)$ は散乱断面積， k は波数， a は散乱体の半径， n は散乱体表面に存在する点音源の数， $\delta_n^*(ka)$ は入射波と散乱波の位相差の微分をそれぞれ表す[33]．

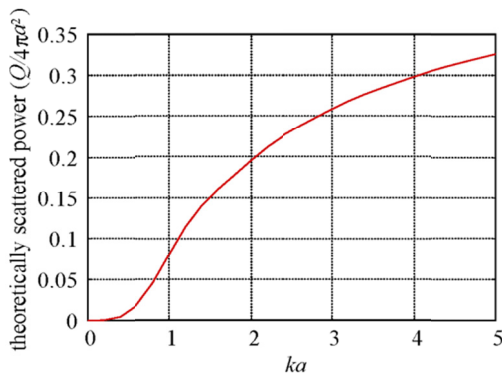


図4. Theoretical power spectrum $Q(ka)/4\pi a^2$.

式(1)より，散乱波から得られるパワースペクトルは ka の関数で与えられる．図4に式(1)より得られた理論散乱パワースペクトル $Q(ka)/4\pi a^2$ を示す．

また， $ka = 2\pi a/\lambda = 2\pi f a/c$ と変形することで，理論散乱パワースペクトル $Q(ka)/4\pi a^2$ は，周波数 f と散乱体の半径 a の関数で与えられる．ここで， c は音速を表す．そのため，散乱体の半径 a を固定することによって，周波数 f と散乱パワー $Q(ka)/4\pi a^2$ の分布を導出することができる．図5(a)に散乱体の直径 $2a$ を固定した際の周波数に対する散乱パワー $Q(ka)/4\pi a^2$ の分布を，図5(b)に散乱体の直径 $2a$ を固定した際の周波数に対する対数散乱パワー $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を示す．

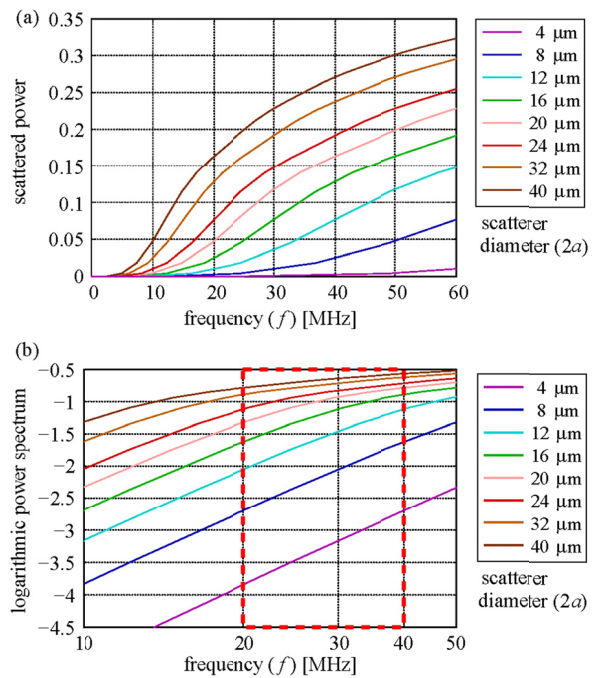


図5. (a) Theoretical power spectrum of scattered ultrasonic echo $Q(ka)/4\pi a^2$. (b) Logarithmic power spectrum $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$.

図5(b)より，散乱体の直径が小さい場合には，周波数に関わらず対数パワースペクトルの傾きの値が4に漸近する．一方，散乱体の粒子直径が大きい場合には，高周波帯になるにつれて傾きの値が0に漸近していることが分かる．これは，散乱体の粒子直径が超音波の波長と同等，もしくはそれ以上の大きさとなった場合，反射体として振舞うためであると考えられる．本論文では，散乱体サイズを推定する際，主に20~40 MHzの周波数帯のパワースペクトルを用いて推定を行う．図5(b)より赤血球単体に対応する4~8 μmの散乱体粒子直

径と図1 (b) に示した赤血球凝集体に対応する20 μm 程度の散乱体粒子直径における対数理論散乱パワーに明確な差異が見られるため、散乱体サイズの推定に適した周波数帯であることが分かる。

さらに、対数周波数における対数散乱パワーの分布より、散乱体の周波数依存性に対応する傾き $\partial(\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\})/\partial(\log_{10}f)$ を算出する。

2.2 散乱体からの受信RF信号のパワースペクトルの正規化

血液中からの受信RF信号のパワースペクトル $P_s(f)$ は散乱体からの散乱特性 $S(f)$ の他に、トランスジューサの送受信に関する周波数特性 $G(f)$ や血液中の赤血球の計測における伝播媒質の減衰特性 $A_1(f)$ が含まれる。そのため、計測した散乱体からのスペクトル $Z_s(f)$ は以下の式(2) で表される。

$$Z_s(f) = S(f) \cdot G(f) \cdot A_1(f) \cdot X(f) \quad (2)$$

ここで、 $X(f)$ は送信波のスペクトルを表す。散乱体からの受信RF信号から散乱特性を正確に抽出するために、伝播経路がほぼ等しく、かつ反射体であると考えられる[34]、血管壁からの反射RF信号のパワースペクトル $P_r(f)$ を用いて正規化を行う。

また、計測した血管壁からの受信RF信号のスペクトル $Z_r(f)$ は散乱体からのスペクトルと同様に以下の式(3) で表される。

$$Z_r(f) = R(f) \cdot G(f) \cdot A_2(f) \cdot X(f) \quad (3)$$

ここで、 $R(f)$ は反射体からの反射特性、 $A_2(f)$ は血管壁の計測における伝播媒質の減衰特性をそれぞれ表す。

本論文では、血液中の赤血球と血管壁に関してそれぞれ独立に計測を行っているため、減衰特性は正確には一致しない。しかし、血管内腔の赤血球における計測と伝播経路がほぼ等しい血管壁からのパワースペクトルを用いて正規化を行っているため、 $A_1(f) \approx A_2(f)$ が成立すると仮定している。

式(2) と式(3)を用いて、以下の式(4) による正規化を行う。

$$\begin{aligned} 10 \log_{10} \frac{P_s(f)}{P_r(f)} &= 10 \log_{10} \frac{|Z_s(f)|^2}{|Z_r(f)|^2} \\ &= 10 \log_{10} \frac{|S(f) \cdot G(f) \cdot A_1(f) \cdot X(f)|^2}{|R(f) \cdot G(f) \cdot A_2(f) \cdot X(f)|^2} \quad (4) \\ &\approx 10 \log_{10} \frac{|S(f)|^2}{|R(f)|^2} \end{aligned}$$

式(4)より、血管壁を用いた正規化によりトランスジューサの送受信に関する周波数特性 $G(f)$ だけでなく、伝播媒質の減衰特性も除去可能であると考えられる。また、導出された正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ は、血管壁の反射特性 $R(f)$ に対する血液中の散乱体の散乱特性 $S(f)$ の比に対応するが、血管壁からの反射特性 $R(f)$ には周波数依存性がないと考えられるため、正規化パワースペクトルは散乱体からの散乱特性 $S(f)$ における周波数依存性を抽出していると考えられる[35]。

2.3 重み関数の導出

本研究では、受信RF信号の周波数特性におけるSN比を考慮するため、重み関数 $w(f_k)$ を以下の式(5) に示す振幅二乗コヒーレンス関数(MSCF) $|\gamma(f_k)|^2$ によって定義している[36]。

$$w(f_k) = |\gamma(f_k)|^2 = \frac{|E_n[Y_n^*(f_k) \cdot Y_{n+1}(f_k)]|^2}{E_n[|Y_n(f_k)|^2] E_n[|Y_{n+1}(f_k)|^2]} \quad (5)$$

ここで、 $Y_n(f_k)$ は血管内腔の赤血球からの散乱波のパワースペクトル、 f_k は離散周波数、 $E_n[\cdot]$ は1000フレームにおける平均操作、 $*$ は複素共役、 n はフレーム番号($n=0, 1, 2, 3, \dots, 999$) をそれぞれ表す。

式(5)より、入力信号 $Y_n(f_k)$ と出力信号 $Y_{n+1}(f_k)$ のパワースペクトルで正規化を行っているため、MSCFは入出力信号間の位相成分の干渉度を評価する関数であることが分かる。

本論文では、送受信間隔200 μs のMモード計測によりデータの取得を行っているため、 n 番目のフレームにおける受信信号が入力、 $(n+1)$ 番目のフレームにおける受信信号が出力にそれぞれ対応する。血管内の赤血球からの受信信号は波形の相関があり、雑音は位相成分の相関がないと考えられる。そのため、MSCFにより重み関数 $w(f_k)$ を定義することにより、受信信号のSN比の周波数特性を評価可能であると考えられる。

2.4 計測対数パワースペクトルと理論対数パワースペクトルの整合による散乱体サイズの推定

本研究では、計測した正規化パワースペクトル $\log_{10}P_s(f)/P_r(f)$ と図5(b) に示した理論式による対数パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ との差分を最小にする理論対数パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を決定することで、散乱体サイズを推定する。計測した正規化パワースペクトル

$\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ と理論式による対数パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ との差の二乗和を以下の式(6)に示す．

$$\alpha(a, b) = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} w^2(f_k) [y(f_k) - \{\hat{y}(f_k, 2a) + b\}]^2 \quad (6)$$

ここで， $y(f_k)$ は計測した正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f_k)/P_r(f_k)\}$ ， $\hat{y}(f_k)$ は理論式より得られた対数パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ ， f_k は離散周波数， $2a$ は散乱体の粒子直径， b は理論パワースペクトルの切片， N はサンプル点の総数をそれぞれ表す．

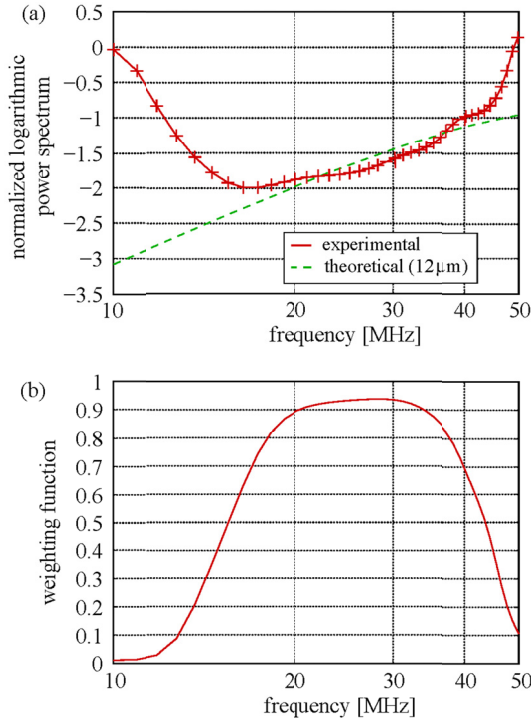


図6. Theoretical power spectrum at $2a = 12 \mu\text{m}$ $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ (dashed line) and measured normalized power spectrum $\log_{10}\{P_s(f_k)/P_r(f_k)\}$ (solid line).

図6(a) は計測した正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f_k)/P_r(f_k)\}$ と散乱体の粒子直径 $2a$ が $12 \mu\text{m}$ の場合の理論パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を，図6(b) は重み関数 $w(f_k)$ をそれぞれ示す．本研究では，計測対象である赤血球からの受信RF信号のSN比を考慮するため，血管内腔の赤血球から得られた受信RF信号より重み関数 $w(f_k)$ を得る．また，式(6)に関して，散乱体の粒子直径 $2a$ と理論パワースペクトルの切片 b が可変であるため，散乱体の粒子直径 $2a$ を固定することより， $\alpha(a, b)$ を最小とする理論パワースペクトルの切片 b を算出することができる．そのため，図6(a)の破線に示すように，全

ての散乱体粒子直径 $2a$ ($a = 2, 3, 4, \dots, 20$) に関して， $\alpha(a, b)$ を最小とする理論パワースペクトルの切片 b を与えることで，計測パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f_k)/P_r(f_k)\}$ と理論パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ との差の二乗和 $\alpha(a, b)$ を最小とする理論パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を導出し，散乱体粒子直径 $2a$ を推定する．図7に散乱体粒子直径 $2a$ を変化させた際の計測パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f_k)/P_r(f_k)\}$ と理論パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ との差の二乗和 $\alpha(a, b)$ をデシベル表示した分布を示す．その際，以下の(7)式より差の二乗和のデシベル値 $\alpha_i(a, b)$ を算出した．

$$\alpha_i(a, b) = 10 \log_{10} \frac{\sum_{f_k=0}^N w^2(f_k) [y(f_k) - \hat{y}(f_k, b)]^2}{\sum_{f_k=0}^N |w(f_k) y(f_k)|^2} \quad (7)$$

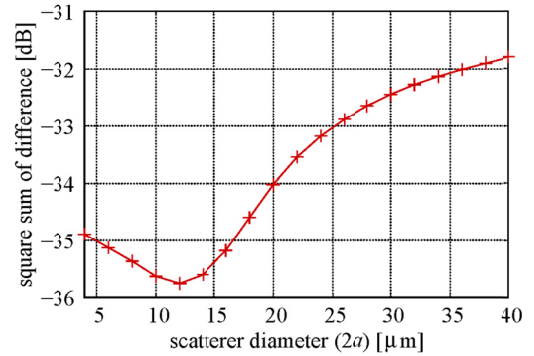


図7. Sum of squared difference $\alpha_i(a, b)$ plotted as a function of scatterer diameter $2a$. In this case, scatterer diameter $2a$ was estimated to be $12 \mu\text{m}$.

3. マイクロスフェアを用いた模擬実験

3.1 実験方法および対象物

Tomey 社製超音波診断装置 UD-1000 (中心周波数: 40 MHz, 波長: 40 μm) の受信超音波出力を 1 GHz で標本化した．周波数特性を求める際にはハニング窓を用い，窓幅は 0.256 μs (200 μm) とした．さらに，周波数分解能を向上させるため 768 点の零点付加を行い，1.024 μs (800 μm) の窓としてフーリエ変換を行った．また，送受信間隔 200 μs の M モード計測によりビーム位置を固定して得られた 1000 本の RF 信号のパワースペクトル(計測時間: 0.2 s) について加算平均を行い，複数の散乱体からの多重反射成分を平均化することによってパワースペクトルに生じるディップの影響の低減を試みた．図 8(a) は水中においてハイドロフォン (FORCE 社製, MHA9-150) を焦点に設定し，計測さ

れた超音波信号を，図 8(b) は計測された超音波 RF 信号のパワースペクトルをそれぞれ示す．

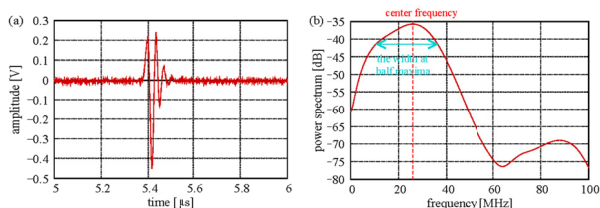


図 8. (a) Ultrasonic signal measured with a hydrophone. (b) Power spectrum of the measured echo signal.

図 8(b) より，水中におけるハイドロフォンから計測された超音波受信信号より得られたパワースペクトルは，おおよそ中心周波数 25 MHz，半振幅 10 ~ 35 MHz で与えられることが分かる．

表 1 に計測を行ったマイクロスフェアの番号と粒子直径，性質，高分子材料をそれぞれ示す．

No.	particle diameter mean \pm SD (μm)	specific gravity	volume fraction (%)	polymer material
(1)	5 \pm 2	1.10	0.0910	copolymer with Cl ₂
(2)	11 \pm 3	1.00	0.1000	copolymer without Cl ₂
(3)	15 \pm 5	1.11	0.0901	copolymer with Cl ₂
(4)	30 \pm 10	1.00	0.1000	copolymer without Cl ₂

表 1. Diameters and materials of microspheres.

径の異なる 4 種類のマイクロスフェアを 1.00 g/l の濃度でそれぞれ水中に混入して計測し，シリコン板からの反射波のパワースペクトル $P_r(f)$ を用いて正規化を行い，周波数特性 $S(f)$ を抽出した．マイクロスフェアの混入量はマイクロスフェアの集積を防ぐため，血液中の赤血球濃度に比べて少ない量とした．このとき，伝播経路にほぼ同一な減衰特性を設定するために，シリコン板の計測の際も，1.00 g/l のマイクロスフェアを混入した水中にシリコン板を設置して計測を行った．また，水中に混入したマイクロスフェアは，手動で攪拌することによって，送受信毎に異なる散乱体からの受信 RF 信号を計測している．

3.2 実験結果

図 9(a) に各マイクロスフェアから得られた RF 信号のパワースペクトル $P_s(f)$ を，図 9(b) に水中に各マイクロスフェアを混入した際のシリコン板からの得られた RF 信号のパワースペクトル $P_r(f)$ をそれぞれ示す．

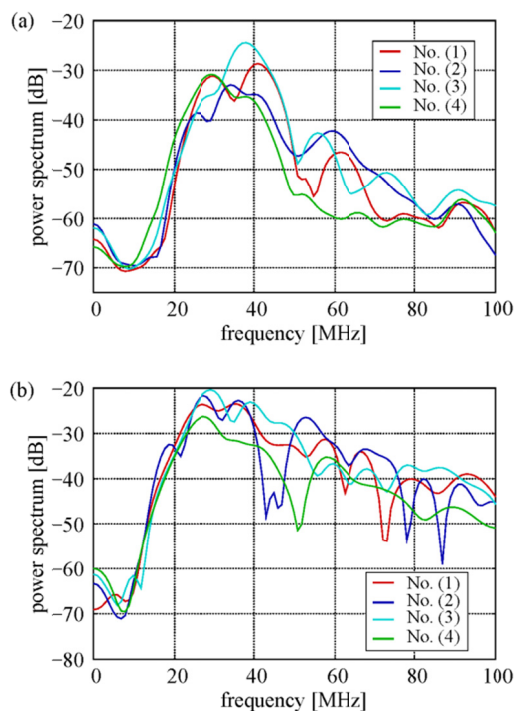


図 9. (a) Power spectra of echoes from the microspheres listed in Table 1. (b) Power spectra of echoes from silicone rubber plate placed in water with the microspheres.

模擬実験に使用したマイクロスフェアは塩素を含む No. (1), No. (3) と塩素を含まない No. (2), No. (4) があり，殻壁の内部に液体の炭化水素が内包されており，温度の上昇に伴い，炭化水素が気化することで熱膨張を発生する微小球である．塩素の有無により，マイクロスフェアが熱膨張する倍率や熱膨張を開始する温度といった物理的特性が異なるため，音響的な特性についても若干異なる可能性がある．さらに，図 9(a) に示すように，各マイクロスフェアから得られた受信 RF 信号のパワースペクトルにおいて，パワースペクトルの大きさが散乱体サイズの大小に依存せず分布しており，原因の一つとして，マイクロスフェアの殻壁に Cl₂ が含まれるかどうかに関係していると考えられる．しかし，本論文では，パワースペクトルの絶対的な大きさではなく，対数分布におけるパワースペクトルの傾きに対応する周波数特性より散乱体サイズを推定しているため，実験への影響は小さいと考えられる．

図 9(b) より，シリコン板から得られた受信 RF 信号のパワースペクトルの分布にディップが強く発生していることが分かる．パワースペクトルの分布にディップが発生する原因は，M モード計測により同一ビームから超音波信号を受信してい

るため、窓幅に含まれる複数の受信波の干渉によるものであると考えられる。シリコン板の計測により得られた受信 RF 信号のパワースペクトルは、窓幅に含まれるシリコンの表面と内部などの特定の位置から得られた受信波より干渉が発生し、シリコン板の受信 RF 信号より得られたパワースペクトルのディップに強く影響を及ぼしていると考えられる。

図 10 に各マイクロスフェアの受信 RF 信号間の MSCF により得られた重み関数 $w(f_k)$ を実線、血液中の赤血球の受信 RF 信号間の MSCF により得られた重み関数 $w(f_k)$ を破線でそれぞれ表す。

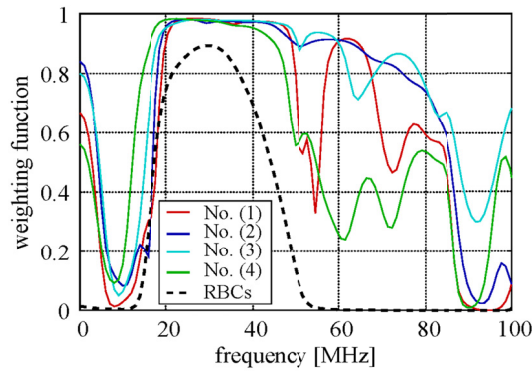


図 10. Weighting functions $\{w(f_k)\}$ (solid lines) obtained by echoes from microspheres and those obtained by echoes from red blood cells.

図 10 より、マイクロスフェアからの受信 RF 信号より得られた重み関数 $w(f_k)$ は血液中の赤血球の受信 RF 信号より得られた重み関数 $w(f_k)$ と比較して、50 ~ 90 MHz の範囲において高い値で分布していることが分かる。これは、血液中の赤血球における弱散乱とは異なり、マイクロスフェアにおける強散乱に由来する散乱強度の違いが一つの原因に挙げられる。つまり、血液中の赤血球から得られた受信信号と比べて、マイクロスフェアにおいて散乱された受信信号は振幅が大きいため、SN 比に対応する重み関数 $w(f_k)$ が高い値で分布している可能性が考えられる。しかし、本研究で使用した超音波パルスは有限の周波数帯域を持つため、正規化に使用できる周波数範囲は制限されるため、マイクロスフェアを用いた模擬実験においては、重み関数が特に高い値で分布している 10 ~ 50 MHz の範囲においてパワースペクトルの正規化を行い、散乱体サイズの推定を行う。

図 11 は正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ と式(6)より算出した差の二乗和 α の最小値を与える散乱体粒子直径 $2a$ の理論パワー

スペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を示す。表 2 に、計測を行ったマイクロスフェアの番号と粒子直径及び 10 回の独立した計測において推定された散乱体サイズと正規化パワースペクトルの傾きの平均値と標準偏差をそれぞれ示す。表 2 より、パワースペクトルのマッチングによる推定法により算出した散乱体粒子直径の平均値は、おおよそ実際の粒子径と同等のサイズに対応していることが分かる。

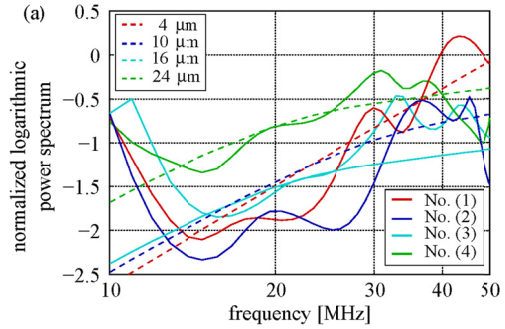


図 11: Normalized power spectra $[\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}]$ (solid lines) and theoretical power spectra $[\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}]$ (dashed lines) which gives the least squared difference α .

No.	particle diameter	estimated scatterer diameter	slope values $[1/\log_{10}f]$
	mean \pm SD (μm)	mean \pm SD (μm)	mean \pm SD
(1)	5 ± 2	7.0 ± 4.0	4.23 ± 1.35
(2)	11 ± 3	9.8 ± 4.6	3.40 ± 1.08
(3)	15 ± 5	16.2 ± 4.3	2.24 ± 0.90
(4)	30 ± 10	28.7 ± 7.6	1.32 ± 0.79

表 2. Estimated diameters of microspheres and slopes of normalized power spectra.

4. *in vivo* 実験

4.1 実験方法

血液は 45%が赤血球、白血球、血小板などの血球成分であり、残り約 55%は液体である血漿成分から構成される。また、血球成分においては、健常者では赤血球が体積率で 96%を占めるため、血液からの超音波受信信号は、赤血球によるものが主成分であると考えられる。本論文では、高周波超音波による伝播媒質の減衰特性を考慮し、皮膚近くに表在する手甲静脈(血管径: 1 mm)について計測を行った。径が大きい血管の血流は速く、ずり速度が大きいため、安静時に赤血球凝集は起こりにくい[37, 38, 18]。そのため、上腕に対して 250 mmHg の圧力でカフによる駆血を行うことにより、

血流を低下，あるいは停止させ，低ずり速度状態において赤血球凝集が発生し易い状態で計測を行った．計測は安静時に 2 分間，駆血を行い 5 分間，駆血開放後さらに 3 分間の計 10 分間行い，20 秒間隔で受信 RF 信号を取得した．図 12 に被験者 A (24 歳健康男性) の手甲静脈の M モード像とフーリエ変換を行う窓幅をそれぞれ示す．(a) は安静時，(b) は駆血時，(c) は駆血開放後である．

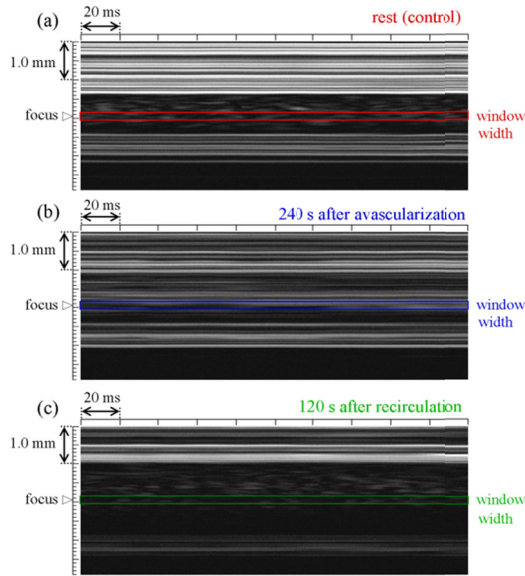


図 12. M-mode images of a dorsum manus of a 24-year-old male (subject A). (a) Rest. (b) At 240 s after the beginning of ischemia. (c) At 120 s after recirculation.

4.2 実験結果

本論文では，血管内腔の赤血球から得られた RF 信号のパワースペクトル $P_s(f)$ の減衰特性を考慮し，静脈を押し付けることで静脈内腔の計測における伝播経路とほぼ同じ経路をもつ血管後壁を焦点位置に設定し，血管後壁からの反射波より得られたパワースペクトル $P_r(f)$ を用いて正規化を行う．

図 13(a) に，静脈を押し付けることで静脈後壁を焦点位置とした際の静脈の M モード像と窓幅を示す．さらに，図 13(b) に手甲静脈の後壁より得られた超音波信号を，図 13(c) に手甲静脈の後壁より得られた反射波のパワースペクトルをそれぞれ示す．その際，手甲静脈後壁の管腔表面からの反射波のみが窓幅に含まれる場合と手甲静脈後壁の外部表面からの反射波も窓幅に含まれ，それらの波により干渉が発生している場合について比較を行った．また，パワースペクトルは同一ビームの異なるフレーム 1000 本の超音波信号により加算平均を行い導出した．

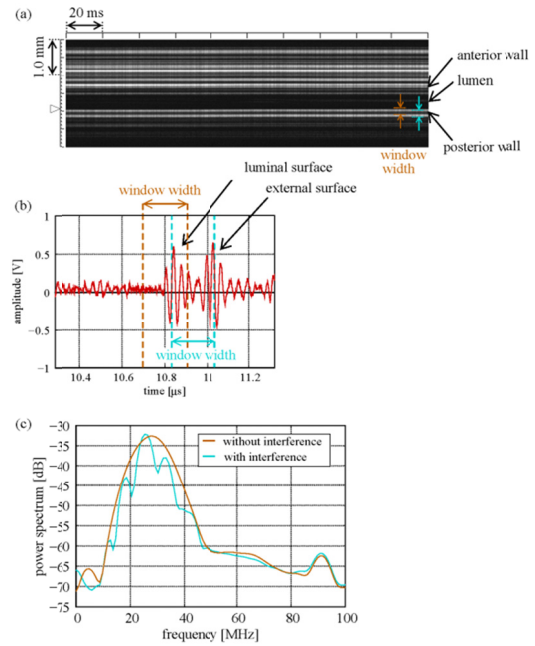


図 13. (a) M-mode image of the dorsum manus of subject A. (b) Ultrasonic RF echo from the posterior wall of the dorsum manus. (c) Power spectrum of the echo from the posterior wall.

本論文では，静脈後壁により反射された超音波信号のパルス幅と窓幅がおおよそ対応するように窓幅を $0.256 \mu\text{s}$ に設定している．しかし，図 13(b) に示すように，窓幅内に手甲静脈後壁の管腔表面と外部表面からの反射波が含まれる場合，それらの波の干渉によりパワースペクトルにディップが発生していることが分かる．そのため，窓幅内に手甲静脈後壁の管腔表面からの反射波のみが含まれるように計測を行い，パワースペクトルに生じるディップの影響を軽減した．

図 14(a) に安静時，駆血時，駆血開放後において血管内腔の赤血球により散乱された超音波信号のパワースペクトルを示す．また，図 14(b) に安静時，駆血時，駆血開放後のそれぞれにおける正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ と差の二乗和 α の最小値を与える散乱体粒子直径 $2a$ の理論パワースペクトル $\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}$ を示す．また，図 15 は被験者 A に対する独立した 3 回の計測における平均散乱体粒子直径と 3 回の計測における最小値と最大値をばらつきの分布としてそれぞれ示す．その際，安静時，駆血時，駆血開放後のそれぞれにおける B モード像を併せて示す．なお，各々の計測は食後 2 時間以上経過後に実施した．

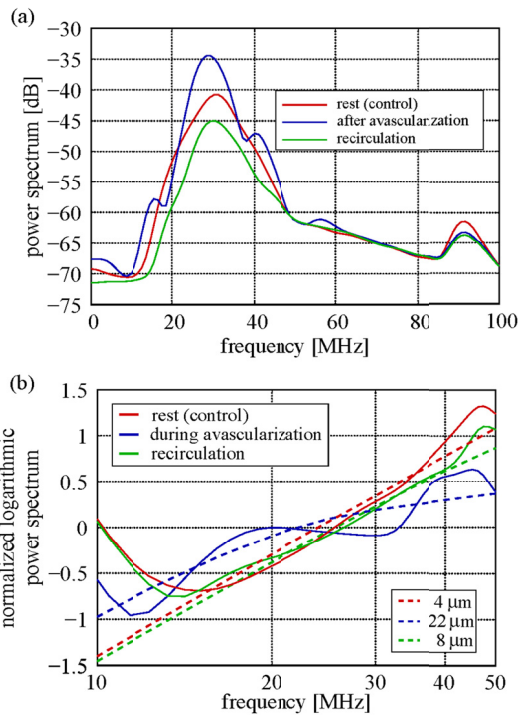


図 14. (a) Power spectra from echoes from red blood cells measured at rest, during avascularization, and after recirculation. (b) Normalized power spectra $[\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}]$ (solid lines) and theoretical power spectra $[\log_{10}\{Q(ka)/4\pi a^2\}]$ (dashed lines) at rest, during avascularization, and after recirculation.

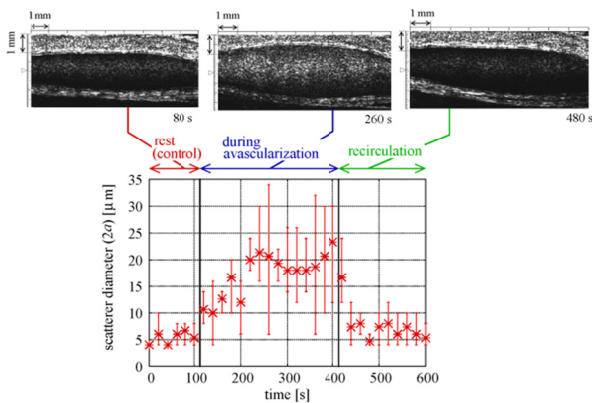


図 15. Mean, maximum, and minimum of the estimated scatterer diameters during the measurement. B-mode images measured at rest, during avascularization, and after recirculation are also shown.

図 14(a) より，駆血時に血管内腔の赤血球により散乱された超音波信号のパワースペクトルにディップが発生している．健常者では，血液中に占める赤血球の容積の割合を表す赤血球ヘマトクリットが 45%程度であり，血液中に赤血球が密に存

在している．そのため，駆血時のパワースペクトルに発生したディップは赤血球の密度や間隔の変化ではなく，駆血に伴う血流の途絶によって発生した赤血球凝集塊からの散乱波の干渉の影響が考えられる．

図 15 より，本手法を用いることで，安静時と駆血開放後における散乱体の平均粒子直径は赤血球単体に対応する 4~8 μm の散乱体と推定された．一方，駆血時における散乱体の粒子直径は赤血球単体よりも大きい 12~22 μm と推定されたため，駆血時は赤血球凝集が発生していると考えられる．

6. まとめ

本研究では，非侵襲かつ定量的な赤血球凝集度の評価を目指し，血球からの超音波散乱波のパワースペクトルを計測し，理論式より得られたパワースペクトルと比較することにより散乱体サイズを推定し，赤血球凝集度を評価する手法について検討を行った．

評価実験として，直径が既知のマイクロスフェアを用いた模擬実験により，正規化パワースペクトルと理論式より得られた対数パワースペクトルを比較し，散乱体サイズの推定を行った．その結果，本手法により得られた散乱体サイズは真値に近い値と推定された．

さらに，ヒト手甲静脈における *in vivo* 計測を行った．安静時に加えて駆血により血流を停滞させた際の散乱体サイズを推定し，その経時変化を計測することによって，駆血の開始に伴い 20 μm 程度の赤血球凝集が発生し，駆血の解放後は赤血球凝集が破壊・流失される様子が観測された．

参考文献

- [1] Tsuzuki K, Hasegawa H, and Kanai H. Threshold setting for likelihood function for elasticity-based tissue classification of arterial walls by evaluating variance in measurement of radial strain. *Jpn J Appl Phys* **47**, 4180-4187, 2008.
- [2] Ikeshita K, Hasegawa H, and Kanai H. Flow-mediated change in viscoelastic property of radial arterial wall measured by 22 MHz ultrasound. *Jpn J Appl Phys* **48**, 07GJ10-1-07GJ10-5, 2009.
- [3] Paeng DG, Chiao RY, and Shung KK. Echogenicity variations from porcine blood I: 'Bright ring' under pulsatile flow. *Ultrasound Med Biol* **30**, 45-55, 2003.
- [4] 岡 小天. レオロジー - 生物レオロジー -. 中央印刷, 東京, 251-256, 1974.
- [5] 伊東 紘一編. 超音波医学最前線. 医歯薬出版株式会社, 東京, 148-153, 2004.

- [6] Huang CC and Wang SH. Characterization of blood properties from coagulating blood of different hematocrits using ultrasonic backscatter and attenuation. *Jpn J Appl Phys* **45**, 7191-7196, 2006.
- [7] 氏家京子訳. 沈黙の血栓. 中央アート出版, 東京, 2000.
- [8] 栗原 毅著. 『血液サラサラ』のすべてがわかる本. 小学館, 東京, 16-19, 2002.
- [9] 渡部準之助. 血液をはかる. 日本規格協会, 東京, 1990.
- [10] 菅原基晃, 前田信治著. 血液のレオロジーと血流. コロナ社, 東京, 52-55, 2003.
- [11] Chabanel A, Horellou MH, Conard J, and Samama MM. Red blood cell aggregability in patients with a history of leg vein thrombosis: Influence of post-thrombotic treatment. *Br J Haematol* **88**, 174-179, 1994.
- [12] Berliner S, Zeltser D, Rotstein R, Fusman R, and Shapira I. A leukocyte and erythrocyte adhesiveness/aggregation test to reveal the presence of smoldering inflammation and risk factors for atherosclerosis. *Med Hypotheses* **57**, 207-209, 1991.
- [13] Schmid-Schönbein H and Volger E. Red-cell aggregation and red-cell deformability in diabetes. *Diabetes* **25**, 897-902, 1976.
- [14] Razavin SM, Atger V, Giral P, Cambillau M, Del-Pino M, and Simon AC. Influence of HDL subfractions on erythrocyte aggregation in hypercholesterolemic men. *Arterioscler Thromb* **14**, 361-366, 1994.
- [15] Nguyen LC, Yu FTH, and Cloutier G. Cyclic changes in blood echogenicity under pulsatile flow are frequency dependent. *Ultrasound Med Biol* **34**, 664-673, 2008.
- [16] Cloutier G, Zimmer A, Yu FTH, and Chiasson JL. Increased shear rate resistance and fastest kinetics of erythrocyte aggregation in diabetes measured with ultrasound. *Diabetes Care* **31**, 1400-1402, 2008.
- [17] 中竹俊彦著. 流れる臓器. 血液の科学, 講談社, 東京, 2009.
- [18] 三輪史朗監修. 赤血球. 医学書院, 東京, 60-69, 1998.
- [19] 菅田安男, 根本喜久郎. 表在静脈内に観測された血液エコーの駆血と摂食による増強. *Jpn J Med Ultrason* **31**, 179-182, 2004.
- [20] Paeng DG, Chiao RY, and Shung KK. Echogenicity variations from porcine blood II: The 'bright ring' under oscillatory flow. *Ultrasound Med Biol* **30**, 815-825, 2004.
- [21] Paeng DG, Nam KH, Choi MJ, and Shung KK. Three-dimensional reconstruction of the 'bright ring' echogenicity from porcine blood upstream in a stenosed tube. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **56**, 880-885, 2009.
- [22] Paeng DG, Nam KH, and Shung KK. Cyclic and radial variation of the echogenicity of blood in human carotid arteries observed by harmonic imaging. *Ultrasound Med Biol* **36**, 1118-1124, 2010.
- [23] Lizzi FL, Astor M, Kalisz A, Liu T, Coleman DJ, Silverman R, Ursea R, and Rondeau M. Ultrasonic spectrum analysis for assays of different scatterer morphologies: Theory and very-high frequency clinical results. *IEEE Ultrason Symp*, 1155-1159, 1996.
- [24] Lizzi FL, Alam SK, Mikaelian S, Lee P, and Feleppa EJ. On the statistics of ultrasonics spectral parameters. *Ultrasound Med Biol*, 1671-1685, 2006.
- [25] Fontaine I, Savery D, and Cloutier G. Simulation of ultrasound backscattering by red cell aggregates: Effect of shear rate and anisotropy. *Biop Soc* **82**, 1696-1710, 2002.
- [26] Yu FTH and Cloutier G. Experimental ultrasound characterization of red blood cell aggregation using the structure factor size estimator. *J Acoust Soc Am* **122**, 645-656, 2007.
- [27] Franceschini E, Yu FTH, Destremes F, and Cloutier G. *In vivo* ultrasound characterization of red blood cell aggregation using the structure factor size and attenuation estimator. *IEEE Ultrason Symp*, 301-304, 2009.
- [28] Kikuchi Y, Sato K, and Mizuguchi Y. Modified cell-flow microchannels in a single-crystal silicone substrate and flow behavior of blood cells. *Microvasc Res* **47**, 126-139, 1994.
- [29] Saitoh N, Hasegawa H, and Kanai H. Estimation of scatterer diameter using ultrasonic backscattering property for assessment of red blood cell aggregation. *Jpn J Appl Phys* **48**, 07GJ08-1-07GJ08-5, 2009.
- [30] Fukushima T, Hasegawa H, and Kanai H. Estimation of scatterer diameter by normalized power spectrum of high-frequency ultrasonic RF echo for assessment of red blood cell aggregation. *Jpn J Appl Phys* **50**, 07HF02-1-07HF02-8, 2011.
- [31] Ueda M and Ozawa Y. Spectral analysis of echoes for backscattering coefficient measurement. *J Acoust Soc Am* **77**, 38-47, 1985.
- [32] Fontaine I and Cloutier G. Modeling the frequency dependence (5-120 MHz) of ultrasound backscattering by red cell aggregates in shear flow at a normal hematocrit. *J Acoust Soc Am* **113**, 2893-2900, 2003.
- [33] Morse PM and Feshbach H. Methods of theoretical physics. McGraw-Hill, New York, 1953.
- [34] Rodrigues-Macias KA, Naessen T, and Bergqvist D. Validation of in vivo noninvasive high-frequency ultrasonography of the arterial wall layers. *Ultrasound Med Biol* **27**, 751-756, 2001.
- [35] Lizzi FL, Greenebaum M, Feleppa EJ, Elbaurn M, and Coleman DJ. Theoretical framework for spectrum analysis in ultrasonic tissue characterization. *J Acoust Soc Am* **73**, 1366-1373, 1983.
- [36] 金井 浩. 音・振動のスペクトル解析. コロナ社, 東京, 66-67, 1999.
- [37] Yagi S and Nakayama K. Acoustic scattering in weakly inhomogeneous dispersive media: Experimental analysis. *Acoust Soc Jpn* **39**, 659-667, 1983.
- [38] Yagi S and Nakayama K. Absolute measurement of scattering characteristics of dispersive media using ultrasonic wideband pulse. *Acoust Soc Jpn* **43**, 777-785, 1987.