

赤血球凝集度評価を目指した散乱特性計測

＝正規化パワースペクトルによる散乱体サイズ推定＝

東北大学 齋藤 靖好・長谷川 英之・金井 浩

1. はじめに

赤血球凝集は血液の粘度を決める要因のひとつであり血液レオロジーにおいて重要な役割を持つため注目を集めている⁽¹⁾⁽²⁾。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重なり合い、接着することはない。しかし、血液中の飽和脂肪酸やタンパク質が増加することで外膜は破壊され、静電気力が弱まるため、赤血球同士が重なり合い、赤血球凝集を形成していく⁽³⁾。赤血球はその表面に酸素を保持し、体中の各器官に酸素を運ぶ役割を持っている⁽⁴⁾。しかし赤血球凝集によって表面積が減少することで運べる酸素の量が減少し、各器官に十分な酸素が供給できなくなる⁽⁵⁾。このことから過剰な赤血球凝集は、動脈硬化や糖尿病、高脂血症、血栓症などの疾患の要因となるため、赤血球凝集度の評価は重要な課題となっている^{(6)~(8)}。現在の計測方法としては、MC-FAN法がある⁽⁹⁾。これはシリコンチップで形成された疑似毛細血管モデルを流れる血液を観測する方法であるが、非侵襲かつ定量的な評価法ではない。本研究では、超音波を用いた非侵襲かつ定量的な赤血球凝集度評価法の実現を目指す。本稿では、駆血による正規化パワースペクトルの傾きの経時変化について計測を行った。

2. 原理

2-1 後方散乱特性による凝集度評価

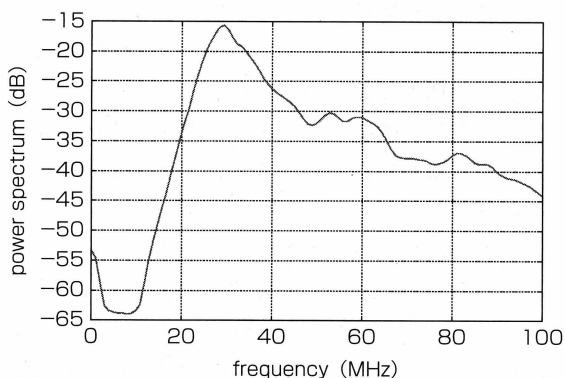
凝集の起きていない血液を径の小さい散乱体が無数に存在している状態とし、凝集の起きた血液を径の大きい散乱体が存在している状態であると仮定する。つまり、散乱体サイズの変化による散乱特性の

変化を見ることで凝集度の評価を行う。

散乱体の直径が波長より十分小さい時、散乱体からの超音波散乱エコーはレイリー散乱に従い、散乱波のパワー $S_i(f)$ は周波数の4乗に比例する⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾。しかし、凝集により散乱体が大きくなるにつれ散乱に関する成分は減少し、反射に関する成分が支配的になるため、スペクトルの傾きは減少する⁽¹²⁾。これより、対数周波数に対する散乱波パワーの対数値の傾き $\partial \log_{10} S_i(f) / \partial \log_{10} f$ を計測することで散乱体サイズの推定が可能である。

2-2 正規化パワースペクトルによる散乱特性抽出

散乱体からの受信RF信号 $e_s(t)$ のパワースペクトル $P_s(f)$ から散乱特性 $S_i(f)$ を抽出するために、超音波の波長に対して十分大きいと考えられるシリコン板からの反射波 $e_r(t)$ のパワースペクトル $P_r(f)$ によって散乱体から計測されたパワースペクトル $P_s(f)$ の正規化を行う⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾。第1図はシリコン板からのRF信号のパワースペクトル $P_r(f)$ を1,000回加算平均し



第1図 シリコン板からの反射波の平均パワースペクトル

たものを示している。プローブとシリコン板表面までの距離は焦点距離に設定した。これは*in vivo*計測におけるプローブと血管内腔の中央までの距離と等しい。散乱体からの平均パワースペクトル $P_s(f)$ をこの平均パワースペクトル $P_r(f)$ で正規化することにより、トランスジューサの送受信に関する周波数特性 $G(f)$ が取り除かれた正規化パワースペクトル $P_s(f)/P_r(f)$ を得る。

2-3 重み付き最小二乗法による傾き算出

本研究では有限の周波数帯域を持つパルス状超音波を用いているため、正規化に用いることの出来る周波数帯域も制限される。そこで、各周波数における受信RF信号のSN比を考慮するため、正規化パワースペクトル $P_s(f)/P_r(f)$ の傾き a を求める際に重み付き最小二乗法を用いる¹⁵⁾。実測スペクトルと近似モデルとの誤差 e の二乗平均値 α を以下のように定義する。

$$\alpha = \sum_{i=0}^N w_i^2 e_i^2 = \sum_{i=0}^N w_i^2 \{y(f_i) - (ax_i + b)\}^2 \quad \dots(1)$$

ここで、 $y(f_i)$ は実測された正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f_i)/P_r(f_i)\}$ 、 x_i は対数周波数 $\log_{10}f_i$ 、 w_i は重み関数をそれぞれ示している。本研究では、重み関数 w_i はシリコン板からのパワースペクトル $P_r(f)$ を用いて以下のように定義する。

$$w_i = P_r(f_i) / P_{rmax} \quad \dots(2)$$

ここで、 P_{rmax} はシリコン板からのパワースペクトル $P_r(f)$ の最大値を示している。上記の重み関数 w_i を用いて近似直線を求め、散乱体サイズ、すなわち凝集度の評価を行う。

3. 実験結果

3-1 マイクロスフェアによる模擬実験結果

Tomey社製超音波診断装置UD-1000(中心周波数: 40 MHz、波長: 40 μ m) の受信超音波出力を1 GHzで標準化した。周波数特性を求める際にハニング窓を用い、窓幅は1.024 μ s(深さ方向0.768 mm)とした。

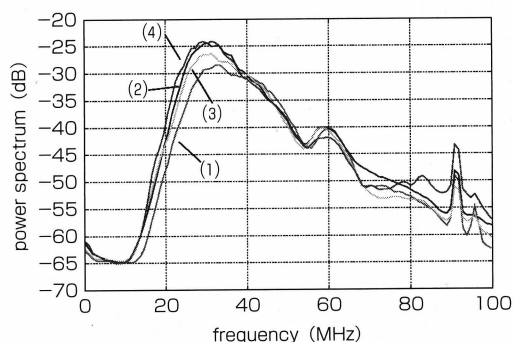
第1表に計測を行ったマイクロスフェアのサイズを示す。マイクロスフェアは赤血球および赤血球凝集体を模擬しており、径の異なる4種類のマイクロ

スフェアをそれぞれ3.00 g/Lで水と混合し、計測を行った。第2図(a)、2(b)はそれぞれ、マイクロスフェアからの平均パワースペクトル $P_s(f)$ および正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ を示している。

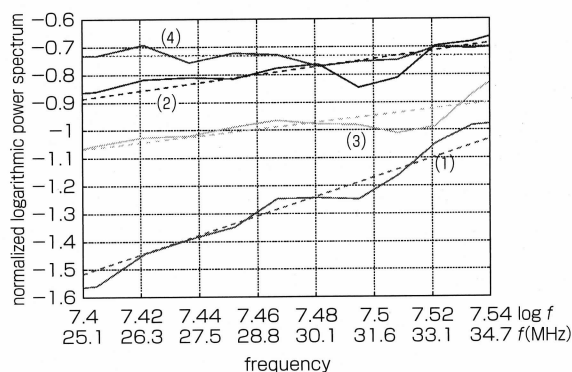
第3図にマイクロスフェア(1)と(4)を混合させた時の正規化パワースペクトルの傾きの変化について示す。濃度は3.00 g/Lで一定とし、混合比について変化させた。第3図よりマイクロスフェア(4)の比率が高まるにつれ正規化パワースペクトルの傾きが減少

第1表 マイクロスフェアの直径および実験結果

No.	particle diameter (μ m)	slope ($1/\log_{10}f$)	intercept (dimensionless)
(1)	5 \pm 2	3.46	-27.2
(2)	11 \pm 3	1.78	-14.8
(3)	15 \pm 5	1.47	-12.9
(4)	30 \pm 10	0.02	-0.56

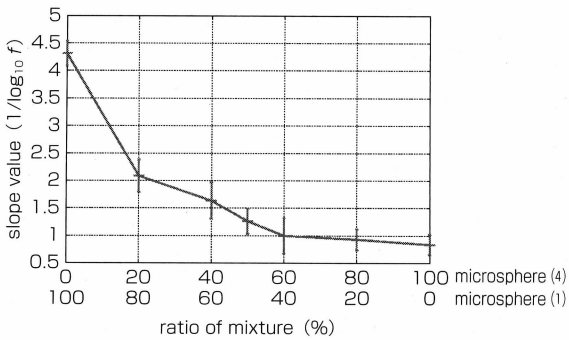


(a) マイクロスフェアからの平均パワースペクトル



(b) 正規化パワースペクトルと重み付き最小二乗近似直線

第2図



第3図 マイクロスフェア(1)と(4)混合時の正規化パワースペクトルの傾き

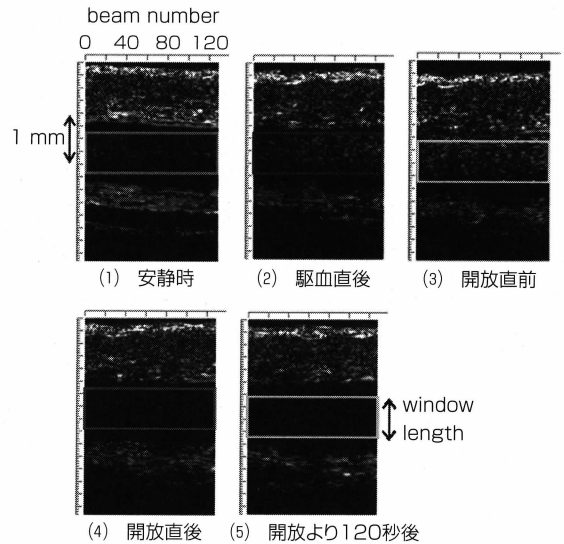
していることが確認できた。

3-2 In vivo実験結果

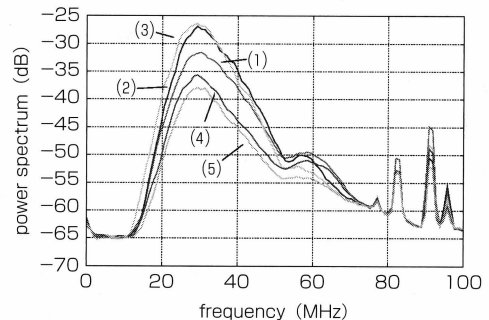
血液はその45%が赤血球、白血球、血小板などの血球成分で、残り約55%は液体成分である血漿成分からなっている。また血球成分においては、健常者では赤血球が体積率で96%を占めているため、血液からの超音波受信信号は、赤血球からの超音波信号が主成分であると考えられる。また、径の大きい血管内の赤血球は血流の影響により凝集が起こりにくいとされる⁽⁶⁾。そこで生体中での赤血球凝集を計測するため、上腕をカフにより250 mmHgの圧力で駆血することで、血流を完全に止め計測を行った。計測は24歳健常男性の手甲静脈に対して行い、最初に安静時のデータとして2分間、駆血を行い5分間、そしてカフを開放し、血流が戻った状態で3分間計測を行った。

第4図に24歳健常男性の手甲静脈のBモード像を示す。(1)は安静時、(2)は駆血開始時、(3)はカフ開放直前、(4)はカフ開放直後、そして(5)はカフ開放から120秒後のBモード像となっている。本稿で計測を行った手甲静脈は十分大きい径を持ち、速い定常の血流であることから、安静時には凝集の起きていない赤血球からの超音波信号であると仮定することが出来る。静脈内腔に焦点を設定して得られた血液からの超音波RF信号を、第4図に示される窓幅で切り出して得られたパワースペクトルの加算平均を行った。第5図は24歳健常男性の手甲静脈からのRF信号の平均パワースペクトル $P_s(f)$ と正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ を示している。第6図は駆血による正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)$

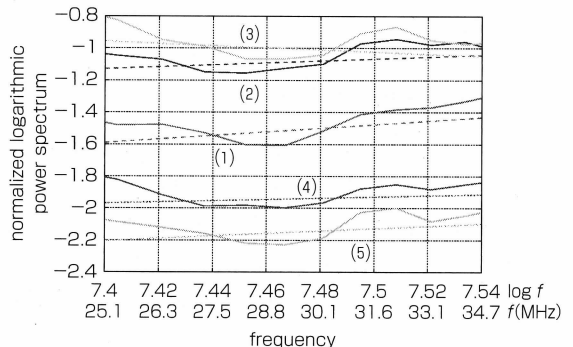
$/P_r(f)\}$ の傾き a の時間変化を示している。安静時の正規化パワースペクトル $\log_{10}\{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a の値は基礎実験におけるマイクロスフェア(3) (マイ



第4図 24歳健常男性の手甲静脈のBモード像



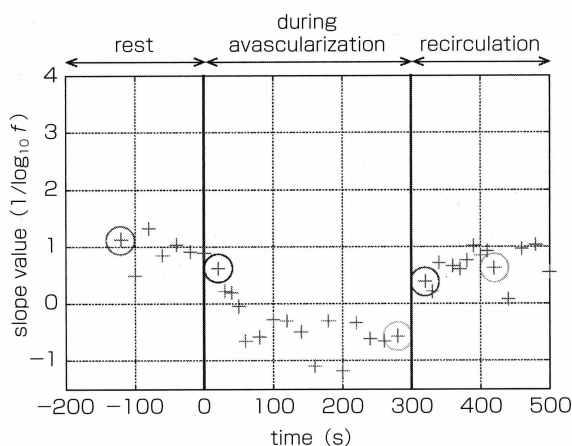
(a) 手甲静脈からの散乱RF信号の平均パワースペクトル



(b) 正規化パワースペクトル

- (1) 安静時、(2) 駆血直後、(3) 開放直前、(4) 開放直後、
- (5) 開放より120秒後

第5図



第6図 駆血による正規化パワースペクトルの傾きの時間変化

クロスフェア直径: $15\ \mu\text{m}$) の値と近い値となった。また、駆血を行うことで正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a の値は徐々に小さくなり、負の値となり安定した。そしてカフの開放によりもとの安静時の値に変化する結果となった。

計測した静脈の血管径と血流速度より安静時には凝集は起きず、赤血球単体は長径で $8\ \mu\text{m}$ であり、この大きさはマイクロスフェア(1) (直径: $5\ \mu\text{m}$) とマイクロスフェア(2) (直径: $11\ \mu\text{m}$) の間の値となっている。また駆血時の正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a は本来取り得ない負の値となった。この理由のひとつとして、生体組織中を超音波が伝搬する際の超音波の周波数依存減衰の影響が考えられる。例えば、生体での超音波の減衰を $1\text{dB}/\text{MHz}/\text{cm}$ ⁽¹⁷⁾、血管までの深さを $1\ \text{mm}$ とそれぞれ仮定すると、正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の減衰量は、周波数が $25\ \text{MHz}$ の時に $5\ \text{dB}$ 、 $35\ \text{MHz}$ の時は $7\ \text{dB}$ となる。そのため、 $25\sim 35\ \text{MHz}$ の周波数帯における正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a は 1.37 減少する。これにより、正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a が本来より小さくなり、駆血時の傾き a が負の値となったと考えられる。

4. おわりに

本稿では、*in vivo* 実験において駆血時の赤血球凝集による正規化パワースペクトルの傾きの経時変化について計測を行い、マイクロスフェアによる模擬

実験との比較を行った。*in vivo* 実験において、正規化パワースペクトル $\log_{10} \{P_s(f)/P_r(f)\}$ の傾き a の値は、超音波の周波数依存減衰の影響などにより赤血球の大きさと対応するマイクロスフェアの結果よりも小さい値をとった。しかし、駆血による正規化パワースペクトルの傾きの変化が観測され、これらの結果より正規化パワースペクトルによる赤血球凝集度評価の可能性を示すことができた⁽¹⁸⁾。

<参考文献>

- (1) D.G.Paeng, R.Y.Chiao and K.K.Shung : Echogenicity Variations from Porcine Blood II : The 'Bright Ring' under Oscillatory Flow, *Ultrasound Med. Biol.*, Vol.30, 815-825 (2004)
- (2) 村上謙吉: レオロジー基礎論、産業図書、東京、161-162 (1991)
- (3) 岡小天: レオロジー —生物レオロジー—、中央印刷、東京、251-256 (1974)
- (4) 渡部準之助: 血液をはかる、日本規格協会、東京 (1990)
- (5) A.J.Vander, J.H.Sherman and D.S.Luciano : Human Physiology : The Mechanism of Body Function, McGraw-Hill (1998)
- (6) A.Amararenea, J.L.Gennisson, A.Rabhi and G.Cloutier : Quantification of Red Blood Cell Aggregation Using an Ultrasound Clinical Imaging System, *IEEE Ultrason. Symp.*, 874-877 (2005)
- (7) E.Alt, S.Banyai, M.Banyai and R.Koppensteinerr : Blood Rheology in Deep Venous Thrombosis : Relation to Persistent and Transient Risk Factors, *Thromb. Res.*, Vol.107, 101-107 (2002)
- (8) A.J.Lee, P.L.Mowbray, G.D.O.Lowe, A.Rumley, F.G.R.Fowkes and P.L.Allan : Blood Viscosity and Elevated Carotid Intima-Media Thickness in Men and Women. The Edinburgh Artery Study, *Circulation*, Vol.97, 1467-1473 (1998)
- (9) Y.Kikuchi, K.Sato and Y.Mizuguchi : Modified Cell-Flow Microchannels in a Single-Crystal Silicone Substrate and Flow Behavior of Blood Cells, *Microvascular Research*, Vol.47, 126-139 (1994)
- (10) M.Ueda and Y.Ozawa : Spectral Analysis of Echoes for Backscattering Coefficient Measurement, *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol.77, 38-47 (2006)
- (11) M.F.Insana, R.F.Wagner, D.G.Brown and T.J.Hall : Describing Small-Scale Structure in Random Media Using Pulse-Echo Ultrasound, *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol.87, 179-192 (1990)
- (12) I.Fontaine and G.Cloutier : 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.*, Vol.113, 2893-2900 (2003)
- (13) F.L.Lizzi, M.Greenebaum, E.J.Feleppa, M.Elbaurn and D.J.Coleman : Theoretical Framework for Spectrum Analysis in Ultrasonic Tissue Characterization, *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol.73, 1366-1373 (1983)
- (14) F.L.Lizzi, M.Astor, A.Kalisz, T.Liu, D.J.Coleman, R.Silverman, R.Ursea and M.Rondeau : Ultrasonic Spectrum Analysis for Assays of Different Scatterer Morphologies : Theory and Very-High Frequency Clinical Results, *IEEE Ultrason. Symp.*, 1155-1159 (1996)
- (15) 金井浩: 音・振動のスペクトル解析、コロナ社、東京、66-67 (1999)
- (16) S.Yagi and K.Nakayama : Acoustic Scattering in Weakly Inhomogeneous Dispersive Media : Experimental Analysis, *Acoust. Soc. Jpn.*, Vol.39, 659-667 (1983)
- (17) 甲子乃人: 超音波の基礎と装置、ベクトルコア、東京 (1994)
- (18) N.Saitoh, H.Hasegawa and H.Kawai : Estimation of Scatterer's Diameter Using Ultrasonic Backscattering Property for Assessment of Red Blood Cell Aggregation, *Jpn. J. Appl. Phys.*, Vol.48 (2009) (in press)

(筆者紹介は p.126 に掲載)