

修 士 学 位 論 文

画像相関法に基づく体外循環時の 血液粘度推定に関する検討

指導教授 渡部 泰明 教授

平成 2 9 年 2 月 1 7 日 提出

首都大学東京大学院

理工学研究科 電気電子工学専攻

学修番号 1 5 8 8 2 3 1 6

氏 名 須永 涼

目次

1. 研究概要
 - 1-1 背景
 - 1-2 研究対象
 - 1-3 先行研究
 - 1-4 目的
2. 実験方法
 - 2-1 測定装置
 - 2-2 試料懸濁液
 - 2-2-1 アクリル粒子を用いた模擬血液試料
 - 2-2-2 ブタ血液を用いた血液試料
 - 2-3 長方形型相関領域を用いた画像相関
3. 実験結果・考察
 - 3-1 模擬血液試料における凝集制御と相関値の関係
 - 3-1-1 凝集体サイズ
 - 3-1-2 凝集度変化に伴う画像相関平均値
 - 3-1-3 放物線型相関領域の提案
 - 3-2 ブタ血液試料における凝集制御と相関値の関係
 - 3-2-1 凝集剤にデキストラン 70 を使用した場合
 - 3-2-2 凝集剤に CMC を使用した場合
 - 3-2-3 放物線型相関領域について
4. 結論
5. 参考文献
6. 謝辞

1. 概要

1-1 背景

血液粘度は、国内外において関心の高い健康指標であり、また様々な循環器系疾患との関連が報告されている医学・生理学的指標でもある。血液粘度を決定する主な要因は、ヘマトクリット値、変形能、凝集能および血漿の粘度などの条件により変動する。中でも赤血球の凝集度は血液の粘度を決定する重要な要素となっている^{[1]-[4]}。通常赤血球は、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凝集反応は起こらない^[5]。しかし、血液中に糖や飽和脂肪酸、タンパク質などといった鎖状高分子が含まれてくると、静電気力を弱め、赤血球凝集反応が起こってしまう^[5]。また、デキストラン等の繊維状高分子の血中濃度が上昇すると、繊維同士が絡まり、そこに高分子が癒着し、赤血球同士に架橋を形成し凝集する架橋反応や、血球表面のたんぱく質濃度が血漿よりも低いことによる浸透圧の差から凝集する枯渇反応なども赤血球凝集の要因である^[6]。

こうして赤血球凝集が生じた結果として、酸素や栄養素を運搬する赤血球の機能が低下し、糖尿病や脂質異常症といった疾患につながる原因となる^[7]。また、凝集反応がさらに過剰になると、血管壁に与えるすり応力が低下し、血管壁の形質が変化し、血栓症や動脈硬化といった疾患の原因ともなる^[8]。

現在血液粘度を測定する方法として、毛細血管モデルに血液を流し、流れる様子などから粘度を推定する方法や、回転式粘度計といった回転体が流体から受ける粘性抵抗を回転トルクから読みとり粘度を測る粘度計などが利用されている。しかし、これらの欠点として測定をする際に注射針の皮膚への刺入を伴う採血を行う必要がある。これらは人体へ負担が掛かる上、さらに体内を流れる血液と凝集能が異なるといった問題が生じる。このような病理学的見地から、現在の注射針の皮膚刺入を伴う採血法に代わって、赤血球凝集を非侵襲で定量測定し、粘度推定しようとする試みが近年行われている。人体内の血流を直接観察するには爪上皮などの表皮毛細血管と部位が限られており^[9]、光学的観察による粘度推定には適していない。そこで、体外循環と呼ばれる医療操作に着目し、光学的手法によって血液粘度を推定する方法を提案する。

1-2 研究対象

体外循環とは、生体内の血液を体外に誘導し、ガス交換を行ったり老廃物や代謝産物などの除去をしたりした後、体内に還流させる処置であり、人工心肺や人工透析などで用いられている。人工心肺は心臓の手術を行う際に使用する装置であり、この処置を施す患者の体内では血液循環を円滑に行うため、血液粘度を適切に低く保つことが重要で、そのために随時モニタリングする必要がある。また、人工透析は、糖尿病が悪化するなどの理由で腎不全になった患者に対して、腎臓の働きの代わりに血中の老廃物の濾過や電解質及び水分量の維持を目的とした治療法である。原因の多くを占める糖尿病の前駆症状に遡ると高血糖症に至り、これは血液粘度の高い状態であることが知られている^[10]。即ち、人工透析患者の症状は血液粘度と密接に関連している。

体外循環では生体外の装置に血液を出すことで血液が凝固しやすくなってしまうため、抗凝固剤を投与し凝固を防いでいる。しかし、投与量が過剰になってしまうと術後の止血能回復の遅れにつながってしまう。一般的な臨床医学的な知見より血液粘度の高い状態では血液凝固能が高いことが知られている。そこで、血液粘度を決める重要な要素である赤血球凝集度をリアルタイムにモニタリングすることで適切な投与量の指針となり、人体への負担を軽減することが可能となる。

人工心肺における手術リスクの軽減、人工透析における人体への負担軽減などの理由から、体外循環時のリアルタイムな血液粘度推定の有用性やそのニーズは極めて高い。また、体外循環の装置は透明な塩化ビニルを主剤としたチューブを血液の流路としており、流路中の血液の表層の状態を観察することが可能である。そうした背景から、本研究室では体外循環時に着目し、血液粘度推定の方法を検討してきた。

1-3 先行研究

本研究室では高分子粒子を模擬赤血球として、凝集制御した試料を用いて矩形ガラス管越しに模擬血液試料を光学的に観察し、流れの時間差画像の間で相関処理を行うことによって赤血球凝集度を測定する手法を提案してきた^[11]。凝集現象は赤血球間に働く結合力によって凝集体が形成されており、微小な流れ区間の中では凝集体を構成する赤血球同士の相対的位置は高度に維持されるものと仮定した。それに対して単独の赤血球は、他の赤血球との結合が弱いだけに、微小流れ区間の中で周囲の単独赤血球、あるいは凝集体との相対的位置の変化が大きいと推察された。従って、凝集体のサイズ及び濃度の上昇によって画像相関値が増加するものと仮定した。Fig. 1.1 にその概略を示す。模擬血液試料のパ

ラメータを模擬凝集体サイズ、模擬凝集体濃度、凝集剤添加による凝集度の3点にして、それぞれ実験を行った。その結果、仮定が妥当であったことを示すことが出来た。

この先行研究の課題として、使用する実験環境の影響で撮影画像の上下がぼやけてしまう問題 (Fig1. 2) や、実際の血液内の赤血球と高分子粒子とでは性状が異なるため血液試料を用いた光学的手法の検証、などがあった。

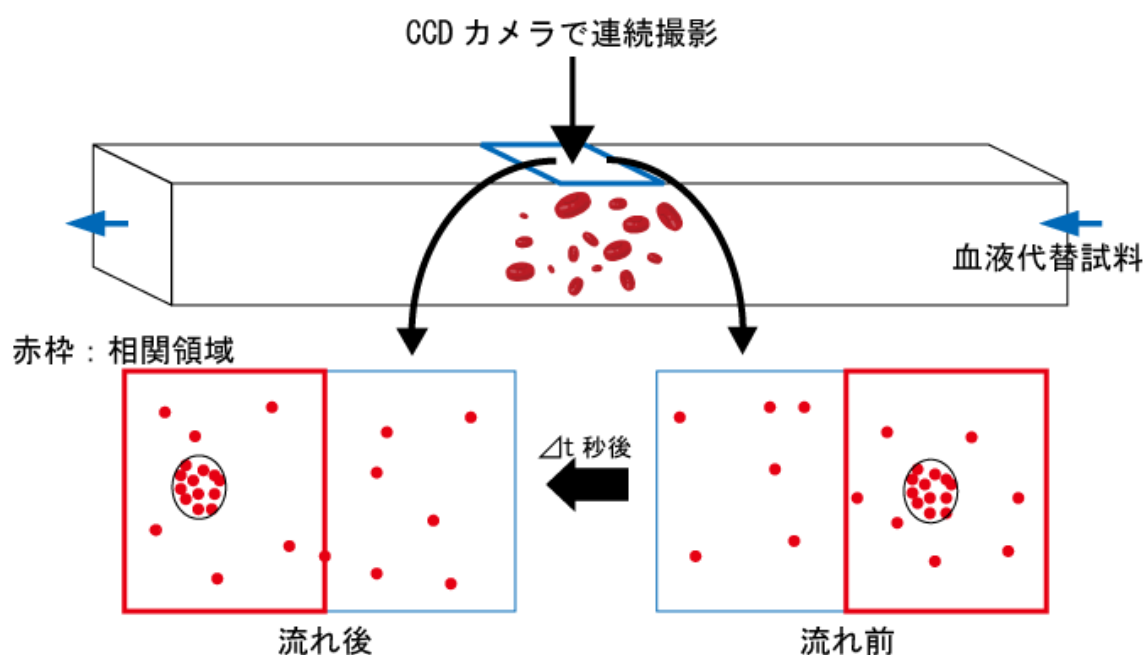


Fig.1.1 画像相関法に基づいた血流体外循環時における赤血球凝集度評価方法の模式図

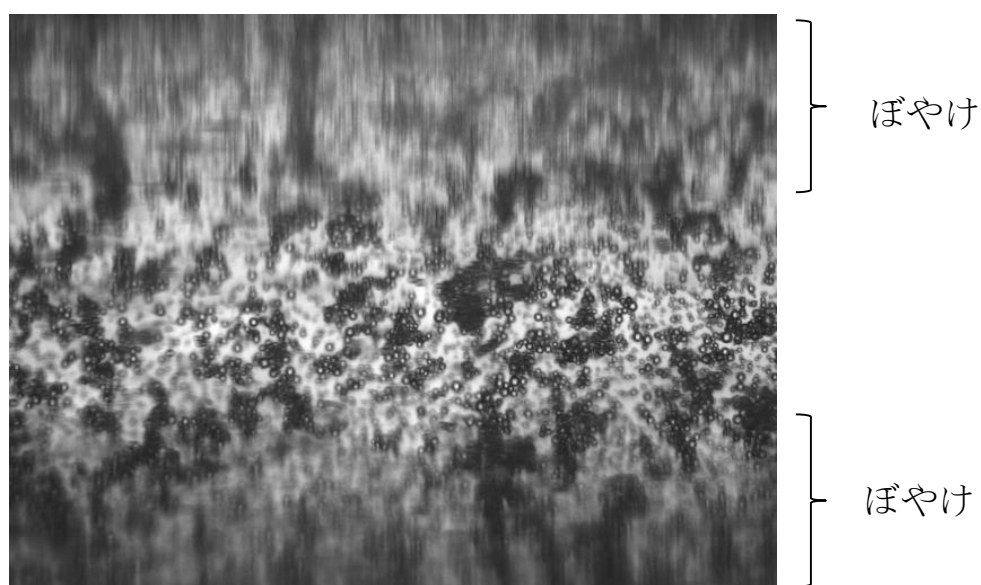


Fig. 1. 2 先行研究撮影画像

1-4 目的

本研究では血液の体外循環時に画像相関法を用いて赤血球凝集度を推定する方法を提案し、測定システムの有用性を実証する。先行研究より更なる実用化に向け、実験環境の調整や血液代替試料に加え、ヒト血液との赤血球数やその大きさの類似性、入手容易性の観点からブタの血液を用いて研究を行った。血液試料における基本的な原理確認のため、赤血球の視認性を重視し、生理食塩水の希釈によりヘマトクリット値を下げ、凝集制御した試料を用いた。

2. 実験方法

2-1 測定装置

本研究で仮定した「凝集体のサイズ及び濃度の上昇によって画像相関値が増加する」関係を実験的に立証するため、Fig. 2.1 に示すような流路及び観察系からなる実験装置を構成した。タンク内に以下の 2-2 節で述べる試料懸濁液を満たし、タンクから重力依存及びバルブ調整により CCD カメラの撮影範囲に収まる流速で自然吐出する。タンク内では試料懸濁液内の粒子が沈殿しないように攪拌を加える。観察部位には模擬血液試料の場合は断面が $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ のガラス管を使用する。ブタ血液試料の場合は赤血球の重なり合いにより観察しづらい問題が生じたため、断面 $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ の薄いアクリル管を使用する。それぞれ撮影領域には厚さ 0.7mm のガラスカバーを加工し、光の屈折による撮影画像への影響を最小限に留めている。両端は内径 4.8mm のシリコンチューブとカップリング部品によって結合してある。

画像取得系は CCD カメラ (BITRAN、BU-51C、画素数 140 万) 及び光学顕微鏡 (OLYMPUS、BX51、ハロゲンランプ) から成り、画像データは $520 \text{ ピクセル} \times 680 \text{ ピクセル}$ であり、パーソナルコンピュータによって取り込み後、相関処理される。

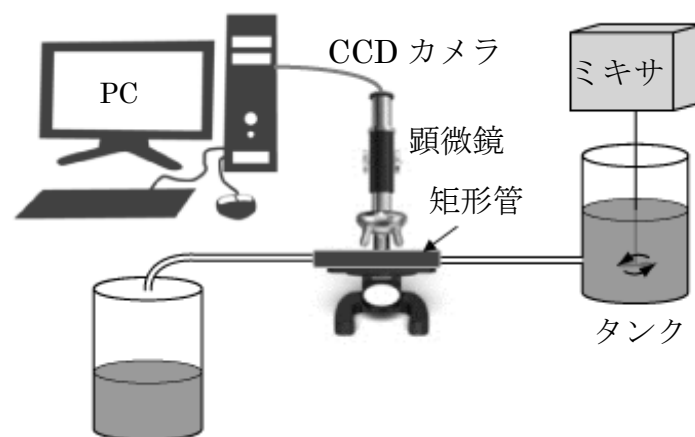


Fig.2.1 測定装置構成図

2-2 試料懸濁液

2-2-1 アクリル粒子を用いた模擬血液試料

赤血球を模擬するためマイクロ粒子を用いる。入手しやすいものとして、アクリル、グラファイト、ガラスなどがあるが、中でも比較的、水と比重値に近い値であるアクリル粒子(比重値 1.3)を模擬赤血球として使用する。この粒子をそのまま水と混合して使用すると沈殿が生じて観測に影響が出てしまうため、増粘剤を混ぜることで沈殿を抑えることが可能である。粒子の沈殿を防ぐため、流動媒を 0.1%キサントガム水溶液として純水よりも粘度を高め、平均粒径 46 μ m の白色アクリルビーズ(アートパール SE-050T,根上工業社)を 1wt%分散させた。実際の血液の凝集作用のように形、大きさのランダムな凝集反応を模擬するために、凝集剤であるアロンフロック C-510(MT アクアポリマー社)を使用して凝集制御を行った。0.1%の凝集剤水溶液を作製し、その溶液を 1%アクリルビーズ水溶液に滴下していくことで凝集反応を示す。凝集剤水溶液濃度が 0.2wt%を超えると凝集径の増大に飽和が見られたため、0.05wt%刻みで 0~0.15wt%の 4 段階となるよう凝集剤水溶液の混合量を調整した。

2-2-2 ブタ血液を用いた血液試料

実際にヒト血液を用いることが最善ではあるが高コストであり、実験に使用するほどの多量を手に入れることは非常に困難である。そこで、ヒト血液との赤血球数やその大きさの類似性、入手容易性の観点からブタの血液を用いた。本来のヘマトクリット値(以下 Ht)である約 40%では、赤血球同士が重なりあい、一つ一つの輪郭が確認できないレベルであったため、赤血球の視認性を重視し、Ht5%の血液試料を作製した。ここでは、遠心分離により原試料の Ht を測定し、希釈は生理食塩水の付加によって行った。また、生理食塩水による希釈で粘度が低下しているため、通常の血液よりも赤血球の沈降の影響が大きいことから増粘剤を混ぜることで粘度を高めて沈降を防いだ。増粘剤には 2-2-1 節で用いたキサントガムを使用すると観察した際に粉状のものが映り込んでしまう問題が生じたため、ここでは CMC(カルボキシメチルセルロース)を 0.1wt%濃度で混ぜた。本研究室では赤血球凝集度制御の研究を行ってきており^[12]、ブタ血液試料にデキストラン 70(分子量 70kDa、以下 Dex70)水溶液を濃度 2.0wt%で滴下すると、凝集径の増大に飽和が見られる結果が得られた。よって Dex70 濃度 0~2.0wt%の範囲 4 段階で血液試料を作製することとした。

また、Dex70 を用いた実験で Dex70 濃度 0wt%、即ち CMC のみ混ぜた状態の血液試料を観察したところ凝集反応を確認することができた。そこで、CMC を凝集剤として使用した際の凝集反応を調べるために、生理食塩水で Ht を 5%に調整し

たブタ血液に CMC 濃度を 0.1wt%、0.5wt%、1.0wt%の 3 段階で混ぜ、血液試料を作製した。なお、CMC を 1.5wt%濃度で投入すると粘度が高くなりすぎ、観察に支障をきたすため、ここでは 1wt%までとした。

2-3 長方形型相関領域を用いた画像相関

本節では、3-1-3 節を除く本研究で使用した画像相関方法を記述する。シャッター間隔 $\Delta t=0.25\text{msec}$ で撮影した流れ中の画像 Image1 と Image2 をグレースケールへと変換し、それらの間で粒子移動分を考慮したうえで計算領域を決定し、相互相関処理を行う。撮影画像データは 520 ピクセル×680 ピクセルである。Fig. 2.2 は、この計算領域の最適選択処理手法を示す。Image1 内で 512×300 ピクセルの参照領域を決定し、Image2 内で粒子移動距離より予測される対応位置を中心にその前後に数点計算領域を設ける。Image1 内の参照領域と Image2 内の数点の計算領域それぞれにおいて画像相関処理を行い、画像相関平均値の最大となった結果をその実験試行での画像相関平均値として用いる。画像相関処理にはそれぞれの実験で設定したサイズの相関窓を 2 次元方向に走査することで相互相関値を計算した。本研究で用いた画像相関値 ρ は式 (2) で表わされる 2 次元相互相関式である。

$$\rho = \frac{\sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} (x_{i,j} - \bar{x})(y_{i,j} - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} (x_{i,j} - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} (y_{i,j} - \bar{y})^2}} \quad \dots\dots\dots (1)$$

$x_{i,j}$ 及び $y_{i,j}$ はそれぞれ Image1 及び Image2 における i 行、 j 列の配列要素画素値、 M 及び N は相関窓の縦及び横サイズ（整数）、 \bar{x} 及び \bar{y} は Image1 及び Image2 における相関窓内の画素平均値である。

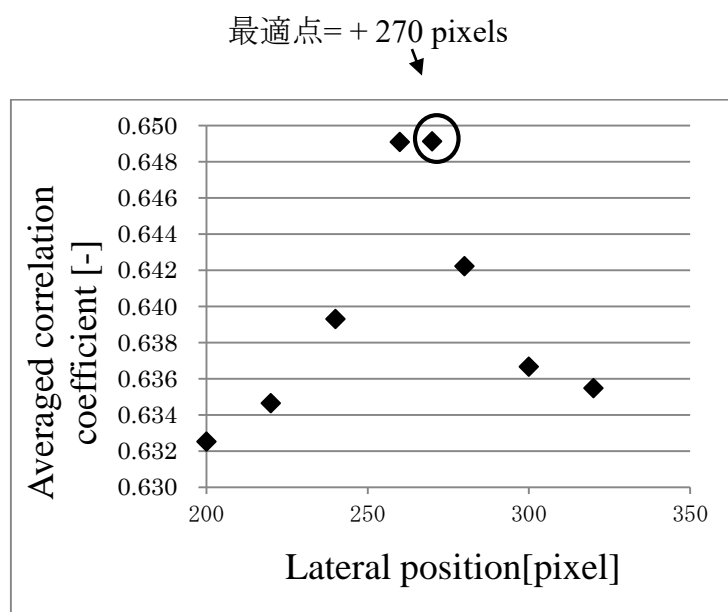
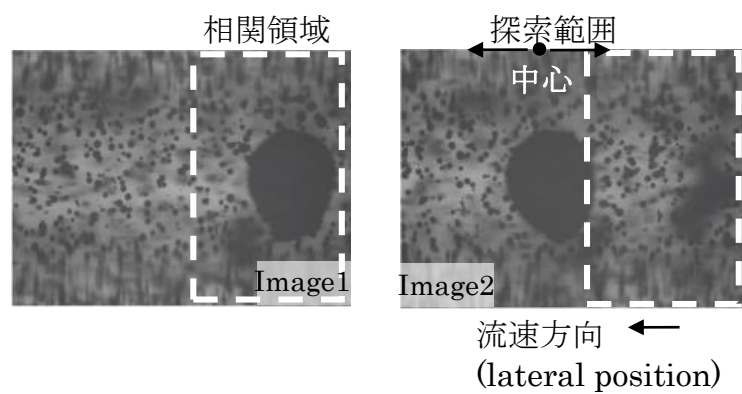


Fig2.2 サンプルフレームの最適選択処理手法

3. 実験結果・考察

3-1 模擬血液試料における凝集制御と相関値の関係

3-1-1 凝集体サイズ

凝集制御における凝集体サイズの確認を光学顕微鏡観察によって行う。ガラス製ビーカー容器内の基準懸濁液に 0.1%凝集剤水溶液を付加・攪拌して作製した観察サンプルをシャーレに満たし、静水状態で凝集体を観察する。攪拌直後と 10 分後の状態を確認しても目立った変化がないことから凝集作用は攪拌直後にほぼ終了していると考えられる。

凝集径は 3 軸平均径によって定義した。

$$d = (l + b + t)/3 \quad \cdots \cdots (2)$$

d は凝集体の粒径、 l は長径、 b は短径、 t は厚さである。厚さ t は $(l + b)/2$ で推定した。Fig. 3.1 に示すように、凝集径決定のために、任意形状をとる凝集体の外接楕円を描く。ここで得られる d は直径 d を持つ単体の真球と仮定した大きさであり、凝集体の形状の特徴を表すことはできず、球相当径を表すにとどまっている。

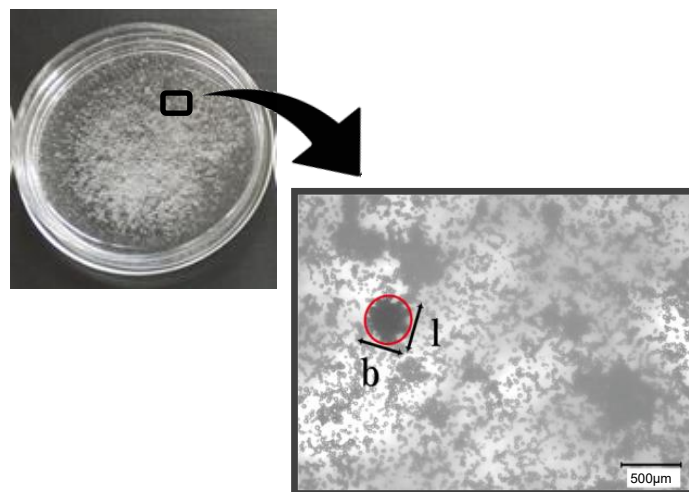


Fig. 3.1 凝集径決定の概要図

0.05wt%刻みで0～0.15wt%の4段階となるよう凝集剤水溶液の混合量を調整し、集計サンプルを各々の凝集剤濃度条件下で300個として得た凝集径度数分布をFig. 3.2に示す。凝集剤を加えない場合、アクリル粒子は全て単独に浮遊していたため、ここでは粒径代表値46 μm とした。また、凝集性を評価するため、凝集剤を混合した試料では粒径代表値46 μm を分布なしとした。凝集剤濃度を上げることで凝集径の増大が観測され、ばらつきの増加が見られた。ばらつきの上端と平均値が上昇し、ばらつきの下端では大きな変化がないことから、小さい凝集体はできつつも、凝集径の大きなものが増加していくと考えられる。

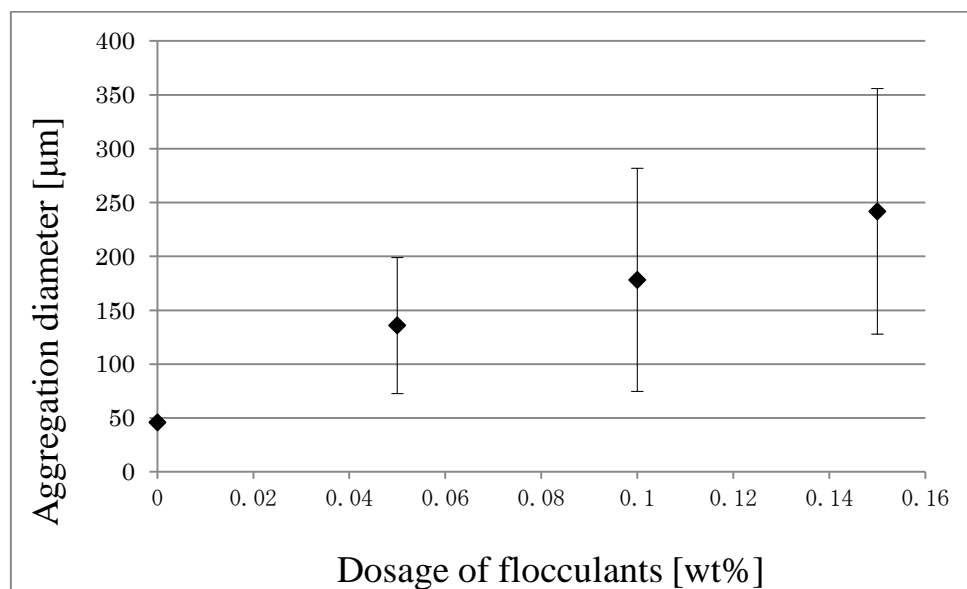
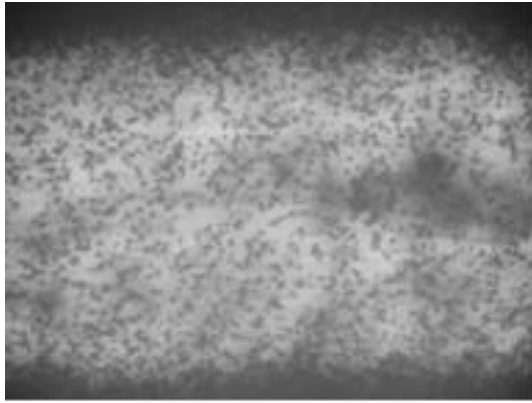


Fig. 3.2 凝集剤濃度に対する凝集径分布

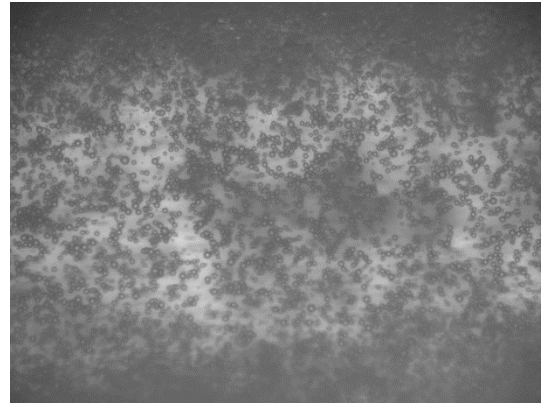
3-1-2 凝集度変化に伴う画像相関平均値

2-4-1 節で示した試料懸濁液を用いて実験を行った。Fig. 3.3 は実際の凝集剤濃度別の撮影画像例である。凝集剤濃度が上がるにつれて、アクリルビーズの凝集体の数が多くなり、サイズも大きいものが確認できる。CCD カメラの視野範囲 $3.3\text{mm} \times 4.4\text{mm}$ 、相関窓のデータサイズを 4×4 ピクセル ($25.8\mu\text{m} \times 25.8\mu\text{m}$) として実験を行い、画像相関平均値を求めた結果が Fig. 3.4 である。ここで、相関窓サイズは厳密には流れ場の粒子よりも大きいサイズにすることが理想ではあるが、本実験は基礎原理の確認であるため現段階では考慮しないこととした。試行回数は予備実験よりさほどばらつきの程度が大きくなかったため凝集剤濃度毎で 5 回としている。取得画像内の凝集体の数、サイズは凝集剤濃度に依存しつつランダム性を持つため、実験試行毎の画像相関平均値はバラツキを持つ。しかし、大きな差異はなく、試行回数 5 回の平均値は凝集剤濃度が上がるにつれ、画像相関平均値が上昇することが確認できた。Fig. 3.2 では凝集径に大きなバラツキが見られたが、Fig. 3.4 ではバラツキの幅が小さいことがわかる。これは撮影画像に含まれる凝集径の大きさが異なっても凝集剤濃度別の撮影画像中の粒子の専有面積の差は小さいためである。

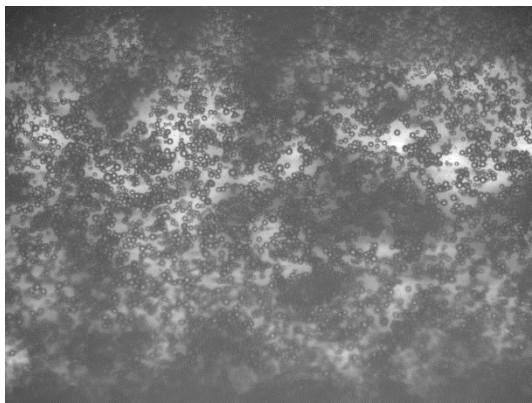
凝集剤濃度で関連付けされる Fig. 3.2 と Fig. 3.4 の関係を Fig. 3.5 に示す。凝集径に対して画像相関平均値がほぼ比例した。理論の上では画像相関平均値（即ち 2 次元相関値）は凝集体面積、即ち凝集半径の 2 乗に比例するものと推測される。しかし、この実験では粒子濃度を 1wt% としており、画像内に占める粒子の専有面積が小さい。このことが Fig. 9 で示す結果が明瞭な 2 次関数を示さなかった理由であると考ええる。



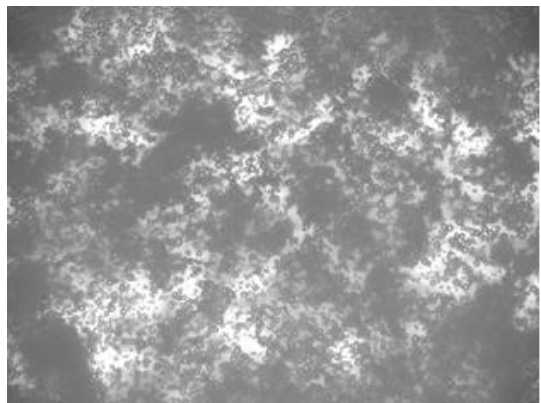
(a) 凝集剤なし



(b) 0.05wt%



(c) 0.10wt%



(d) 0.15wt%

Fig3.3 凝集剤濃度変化による試料画像

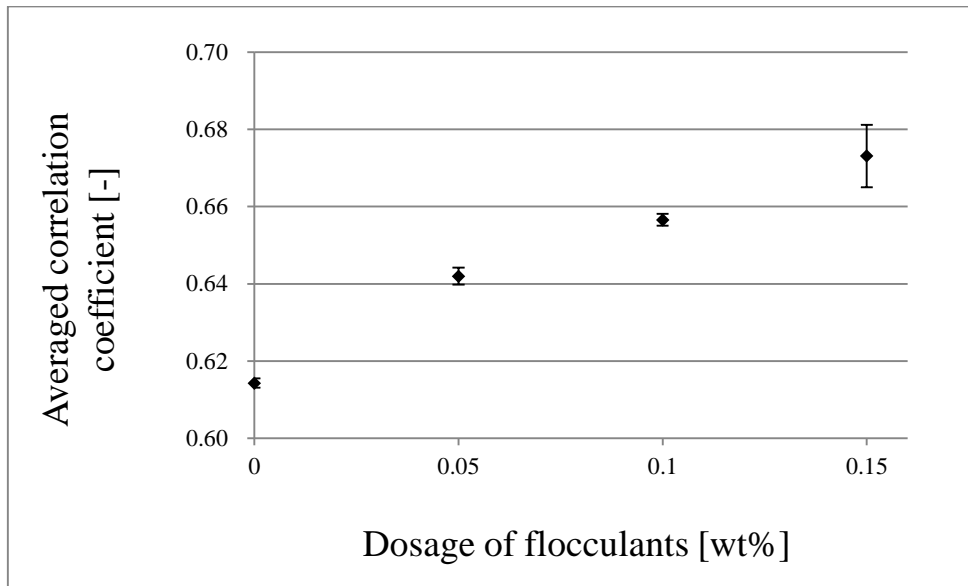


Fig.3.4 凝集剤濃度に対する画像相関平均値の関係

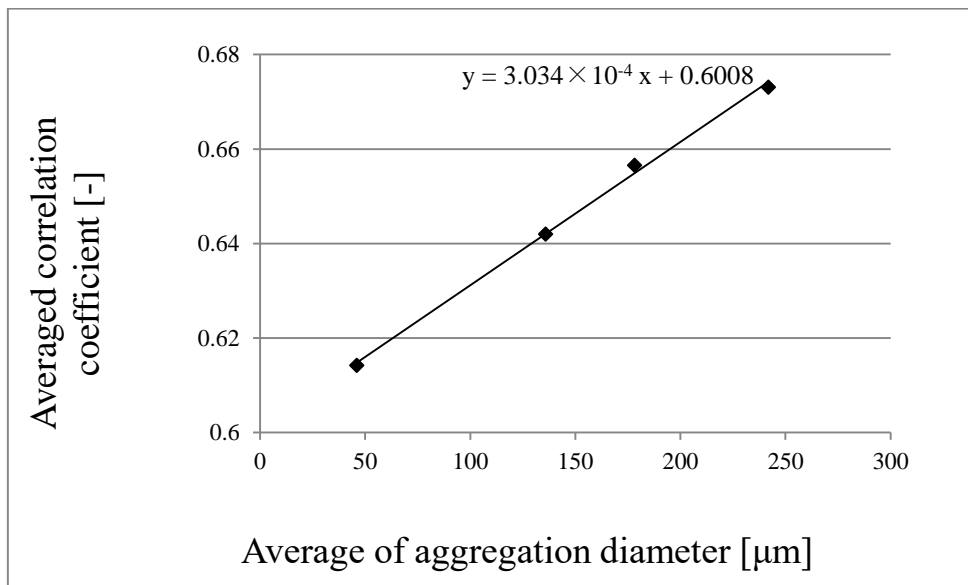


Fig3.5 凝集径と画像相関平均値の関係

3-1-3 放物線型相関領域の提案

前節までは取得した流れの前後の画像に対し、長方形型の相関領域を用いて画像相関処理を行い、赤血球凝集度を推定してきた。しかし、一般に管内を流れる粘性流体にはナビエ・ストークスの方程式より導かれるように速度分布が生じている。そのため流れの前後の画像において長方形型の相関領域を適用すると流れ前後の粒子の物理的位置照合の誤差が大きい。矩形管内の流速分布に応じた相関領域を適用することによって粒子の物理的位置照合の誤差を低減させ、測定の精度を向上させる。

アクリル粒子を用いた実験の矩形管は 5 mm×5 mm の正方形内断面を持ち、長さは 30cm である。実際の血液は厳密には非ニュートン流体であるが、本研究で用いている懸濁液試料の粘度の多くは増粘剤による分子粘度に依存したものになっているためニュートン流体と仮定して計算を行った。文献[13]より矩形管内の流速分布の理論式を引用し、計算結果を元に放物線型相関領域を設計し画像相関処理を行った。

$$w = \frac{y}{2\mu} \left(-\frac{dp}{dz} \right) (H - y) - \frac{4H^2}{\pi^3\mu} \left(-\frac{dp}{dz} \right) \sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \frac{1}{n^3} \sin\left(\frac{n\pi}{H}y\right) \frac{\cosh\left\{\left(\frac{n\pi}{H}\right)x\right\}}{\cosh\left(\frac{n\pi W}{2H}\right)} \dots\dots\dots (3)$$

ここで、 w は xyz 座標系の (z) 軸方向流速 [m/s]、 μ は血液粘度 0.004～0.05 Pa・s、 x は矩形管断面の底辺中央からの幅方向座標 [m]、 y は矩形管断面の底辺からの高さ方向座標 [m]、 dz は矩形管長さ 30cm、 H 及び W は矩形管の高さ寸法及び幅寸法で共に 5mm である。 dp は流入口圧力 250Pa と流出口圧力 0Pa の差分 250Pa とした。これは矩形管をすべりなし壁(流速ゼロ)とし、実際の人工透析で一般的に設定される流量 180ml/分^[14]付近をガラス管内で実現するための圧力値である。

深さ 0 μ m である管壁における流速はすべりなし壁であるため理論的には 0 である。しかし光学的観察では流れの表層部分、即ち内壁に接した赤血球を観察することになる。そのため内壁に接した赤血球にせん断応力が働き、流速分布が生じる。よって管壁より深さ 8 μ m を関心領域として計算を行った。

Fig. 3.6 に矩形管内壁より 8 μ m の面における軸方向流速分布の計算結果を示す。円管の断面の流速分布は 2 次関数である放物線になることが知られているが、6 段階の粘度設定で得られた流速分布はいずれも 6 次関数で近似することができた。矩形管の壁面に近い層での流速分布は壁面に平行な面と垂直な面の放物線型曲線の交わる流速になっているため次数の高い放物線形状が求められる。

Table 3.1 2種類の相関領域に対する画像相関平均値

	画像相関平均値
長方形型相関領域	0.6143
放物線型相関領域	0.6244

例として Fig. 3.7 に示す画像を用いて放物線型相関領域を適用させた。Fig3.7 における試料の凝集剤濃度は 0.15% であり、画像上の流れ中央での粒子移動の追跡により流速約 5.2mm/sec を得られた。最大流速をこの値になるように 6 次関数の次数を最適調整して放物線型相関領域を設計したところ、管中央で 137 ピクセル (0.883mm) だけ流れ方向に突出する形状を得た。この放物線型相関領域を用いた計算結果と前節における計算結果の比較を Table 3.1 に示す。結果より 0.0101 の上昇を得た。また、全試行に同様に放物線型相関領域を設計、適用したところ、平均値で 0.0520 の上昇を得た。これは、流れ前の相関領域に含まれる粒子群を放物線型相関領域で捉えることができたことを示し、長方形型相関領域では凝集径を誤推定していたこととなる。

Table3.1 の誤差を Fig. 3.5 を元に評価する。凝集径を D 、画像相関平均値を ρ とすれば、近似式は $\rho = 3.034 \times 10^{-4}D + 0.6008$ で得られる。凝集径 $D=46\mu\text{m}$ の時の相関値は $\rho=0.6143$ であるが、放物線型相関領域を基準とした場合には長方形型相関領域では $\Delta\rho=-0.0101$ の誤差が見込まれる。このため、 $\rho=0.6244$ の時の $D=78.67\mu\text{m}$ が真の凝集径により近い値であると考えられ、その差 $\Delta D=32.67\mu\text{m}$ が長方形型相関領域を適用した場合の誤差として評価される。この値は画像内における凝集体及び単独粒子一つ一つの平均粒径が $32.67\mu\text{m}$ 大きいことを示している。本実験で用いたアクリル粒子サイズ $46\mu\text{m}$ に対し $32.67\mu\text{m}$ の誤差の比率から赤血球における誤差レベルを推定すると、赤血球 $8\mu\text{m}$ に対し誤差 $5.681\mu\text{m}$ の誤差が生じることがわかる。文献[12]より Dex70 濃度に対する赤血球の凝集径分布 (Ht5%) の関係の図を Fig3.8 に示す。この図より $5.681\mu\text{m}$ の誤差が Dex70 濃度を 0.05% 変化させた時の凝集径変化に匹敵することが推定される。

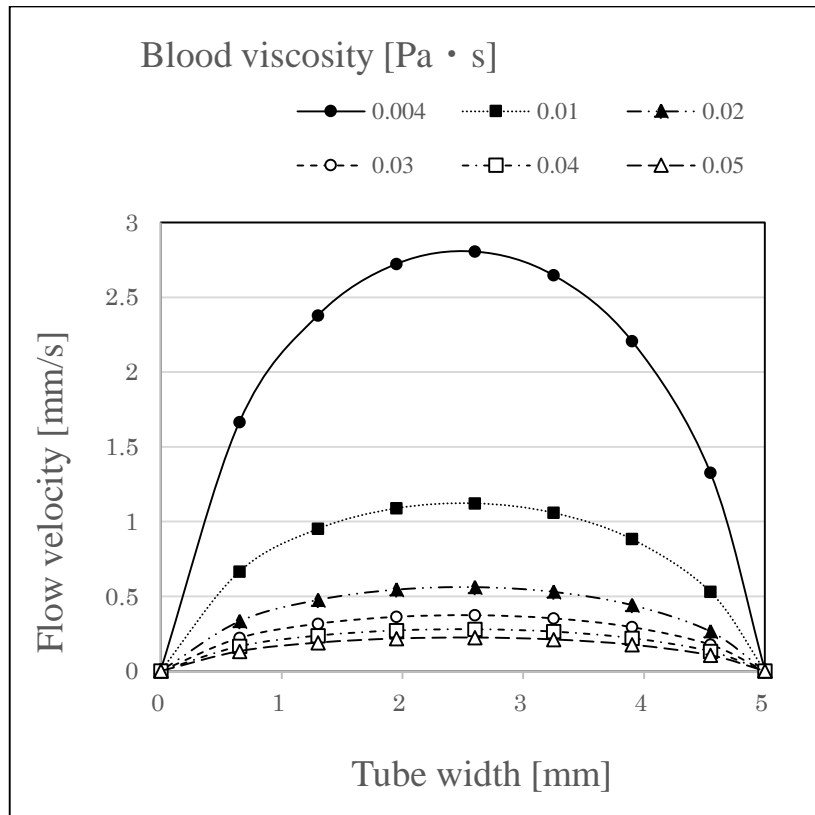


Fig. 3.6 断面 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 矩形管内壁より $8\mu\text{m}$ の面における軸方向流速分布

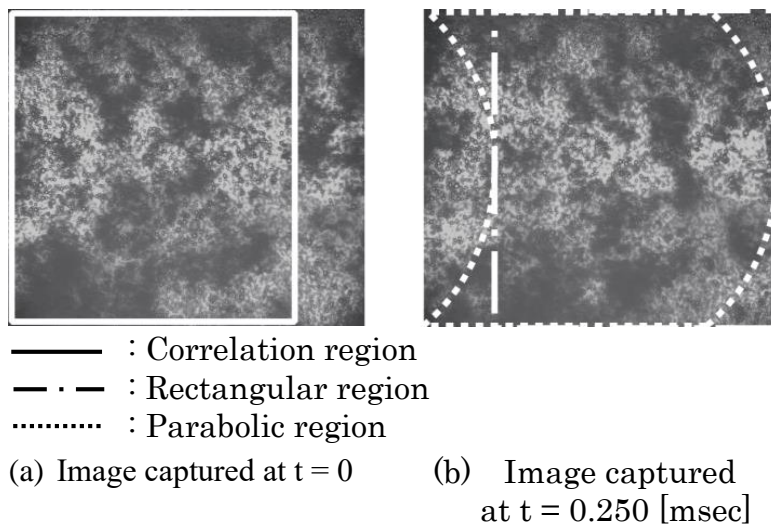
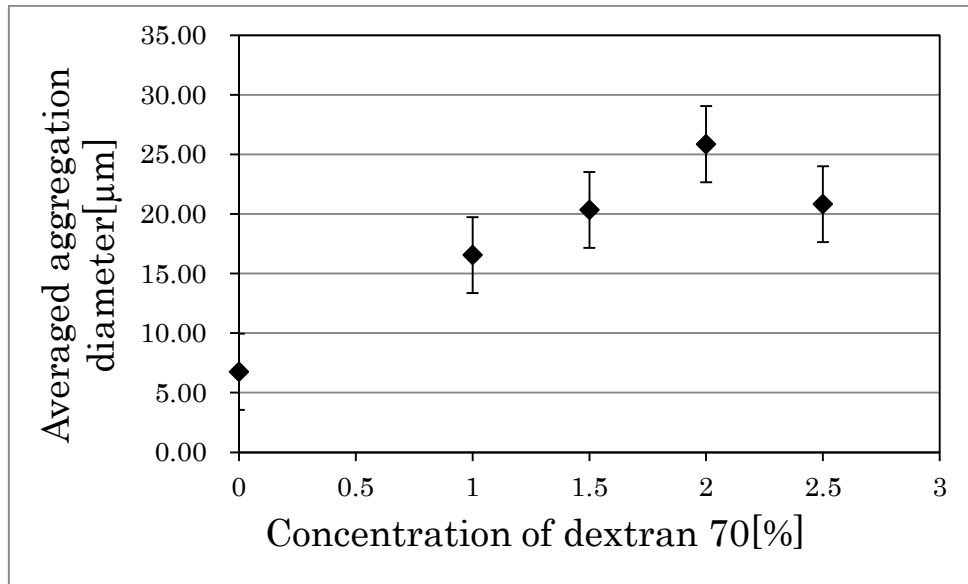


Fig.3.7 実際の画像上での相関領域の形状比較



出所:「ブタ血液における赤血球凝集度と超音波スペクトルピークの関係」, 電学論 C, Vol.136 No.10 pp.1437-1444 (2016)

Fig.3.8 Dex70 濃度に対する凝集径の関係

3-2 ブタ血液試料における凝集制御と相関値の関係

3-2-1 凝集剤にデキストラン 70 を使用した場合

Ht5%血液試料に増粘剤としてCMCを0.1wt%で混ぜ、Dex70濃度0～2.0wt%の範囲で4段階となるよう血液試料を作製し、実験を行った。Dex70濃度を0～2.0wt%で4段階に変化させ、CCDカメラの視野範囲330 μ m×440 μ m、相関窓のデータサイズを50×50ピクセル(32 μ m×32 μ m)として実験を行い、画像相関平均値を求めたところ、Fig.3.9のような結果を得た。相関窓のサイズは比較的大きい凝集体を囲った時のサイズとしており、画像相関平均値における相関窓サイズの影響は議論の余地を残している。Fig.3.10は実際の凝集剤濃度別の撮影画像例である。Dex70濃度0～2.0wt%の範囲で画像相関平均値0.13～0.24をとり、本手法で仮定した凝集度の上昇に伴い画像相関度が上昇する関係が示された。

この画像相関平均値0.13～0.24という値の有効性について検証する。一般的に画像相関平均値0.2周辺の値は画像相関法に基づいた研究に見られる数値水準と比べて非常に小さい値である。しかし、相関窓ごとの画像相関値を調査すると、凝集剤濃度の高い画像では相関値0.5以上の領域が複数存在していることがわかった。文献[15]では流れ場にトレーサ粒子を含ませ、画像相関で空間的濃度パターンを追跡することで流れ場の速度ベクトルを求める研究を行っている。これは本研究と「微粒子を含んだ流れ場に対する画像相関」という点で共通している。この文献の項目の一つに、相関の最大値に閾値0、0.5、0.7の3点を設定した際の速度ベクトル分布への影響を調べている(Fig.3.11)。その結果では0.5、0.7を閾値に設定した時、速度ベクトル分布が求められない箇所、即ちFig.3.11における空白の部位が生じていた。この結果は0.5以上の相関は高相関領域であることを示している。本研究における高相関領域は凝集体の存在している領域であり、画像相関平均値に差を生む主要因として考えられる。よって本節で得られた結果は凝集度測定に有用な結果であるといえる。

血液試料の粘度を比較すると、画像相関平均値0.11で0.51mPa・sの差があることが明らかとなった。この結果は、「血液粘度の上昇が赤血球の凝集と強く関連して発生する事象」ということを模擬することができた。しかし実際には血液試料は生理食塩水による希釈を伴い、CMC及びDex70による粘度変化が生じており、この粘度はレオロジーの観点で本質的に原血液を模擬したものではない。実際の血液粘度ではHtの値が大きく影響することが知られている^[16]ので血液粘度と凝集度を対応付けるためには実際のHtの血液試料を用いた実験が必要となる。

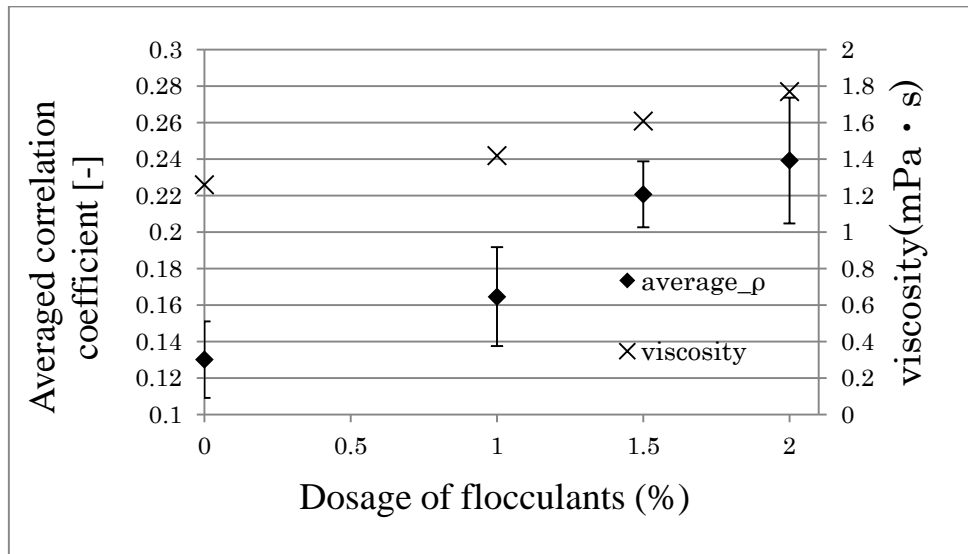
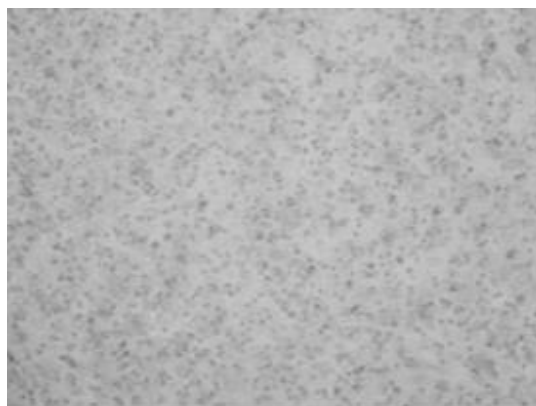
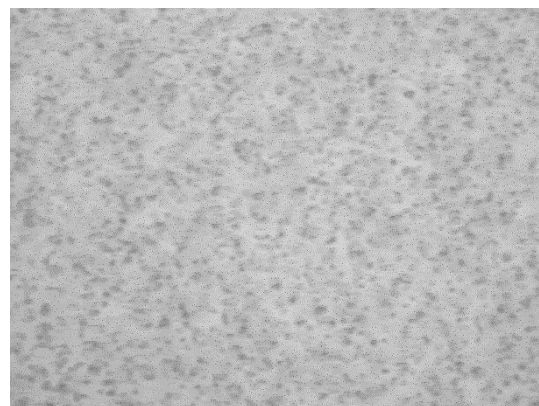


Fig.3.9 血液試料の Dex70 濃度に対する画像相関平均値の関係



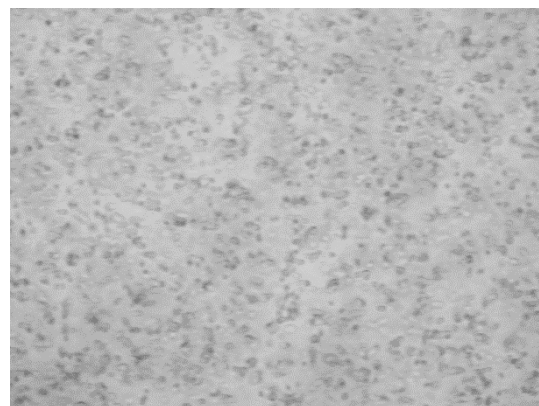
(a) 0.0wt%



(b) 1.0wt%

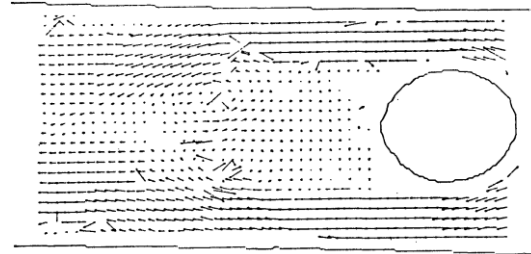


(c) 1.5wt%

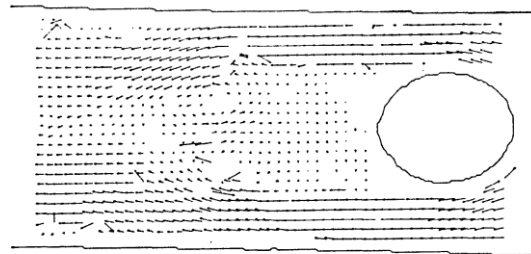


(d) 2.0wt%

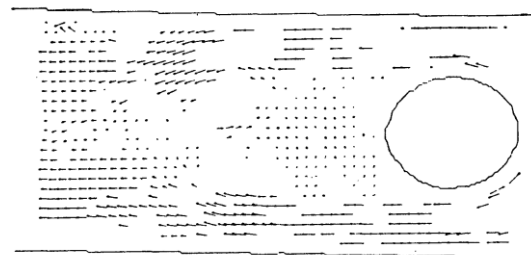
Fig. 3.10 Dex70 濃度変化による試料画像



(a) $R_{fg}(k_s, l_s) \geq 0.0$



(b) $R_{fg}(k_s, l_s) \geq 0.5$



(c) $R_{fg}(k_s, l_s) \geq 0.7$

出所:「相関を利用した流れ場の速度ベクトル分布の画像計測」,計測自動制御学会論文集、Vol.23 No.2(1987)

Fig. 3.11 閾値による速度ベクトル分布への影響

3-2-2 凝集剤に CMC を使用した場合

Ht5%血液試料に CMC 濃度 0.1wt%、0.5wt%、1.0wt%の3段階で血液試料を作製し、実験を行った。前節では増粘剤として使用していた CMC を本節では凝集剤として使用している。CMC 濃度 0%の試料は粘度が低いことで赤血球の沈殿が生じ、赤血球の視認性が低くなったため使用しなかった。それぞれの試料で CCD カメラの視野範囲 $330\mu\text{m} \times 440\mu\text{m}$ 、相関窓のデータサイズを 50×50 ピクセル ($32\mu\text{m} \times 32\mu\text{m}$) として実験を行い、画像相関平均値を求めたところ、Fig.3.12 のような結果を得た。Fig.3.13 は実際の凝集剤濃度別の撮影画像例である。Dex70 に比べ、凝集剤濃度間の画像相関平均値の差が顕著に現れた。これは、Dex70 に比べて凝集反応が大きいことを示している。3-2-1 節同様相関窓ごとに相関値を調べると高相関領域が複数存在しており、平均値を高める要因となっている。CMC 濃度 0.1~1.0wt%の範囲で画像相関平均値 0.13~0.30 をとり、血液試料の粘度を比較すると、画像相関平均値 0.27 で $3.42\text{mPa} \cdot \text{s}$ の差があることが明らかとなった。しかし、この粘度も前節同様、主に CMC 濃度に依存した粘度であり、本質的なそれとは異なり凝集度と血液粘度を対応付けることはできない。凝集度と血液粘度の定量的な関係性を示すためには、少なくとも純粋な血液試料の Ht、血液粘度、凝集度をそれぞれ測定する必要がある。

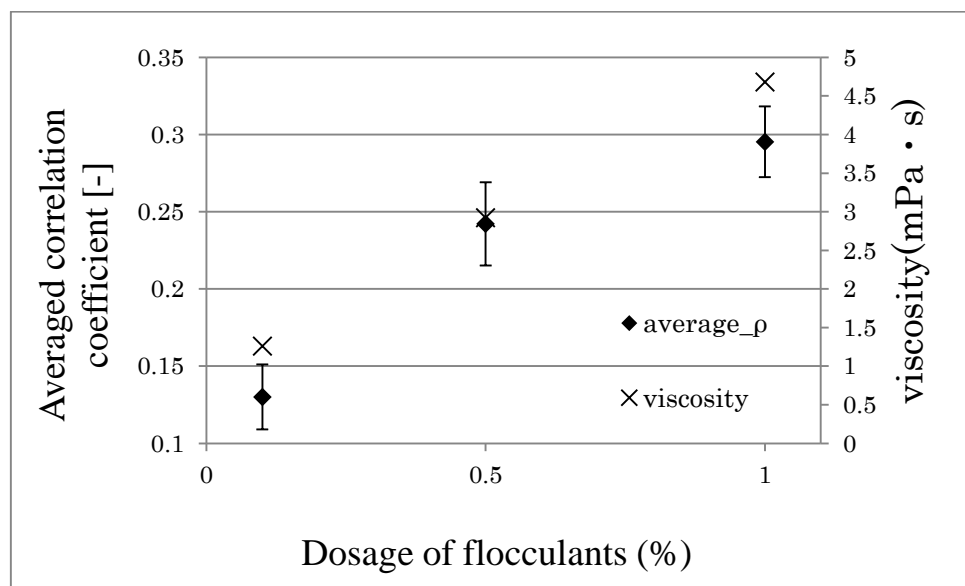
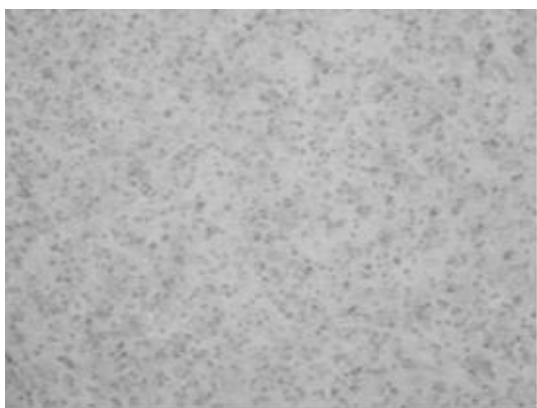
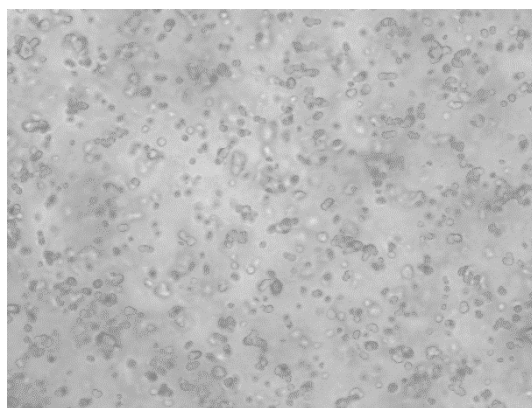


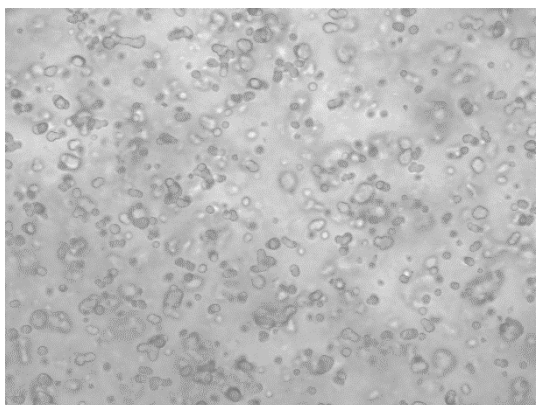
Fig. 3.12 血液試料の CMC 濃度に対する画像相関平均値の関係



(a) 0.1wt%



(b) 0.5wt%



(c) 1.0wt%

Fig. 3.13 CMC 濃度変化による試料画像

3-2-3 放物線型相関領域について

ブタ血液を用いた実験ではアクリル粒子を用いた実験と違い、断面 $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ のアクリル管を使用した。3-1-3 節同様 (3) 式を用いて矩形管内の流速分布を計算した結果を Fig. 3. 14 に示す。計算条件は断面を $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ とした以外は 3-1-3 節同様である。Fig. 3. 6 と Fig. 3. 14 の比較を例として血液の標準的な粘度である $0.004\text{Pa} \cdot \text{s}$ の結果を用いて行う。Table 3. 2 にそれぞれの実験における視野範囲内の最大流速と最小流速を記載する。結果より、断面 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ の矩形管に比べ断面 $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ の矩形管では関心領域における流速の差が小さいことがわかる。よってブタ血液を用いた実験では放物線型相関領域は適用しなかった。しかし、実際には 2 次流の影響や、流れの中での凝集、分散等考慮する点が存在しており今後の課題である。

Table3.2 粘度 $0.004\text{Pa} \cdot \text{s}$ における 2 つの実験条件の流速の差

	最大流速[mm/s]	最小流速[mm/s]
Fig. 3.6(断面 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 矩形管) 視野範囲 $3.3\text{mm} \times 4.4\text{mm}$	約 2.8	約 1.9
Fig. 3.13(断面 $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ 矩形管) 視野範囲 $330\mu\text{m} \times 440\mu\text{m}$	約 0.8	約 0.8

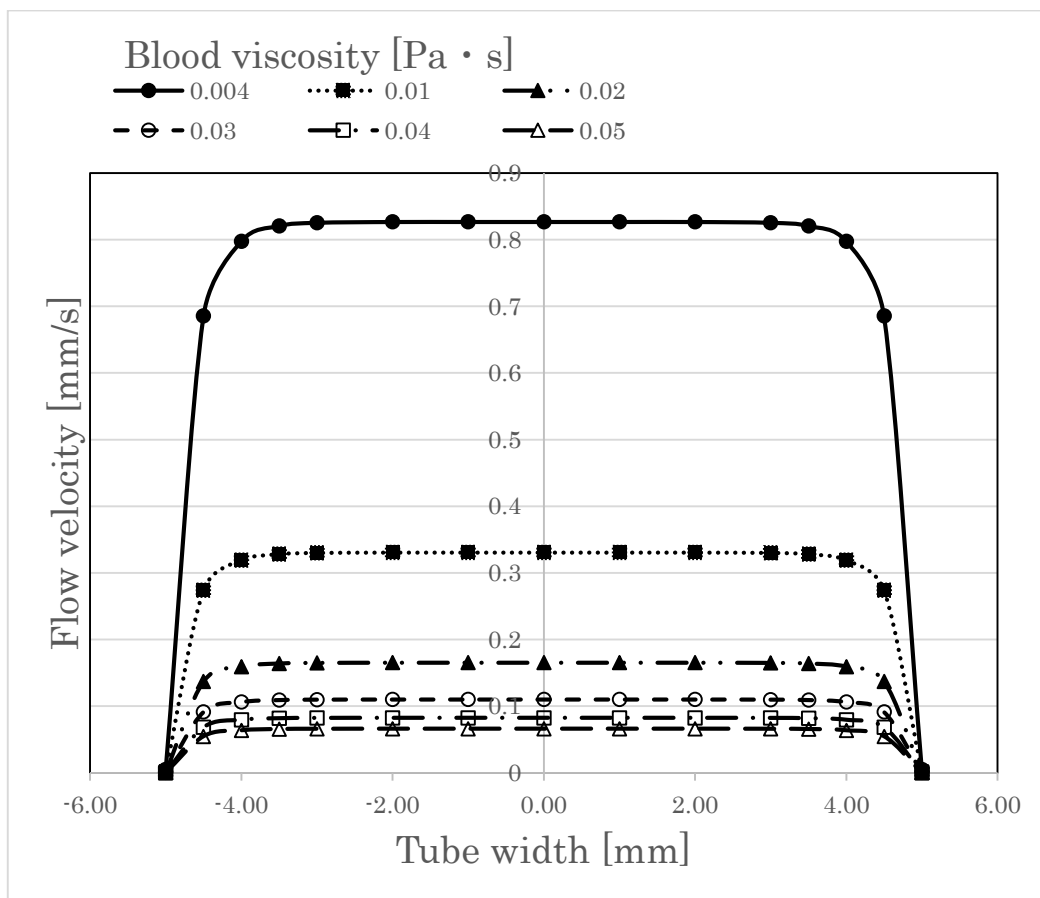


Fig. 3.14 断面 $1\text{mm} \times 10\text{mm}$ 矩形管内壁より $8\mu\text{m}$ の面における軸方向流速分布

4. 結論

本研究では、血液粘度推定の光学的手法として、模擬赤血球を使用した実験に加え、新たに実際のブタ血液試料を用いて有効性を検証した。結果として赤血球の凝集度と画像相関値の間に定量的関係があることが確認できた。今後は血液の Ht を調整せずに、本研究の原理を確かなものとし、画像相関値と血液粘度の間の定量的な関係を明らかにしていくことが目標である。

5. 参考文献

- [1] G. D. O. Lowe, J. M. Lowe, M. M. Drummond, S. Reith, J. J. F. Belch, C. M. Kesson, A. Wylie, W. S. Foulds, C. D. Forbes, A. C. MacCuish, W. G. Manderson: “Blood viscosity in young male diabetics with and without retinopathy” *Diabetologia*, Vol. 18, No. 5, pp. 359-363 (1980)
- [2] M. Melli, M. Poggi, L. Codeluppi, P. Baraldi, F. Torlai, M. Peduzzi: “Blood viscosity and erythrocyte deformability in diabetic retinopathy”, *Diabetologia* Vol. 13, No. 3, pp. 371-374 (1983)
- [3] S. M. MacRury, M. Small, A. C. MacCuish, C. D. Lowe: “Association of hypertension with blood viscosity in diabetes”, *Diabetic Med.*, Vol. 5, No. 9, pp. 830-834 (1988)
- [4] E. Franceschini, B. Metzger, and G. Cloutier: “Forward Problem Study of an Effective Medium Model for Ultrasound Blood Characterization”, *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, Vol.58, No.12 (1992)
- [5] 長谷川英之;金井浩 :「赤血球凝集度の超音波計測に関する研究」,ナノ医工学年報,(2011)
- [6] C. Wagner a , P. Steffen a , S. Svetina : “Aggregation of Red Blood Cells: From Rouleaux to Clot Formation”,(2013)
- [7] Chabanel A, Horellou MH, Conard J, and Samama MM. Red blood cell aggregability in patients with a history of leg vein thrombosis : “Influence of postthrombotic treatment.” *Br J Haematol* 88, 174-179,(1994)
- [8] Schmid-Schönbein H and Volger E. “Red-cell aggregation and red-cell deformability in diabetes.” *Diabetes* 25, 897-902,(1976)
- [9] 古江増隆;増田禎 一;渡部正夫;真田俊之;澤江義則 : 「ヒト皮膚毛細血管動脈ループの高速観察と血流動態解析」, 福岡醫學雜誌. 96, (6), pp. 277-277

- [10] Y. I. Cho, M. P. Mooney, D. J. Cho: "Hemorheological Disorders in Diabetes Mellitus", J. Diabetes Sci. Technol., Vol. 2 (6), pp. 1130–1138 (2008)
- [11] 山岸直生：「画像相関法に基づいた血流体外循環時における血液粘度評価方法に関する研究」, 首都大学東京大学院, 修士論文 (2014)
- [12] 佐藤隆幸;渡邊祥;花田洋輔：「ブタ血液における赤血球凝集度と超音波スペクトルピークの関係」, 電学論 C, Vol.136 No.10 pp.1437-1444 (2016)
- [13] 渡辺敬三：「流体力学 - 流れと損失 - 」, 丸善 (2002)
- [14] 鈴木一裕;神田英一郎;菅野義彦：「透析時血流量が心拍出量に及ぼす影響」, 透析会誌 48(4);239～242 (2015)
- [15] 木村一郎;高森年;井上隆：「相関を利用した流れ場の速度ベクトル分布の画像計測」, 計測自動制御学会論文集、Vol.23 No.2(1987)
- [16] 磯貝行秀;飯田晃;千勝征生;望月紘一;横瀬琢男;阿部正和：「3)血液レオロジー的アプローチ」, 糖尿病 18 巻 1 号(1975)
- [17] 佐藤隆幸・須永涼・山岸直生：「画像相関法に基づいた体外循環時の赤血球凝集度評価方法に関する検討」, 電学論 C, Vol.136 No.10 pp.1437-1444 (2016)

6. 謝辞

本研究を進めるにあたり終始適切な助言、知識を頂いた渡部泰明教授、佐藤隆幸助教に厚く御礼申し上げます。また、日頃から研究に協力して頂いた研究室の皆さまに深く感謝いたします。