

博士学位論文要約 (平成24年3月)

# 内皮機能評価のための橈骨動脈壁粘弾性特性の 血流依存性弛緩反応による変化の 超音波計測に関する研究

池下 和樹

指導教員：金井 浩， 研究指導教員：長谷川 英之

## A Study on Ultrasonic Measurement of Transient Change in Viscoelasticity due to Flow Mediated Dilation of Radial Arterial Wall for Evaluation of Endothelial Function

Kazuki IKESHITA

Supervisor: Hiroshi KANAI, Research Advisor: Hideyuki HASEGAWA

The endothelial dysfunction is considered to be an initial step of atherosclerosis. Consequently, it is important for early preventive treatment to noninvasively assess the arterial wall properties, such as the endothelial function and the mechanical property of the media. In the present study, we proposed new noninvasive methods for measurement of the stress-strain relationship of the radial arterial wall and estimation of the viscoelasticity from the stress-strain relationship using the least-squared method. Moreover, to reduce the operator dependence, a method using template matching between the measured ultrasonic RF signal and the adaptive model signal was developed for the automatic detection of the objective boundaries of the radial artery. The proposed method was applied to the human radial artery and the transient change in viscoelasticity due to Flow-Mediated Dilation (FMD) was measured. The measured static elasticity temporally decreased (about 300 kPa), and the viscosity, which was estimated noninvasively for the first time by the proposed method, temporally increased (about 30 kPa·s) after recirculation. These results show a potential of the proposed methods for the thorough analysis of the transient change in viscoelasticity due to FMD.

### 1. はじめに

近年、脳血管障害や虚血性心疾患などの循環器系疾患の増加が大変大きな問題となっている。また、世界的にも死因の上位となっており、早期の診断や治療が必要とされている。これらの循環器系疾患は動脈硬化症を主因として発症するとされており、動脈硬化症の早期診断は重篤な疾患の予防や高いQOLの確保、また医療コストを低減するためにも大変重要である。

血管壁は大別して内膜層、中膜層、外膜層の3層から成る。Rossらによって提唱された障害仮説によると、動脈硬化症は血管の内側から進行するとされている[1]。さらに、動脈硬化症の初期段階では、血管中膜を構成している平滑筋の形質の変化が起こることも報告されている[2]。ゆえに、動脈硬化症の早期診断のためには血管最内層を覆う内皮細胞の機能や、血管壁に粘弾性効果を与えている平滑筋の力学的特性の計測・評価が重要となる。

内皮細胞は血流によるずり応力に反応して一酸化窒素(NO: nitric oxide)を生成し、血管中膜平滑筋を

弛緩させる機能を持つ[2]。高血圧や喫煙などの危険因子により内皮細胞の障害が進行すると、NOの生成が減少するために血管の伸展性が低下する。平滑筋細胞は、形態学的に収縮型と合成型とに区分され、それぞれ異なる機能を有している[3]。動脈硬化発症時には、内皮障害とともに平滑筋細胞はその表現型を収縮型から合成型に変化させ、増殖因子に反応して内膜に遊走し増殖すると考えられている。

著者らは、内皮反応時における橈骨動脈壁の応力-ひずみ特性を非侵襲的に *in vivo* 計測する手法を開発した[4]。これにより、一心拍中において、血圧の変化とNOの作用する血管壁中膜を含めた内中膜領域の厚み変化を計測し、最小二乗法を用いて弾性係数と粘性係数が推定できる[5, 6, 7]。

### 2. 血管壁粘弾性パラメータの非侵襲推定の原理

#### 2.1 客観的な動脈壁境界検出の原理

本研究では、動脈壁のひずみ波形を計測するため

に本研究グループで開発された位相差トラッキング法 [8]を用いる。このひずみ推定において、内腔—内膜境界(LIB)および中膜—外膜境界(MAB)を、得られた超音波データより検出する必要がある。ここで、計測者間の誤差を低減するためには、LIBとMABそれぞれの位置を客観的に決定する必要がある。本研究では、複素テンプレートマッチングを用いた自動的かつ客観的な動脈壁境界検出法 [9]の可変モデルの最適化を行うとともに、ゴムシートを用いた基礎実験によってその精度評価を行った。

本研究では、橈骨動脈後壁からの波形を参照して最適なモデルの構築を目指す。まず、動脈後壁からの反射波は内中膜領域からの散乱波の重畳を考慮して、3つの波の線形和でモデル化を行った。また、各々のエコーは中心周波数  $f_0$  の複素正弦波とハニング窓  $w(t)$  の積を用いて、以下のように設定した。

$$\hat{z}(nT_s) = \hat{z}_1(nT_s) + \hat{z}_2(nT_s) + \hat{z}_3(nT_s) \quad (1)$$

$$\hat{z}_i(nT_s) = C_i \exp[j2\pi f_0(nT_s - \tau_i)] \cdot w_i(nT_s - \tau_i), \quad (2)$$

( $i=1, 2, 3$ )

$$w_i(nT_s) = \begin{cases} 0.5 - 0.5 \cos\left(\frac{2\pi f_0 nT_s}{N}\right), & \tau_i \leq nT_s < \tau_i + NT_s \\ 0 & \tau_0 \leq nT_s < \tau_i, \quad \tau_i + NT_s \leq nT_s \end{cases} \quad (3)$$

ここで、 $\{C_i\}$  はモデル波形の複素振幅、 $\{\tau_i\}$  はモデル波形の時間遅延、そして  $n$  は超音波パルス内の中心周波数成分の周期を示す。複素信号を得るために、計測された超音波信号には直交検波を適用した。モデル波形の中心周波数  $f_0$  は、離散フーリエ変換(DFT)を用いて計測波形のパワースペクトルのピークを推定した後に、計測波形の解析範囲全体での複素自己相関(遅延時間は1サンプリングポイント)を用いて決定した。その後、複素振幅 $\{C_i\}$  および遅延時間 $\{\tau_i\}$  ( $i=1, 2, 3$ )は、モデル波形と実測波形の正規化二乗平均誤差(MSE)が最小となるように決定する。

## 2.2 動脈壁応力—ひずみ特性の非侵襲的計測の原理

本研究では、動脈壁の粘弾性率を算出し、粘弾性特性を詳細に計測・解析するために応力—ひずみ特性( $\tau(t) - \gamma(t)$ )を計測する必要がある。血管壁において、応力  $\tau(t)$  とひずみ  $\gamma(t)$  はそれぞれ血圧  $p(t)$  と壁の厚み変化  $\Delta h(t)$  に対応し、応力—ひずみ特性( $\tau(t) - \gamma(t)$ )を取得するためにそれぞれの連続波形を計測する必要がある。

一般的な血圧計では、最高および最低血圧のみの計測であったが、本研究では、橈骨動脈において血圧の連続波形が計測可能な特別な血圧計(トノメトリ血圧計: Colin, Jentow7700)を用いることで非侵襲的に血圧波形の計測を行った。トノメトリ血圧計は、圧力センサアレイを体表に押し当てることによって、

皮下組織が少なく(体表から近く)、背面を橈骨に支持されている橈骨動脈において血圧波形を計測する。さらに、本研究では、中心周波数: 22 MHz の超音波計測システムを構築し、ひずみ計測のために、本研究グループが開発した位相差トラッキング法を用いて橈骨動脈壁内中膜領域の微小な厚み変化波形  $\Delta h(t)$  を算出した。以上のようにして得られた応力  $\tau(t)$  とひずみ  $\gamma(t)$  から、橈骨動脈壁応力—ひずみ特性を非侵襲的に取得する。

## 2.3 最小二乗法を用いた粘弾性率推定の原理

平滑筋は主に血管中膜を構成し、血管壁に粘弾性特性を与える。この平滑筋を含む内中膜領域を一つの粘弾性体と考え、内中膜領域における応力  $\tau(t)$  とひずみ  $\gamma(t)$  の関係について Voigt モデルを仮定する。Voigt モデルを仮定した場合の応力  $\tau(t)$  とひずみ  $\gamma(t)$  の関係式を以下に示す。

$$\dot{\tau}(t) = E_s \cdot \dot{\gamma}(t) + \eta \cdot \dot{\gamma}(t) + \tau_0, \quad (4)$$

ここで、 $E_s$  と  $\eta$  はそれぞれ静的弾性率と粘性率である。また、本研究で計測するひずみは最低血圧からの増分応力によるひずみであるため、最低血圧に対応する応力  $\tau_0$  を加えてある。

応力に関する実測値(血圧波形)とモデルとの二乗誤差の時間平均値を以下に示す。

$$\alpha = E_t \{[\tau(t) - \hat{\tau}(t)]^2\}, \quad (5)$$

ここで、 $E_t[\cdot]$  は一心拍中の平均操作を表す。

本研究では推定精度向上のために、ローパスフィルタ(LPF[·])を用いてひずみ速度の高周波ノイズを低減した。これによって二乗誤差の時間平均値は、 $\alpha = E_t \{[\tau(t) - \hat{\tau}_{LPF}(t)]^2\} = E_t \{[\tau(t) - \hat{\tau}_{LPF}(t)]^2\}$  (6)

と書き直される。二乗誤差の時間平均値は 5 ~ 160 Hz の範囲のローパスフィルタのカットオフ周波数で  $\alpha$  を各々計算し、 $\alpha$  が最小となるカットオフ周波数を最適値として決定する。

## 3. 境界検出および粘弾性率推定に関する基礎実験

### 3.1 ゴムシートを用いた境界検出の基礎実験

ゴムシートは内部に散乱体を含んでおらず、デジタルマイクロメータ(新潟精機, MCD191-30WD)で計測した厚さは 0.455 mm であった。計測には超音波診断装置 (Dynamic Imaging, Diasus) の中心周波数 22 MHz (波長 70  $\mu\text{m}$ ) のリニアタイププローブを使用した。超音波ビームの本数は 64 本、フレームレートは約 320 Hz である。約 2 秒間にわたって計測された RF 信号は分解能 16 bit, サンプリング周波数 66.5 MHz で標本化される。

本計測では、内中膜領域からの散乱波を含む複雑な中膜—外膜境界(MAB)からの反射波形を模擬す

るために、超音波プローブとゴムシートとの間に散乱体(グラファイト粉末)を含むゼラチンを配置した。散乱波が重畳し複雑な波形となるゼラチンとゴムシートの境界(ゴムシート前面)は MAB を、単純な波形となるゴムシートと空気との境界(ゴムシート後面)は内腔-内腔境界(LIB)を模擬している。本実験では、ゴムシート前面からの反射波にゼラチン内部からの反射波が重畳している。そのため、モデル波形の順序を、重畳する散乱波( $z_1$ )、ゴムシート前面からの反射波( $z_2$ )、ゴムシート後面からの反射波( $z_3$ )としている。また、誤検出を低減するために、各波形の振幅に  $|C_1| < |C_2|$  および  $|C_3| < |C_2|$  と制限を設け MSE の評価を行った。さらに、ゴムシートの前面と後面の反射波の範囲は 400 ~ 600  $\mu\text{m}$  として検出を行った。

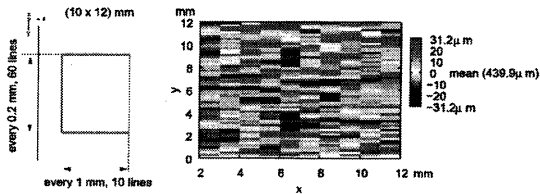


図2 2次元的に境界検出を行った結果。

図2に、ゴムシート上複数位置において境界検出を行った結果を示す。検出された厚さ(境界間の距離:  $t_3 - t_2$  に対応)は、 $440 \pm 31.2 \mu\text{m}$  であった。デジタルマイクロメータで計測された厚さ(455  $\mu\text{m}$ )と比較すると、誤差は 15  $\mu\text{m}$ 、約 3.3% となる。本手法を用いることで、計測者間の誤差を低減することができると考えられる。

### 3.2 シリコンゴム管を用いた粘弾性率推定に関する基礎実験

粘弾性パラメータ推定法の評価のために、血管を模擬したシリコンゴム管(外直径: 10 mm, 壁厚: 1 mm)を用いた基礎実験を行った。

循環系を模擬した水槽システムにシリコンゴム管を設置し、その内腔に拍動流ポンプにより拍動圧を印加する。その際の壁の厚み変化  $\Delta h(t)$  を位相差トラッキング法を用いて測定し、同時に内圧  $p(t)$  を圧センサによって計測する。取得された厚み変化  $\Delta h(t)$  と内圧  $p(t)$  からシリコンゴム管の粘弾性率( $E_s, \eta$ )を推定する。本計測においては、分散と正確さの評価のために、超音波ビーム 40 本においてそれぞれ得られた粘弾性定数の平均値と標準偏差を算出した。

さらに、精度評価のために、レーザー変位計(KEYENCE, VG-035)を用いた計測を行った。超音波計測時と同様、シリコンゴム管の外直径の変化  $\Delta d_e(t)$  をレーザー変位計を用いて測定し、同時に内圧  $p(t)$  を圧センサによって計測する。取得された外

直径変化  $\Delta d_e(t)$  と内圧  $p(t)$  からシリコンゴム管の弾性率  $E_{inc}$  を推定する。推定された弾性定数  $E_{inc}$  と超音波で計測された弾性率  $E_s$  を比較し、その精度を評価する。

$$E_{inc} = \frac{3}{2} \frac{d_0^2}{d_e^2 - d_0^2} \frac{\Delta p}{\frac{\Delta d_e(t)}{d_e}} \quad (7)$$

ここで、 $d_0$  は初期外直径(10 mm)、 $\Delta d_e$  は外直径の変化分、 $\Delta p$  は内圧の変化分である。

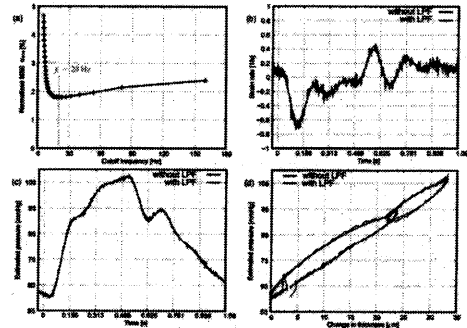


図3 LPFの効果(基礎実験)。

図3に基礎実験において用いたローパスフィルタ(LPF)のカットオフ周波数とMSEの関係、およびLPFの効果を示す。カットオフ周波数をMSEが極小値をとる値に設定すると、LPFによって高周波ノイズが顕著に減少しており、粘弾性パラメータ推定時の二乗誤差は2.3%から1.7%に減少していた。

精度評価のためにレーザー変位計を用いて15回計測を行い、得られた内圧-外直径関係からそれぞれ  $\Delta p/\Delta d$  を算出し、式(7)を用いて弾性率を算出した。それらの平均値は467 kPaとなった。超音波を用いて推定された弾性率の平均値は472 kPaとなった。この時、偏り誤差が約1.2% (約5 kPa)と非常に高精度に推定されている。また、粘性率の平均値は8.7 kPa·sであった。

### 4. ヒト橈骨動脈における *in vivo* 計測

図4に *in vivo* 計測におけるローパスフィルタ(LPF)の効果を示す(被験者 A, 1 回目)。図4(a)に示す通り、正規化二乗平均誤差は極小点を持ち、適切なカットオフ周波数( $f_c = 12.3 \text{ Hz}$ )を用いることによって、8.9% から1.2% にまで減少していた。図4(b)に実測および推定の血圧波形を示す。図4(c)に1心拍における橈骨動脈壁の応力-ひずみ特性を示す。ここで、非侵襲的に計測された橈骨動脈壁応力-ひずみ特性は、動脈壁の粘弾性を示す、ヒステリシスループを描くことが見て取れる。赤線のヒステリシスループは血圧計を用いて計測された実測値である。図4(c)内の黒線および青線はそれぞれ、LPFを用いた場合と用いない場合に推定された応力-ひずみ特性

である。ここで、大動脈弁の閉鎖の影響で生じる内圧の減少に由来すると考えられるヒステリシスループ内の小さなループが、適切な LPF 処理を行うことによって観察できるようになっていることが分かる。また、図 4(b), (c)内の水色線はカットオフ周波数を 5 Hz に設定した場合の推定血圧およびヒステリシスループである。カットオフ周波数を低く設定した場合、図 4(a) のように誤差が非常に大きくなる。

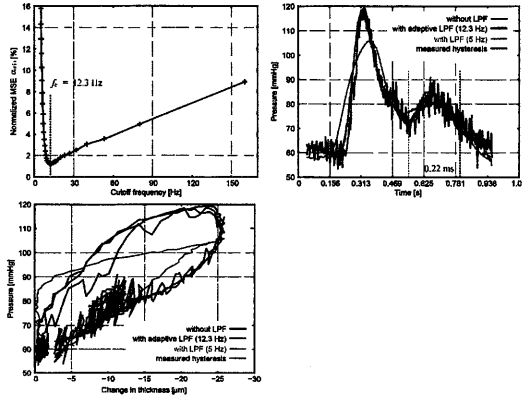


図 4 LPF の効果 (in vivo 計測)。

内皮反応時の動脈壁の応力-ひずみの関係をより明らかにするために、計測時の一心拍内の血圧  $p(t)$  と内中膜層の厚み変化  $\Delta h(t)$  の関係をプロットし、その時間推移を計測した(図 5)。こうして得られた、橈骨動脈壁応力-ひずみ特性  $\tau(t) - \gamma(t)$  は壁の持つ粘弾性から、ヒステリシスループを描き、その傾きや形状が血管反応時において徐々に変化していることも分かる。曲線の傾きは弾性率と対応しており、内皮反応時において徐々に小さく(軟らかく)なっていることが分かる。

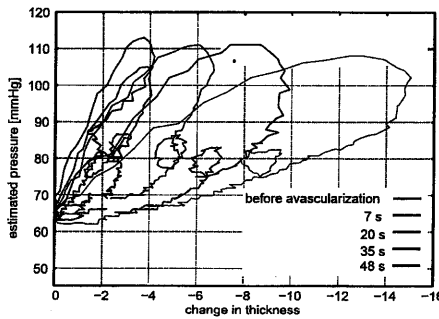


図 5 内皮反応による応力-ひずみ特性の経時的変化。

図 6 に応力-ひずみ特性  $\tau(t) - \gamma(t)$  から最小二乗法を用いて推定した橈骨動脈における内中膜領域的弾性率  $E_s$  と粘性率  $\eta$  の平均値と標準偏差 (超音波ビーム 5 本分) の時間推移を示す。図 6 において、静的弾性率  $E_s$  は、安静時の平均値と比較すると、駆血解除後に約 63% (308 kPa) の減少が確認でき

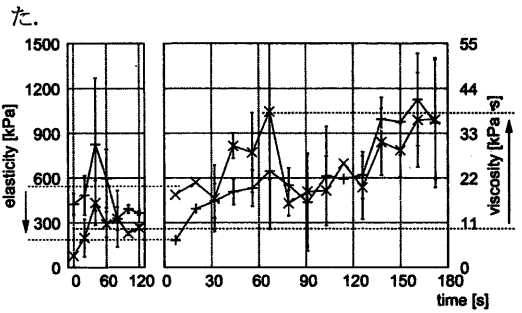


図 6 内皮反応による粘弾性係数の経時的変化。

また、粘性率  $\eta$  は駆血解除直後には駆血前と比べ、大きい値をとっており、その後徐々に減少していく様子が確認できた。安静時の平均値と比較すると、約 303% (28.7 kPa·s) の一時的な増加が確認された。

5. まとめ

本手法を用いることで、従来法では in vivo 計測できなかった血管壁の粘弾性特性を計測して、中膜平滑筋の特性を評価できると同時に、血管反応による血管壁の粘弾性の変化も捉えられていることから、内皮機能も評価できる可能性がある。

謝辞

本研究は、日本学術振興会からの助成による(特別研究員奨励費: 21-3796)。ここに、関係各位に深く感謝致します。

文献

- 1) R. Ross, N. Engl. J. Med., 340 (1996) 115.
- 2) 松沢佑次, 日本臨床, 51 (1993) 1951.
- 3) 山本満里, 山本清高, Jpn. J. Clin. Med., 51 (1993) 1980.
- 4) K. Ikeshita, H. Hasegawa, and H. Kanai, Jpn. J. Appl. Phys. 47 (2008) 4165.
- 5) K. Ikeshita, H. Hasegawa, and H. Kanai, Jpn. J. Appl. Phys. 48 (2009) 07GJ10.
- 6) K. Ikeshita, H. Hasegawa and H. Kanai, Jpn. J. Appl. Phys. 50 (2011) 07HF08.
- 7) K. Ikeshita, H. Hasegawa and H. Kanai, Jpn. J. Appl. Phys. 51 (2012) (in press).
- 8) H. Kanai, M. Sato, Y. Koiwa, and N. Chubachi: IEEE Trans. on Ultrason. Ferroelect. Freq. Control, 43 (1996) 791.
- 9) T. Kaneko, H. Hasegawa, and H. Kanai: Jpn. J. Appl. Phys., 46 (2007) 4881.