

博士論文

LED を光源とする光音響イメージングを用いた
血液体外循環回路における
血液凝固予知保全システムの研究

Research on blood coagulation prediction
maintenance system in extracorporeal circulation
circuit using LED-based photoacoustic imaging

2020 年 12 月

帝京科学大学大学院 理工学研究科
博士後期課程 先端科学技術専攻
和部 崇洋

目次

第1章 緒言	1
1.1 研究背景	2
1.2 血液体外循環療法例と血液凝固の問題点	3
1.3 光音響イメージング法	7
1.3.1 光音響イメージング法の歴史	7
1.3.2 光音響イメージング法の原理	9
1.4 本研究の目的	11
1.5 本論文の構成	11
1.6 参考文献	13
第2章 測定対象となる血液の経時的な凝固反応の基準について	21
2.1 血液凝固の機序について	22
2.2 凝固系・抗凝固系検査	26
2.3 測定対象となる血液の経時的な凝固反応の基準について	29
2.3.1 背景	29
2.3.2 マイクロチューブ内の経時的血液凝固評価法の確認	30
2.3.3 小括	32
2.4 参考文献	33
第3章 マイクロチューブを用いての血液体外循環回路内を模擬した血液凝固の経時的变化測定	35
3.1 背景と目的	36
3.2 本研究で用いる光音響イメージングについて	36
3.2.1 光音響イメージング測定機器について	36
3.2.2 AcousticXについて	38
3.3 マイクロチューブ内の血液凝固時の光音響波変化の有無について	40
3.3.1 測定機器の構成	41
3.3.2 超音波イメージングを用いた光音響現象の測定結果	42
3.3.3 抗凝固剤を用いた光音響波の経時的变化	49
3.3.4 考察	50
3.4 測定輝度範囲の選定	52

3.4.1	背景と目的	52
3.4.2	測定輝度範囲の選定	52
3.4.3	考察	67
3.5	測定部位の選定	67
3.5.1	背景と目的	67
3.5.2	測定部位の選定	67
3.5.3	考察	76
3.6	マイクロチューブ内での経時的な血液凝固の変化を用いての 予知保全プログラム	76
3.6.1	背景と目的	76
3.6.2	選定した輝度レベルと測定部位への超音響イメージング結果	76
3.6.3	MATLABによる学習プログラム作成の可能性について	78
3.6.4	考察	84
3.7	総括	84
3.8	参考文献	86
第4章	血液体外循環回路を用いての血液体外循環療法時を模擬した血液凝固の 予知保全システムの可能性について	89
4.1	背景と目的	90
4.2	血液体外循環回路内での血液凝固の状況と凝固までの時間について	91
4.2.1	使用する血液	91
4.2.2	血液体外循環回路のショートカット	92
4.2.3	凝固促進剤	92
4.2.4	血液体外循環回路内での凝固発生時の判断基準について	93
4.2.5	血液体外循環回路を用いた血液凝固状態確認の実験系	94
4.2.6	血液体外循環回路を用いた血液凝固状態確認の結果	95
4.2.7	考察	96
4.3	血液体外循環回路内血液凝固の経時的超音響波の変化確認	97
4.3.1	測定機器の構成	97
4.3.2	血液体外循環回路内血液凝固の経時的超音響波変化の測定結果	99
4.3.3	考察	100
4.4	血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定	101
4.4.1	背景と目的	101
4.4.2	輝度範囲の選定	101
4.4.3	測定部位の選定	103

4.4.4 考察	108
4.5 血液体外循環回路内での経時的な血液凝固変化への予知保全プログラム試作	108
4.5.1 背景と目的	108
4.5.2 MATLAB の機械学習を用いた予知保全プログラムの試作	109
4.5.3 考察	115
4.6 総括	115
第5章 結言	117
謝辞	121

第 1 章

緒言

1章では、研究背景、研究背景の主となる血液体外循環療法の種類、本研究の必要性や、本研究で用いる測定方法の超音響イメージングについて触れる。さらに、研究の目的と、本論文の構成を記した。

1.1 研究背景

血液を体外に排出しての血液体外循環療法は、血液透析と人工心肺（cardio pulmonary bypass : CPB）に代表される治療法である。その中で最も普及している血液浄化療法は、その技術が進歩するにつれて、自己免疫疾患や肝不全のアフェレーシス治療などにも応用される。これらの治療法は血液の体外循環を利用した治療法であり、血液は治療中にローラーポンプによって体外に引き出され、血液回路やダイアライザなどの人工異物と接触する。人工異物と接触した血液は、血液凝固を引き起こすことが知られている。現在、血液凝固を防ぐためにさまざまな試みがなされており、抗凝固剤（ヘパリンなど）を使用した予防方法が主流になっている。また、人工肺と遠心ポンプを用いた体外循環の ECMO 回路にはヘパリンのコーティングが施されている。しかしながら、長時間の体外循環ではヘパリンの失活や、血液の医用材料に対する長時間の接触による凝固系活性により、回路表面や透析器内での血液凝固を完全に防ぐことは困難である。[1-11]

血液体外循環回路で血液凝固が生じたときは急速な対応が必要となる。そこで、血液体外循環回路内の血液凝固を事前に察知して、血液凝固による血液体外循環回路内の閉塞への早期対応が可能となる予知保全のシステム化が必要とさ

れている。予知保全を行うにあたって、血液凝固による血栓などが形成される過程を感知する必要がある。現在、血液凝固時に回路内に発生する振動や、光の透過などの血液凝固観測のためのアプローチは様々考えられる[12-15]が、実用化されているものはない。

1.2 血液体外循環療法例と血液凝固の問題点

血液を体外に排出して必要な治療を行う血液体外循環療法は多様に存在する。主だった血液体外循環療法を以下に示す。

① 血液透析 (Hemodialysis : HD)

拡散が起こりやすい分子量の小さい物質の除去に優れている。主に、リンやカリウムなどの電解質や、尿素などが対象となる。

② 血液濾過 (Hemofiltration : HF)

原理として限外濾過が用いられ、ヘモフィルタ（血液濾過器）を通して、血液中の水分と老廃物、電解質を濾液として除去する。拡散にて除去しきれない中分子量物質に対しては、限外濾過を推進力として除去を行う。

③ 血液濾過透析 (Hemodiafiltration : HDF)

HD と HDF を組み合わせ、小分子から中分子量物質の尿毒素物質を幅広く除去する。

④ 持続的腎代替療法 (Continuous Renal Replacement Therapy : CRRT)

敗血症または高サイトカイン血症などに対して行われる。循環動態に急な変

化を与えず、持続的に補液と同時に水分を除去する治療である。CRRTには用途によって以下のように分類される。

- ・ 持続的血液濾過透析 (Continuous Hemodiafiltration : CHDF)
 - ・ 持続的血液濾過 (Continuous Hemofiltration : CHF)
 - ・ 持続的血液透析 (Continuous Hemodialysis : CHD)

⑤ 血漿交換療法

全血から血漿成分を分離して、血漿成分から病因物質を除去することを目的としている。

- ・ 単純血漿交換 (Plasma exchange : PE)
- ・ 二重濾過血漿交換 (Double Filtration Plasmapheresis : DFPP)

⑥ 活性炭吸着法

薬物中毒、肝性昏睡の治療に用いられ、血液を直接活性炭カラムで病因物質を除去する。以下のような種類が存在する。

- ・ 血液吸着 (Hemoadsorption : HA)
- ・ 血漿吸着 (Plasma Adsorption : PA)

- ・ エンドトキシン吸着療法 (PMX-Direct Hemoperfusion : PMX[®]-DHP)
- ・ β_2 -MG 吸着療法 (β_2 -microglobulin adsorption)
- ・ LDL 吸着療法 (LDL adsorption)
- ・ 免疫吸着療法 (Immunoadsorption Plasmapheresis : IAPP)
- ・ 白血球吸着療法 (Leukocytapheresis : L-CAP)
- ・ 顆粒球吸着療法 (Granulocytapheresis : G-CAP)

⑦ 人工心肺((cardio pulmonary bypass : CPB)

心臓及び大動脈、肺動脈、肺静脈などの血管に直接的な外科手術を行う際に、心臓を止め心臓・肺の機能を代行する医療機器である。

⑧ 体外式膜型人工肺 (Extracorporeal Membrane Oxygenation : ECMO)

人工肺とポンプを用いた体外循環療法であり、人工呼吸器使用などの、通常の治療では救命困難な重症呼吸不全や、循環不全に適応される。根治治療ではなく、治癒回復するまでの間、呼吸と循環の機能を代替する治療法である。

上記のように様々な分野において、血液体外循環療法は応用されている。様々な血液体外循環療法に共通する問題点として、血液が回路内で異物反応を起こし、意図せず急激な血液凝固による血栓から、回路の詰まりの発生してしまうことが挙げられる。血液体外循環回路の常時監視下にあっても、ベテラン医療従事

者がわずかに感知できる微かな異変が回路内で発生してから、数分～10分程度
の間に血液体外循環回路内で血液凝固が発生してしまい、医療従事者に急を要
する対応が迫られ事故につながる可能性も高くなり、患者にとっても非常に危
険な状態になる。

現在、血液体外循環回路の血液凝固によるつまり等の検出には、主として、圧
力センサーが使われている。圧力センサーは、血液凝固により回路が詰まった後、
または血液が流れにくさにより圧力が上昇したときにのみ反応する。圧力セン
サーの事後的な反応は、患者の体に戻すべきだった回路内の血液を破棄するこ
ととなり、病態によっては患者の循環動態を不安定にしてしまう。また、血液凝固
が発生した場合は、血液体外循環回路を新しい回路に変える必要が出てくるが、
事後的なセンサーの反応だと処置が遅れ、患者並びに医療従事者の負担も非常
に大きくなってしまう。

血液体外循環回路内に発生する血液凝固の事前的観測においては、未だ実用
的な方法が確立されておらず、血液体外循環療法中の血液凝固の予知保全のシ
ステム確立の必要性は高い。

1.3 光音響イメージング法

光音響現象による光音響イメージングは、高コントラストと高空間分解能の可能性を秘めた幅広い生物医学的応用のための有望な構造的・機能的・分子イメージング技術である。光音響イメージングでは、光エネルギーを測定対象に印加して、その熱による体積膨張によって生成された弾性波を、超音波プローブによって、受信および画像化（グレイスケール）する。なお、光源には主に固体レーザーが用いられてきた。また、光音響イメージングの測定対象は一般的にガスや生体などの動きがないものが中心であったが、近年、光音響イメージング装置の技術が向上して、リアルタイムの動画撮影も可能となってきた。光音響イメージングを用いて、血液体外循環療法中の、血液体外循環回路を経時的に測定する場合、従来光音響測定で使用されている固体レーザー装置では、重量とサイズが大きいため、光源としての使用には適していない。そこで、血液体外循環装置に影響を与えることなく血液凝固の時間経過を観察するため本研究では、LED を光源とした光音響イメージングを検討した。

1.3.1 光音響イメージング法の歴史

本研究で用いる計測手法である光音響イメージングは、電話の発明で有名な Alexander Graham Bell が1880年に報告した、光による音響発生原理である光音響現象を利用した技術である。Bellは、太陽光の強度を変調して断続的に照射すると、光エネルギーを印加された金属やゴムなどの物質が音波を発生することを発見した。この現象はPhotophoneと名付けられた。[16-18] さらに、様々な放射エネルギーを吸収したものが音波を発生することが分かった。[19-20] そ

の後、本現象である光音響現象が、光音響分光法として再注目され、気体試料の分析（希薄ガスの検出）や固体表面の分光計測などに応用されてきた。[21-22]

1960年代には、初めてピエゾ素子にて光音響弾性波を測定することに成功し、生体（うさぎの眼球）での光音響現象を確認できたことなどの報告を経て、1987年に、人体を対象としたex-vivoの脈管組織での光音響現象を測定できた。[23-25]

その後、パルスレーザー技術・超音波技術・コンピュータの演算能力の大幅な向上によるA-modeスキャンからの信号取得や、2D画像の作成などの技術改革があり、現在に至る。[26-28]

現在では、光音響イメージングは、さまざまな研究がされ、乳がんや前立腺の癌診断[29-30]、皮膚疾患の診断[31]、小動物の脳の機能計測[32]などの研究が近年盛んに行われている。[33-36]

また、生体内の病変、臓器や血管などを非侵襲的に評価するにあたって、超音波イメージング、X線CT、MRI、などが普及しているが、光音響イメージング程の高分解能ならびに高コントラストは持ち合わせていない。そこで、生体の様々な観察にも優れたツールとして用いられ始めている。[37-47]

しかし、予知保全を念頭においた、LED光源の光音響イメージングを用いた、血液体外循環回路での血栓成長プロセス測定に関しての報告はない。

1.3.2 光音響イメージング法の原理

光音響現象は、生体組織にパルス光を照射したときに、測定対象が断熱膨張により熱弾性波を発生する現象である。光音響現象で得られる弾性波の圧力は、次式で表せる。[48-49]

$$P = \Gamma \mu_a F_0 \exp(-\mu_a Z) \quad \dots (1-1)$$

P : 光音響現象で生ずる弾性波の圧力

Γ : Grüneisen 係数

光吸収により発生する熱エネルギーから光音響現象による弾性波への変換効率

μ_a : 吸収係数

F_0 : 照射フルエンス

Z : 深さ

光音響イメージをより鮮明に得るには、光音響現象を強く発生させる必要がある。そのためには、測定対象が光吸収により発生する熱及び応力の緩和よりも十分短い時間でパルスレーザー光を測定対象に印加させる必要がある。[50-51] するために、以下の2つの条件を満たさなければならない。

$$\tau < \tau_{th} = d_c^2 / \alpha_T \quad : \quad \text{熱閉じ込め条件 (1-2)}$$

$$\tau < \tau_s = d_c / v \quad : \quad \text{応力閉じ込め条件 (1-3)}$$

τ : 光音響装置の光源のパルス幅

τ_{th} : 熱緩和時間

τ_s : 応力緩和時間

d_c : 光音響現象による弾性波を発生させる

立方体領域の代表長さ

(プローブと接触時 : 約0.1mmと考える)

α_T : 熱拡散係数 (生体軟部組織 : 約0.14mm²/s)

v : 音速 (生体軟部組織 : 約1540m/s)

光音響現象を発生させるための条件として上記の数値で熱緩和時間、応力緩和時間を算出すると、 τ_{th} は 71.4 ms で、 τ_s は 64.9 ns となる。つまり、光音響装置にはナノ秒パルス光源を用いる必要があることが分かる。本節1.3.2 光音響イメージング法の原理に定めるために、光源にレーザー光を用いることが多かったが、装置が大きく高価であるため、本研究の目的である臨床現場への応用上、問題となる。また、LEDを光源に用いた光音響イメージング装置に関する研究例はあるが、光音響トモグラフィに向けた研究が主であり、血液体外循環装置への応用例の報告はない。[52-57]

1.4 本研究の目的

血液体外循環療法の状態を模擬して、血液体外循環回路での血液凝固の経時的变化を、測定データ処理時の負荷を少なくすることを考慮しつつ測定する。測定結果から特徴量を抽出して機械学習による予知保全システム実現の可能性を探る。

1.5 本論文の構成

1 章では血液体外循環回路での血液凝固の問題点と予知保全システムの必要性を示し、本研究の目的及び構成について述べた。

2 章では、血液体外循環回路内の血液凝固の過程を再現するために、マイクロチューブを用いた。血液体外循環回路の測定部位として、ドリップチャンバを想定し、事前実験として、マイクロチューブを実験に用いることの妥当性についても述べた。また、マイクロチューブ内で、血液体外循環回路で問題となっている程度の血液凝固が生じるまでの時間を測定して、血液が凝固し始めてから注目すべきタイミングの特定について述べた。

3 章では、LED を光源として血液体外循環装置の回路外から血液凝固状態を観察できる可能性について述べた。超音響イメージング装置には LED を光源とする AcousticX (CYBERDYNE) を用い、マイクロチューブに封入されたマウスの血液の経時的超音響波の測定を行った。測定結果から LED 光源の可能性を示した。また、測定結果を予知保全に運用するため、超音響イメージ画像の低容量化を検討した。

予知保全のための分析には、センサーから取得したデータを基に、血液凝固の発生過程から特徴量抽出が容易な MathWorks 社の数値解析ソフトウェアである MATLAB の診断特徴デザイナーを用いて、予知保全装置への指針を示した。

4 章では、実際の血液体外循環装置・回路を使用して、血液凝固の経時的変化を AcousticX にて測定した。なお、第 3 章と比較すると、使用する血液量が大量になるため、市販の羊の血液を用いて実験を行い、市販の血液を本研究で用いる妥当性を示した。超音響イメージングで得られた測定結果から、血液を循環させた場合でも経時的血液凝固の変化を観察でき、予知保全のシステム化の検討が可能であることを示した。

5 章では、本研究から得られた結論として、LED を光源とする超音響法による血液凝固予知保全の可能性を述べた。

*本実験プロトコルは「帝京大学動物実験に関する倫理委員会」の承認を得て行った。

1.6 参考文献

- [1] 松井則明,“体外循環における抗凝固法の展望”,人工臓器学会 10 卷 3 号, pp.749-757 (1981 年).
- [2] Matsui, N., Nakagawa, S., Sasaoka, T., Suenaga, M., Yoshiyama, N. and Takeuchi, J.: Reduction of unfavourable effects of heparin with use of gabexate mesilate in dialysis. Proc. Eur. Dial. Transplant Assoc. 16:135, 1980.
- [3] 松井則明, 篠田俊雄, 岩本均, 吉山直樹, 中川成之輔, 武内重五郎, 井上篤, 北岡建樹:慢性腎不全における β -thromboglobulin, platelet factor 4 の測定意義について. 血液と脈管, 12 卷 1 号, pp.73-76 (1981 年) .
- [4] Lyman, D. J., Muir, W. M., and Lee, I. J.:The effect of chemical structure and surface properties of polymers on the coagulation of blood. I. Surface free energy effects. Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs 11:301, 1965.
- [5] Murphy, P., Holly, F., van Someren, L., Bankole, M., Singh, S. and Bernhard, W. F.:Antithrombogenic properties of electrified polymers. *ibid.* 13:131, 1967.
- [6] Madras, P. N., Ward, C. A. and Johnson, W. R.: Enhanced thromboresistance of surfaces by denucleation. *ibid.* 26:153, 1980.
- [7] Kim, S. W., Lee, R. G., Oster, H., Coleman, D., Andrade, J. D., Lentz, D. J. and Olsen, D.:Platelet adhesion to polymer surfaces. *ibid.* 20: 449, 1974.
- [8] Andrade, J. D., Lee, H. B., Jhon, M. S., Kim, S. W. and Hibbs, J. B., Jr.:Water as a biomaterial. *ibid.* 19:1, 1973.

- [9] Lyman, D. J., Metcalf, L. C., Albo, D., Jr., Richards, K. F. and Lamb, J.:The effect of chemical structure and surface properties of synthetic polymers on the coagulation of blood. III. In vivo adsorption of proteins on polymer surface. *ibid.* 20:474, 1974.
- [10] Salzman, E. W., Lindon, J., Brier, D. and Merrill, E. W.:Surface-induced platelet adhesion, aggregation, and release. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 283:114, 1977.
- [11] Videm V, Svennevig JL, Fosse E, et al: Reduced complement activation with heparin-coated oxygenator and tubings in coronary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 103: 806-13, 1992.
- [12] D. Sakota, T. Fujiwara, K. Ohuchi, K. Kuwana, H. Yamazaki, R. Kosaka, M. Nishida, T. Mizuno, H. Arai, and O. Maruyama, Development of a real-time and quantitative thrombus sensor for an extracorporeal centrifugal blood pump by near-infrared light, *Biomedical Optics Express*, Vol.9, Issue 1, pp.190-201(2018).
- [13] 迫田 大輔. 循環器デバイス内血液凝固の非侵襲光計測. *日本バイオレオロジー学会誌*, 2015 年, 29 卷 3 号, pp.111-113
- [14] 坂元 英雄, 山内 忍, 本橋 由香, 佐藤 敏夫, 阿岸 鉄三. 血液凝固前後の吸光度変化測定に基づく 血液回路内凝固の非侵襲検出. *桐蔭論叢*, 第 34 号, 2016 年 6 月, pp.97-101.
- [15] 坂元 英雄, 山内 忍, 本橋 由香, 佐藤 敏夫, 阿岸 鉄三. 体外循環血液回路内雑音の 連続モニタリングによる回路内凝固検出. 第 32 号, 2015 年 10 月, pp.123-128.

- [16] Bell AG, "On the Production and Reproduction of Sound by Light," *Am. J. Sci.* 20(3), pp. 305-324(1880).
- [17] Bell AG. Upon the production of sound by radiant energy. Gibson Brothers, printers; 1881.
- [18] Beard P. Biomedical photoacoustic imaging. *Interface focus.* 2011;1(4):602-31.
- [19] Bell A G. Production of sound by radiant energy. *J Franklin Inst.* 1881; 111:401-428.
- [20] S. Manohar and D. Razansky, "Photoacoustics: a historical review," *Advances in optics and photonics* 8, 586-617 (2016).
- [21] 澤田嗣郎, 光音響分光法とその応用—PAS (学会出版センター, 1982).
- [22] Veingerov ML. A method of gas analysis based on the Tyndall-Röntgen optico-acoustic effect. *Dokl Akad Nauk SSSR.* 1938; 19: 687-688
- [23] Michaels JE. Thermal impact—the mechanical response of solids to extreme electromagnetic radiation. *Planet Space Sci.* 1961; 7: 427-433.
- [24] Amar L, Bruma M, Desvignes P, Leblanc M, Perdriel G, Velghe, M. Detection d'ondes élastiques (ultrasonores) sur l'os occipital, induites par impulsions laser dans l'oeil d'un lapin. *C R Acad Sci Paris.* 1964; 259: 3653–3655.
- [25] Cross FW, Al-Dhahir RK, Dyer PE, MacRobert AJ. Time-resolved photoacoustic studies of vascular tissue ablation at three laser wavelengths. *Appl Phys Lett.* 1987;50: 1019-1021.
- [26] Chen QX, Dewhurst RJ, Payne PA, Davies A. Photo-acoustic probe for intra-arterial imaging and therapy. *Electron Lett.* 1993; 29: 1632-1633.

- [27] Oraevsky AA, Jacques S L, Esenaliev RO, Tittel FK. Laserbased optoacoustic imaging in biological tissues. Proc SPIE. 1994; 2134: 122-128.
- [28] Wang LV, “Tutorial on Photoacoustic microscopy and computed tomography,” IEEE J.Sel. Top. Quantum Electron.14(1), pp. 171-179(2008).
- [29] Heijblom M, Piras D, Xia W, van Hespren JC, Klaase JM, van den Engh FM, van Leeuwen TG, Steenbergen W, and Manohar S,“Visualizing breast cancer using the Twente photoacoustic mammoscope: what do we learn from twelve new patient measurements?” Opt Express.20(11), pp. 11582-11597(2012).
- [30] Wang X, Roberts WW, Carson PL, Wood DP, and Fowlkes JB,“Photoacoustic tomography: a potential new tool for prostate cancer,” Biomed Opt Express. 1(4), pp. 1117-1126(2010).
- [31] Wang X, Roberts WW, Carson PL, Wood DP, and Fowlkes JB, “Photoacoustic tomography: a potential new tool for prostate cancer,” Biomed Opt Express. 1(4), pp. 1117-1126(2010).
- [32] Jo J, Yang X, “Detection of cocaine induced rat brain activation by photoacoustic tomography,” Neurosci Methods. 195(2), pp. 232-235(2011).
- [33] 阿賀野 俊孝. LED 光源光音響イメージングに関する研究. 大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻, 博士学位論文, 2019 年.
- [34] 精 きぐな. 光音響技術を用いたウサギ胎盤の組織内血液酸素飽和度計測に関する研究. 防衛医科大学校, 博士学位論文, 2018 年.
- [35] 加賀田 翔. 光音響法を利用した人体皮膚と固体材料の熱的性質の計測技術の開発. 大阪府立大学, 博士学位論文, 2016 年.

- [36] 平沢 壮. 光音響イメージングにおける高分子圧電センサを用いた信号検出法及び背景信号抑制法に関する検討. 明治大学大学院理工学研究科, 博士学位請求論文, 2019 年.
- [37] Yang JM, Maslov K, Yang HC, Zhou Q, Shung K.K, and Wang LV, "Photoacoustic Endoscopy," *Opt Lett.* 34(10), pp.1591–1593(2009).
- [38] Sato S, Yamazaki M, Saitoh D, Tsuda H, Okada Y, Obara M, and Ashida H, "Photoacoustic diagnosis of burns in rats," *J Trauma.* 59(6), pp. 1450-1456 (2005).
- [39] Yamazaki M, Sato S, Ashida H, Saitoh D, Okada Y, and Obara M, "Measurement of burn depths in rats using multiwavelength photoacoustic depth profiling," *J Biomed Opt.*10(6), 061011(2005).
- [40] Yamazaki M, Sato S, Saitoh D, Okada Y, Ashida H, and Obara M, "Photoacoustic monitoring of neovascularities in grafted skin," *Lasers Surg Med.* 38(3), pp. 235-239(2006).
- [41] Hatanaka K, Sato S, Saitoh D, Ashida H, and Sakamoto T, "Photoacoustic monitoring of granulation tissue grown in a grafted artificial dermis on rat skin," *Wound Repair Regen.* 18(3), pp. 284-290(2010).
- [42] L. L. Munn, and T. P. Padera, "Imaging the lymphatic system," *Microvascular Research*, 96(Supplement C), 55-63 (2014).
- [43] A. Forbrich, A. Heinmiller, and R. J. Zemp, "Photoacoustic imaging of lymphatic pumping," *Journal of biomedical optics* 22(10), 106003 (2016)
- [44] Y. Zhou, J. Yao, and L. V. Wang, "Tutorial on photoacoustic tomography," *Journal of biomedical optics* 21(6),61007 (2016).

- [45] M. Kuniyil Ajith Singh, W. Steenbergen, and S. Manohar, "Handheld Probe-Based Dual Mode Ultrasound/Photoacoustics for Biomedical Imaging," in *Frontiers in Biophotonics for Translational Medicine* M. Olivo, and U. S. Dinish, Eds., pp. 209-247, Springer Singapore (2016).
- [46] C. Kim, K. H. Song, F. Gao et al., "Sentinel Lymph Nodes and Lymphatic Vessels: Noninvasive DualModality in Vivo Mapping by Using Indocyanine Green in Rats—Volumetric Spectroscopic Photoacoustic Imaging and Planar Fluorescence Imaging," *Radiology*, 255(2), 442-450 (2010).
- [47] K. H. Song, C. Kim, C. M. Cobley et al., "Near-Infrared Gold Nanocages as a New Class of Tracers for Photoacoustic Sentinel Lymph Node Mapping on a Rat Model," *Nano Letters*, 9(1), 183-188 (2009).
- [48] Viator JA, Jacques SL, and Prahl SA, "Depth Profiling of Absorbing Soft Materials Using Photoacoustic Methods," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. 5(4), pp. 989-996(1999).
- [49] Xu M, Wang LV, "Photoacoustic imaging in biomedicine," *Review of scientific instruments* 77: 041101 (2006).
- [50] 大川晋平,平沢壮,櫛引俊宏,石原美弥,"光音響計測による生体内工学特性値分布の定量的イメージング",日レ医誌 (JJSLSM) ,第35巻 第2号,pp.140-150 (2014) .
- [51] 大川晋平,平沢壮,櫛引俊宏,石原美弥,"光音響的作用の数値計算とその画像診断・治療支援への応用の可能性",日レ医誌 (JJSLSM) ,第40巻 第4号,pp.348-358 (2020) .

- [52] EMRAN MOHAMMAD ABU ANAS, HAICHONG K. ZHANG, JIN KANG, AND EMAD BOCTOR. Enabling fast and high quality LED photoacoustic imaging: a recurrent neural networks based approach. *BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS*, Vol. 9, No. 8, 1 Aug 2018. pp.3852-3866.
- [53] Ali Hariri, Jeanne Lemaster, Junxin Wang, AnanthaKrishnan S. Jeevarathinam, Daniel L. Chao, Jesse V.Jokerst. The characterization of an economic and portable LED-based photoacoustic imaging system to facilitate molecular imaging. *Photoacoustics* 9 (2018). pp.10-20.
- [54] Wenfeng Xia, Mithun Kuniyil Ajith Singh, Efthymios Maneas, Naoto Sato, Yusuke Shigeta, Toshitaka Agano, Sebastian Ourselin, Simeon J. West, Adrien E. Desjardins. Handheld Real-Time LED-Based Photoacoustic and Ultrasound Imaging System for Accurate Visualization of Clinical Metal Needles and Superficial Vasculature to Guide Minimally Invasive Procedures. *Sensors* 2018,18,1394; doi:10.3390 / s18051394.
- [55] Junggun Jo, Guan Xu,b, Yunhao Zhu, Mary Burton, Jeffrey Sarazin, Elena Schiopu, Girish Gandikota, and Xueding Wanga. Detecting joint inflammation by an LED-based photoacoustic imaging system: a feasibility study. *Journal of Biomed Optics*. Vol.23(11), 110501 (2018), doi: 10.1117/1.JBO.23.11.110501.

- [56] Yunhao Zhu, Guan Xu, Jie Yuan, Janggun Jo, Girish Gandikota, Hakan Demirci, Toshitaka Agano, Naoto Sato, Yusuke Shigeta & Xueding Wang. Light Emitting Diodes based Photoacoustic Imaging and Potential Clinical Applications. *Scientific Reports* volume 8, Article number: 9885 (2018). DOI:10.1038/s41598-018-28131-4.
- [57] Maju Kuriakose, Christopher D. Nguyen, Mithun Kuniyil Ajith Singh and Srivalleesha Mallidi. Optimizing Irradiation Geometry in LED-Based Photoacoustic Imaging with 3D Printed Flexible and Modular Light Delivery System. *Sensors* 2020, 20, 3789; doi:10.3390/s20133789.

第 2 章

測定対象となる血液の経時的な凝固反応の 基準について

本章では、血液体外循環回路内の血液凝固の過程を再現するために、血液凝固の機序を改めて考察することで、異物反応の環境設定に相違ないか確認した。また、血液凝固過程の再現を評価するにあたって、既存の血液凝固評価法が本研究の意図や実験装置の都合に合わず、本研究に合った経時的な血液凝固過程の評価方法を提案し、検討した。なお、血液凝固過程の評価方法には、エアートラップチャンバを想定し、マイクロチューブを実験で使用して、シミュレートの妥当性と、注目すべき測定のタイミングの特定について述べた。

2.1 血液凝固の機序について

血液体外循環回路内の血液は先程述べた通り、回路、人工臓器に対して異物反応を起こし、エアートラップチャンバで空気に触れ、血液が凝固していく。[1-7]ここでいう血液凝固（blood coagulation）とは、止血過程の一つで、血小板による血栓の形成と凝固系第XII因子の活性から引き起こされるフィブリン生成により引き起こされるものである。

血液体外循環回路内で想定される血液凝固の過程は以下の通りとなる。まず、血液体外循環回路内で異物反応が始まり、血小板の活性化反応、血液凝固や線溶活性化が複雑に絡み合いながら、血液が凝固していく。血液体外循環回路内の人工膜面に血液が触れると、血漿成分が人工膜面上に吸着されて、膜面上に血漿蛋白層（アルブミン、フィブリノゲン、 γ グロブリンを含む）が形成される。血漿蛋白層のなかのフィブリノゲンは、特に膜面に吸着されやすく、血小板のフィブリノゲンレセプターと結合して、血小板の粘着から凝集を起こし血小板血栓が

形成されていく。さらに、吸着されたフィブリノゲンの一部は高分子キニノゲンに置き換えられて、内因系凝固反応のXII因子の活性化が始まり、次第に微小血栓へと進行していく。血液体外循環回路内での血栓形成の機序を図 2-1 に示す。

[8]

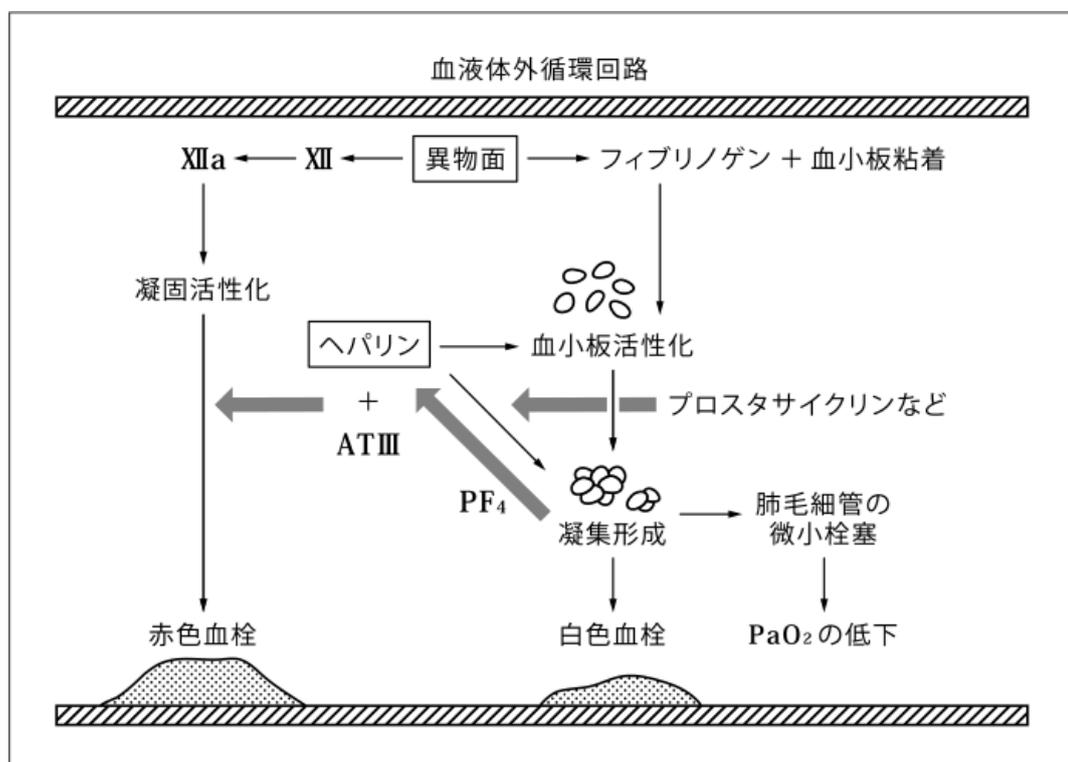


図 2-1 止血イメージ

活性化因子複合体ができる経路には、内因系と外因系の二種類ある。本実験環境下に関係があるのは、内因系となるので概略を以下に記す。なお、生体内では内因系と外因系が独立しているのではなく、2つの系が連携して活性化し合う。

凝固因子は、一旦活性化されると、酵素として次の段階の因子を活性化し反応は連鎖的に進む。各凝固因子の関連を表しているカスケード理論を以下のようにまとめ、図 2-2 に示す。また、血液凝固因子の一覧を表 2-1 に記す。[9]

(1) 内因系

必要な凝固因子が血中内にあるので、内因系と呼ばれている。障害を受けた血管壁由来の異物面との接触した際か、または、血液自体に問題がある場合に引き起こされる。まず凝固因子の第 XII 因子、凝固第 XII 因子、プレカリクレイン、高分子キニノゲンが複雑に反応して凝固第 XI 因子を IXa に活性化する。IXa はリン脂質上で凝固第 VIII 因子、凝固第 X 因子と複合体を作り凝固第 X 因子を活性化する。

(2) 外因系

血管壁や周囲の組織が障害されて、血液が血管外に出て組織液（組織因子）と触れ起こる凝固反応を外因系という。凝固因子が血中外にあるので、外因系と呼ばれている。

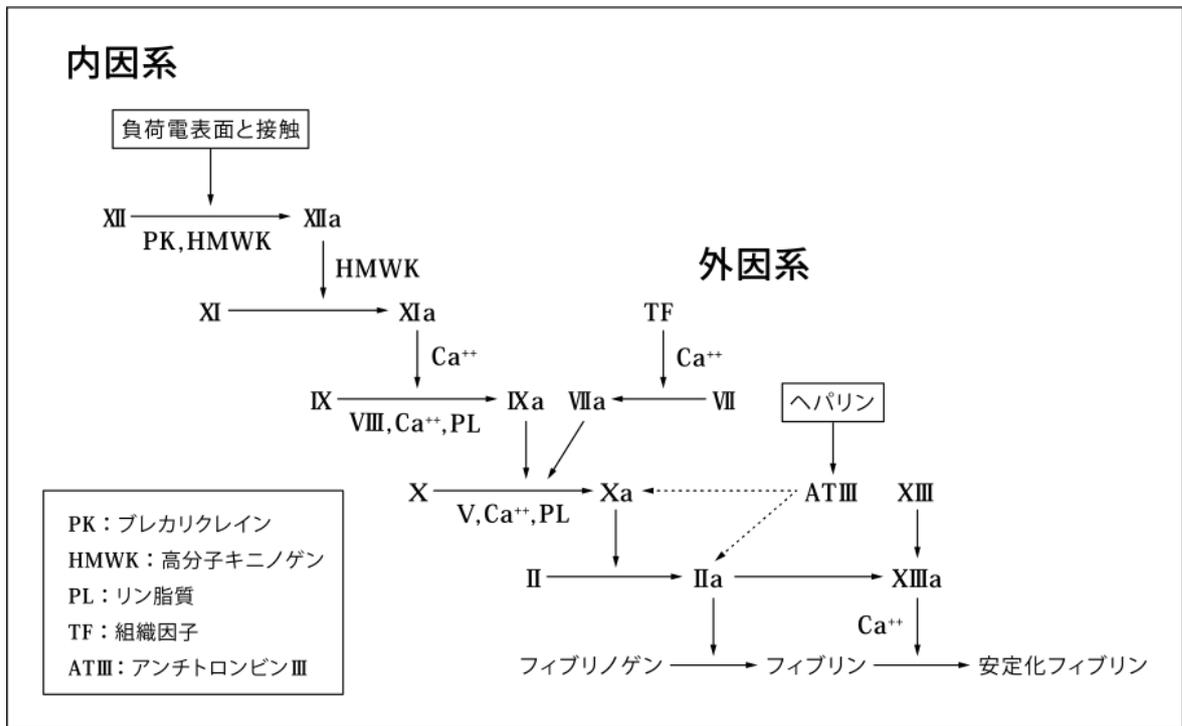


図 2-2 カスケード理論イメージ

表 2-1 血液凝固因子の種類

凝固因子		凝固因子	
I	フィブリノゲン	VIII	抗血友病因子
II	プロトロンビン	IX	クリスマス因子
III	組織因子	X	スチュワート因子
IV	Ca ²⁺	XI	PTA
V	ACグロブリン	XII	ハーグマン因子
VI	(欠番)	XIII	フィブリン安定化因子
VII	プロコンバーチン		

図 2-2 と表 2-1 から、血液凝固に必要なものは、簡単には以下の 3 つであると分かる。①凝固因子、②カルシウム、③リン脂質である。[10]

2.2 凝固系・抗凝固系検査

本節では、既存の主だった血液凝固の評価検査を紹介して、本研究の血液凝固の経時的変化への評価として適当か考察する。

(1) 凝固亢進の生化学的マーカーと検査方法

血液体外循環回路内の凝固亢進状態は、以下のように確認される。

① 分子マーカー

血小板の活性化を検出する分子マーカーとして血小板第 4 因子 (PF₄) と β トロンボグロブリン (β-TG) が用いられ、微量のトロンビンが生成されている凝固亢進状態の検出では、分子マーカーであるフィブリノペプチド A、トロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体が用いられる。

② 検査方法の一例

検査項目：血小板第 4 因子 (PF₄)

血液を採取する専用の容器を冷却して、血液を封入する。専用容器をゆっくり 2~3 回転倒混和させ、速やかに砕氷と水の入ったラックに入れる。ここまでの工程を 2 分以内に行う。砕氷水に 15~30 分間放置後、採取血液を 2000G で 30 分間、2~4°C で遠心分離して、上清の表面よりやや下の部分をマイクロピペットで 0.3mL 検体容器へ採取する。[11-12]

以上から、 β トロンボグロブリン (β -TG)、フィブリノペプチド A、トロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体の検出にも多少の違いはあるが、専門的な技術者や、専用の測定器などが必要となる。[13-14]

(2) 血液体外循環中の抗凝固モニタリング

① 活性化凝固時間 (activated clotting time : ACT)

採血した血液が凝固するまでの時間を測定する検査である。全血に、活性化剤に添加するだけの簡易な検査方法である。しかし、十分な血小板数が必要である。活性化剤には、ガラスビーズ、セライトなどがある。測定誤差や個人差が大きく、開胸手術などの体外循環導入時にヘパリンの効果判定や終了時のプロタミンによるヘパリン中和能の判定に用いられる。(基準値：90-120 秒)

② プロトロンビン時間 (prothrombin time : PT)

外因系凝固因子および共通系凝固因子についての検査である。先天性凝固因子欠損・異常症、肝機能障害、ビタミン K 欠乏症、などの後天性凝固障害の診断に使われる。また、抗凝固剤のワルファリンによる抗凝固療法のモニタリングとしても用いられている。測定方法は 3.2%クエン酸ナトリウム加被検血漿に組織トロンボプラスチンと Ca イオンを加え、凝固するまでの時間を測る。フィブリン形成を測定する自動分析装置が一般的である。

③活性化部分トロンボプラスチン時間

(activated partial thromboplastin time : APTT)

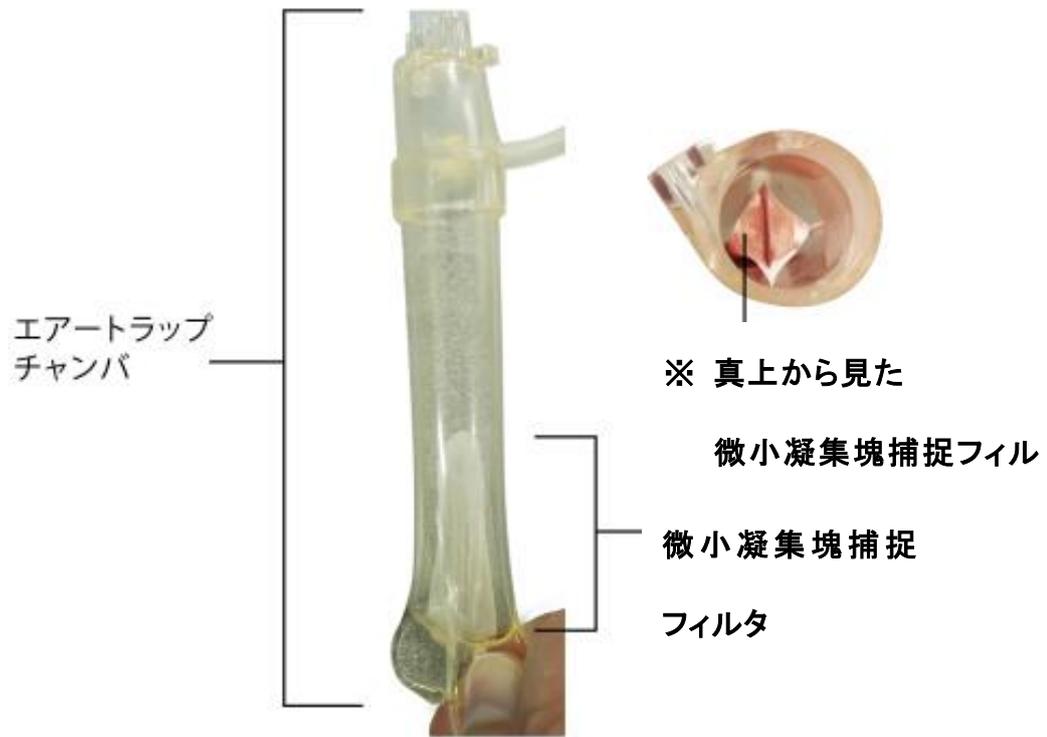
内因系凝固因子および共通系凝固因子を調べる検査であり、日常的に臨床検査で用いられている。基準は30～40秒であるが、標準化されていないため試薬や測定機器による違いがある。一般的に±5秒以内を正常範囲、それ以上は状況によって精査の対象とし、10秒以上の延長は明らかな異常値とする。延長が認められた場合、凝固因子の低下と凝固阻害因子の存在が考えられる。ループスアンチコアグラント (LA) の検出などにも利用される。

以上の通り、血液体外循環中に一般的に行われる抗凝固モニタリングについても、専門的な技術者や、専用の測定器などが必要となり、本研究の実験環境や、研究目的に沿わないことが分かった。

2.3 測定対象となる血液の経時的な凝固反応の基準について

2.3.1 背景

血液体外循環回路の血液凝固は、血流が非常に遅く、空気との接触があり、フィルタがあるため、各所で発生した凝血塊などの微小凝集塊が溜まり、血液凝固も促進されるとされているエアートラップチャンバを血液凝固測定箇所とした。光音響イメージングでは、光源から測定対象に光エネルギーを印加したときの、測定対象の拡大収縮による振動を測定するため、一般に使用されるのは測定対象に動きがないガスや生体部位などである。一般的な光音響イメージングの測定対象から比べると早い流れである血液体外循環回路において最も流速が低い箇所であるエアートラップチャンバが最適と考えられる。光音響現象において、微小凝集塊捕捉フィルタで発生した凝血塊が多ければ多いほど強い反応が観られる。エアートラップチャンバを図 2-3 に示す。



2.3.2 マイクロチューブ内の経時的血液凝固評価法の確認

血液体外循環回路内のエアートラップチャンバで発生する血液凝固過程を模擬するために、マイクロチューブ内で起こる血液凝固過程を観察した。実験の概略図を図 2-4 に示した。

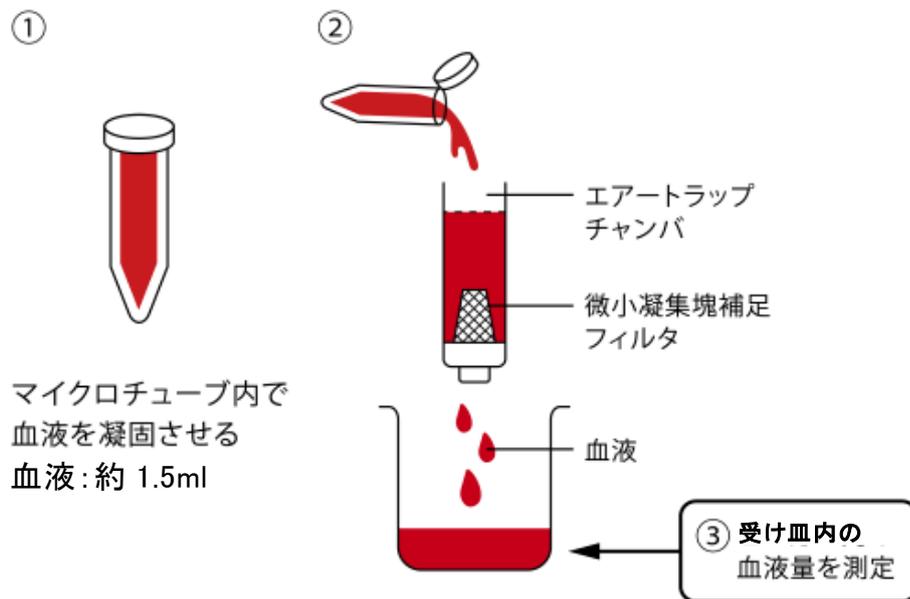


図 2-4 マイクロチューブ内の経時的血液凝固評価法の検討 概略図

実験手順は以下の通りである。

- ① 透明なプラスチック製のマイクロチューブに血液を封入して、一定時間放置する。

放置時間は 4 種類で、以下のようになる。

- (a) マイクロチューブに血液を封入直後（生きたマウスの血液）
- (b) 血液封入後 2 分後
- (c) 血液封入後 5 分後
- (d) 血液封入後 10 分後

- ② 上記①の各血液(a)～(d)をエアートラップチャンバに流して、微小凝集塊捕捉フィルタを通して、血液の凝固部分（血餅など）と、液体部分と分離する。
- ③ 血液の液体部分を受け皿に移し、液体の容量を測定した。凝固が進むにつれて、血液の液体部分の容量の変化を見た。結果を表 2-2 に示す。ように、微小凝集塊捕捉フィルタを通過した血液量は時間の経過とともに減少し、10 分後に 79%に低下することがわかった。

表 2-2 マイクロチューブ内の経時的血液凝固の測定結果

マイクロチューブへの血液封入後時間 (分)	微小凝集塊捕捉フィルタを通過した血液量 (ml)
0	1.35
2	1.30
5	1.25
10	1.07

2.3.3 小括

エアートラップチャンバを模擬したマイクロチューブ内での血液凝固の経時的変化のシミュレートを行い、マイクロチューブ内への血液封入後 10 分で血液体外循環療法として機能しなくなる程の血液凝固が発生することが分かった。

第 3 章におけるマイクロチューブを用いた、血液凝固の状態変化測定の実験に役立てると考える。

2. 4. 参考文献

- [1] Hoffman H, Remodeling the blood coagulation cascade. *JThromb Haemost* 16 : 17-20, 2003.
- [2] Lee Roger I, White Paul D. A CLINICAL STUDY OF THE COAGULATION TIME OF BLOOD. *The American Journal of the Medical Sciences*, 145, 495-503 (Apr 1913).
- [3] Ohata T, Sawa Y, Kadoba K, et al: Effect of cardiopulmonary bypass under tepid temperature on inflammatory reactions. *Ann Thorac Surg* 64: 124-8, 1997.
- [4] Yavari M, Becker RC: Coagulation and fibrinolytic protein kinetics in cardiopulmonary bypass. *J Thromb Thrombolysis* 27: 95-104, 2009.
- [5] Cugno M, Nussberger J, Biglioli P, et al: Increase of bradykinin in plasma of patients under going cardiopulmonary bypass: the importance of lung exclusion. *Chest* 120: 1776-82, 2001.
- [6] Jones HM, Matthews N, Vaughan, RS et al: Cardiopulmonary bypass and complement activation. Involvement of classical and alternative pathways. *Anaesthesia* 37: 629-33, 1982.
- [7] Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, et al: Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 304: 497-503, 1981.
- [8] 松尾 凝固, 血小板の分子マーカーによる透析回路内の抗凝固状態の検出, 臨床透析 1989, Vol.5, No.12, ©日本メディカルセンター, pp.65-71.
- [9] Saito, H: Normal hemostatic mechanisms. In *Disorders of Hemostasis* (Ratnoff OD, Forbes CD ed,)3rd edition. WB Saunders Comp, 1996.

- [10] 山口桂司, 北島勲 : FDP, FgDP, FDP-E. 血栓症検査ガイドブック. 血栓と循環12 (4) : 101-104, 2004.
- [11] 高橋 芳右 他:血液と脈管 18-4-pp.326~335 1987年.
- [12] 木村 昭郎:日本臨床 53-増-pp.109~111 1995年.
- [13] 岡嶋 研二 : フィブリノペプチド A (FPA), フィブリノペプチド B β ₁₋₁₄, フィブリノペプチド B β ₁₅₋₄₂ (FPB β ₁₅₋₄₂). 日本臨床広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査 2 : 677-9, 2010.
- [14] 田中 朝志 他:医学と薬学 31-1-pp.203~208 1994

第 3 章

マイクロチューブを用いての
血液体外循環回路内を模擬した血液凝固の
経時的変化測定

3.1 背景と目的

第3章では、血液凝固の経時的変化と、血液からの超音響波の変化の関連を確認した。超音響現象の測定には超音響イメージングを用いた。超音響波の変化の特徴量抽出のため、血液体外循環回路測定部位（エアートラップチャンバ）の環境を模擬して、マクロチューブに血液を封入して測定を行った。

血液体外循環回路測定部位を選定した理由としては以下の通りとなっている。

- ① 回路内の他の部位と比較すると血流が非常に遅い
- ② 血液と空気の接触がある（エアートラップチャンバ）。
- ③ ダイアライザや患者の体内に凝血塊が入らないように微小凝集塊捕捉フィルタが設置してあり異物反応が発生しやすいとされ、さらに血液体外循環回路の各所で発生した凝血塊どの微小凝集塊が溜まる。凝固化した血液（微小凝集塊）が多ければ多いほど、光エネルギーを印加したときに反応する超音響波が多くなると考えた。

3.2 本研究で用いる超音響イメージングについて

3.2.1 超音響イメージング測定機器について

超音響イメージング装置は、前臨床研究および臨床研究のために使用されることが多く、現在は血管や血管系疾患等の診断および治療経過観察、さらに微小

血管系の評価、画像の 3D 化も行えるようになった。光音響現象を発生させるために、主に YAG や OPO などのレーザー励起と高周波音響検出手法を用いられている。

※ YAG レーザー (Yttrium Aluminum Garnet Laser)

固体レーザーの一つで、YAG は Y (イットリウム)・A (アルミニウム)・G (ガーネット)と言われる結晶構造をもつ固体で、発光素子をドーピングし、光を当てることで励起状態にする。基本波長は 1064nm である。白内障の手術や、樹脂を始め金属への汎用マーキングなどに用いられる。

※ OPO (Optical Parametric Oscillation) : 光パラメトリック発振器

OPO によるコヒーレント光源である。透明な非線形光学結晶に励起光を照射すると、シグナル光、ポンプ光、アイドラー光から、パラメトリック光と呼ばれる光を発生させる。これを共振器内で何度も往復させ、繰り返し増幅して狭いスペクトル幅とビーム発散の少ない出力を得る。結晶の角度、温度、励起波長などを変えることで、出力波長を自在に変えることも可能である。

しかし、上記のレーザー光源では、血液体外循環療法中の回路を測定するのに装置のサイズとして大きく、コストも高くなってしまった不都合が生じる。LED 光源と固体レーザー光源の大きさを比較すると、固体レーザーは LED の 15000 倍となり、消費電力は LED を 1 W とすると、1000 倍以上の開きがある。また、価格について固体レーザーは、LED の 10 倍以上となる。そこで、本研究

では高輝度で高速パルス駆動が可能な LED を光源とした Acoustic X (CYBERDYNE,INC) を用いた。さらに、固体レーザー使用時にはレーザー保護メガネが必要となり扱いには慎重を期さなければならない。LED 使用時にはレーザー保護メガネは必要ないといった利点がある[1]。

3.2.2 AcousticX について

図 3-1 に、本研究で使用した実験装置の概略図を示す。本研究では、治具で高輝度高速パルス駆動 LED 光源アレイを 2 つ、約 40°の角度で、超音波プローブの両側に取り付けて水中に固定した。血液凝固から発生する光音響現象を光音響イメージングで測定するために、超音波プローブと音響インピーダンス差の少ない水中にて測定する必要がある。超音波プローブには、接地表面付近の視野幅を大きくとることが可能なリニア型を用いた。測定の構成は、図 3-1 の通りとなり、マイクロチューブと LED 付き超音波プローブの間の距離は約 1cm とした。また、測定は、マイクロチューブを測定対象とした。

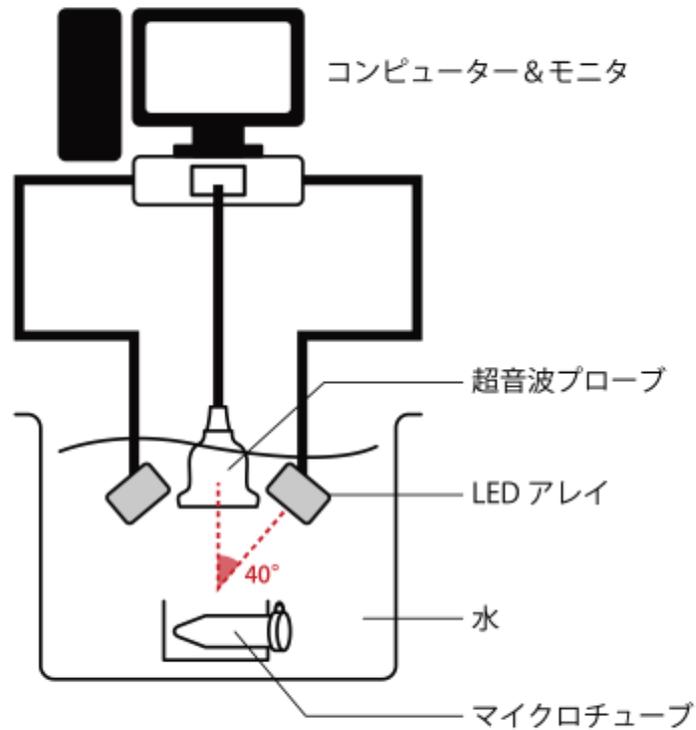


図 3-1 本研究で使用した光音響イメージング装置概略図

LED アレイには近赤外線（Near-Infrared Spectroscopy : NIR）である 850nm の波長を用い、光エネルギーは約 $200\mu\text{J/pulse}$ で照射した。血液の光吸収（生体の窓 : 700nm~1100nm）と、近赤外分光では表面から数 cm の深さの情報を撮像することが可能であることから、LED 光源の波長を決定した。 [2-6]

※ 生体の窓

近赤外域（650～1000nm）では、光が生体を透過しやすく「生体の窓」と呼ばれる。従来の生体の窓（650～1000nm）を第1光学窓と呼び、第2光学窓（波長 1000-1400 nm）も存在する。[7-9]

AcouxticXにおいて、超音波プローブは、中心周波数 10MHz と 7MHz の 2 種類がある。2つの超音波プローブの特徴としては、10 MHz では、距離分解能がある程度向上するが、深度感度は 7 MHz で 4～5 倍に増加する。マイクロチューブの表面的な測定ではなく、マイクロチューブに封入した血液をプラスチック素材越しの測定を目的としているので、7MHz の超音波プローブ周波数を選択した。

3.3 マイクロチューブ内の血液凝固時の光音響波変化の有無について

実験系は以下のようなになる。マイクロチューブに血液を封入して水中に沈め、光音響イメージングでの測定を行った。マイクロチューブ内では流れを起こさないで血液凝固の過程を顕著に観察することが可能と考えた。マイクロチューブ（容量：約 1.5ml）に、マウスの血液を約 1.5ml、空気が混入しないように封入した。

3.3.1 測定機器の構成

血液が異物と反応して凝固が進行しやすいマイクロチューブの壁面付近から中心部を測定した。測定機器の構成を図 3-2 に示す。図 3-2 にあるグレースケール画像の太い黒線はマイクロチューブの壁面を示している。マイクロチューブ壁面（太い黒線）より下側はマイクロチューブ内側を示し、血液の異物反応が起こると思われる部位になっている。マイクロチューブ壁面より上側は水中となっている。赤い点線は、3.3.2 で説明する A モードの測定ポイントとなる。なお、超音波プローブはアレイになっているので、水平軸の超音響波の特定が可能である。

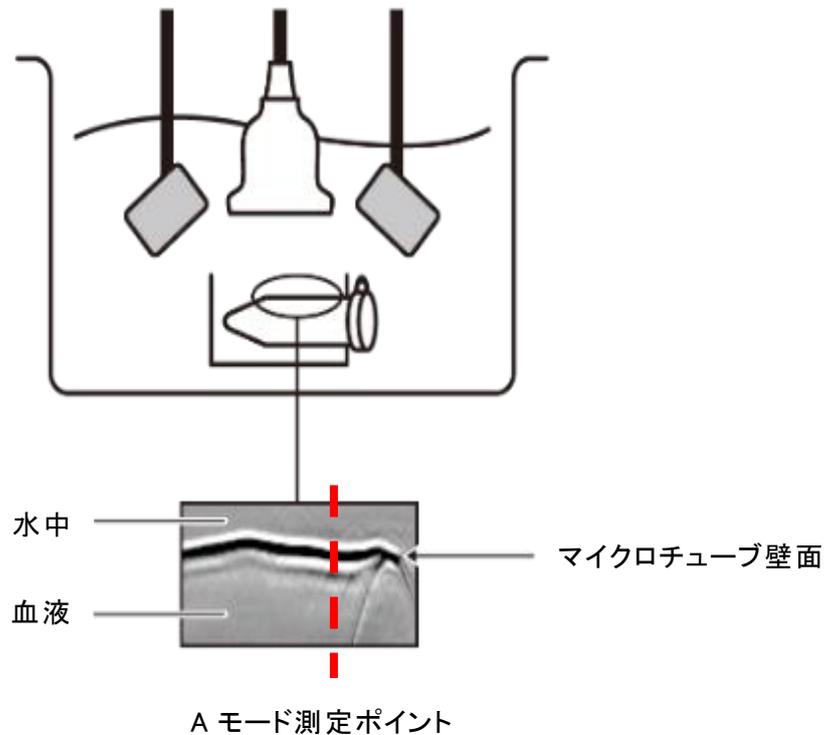


図 3-2 実験装置と超音響イメージング画像

3.3.2 超音波イメージングを用いた光音響現象の測定結果

(1) Aモード測定

光音響現象の強度を図 3.2 の赤い破線で示した点で、Aモード測定した結果を図 3.3 に示した。縦軸は光音響現象で発生した弾性波の強さを表し、横軸は超音波プローブからの距離を表す。グラフの最大振幅を示す箇所がマイクロチューブの壁面となり、壁面を挟んでグラフの左側が水中、右側がマイクロチューブ内（血液）となる。血液凝固プロセスの時間経過を測定するために、血液をマイクロチューブに注入した直後の 0 分（図 3-3 (a)）から、2 分後 (b)、5 分後 (c)、そして 10 分後 (d) と時間を区切って光音響現象を測定した。血液凝固からの光音響波と断定はできないが、マイクロチューブ内で時間経過と共に、光音響波の振幅に変化が見られた。なお、ピーク位置のずれは 0.1~0.2mm 程であり、これは実験時に防振台を使用しなかったことが理由であると考えられる。マイクロチューブ内での経時的な光音響波変化の可能性を示せたので、次項 (2) では、測定視野幅を大きくとることが可能なリニア方式で測定することにした。

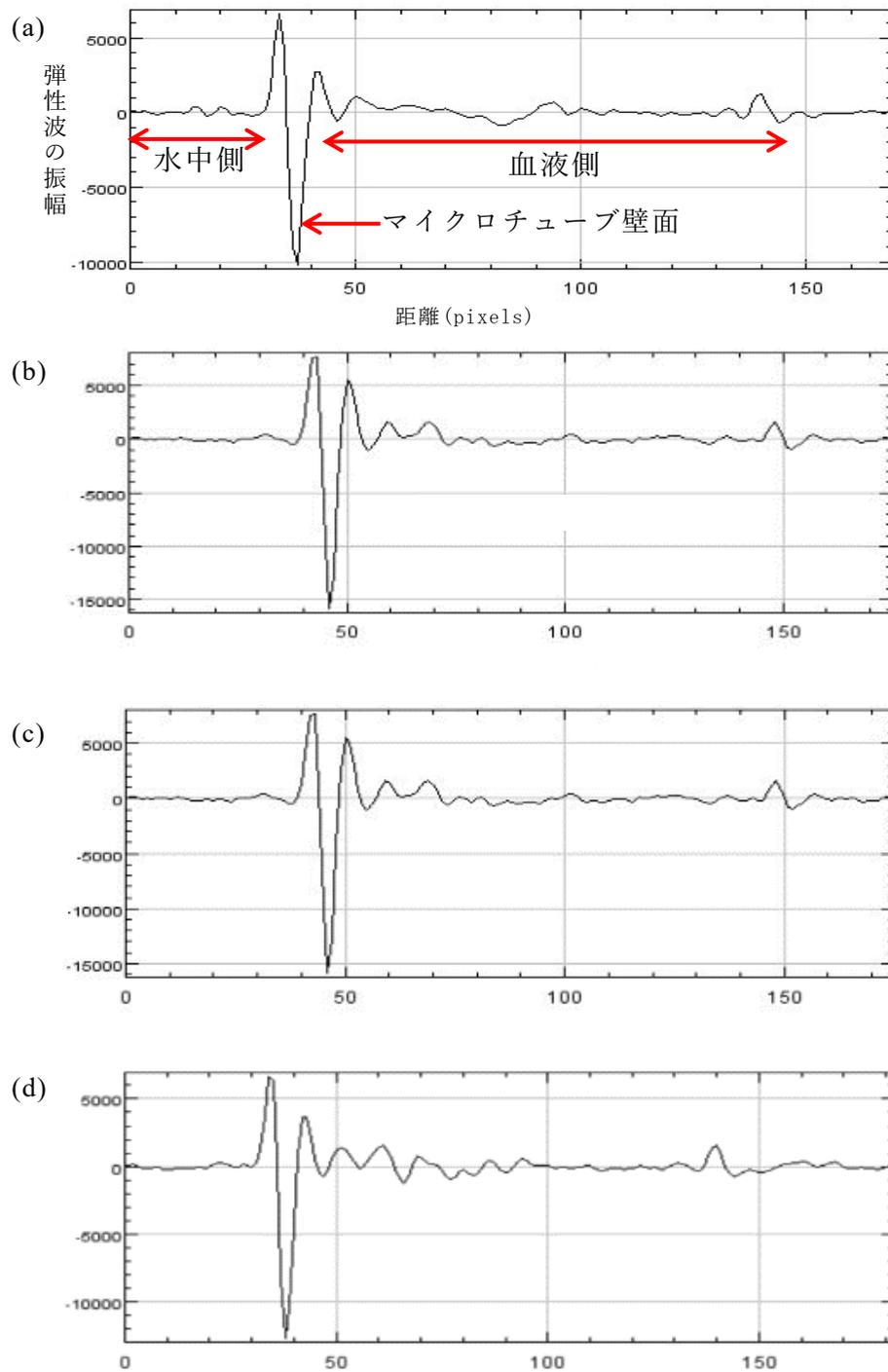


図 3-3 光音響イメージングによる A モード測定結果

(a)血液封入直後 0 分 (b) 2 分後 (c)5 分後 (d)10 分後

(2) Bモード測定

光音響波を測定する AcousticX の超音波プローブは 128ch のアレイ型になっており、光音響現象が発生した場所を特定できる。図 3-4 は、マイクロチューブ壁面越しに測定した A モードの波形を水平軸方向に合成することにより、マイクロチューブ内全体の弾性波のイメージ (B モード) を示す。

図 3-4 は比較しやすいように、図 3-3 に示した実際の状態から縦に 90°回転させた。図 3-4 に示すマイクロチューブは、壁面の左側が水中となり、右側が血液となるように垂直に配置されている。図 3-4 の白色 (高輝度) は光エネルギーを得て、光音響現象による強い弾性波が発生していることを表している。逆に、黒色 (低輝度) は光音響現象が発生していないか、極端に低いことを表している。なお、血液体外循環回路壁面に対応するマイクロチューブの壁面に沿うように光音響波が発生しているが、血液封入後 0 分にも発生している。その後、時間が経過しても光音響波に変化がないことから、壁面からの光音響波だと考えた。時間の経過とともに、血液と接触しているマイクロチューブ壁面内側に発生している白い放物線の数、太さ、濃淡が増していることが見て取れる。

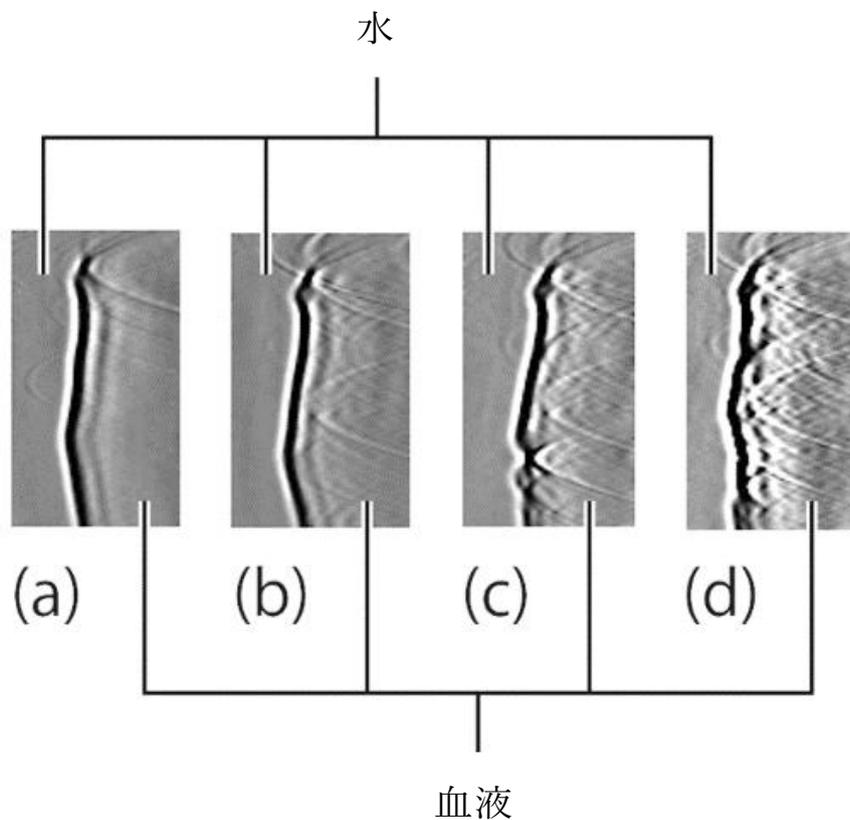


図 3-4 光音響イメージング測定結果 (B モード)

(a)血液封入後 0 分 (b)2 分後 (c)5 分後 (d)10 分後

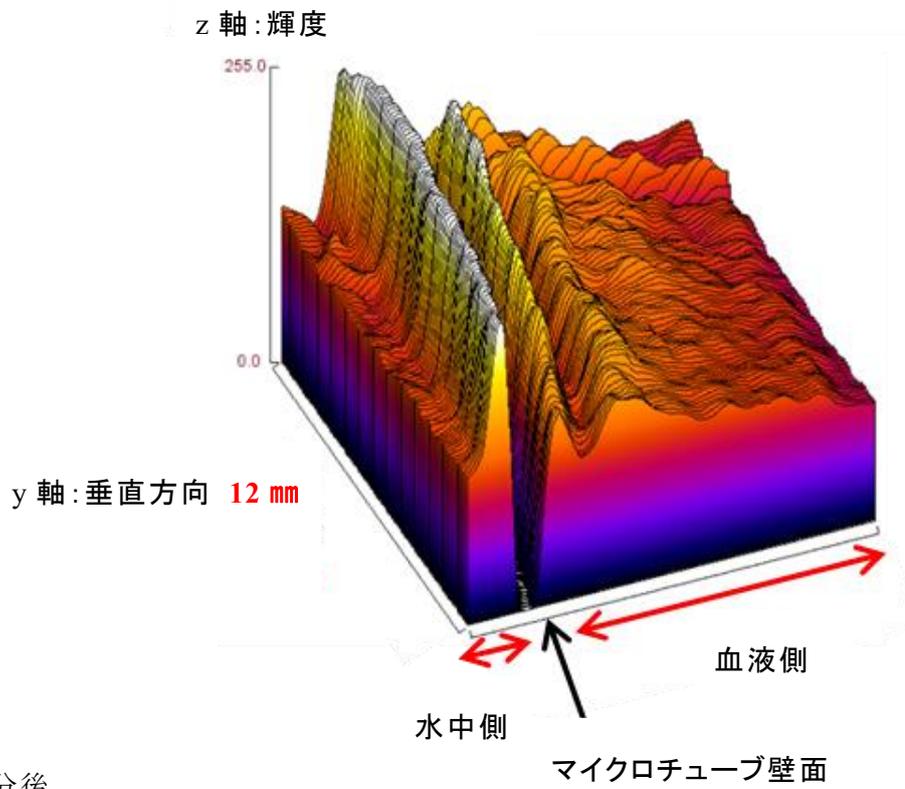
(3) 3D イメージング

図 3-4 の光音響波の経時的変化をより顕著に表すために、図 3-4 のグレースケール画像をフリーソフトの ImageJ によって 3D カラースケールグラフに変換した。図 3-5 に示す。x 軸は水平距離 (水中から血液側に向かって 5 mm)、y 軸は

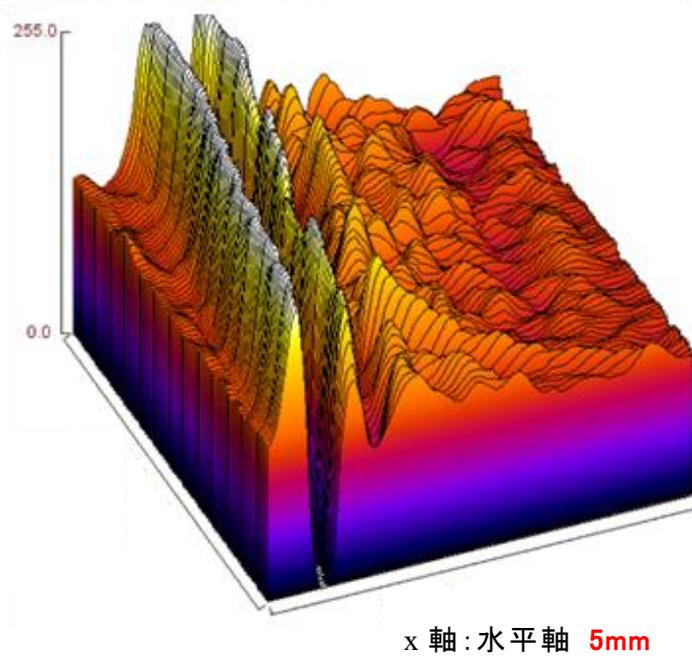
垂直距離（マイクロチューブ壁面 12 mm）、z 軸はピクセル輝度（256 レベル）を表す。なお、輝度は 0 から 255 の 256 段階で表している。また、低輝度は紫色となり、高輝度になるにつれオレンジ、黄色を経て、白くなる。z 軸の値が高ければ高いほど光音響現象が強くと出ていると考えられる。

ここで使用した ImageJ は、アメリカ国立衛生研究所（NIH）で電気泳動ゲルのバンドを解析するツールとして開発された画像解析・処理のソフトウェアである。特に NIH で開発されたこともあり生命科学系のツールが豊富に揃っていることから、生命科学系分野では多くの研究で使われている。また、オープンソースソフトウェアなので、どのようにプログラムが書かれているのか公開されていて処理過程を全て確認することができる。計算過程にブラックボックスがないため科学技術計算に向いていると言われていて、研究分野で広く使われる様になった。画像処理の教育の現場でもポピュラーである。[10-14]

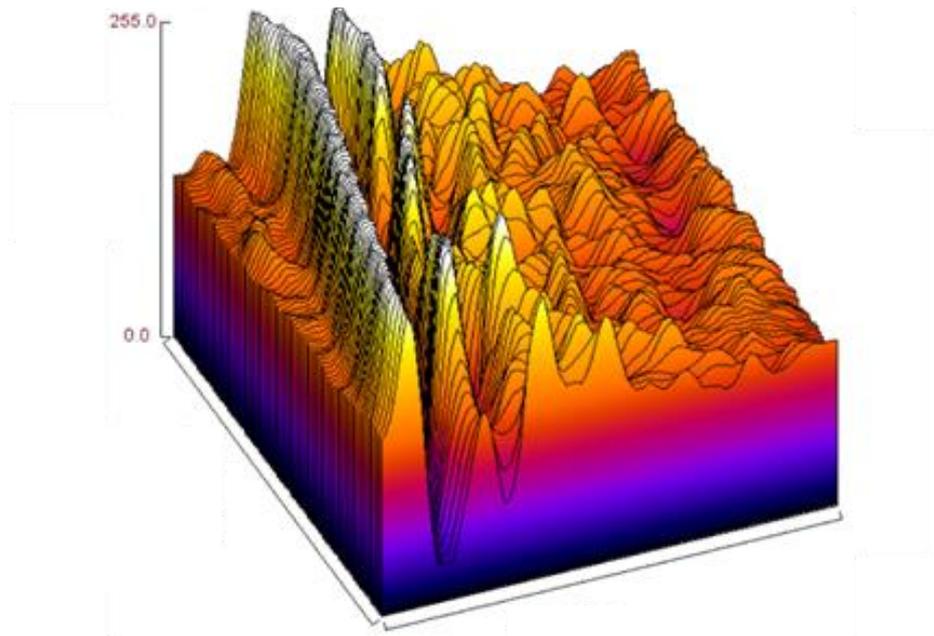
(a) 血液封入直後 (0分)



(b) 2分後



(c) 5 分後



(d) 10 分後

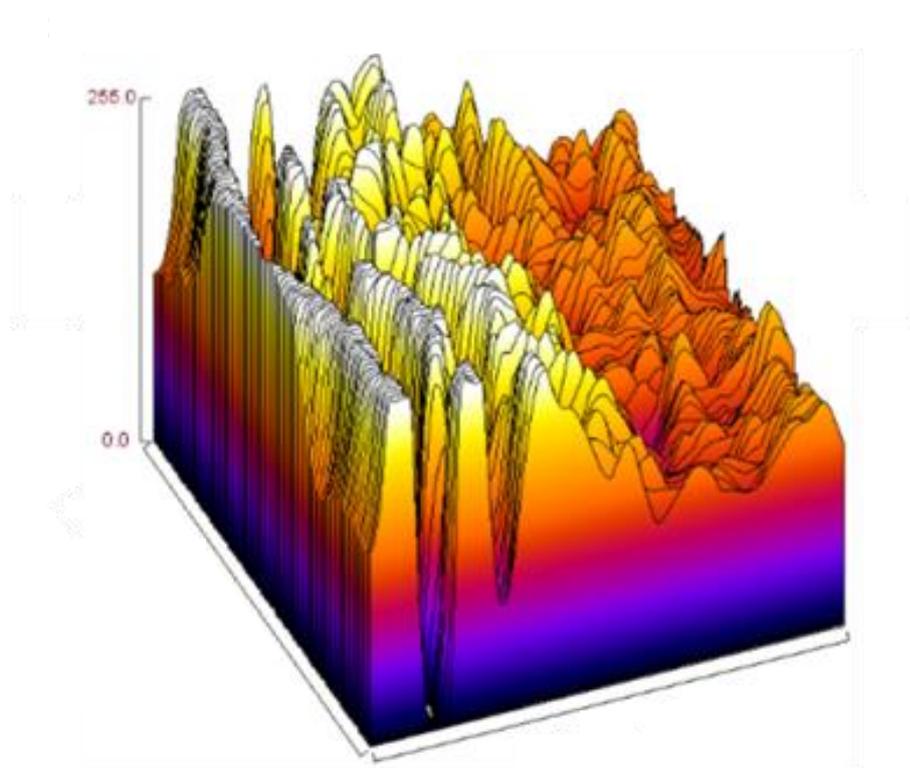


図 3-5 ImageJ による光音響波 3D イメージ

グラフの中で輝度 0 を示している谷の部分がマイクロチューブ壁面ということが分かる。また、(a) から (d) にかけて、マクロチューブ壁面を中心に輝度（光音響波）が高くなっていることが分かる。次いで、中心部の反応が強くなっていくことが見て取れる。なお、マイクロチューブ壁面から見て、血液側に谷が強く現れるが、これはマイクロチューブを水平に設置してあるため、中心側に重力がかかっていることから、血球が図の右側に集まり、血漿がマイクロチューブ壁面に分離しているため、光音響現象の反応が弱まったためだと考える。

3.3.3 抗凝固剤を用いた光音響波の経時的変化

光音響波の経時的な変化は観測できたが、図 3-5 に見られる光音響波が血液の凝固活性が原因か明確には出来ていない。そこで、血液凝固を抑える抗凝固剤のヘパリンをマイクロチューブ内に投与して、光音響イメージングにて測定した。測定条件は、図 3-5 と同じにして、ヘパリンを血液に加え 10 分間放置した。測定結果を図 3-6 に示す。図 3-6 のグレースケール画像と 3D イメージング共に、光音響波の反応に顕著な経時的変化は見受けられなかった。

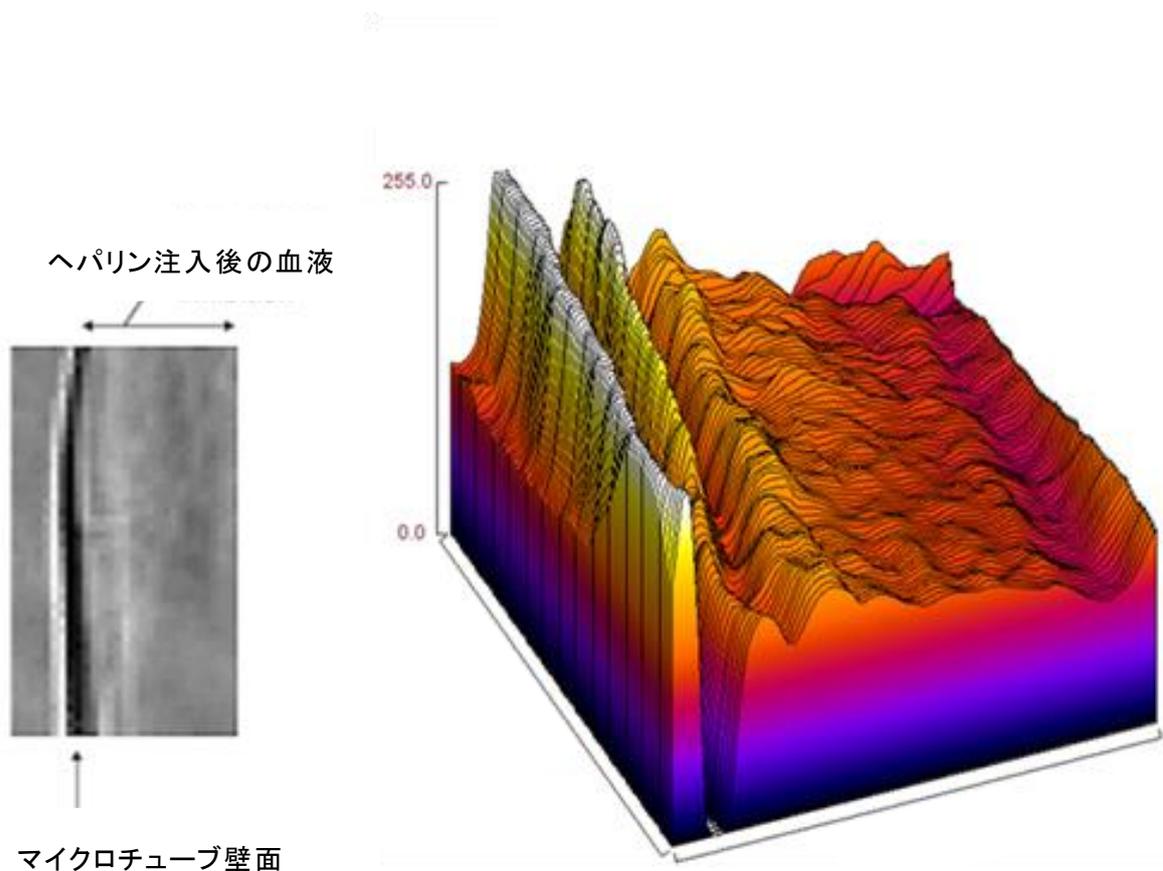


図 3-6 光音響イメージングによる測定結果

(ヘパリン注入後のマイクロチューブ)

3.3.4 考察

本研究では、マイクロチューブの透明プラスチック越しに、異物反応による血液凝固の経時的変化を、光音響イメージングを用いて測定した。図 3-5 に示すように、光音響波と見られる波紋（白い筋で示されている）が時間の経過とともに成長していることが分かる。通説通り、血液凝固プロセスは、血液と接触しているチューブの側面から発生することが分かったが、マイクロチューブの外側に

ある水には経時的変化は見られなかった。また、すべての測定において、マイクロチューブに照射された光エネルギー値が一定であったため、弾性波が増えたことは血液側の変化によるものだと考えられる。さらに、図 3-6 は、ヘパリンによる凝固阻害剤のため、図 3-5 (d) 時に見受けられる光音響波が全く観察されず図 3-5 (a) に似た状態を表している。時間の経過に伴う光音響波の変化は、血液が凝固しない場合には発生しないことが分かった。よって、図 3-5 と図 3-6 から、血液が異物と反応してマイクロチューブの内壁から血液凝固が増加して、光音響波が経時的に強く発生したことが確認できたと言える。

3.4 測定輝度範囲の選定

3.4.1 背景と目的

前節の実験では、血液体外循環回路を模擬したマイクロチューブ内の血液凝固の経時的変化を、LED 光源の光音響イメージングにて測定することが確認できた。これにより、血液体外循環回路内の血液凝固過程の測定に可能性を見出せたが、血液体外循環回路の血液凝固状態の変化を継続的に観察すると、扱うデータ量が膨大となってしまう。そこで、データ過多の状態を回避するため、データ量の低容量化の必要性が出てきた。

本節では、光音響イメージングで得た画像の輝度変化に着目して、血液凝固前後で変化が顕著な輝度範囲を特定する。変化量の大きい輝度の抽出は以下の手順で行う。まず、光音響現象によって得られた光音響イメージングを画素ごとに分け、各画素の輝度を判定する。血液凝固前後での輝度変化を測定して、数値解析ソフトを用いて光音響イメージングの輝度変化から特徴量を抽出する。

3.4.2 測定輝度範囲の選定

(1) 輝度の特徴量変化の可能性について

用いた測定データは、前節の研究と同様に、マイクロチューブに封入したマウスの血液とした。ImageJ を使用して測定結果のグレースケール画像を拡大すると、図 3-7 に示すように、グリッド線（緑色）が表示できる。図 3-7 から、画像を最も拡大すると、緑色のグリッド線に囲まれた部分は 4×4 ピクセルで構成されていることが分かる。ImageJ を用いて、光音響イメージングで得られた画像

の各ピクセルに、輝度データを割り当てた。 [15]

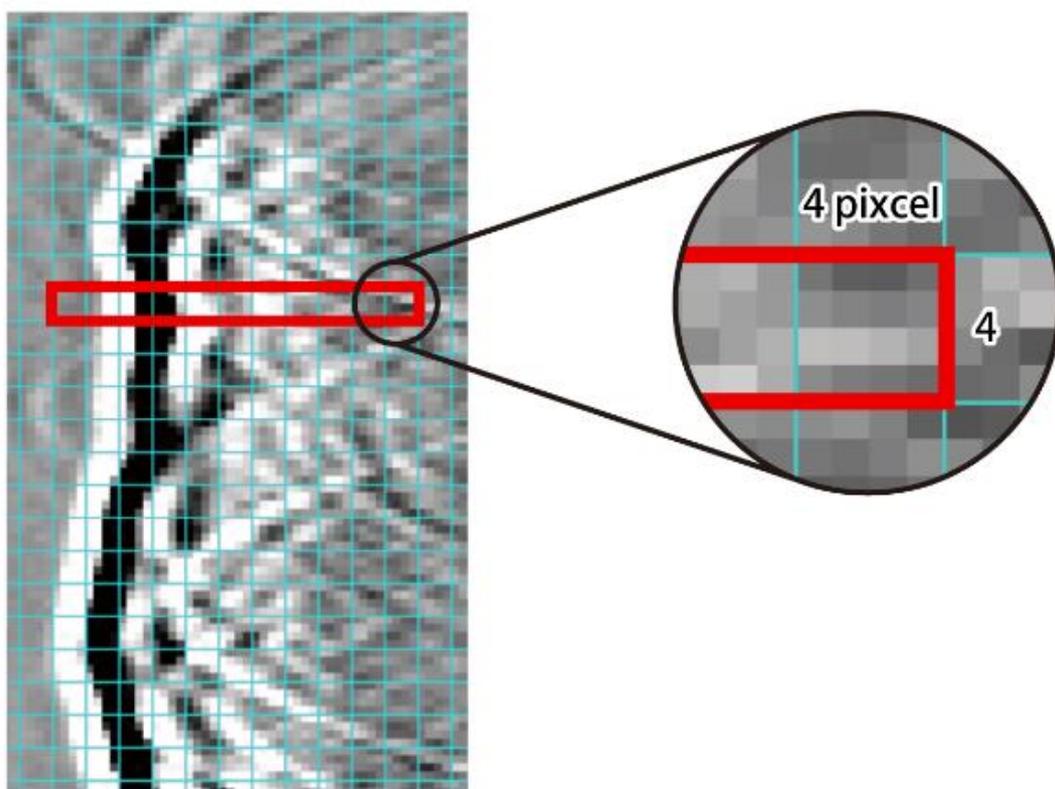
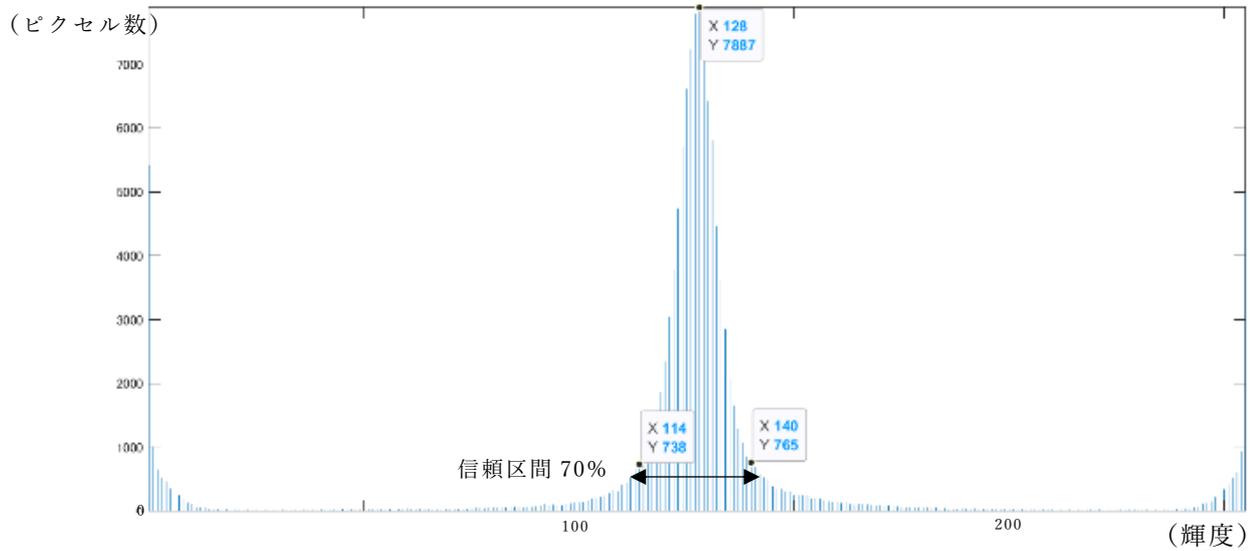


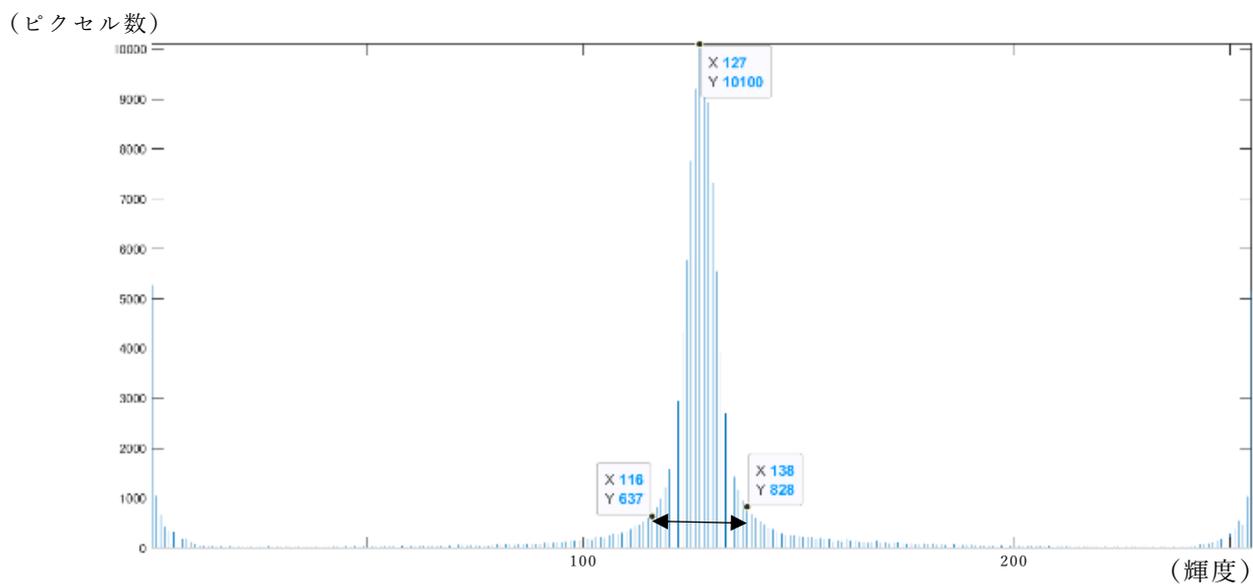
図 3-7 B モード画像の拡大

ピクセル内の輝度は、ImageJ で画像処理して特定する。ImageJ のデフォルトが 0 から 255 までの 256 レベルとなるので利用した。さらに、図 3-7 の輝度のカウントをヒストグラム変換して、図 3-8 に示した。図 3-8 の横軸は各輝度 (0～255) を示しており、縦軸は各輝度を表すピクセル数を表示している。(a) のヒストグラムでは、ピーク輝度は 128、ピクセルのカウント数は 7887 となり、(b) はピーク輝度 127、ピクセルのカウント数は 10100 を示し、(c) ではピーク輝度は 139、ピクセル数は 6831 で、(d) 10 分後のピーク輝度は 148、ピクセル数は

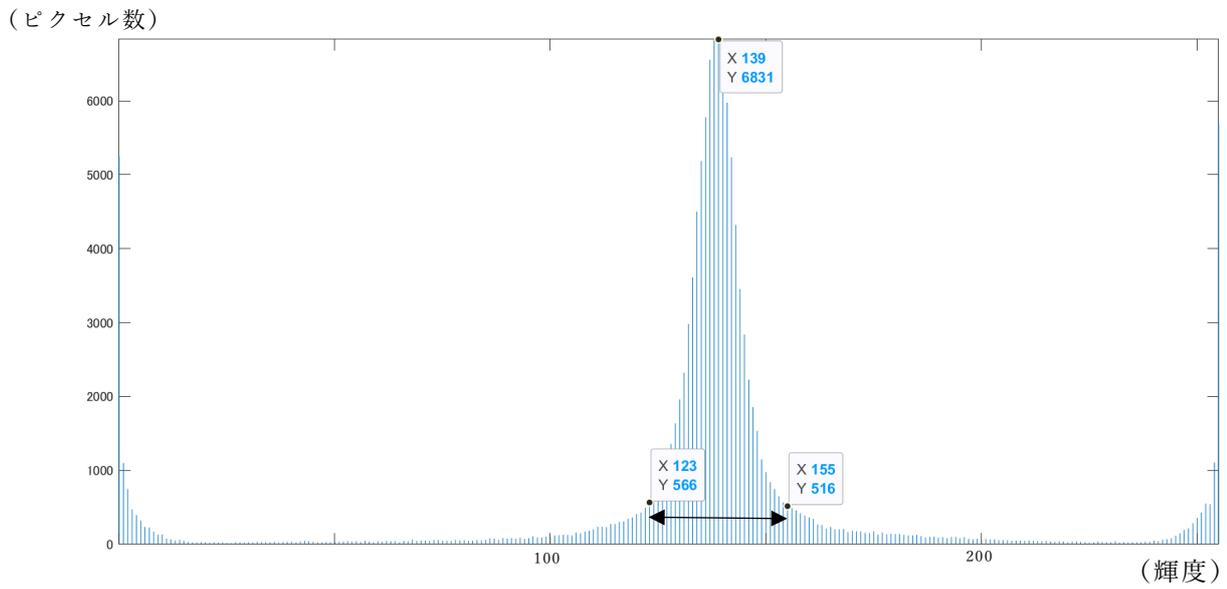
3792 となった。 グラフの比較のために、信頼区間を設けた。本研究での信頼区間は $\pm \sigma$ (約 70%) と定義した。信頼区間を超える輝度は、(a) で 114~140 (信頼区間 : 27)、(b) で 116~138 (信頼区間 : 23)、(c) で 123~155 (信頼区間 : 33)、(d) で 126~170 (信頼区間 : 45) と分かった。凝固が進むにつれ、グラフのピーク位置が高輝度側にずれていき、信頼区間は広がっていった。これらから、血液凝固による超音響波の輝度分布が、経時的な変化を確認することができた。



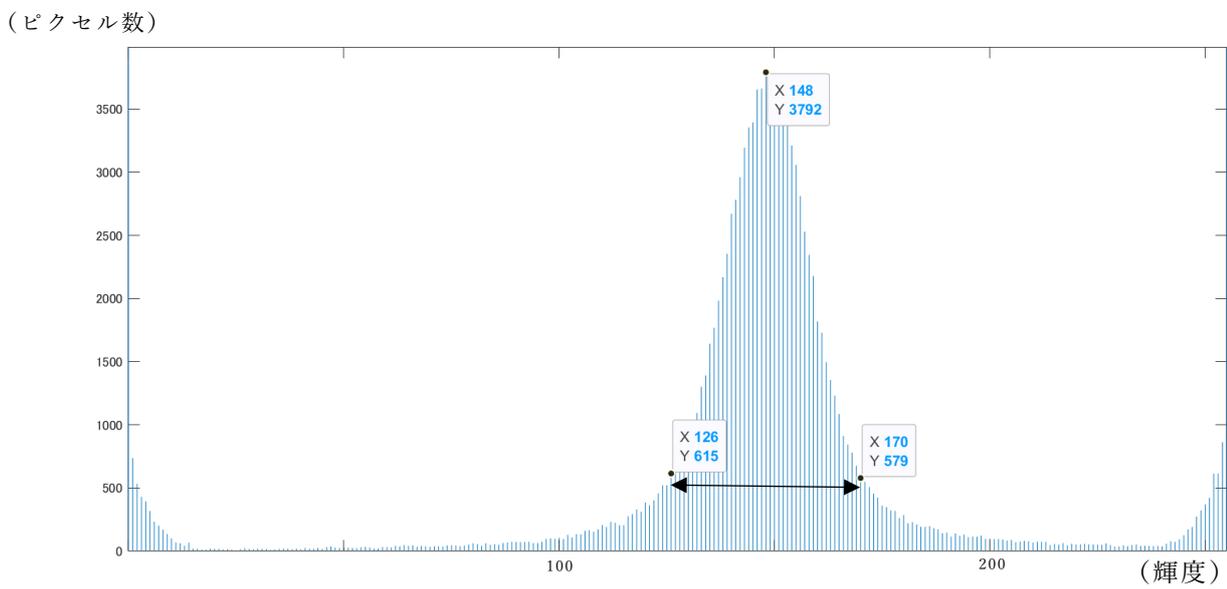
(a) 血液封入直後 (0分) のヒストグラム



(b) 血液封入 2 分後のヒストグラム



(c) 血液封入 5 分後のヒストグラム



(d) 血液封入 10 分後のヒストグラム

図 3-8 マイクロチューブ内で起きた光音響波の経時的変化 (ヒストグラム)

図 3-8 から、輝度のピーク値が徐々に小さくなり、高輝度へ移動している。また、信頼区間が広がっていき、正規分布の形状が経時的に変化していることからワイブル分布に類するモデリング化の可能性も示唆できるかもしれないと考えられる。ワイブル分布は、信頼性データをモデル化するために一般的に使用されている。ワイブル分布は、物体の体積と強度の関係を表す分布として提案され、時間に対して劣化現象（故障時間等）、機器の寿命の信頼分析を表す指標や、レーダー信号、散乱した信号強度の分布モデルなどにも用いられる。ワイブル分布の一般的な例を図 3-9 に示す。

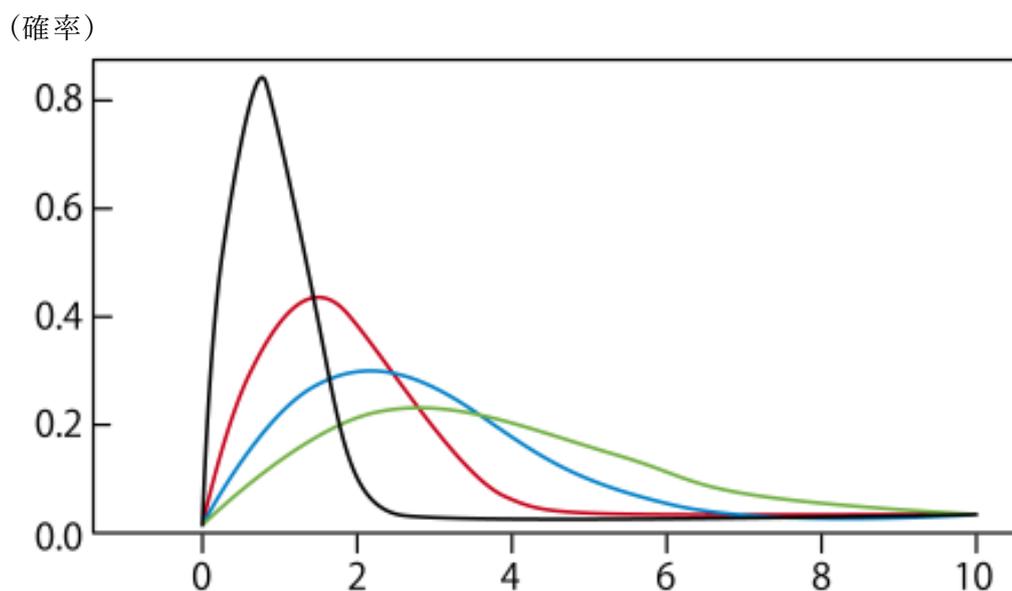


図 3-9 ワイブル分布図の例

図 3-8 のピーク位置と信頼区間の推移を図 3-10 に示す。縦軸（左側）はピーク輝度、縦軸（右側）は信頼区間に入る輝度幅を表した。

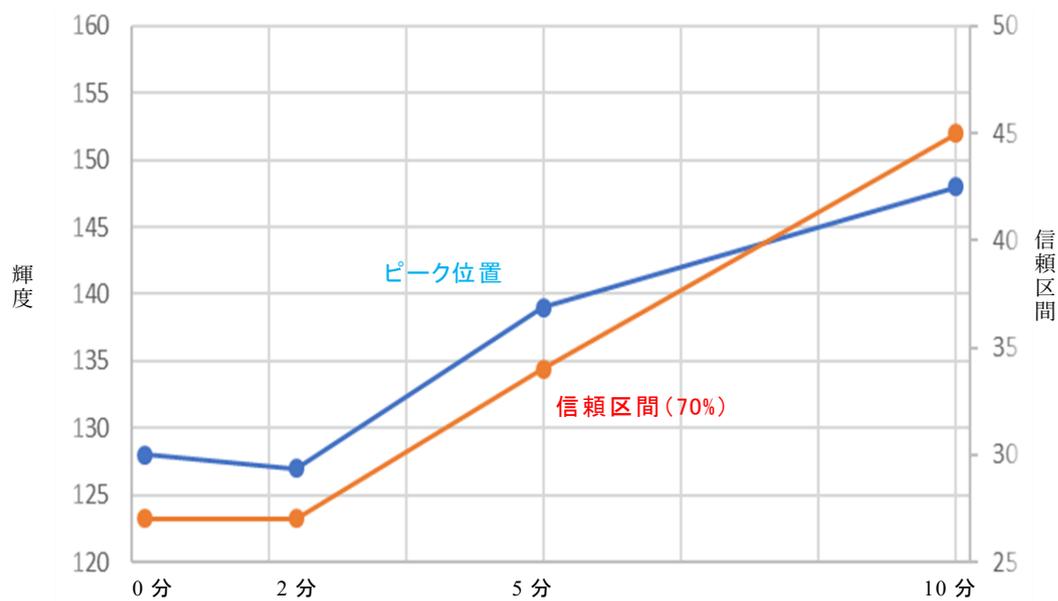


図 3-10 ヒストグラムのピーク輝度と信頼区間の推移

測定回数が少なく、今後の課題になるが、傾向を把握するきっかけとして見ると、マイクロチューブ封入後 2 分からピークと信頼区間の間の変移が線形でない関数成分も考えられ、指数要素が含まれていると推測できる。ピークにおいて、図 3-11 の log-log のグラフに示した通り、(b)から(d)にかけて直線関係に関する成分が輝度に含まれている可能性が分かった。

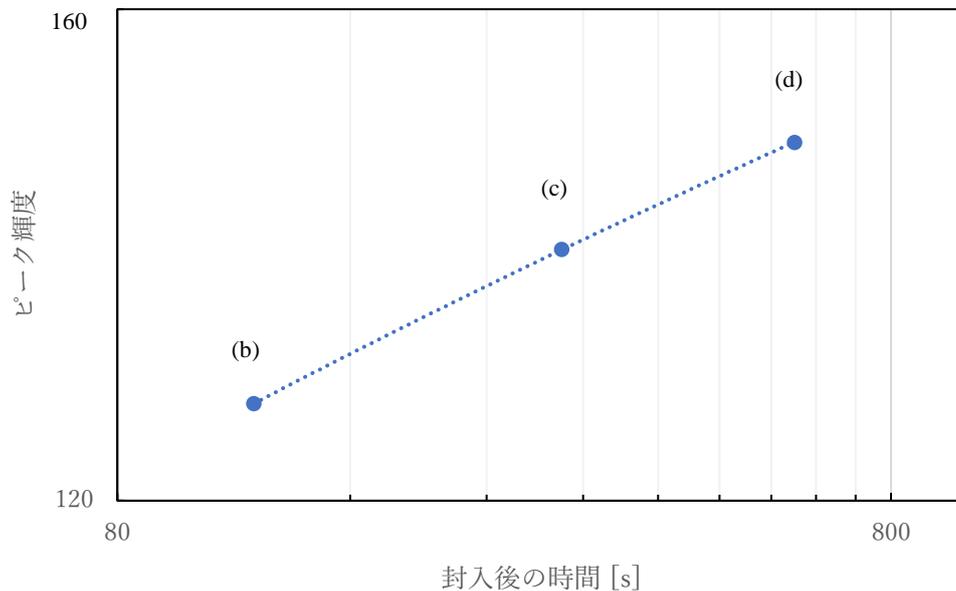


図 3-11 ヒストグラムのピーク位置の推移 (log-log グラフ)

(2) 輝度の特徴量変化の測定

血液凝固前後の各ピクセルが表す輝度のカウント数変化を、T-test を用いて分析する。

まずは、光音響波による上記 3. 4. 2 (1) の結果から、本実験の分析対象を図 3-8 に示すように水中や光音響現象の反応が極端に低い部分などを除いた黄色で囲まれている光音響現象が顕著に現れた領域とした。測定部位を図 3-12 に示す。測定領域は、マイクロチューブの壁面外側から、マイクロチューブ中心部に掛けてグリッド線で囲まれた正方形 (4×4 ピクセル) を 1 ブロックとして、図 3-12 のように赤い枠で囲まれた水平方向 1 1 ブロックを測定 1 回分 (ポイント) の対象とした。

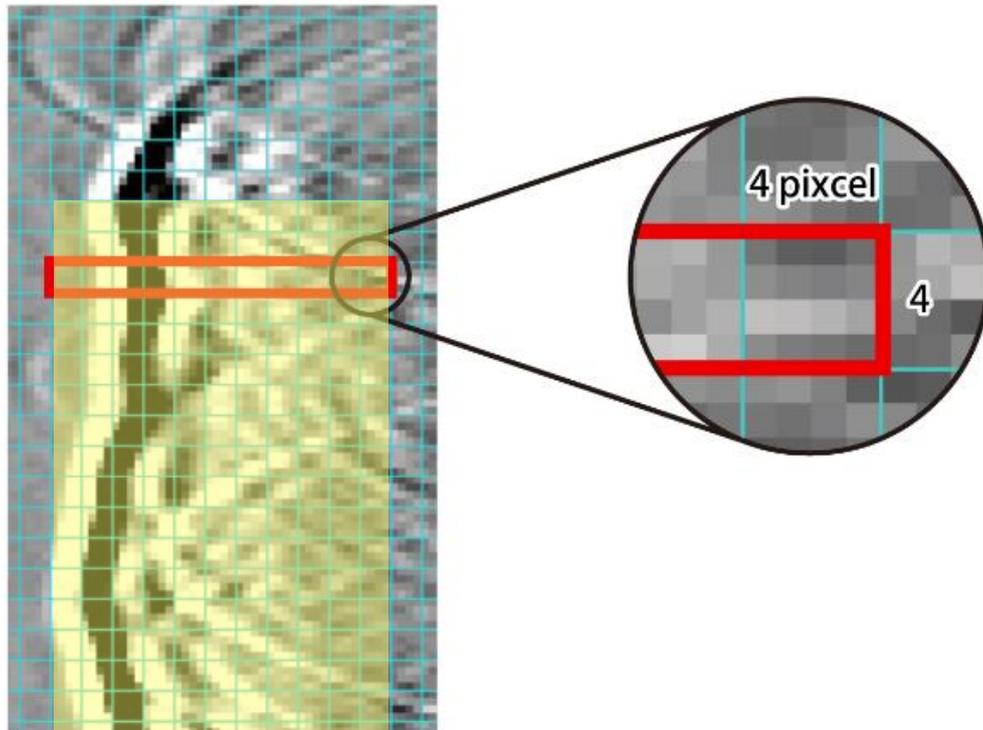


図 3-12 輝度の特徴量変化測定範囲

次に、表 3-1 に、測定領域（赤いウィンドウ内）の各ピクセルの輝度レベルを示した。測定は、マイクロチューブの蓋付近などを外した箇所から、垂直方向に順次ずらしていき測定対象（赤枠）24 ポイントで実行した。表 3-1 の作成では、MATLAB Diagnostic Feature Designer（MATHWORKS）を用いて、取得した B モード画像から特徴量を抽出した。これにより、グレースケール画像の全ピクセルが表す輝度を把握できた。なお、測定対象の全ピクセル数は、4×4 ピクセル（1 ブロック）× 11 ブロックになるので、176 ピクセルとなる。

表 3-1 グレースケール画像からの輝度測定結果の一例

(輝度 : 0~5, 250~255)

		測定ポイント							
輝度		1	2	3	4	5	6	7	...
	0	6	1	6	7	6	8	10	...
	1	0	1	1	2	1	0	0	...
	2	1	0	2	1	1	2	1	...
	3	0	1	1	1	0	1	1	...
	4	0	0	1	2	2	0	0	...
	5	1	1	0	0	0	0	0	...
	Total	176	176	176	176	176	176	176	...

(a) 血液封入直後 0 分のグレースケール画像の輝度測定結果

		測定ポイント							
輝度		1	2	3	4	5	6	7	...
	0	8	8	8	9	11	11	7	...
	1	1	2	1	1	1	2	3	...
	2	0	1	2	2	2	2	2	...
	3	0	3	1	2	0	0	0	...
	4	0	2	0	1	1	1	2	...
	5	2	3	2	0	2	1	0	...
	Total	176	176	176	176	176	176	176	...

(b) 血液封入後 10 分のグレースケール画像の輝度測定結果

次に、表 3-1 で得られた各輝度を表すピクセル数の比較を MATLAB Diagnostic Feature Designer (MATHWORKS) により行った。結果を図 3-13 示す (特徴ヒストグラム)。グラフは色分けされており、オレンジ色：血液凝固前 (0 分) と、青色：血液凝固後 (10 分後) を示している。オレンジ色のグラフと、青色のグラフが重なっている部分は薄い青色となっている。縦軸は、表 3-1 においての全ピクセル (176 ピクセル) 中に輝度 254 示した定箇所割合を示している。横軸はピクセルのカウント数となっている。

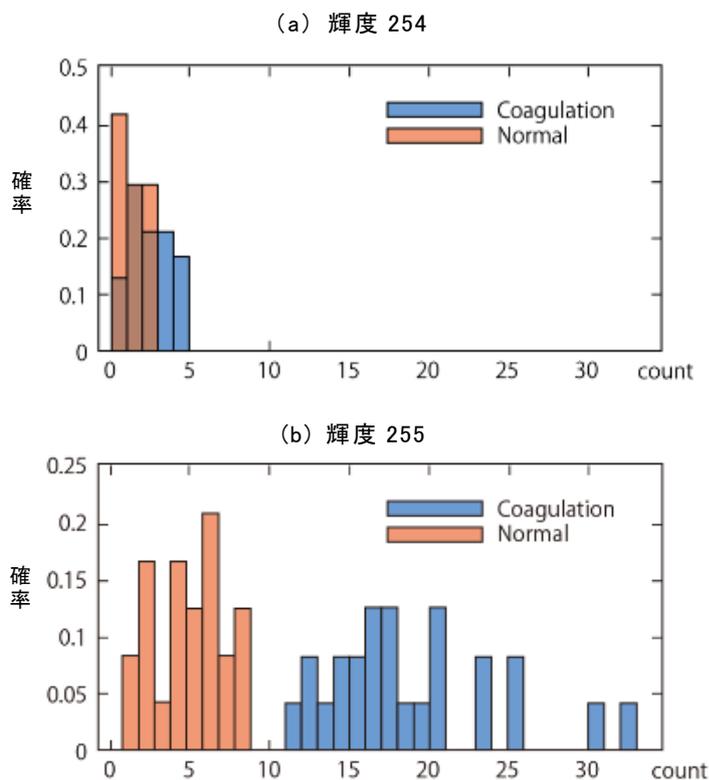


図 3-13 各輝度においての凝固前後の特徴量比較

ここで MATLAB の Diagnostic Feature Designer による特徴ヒストグラムの解釈を説明する。

図 3-13 を例にすると、0 の値 (青) は Coagulation 状態を、1 の値 (オレンジ) は Normal 状態を示している。

① (a) 輝度 254 のヒストグラムには以下が示されている。

- Coagulation 状態の特徴値は、5 つあるビン (棒グラフ) の右から 2 つのビン (count 3 と 4) の範囲に入る (青色のグラフ)。
- Normal 状態の値は、残り 3 つのビン (count 0~2) に入る。
- count 0~2 には、Coagulation 状態からのデータもいくつか含まれるが、Normal 状態のシステムのデータに比べると少ない。この場合、輝度 254 の特徴は Coagulation 状態と Normal 状態を区別があいまいとなる。

これとは対照的に、(b)輝度 255 のヒストグラムには以下のようにになっている。

- 最初のビンの範囲内 (Count 1~8) の値をもつデータは、常に Normal 状態にある (オレンジ色のグラフ)。
- 他のビンの範囲内 (Count 11~32) にあるデータは、Coagulation 状態になる。これらの領域において、Coagulation 状態と Normal 状態がよく区別されていることが示されている (青色のグラフ)。

これら 2 種類のヒストグラムから、(b) 輝度 255 の特徴の方が (a) 輝度 254 の特徴よりも、血液凝固前後で顕著な変化があることが分かり、測定する輝度として効果的であると言える。

(3) 血液凝固前後で変化が顕著な輝度範囲の選定

測定データの負荷を減らし、測定時に注目すべき輝度レベルを特定するために図 3-13 を、MATLAB を用いて T-test を算出した。T-test は、2 つの独立した母集団から取得されたサンプルの平均間の差を特定する検定である。T-test が大きければ大きい程、血液凝固前後の輝度変化が大きいということが分かる。

なお、本来、T-test は平均値が正規分布していないグラフについて使用せずに、ノンパラメトリック検定を行うが、本報告では、平均値の違いの簡易的な判定として T-test を用いて、あたりをつけた。

各輝度の T-test の結果をグラフ化して一覧にした。図 3-14 に示す。図 3-14 は、縦軸を T-test、横軸を各輝度レベル（0～255）とした。なお、凝固前後の輝度変化を比較しやすくするために 5 点移動平均をグラフ化した。信頼範囲などの基準を設けると輝度レベルを帯で特定できそうなことが見受けられる。

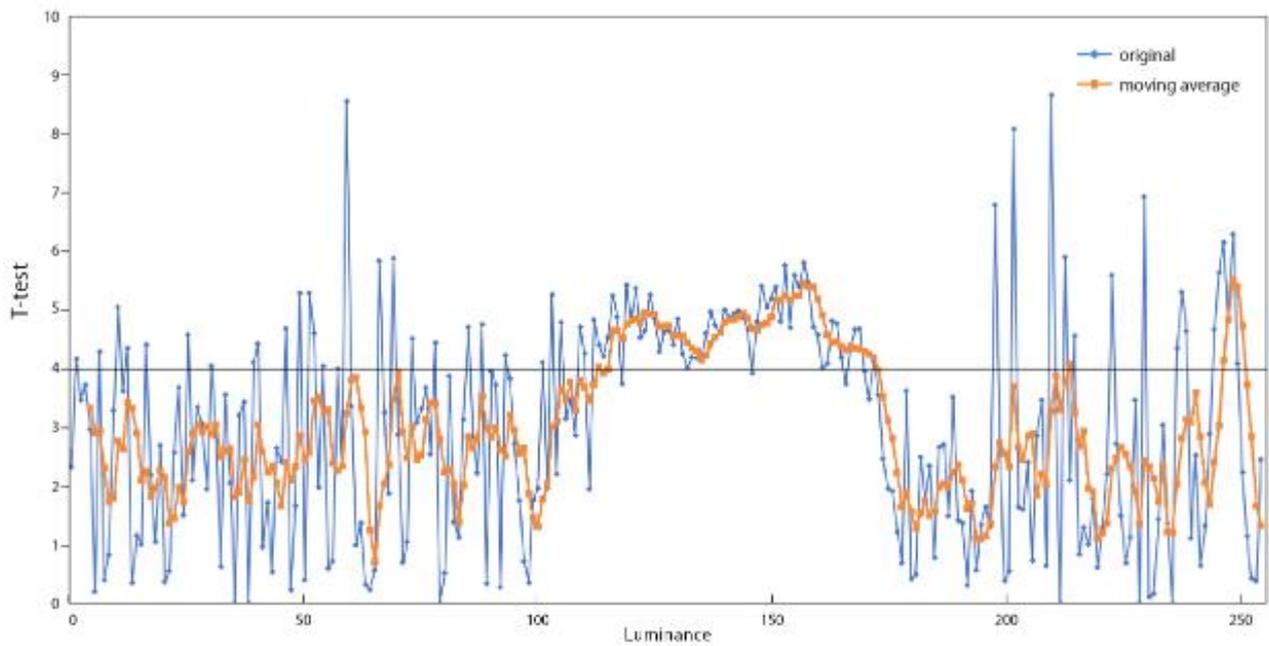


図 3-14 各輝度における凝固前後を比較した T-test 結果（5 点移動平均）

また、図 3-14 は特徴量を抽出するには図がはっきりしないため、図 3-15 に、図 3-14 をカラーマッピングした平面図を表示した。数字は輝度（0～255）を表しており、各輝度での T-test の結果を色分けした。4～5 は青色、5～6 は深い緑色、6～7 は薄緑色、7～8 は黄色、8 以上はオレンジとした。

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111
112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127
128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159
160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191
192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207
208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223
224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239
240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255
T-test															
8	7	6	5	4	3	2	1								

図 3-15 各輝度における凝固前後を比較した T-test 結果（一覧）

実装を考えた時に、輝度レベル 1 ずつの分解能で分析をするよりも、ある程度、輝度レベルをまとめて測定・処理したほうが、データ処理装置の負荷が低い。そこで、T-test で 6 以上の輝度を血液凝固の特徴量とした場合は、測定対象となる輝度にまとまりがなく、測定範囲の選定をしにくい。T-test で 4 以上の輝度では、注目すべき輝度がまとまっていることが分かる。そのため、T-test 4 以上で、輝度がある程度集まる範囲を分析対象データとした。この結果から、輝度レベル 109～169 の超音響波で、血液凝固前後の輝度の顕著な変化を測定できると分かった。

3.4.3 考察

本研究では、血液体外循環回路の血液凝固状態の変化を継続的に測定するため、扱うデータ量を減らす必要性があった。そこで、光音響イメージングで得た画像の輝度変化に着目して、測定すべき輝度範囲を選定した。光音響イメージングから得られた図 3-4 の輝度変化を図 3-8 のようにヒストグラムにして、分析を行うと、(a) 血液封入直後のピークは輝度 128、(d) 血液封入 10 分後のピークは輝度 148 となり、輝度のピーク値に経時的な変化が分かった。そこで、図 3-4 の輝度の変化が顕著な箇所を、MATLAB Diagnostic Feature Designer (MATHWORKS) を用いて分析した。MATLAB の分析結果である T-test から、血液凝固前後の輝度レベル 109~169 に着目することで、より顕著な血液凝固の経時変化を観察できる可能性を示せた。

3.5 測定部位の選定

3.5.1 背景と目的

光音響イメージングにて、取り扱うデータ量の低容量化を図り、マイクロチューブ全身を測定するのではなく、血液凝固前後で変化が著しい部位の選定を行う。

3.5.2 測定部位の選定

(1) マイクロチューブ内の部位による光音響現象の反応変化について

画像処理ソフトの ImageJ を用いた分析部位を、互いに重ならないように分析す

るごとに、1 ブロックずつ垂直方向にずらして輝度分布を調べた。結果を図 3-16 に示す。また、水平方向へも、4×4 pixel を 1 セルとして、1×10 セルを 1 ブロックとした範囲で分析を行った。

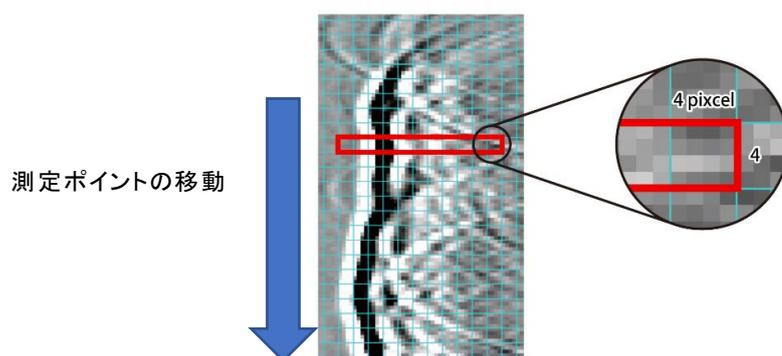


図 3-16 測定部位選定のためのマイクロチューブ測定（垂直方向）

試しとして、マイクロチューブの蓋側から 5 mm、測定部位下部から 5 mm の輝度変化の比較を、輝度範囲 109～169 で行い、3 点移動平均の結果を図 3-17 に示した。横軸は輝度として、縦軸は 1 ブロックの全セル中で、横軸に表している輝度を指したセル数を表す。図 3-17 から測定部位により、光音響波の反応に違いが見て取れた。これにより、測定部位の選定を行うことで光音響イメージングにて取り扱うデータ量を低容量で扱える可能性を見出せた。

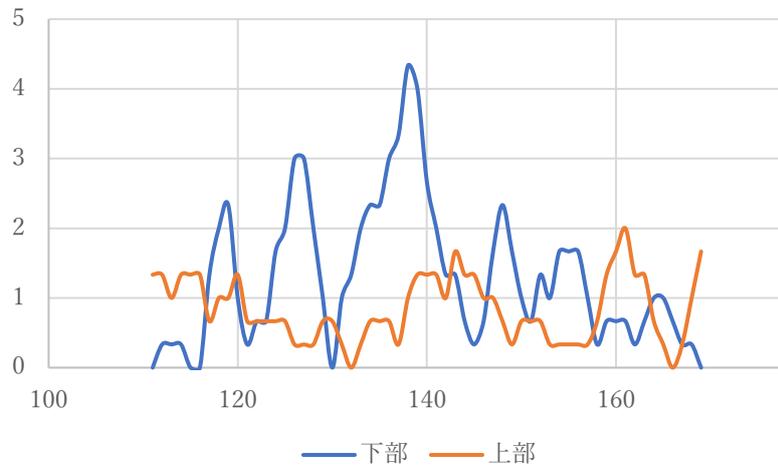


図 3-17 マイクロチューブの上部と下部の輝度変化の比較
 (輝度 : 109~169)

(2) マイクロチューブ垂直方向での光音響現象比較

測定した光音響イメージングを MATLAB の“Diagnostic Feature Explorer”の Histogram を適用して結果の一部を図 3-18 に示す。VerName28 は MATLAB へのデータ入力時に自動で表記されるタイトルであり、輝度であらわすと輝度 28 を表す。

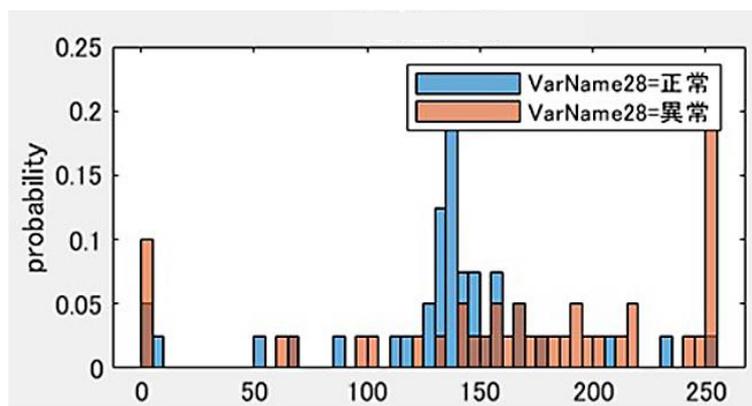


図 3-18 各輝度においての凝固前後の特徴量比較 (輝度 28)

縦軸は全測定数に対する割合を表して、横軸は輝度となっている。測定で得られたヒストグラムで表されている青いグラフ（正常）はマイクロチューブ内への血液封入後 0 分を表し、血液凝固した血液封入 10 分後を赤いグラフ（異常）とした。凝固前の光音響波と、凝固後の光音響波が重なった部分は茶色に区別してある。青いグラフ群と赤いグラフ群が左右に分かれれば分かれる程、凝固開始 0 分から凝固開始後 10 分後の光音響イメージングの変化が顕著になっていると言える。

さらに、“Diagnostic Feature Explorer”の Rank Features により図 3-18 の T-test の結果をランキングにして、図 3-19 に示した。以上の通り、血液凝固による光音響波の変化が大きい測定部位を判別できる。なお、MATLAB “Diagnostic Feature Explorer”の Rank Features は、測定で得られたヒストグラムによって、特徴の有効度の初期評価が実行できる。

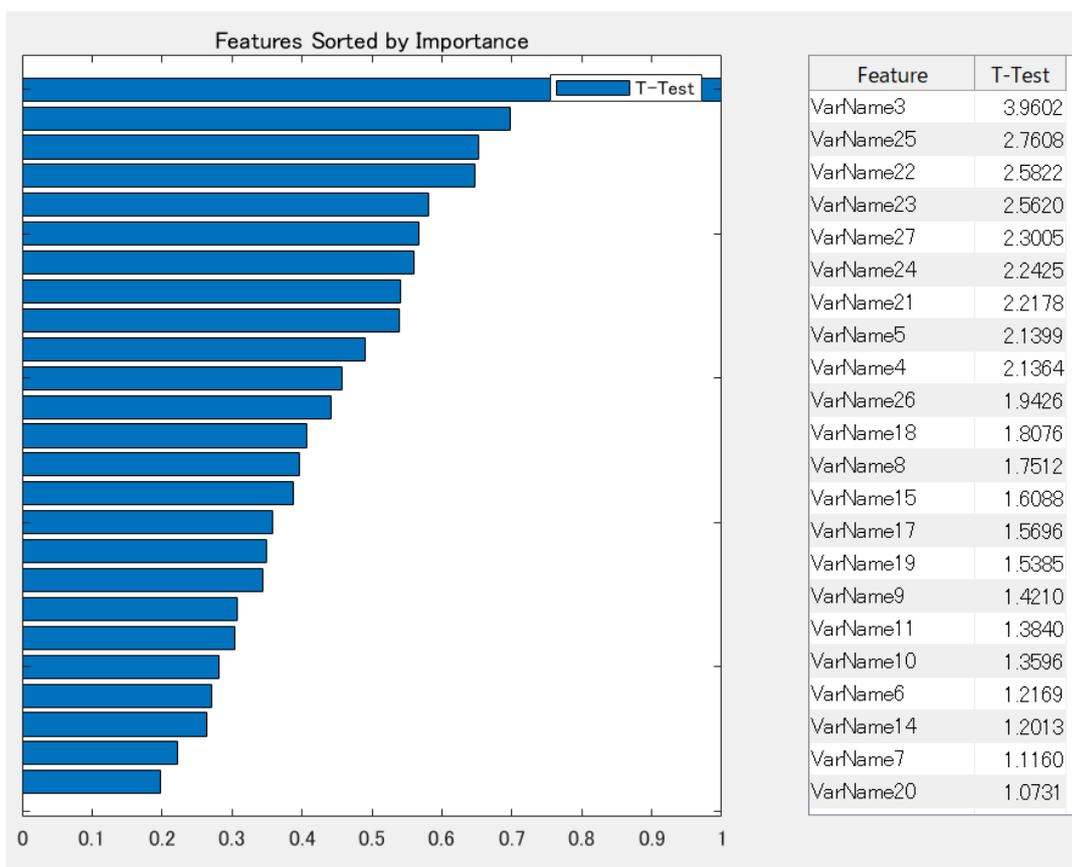


図 3-19 T-test ランキング

測定部位を比較しやすいように、図 3-19 の結果に 5 点移動平均処理を行い、測定箇所順に並べ変えて（横軸）、縦軸を T-test として、図 3-20 とした。

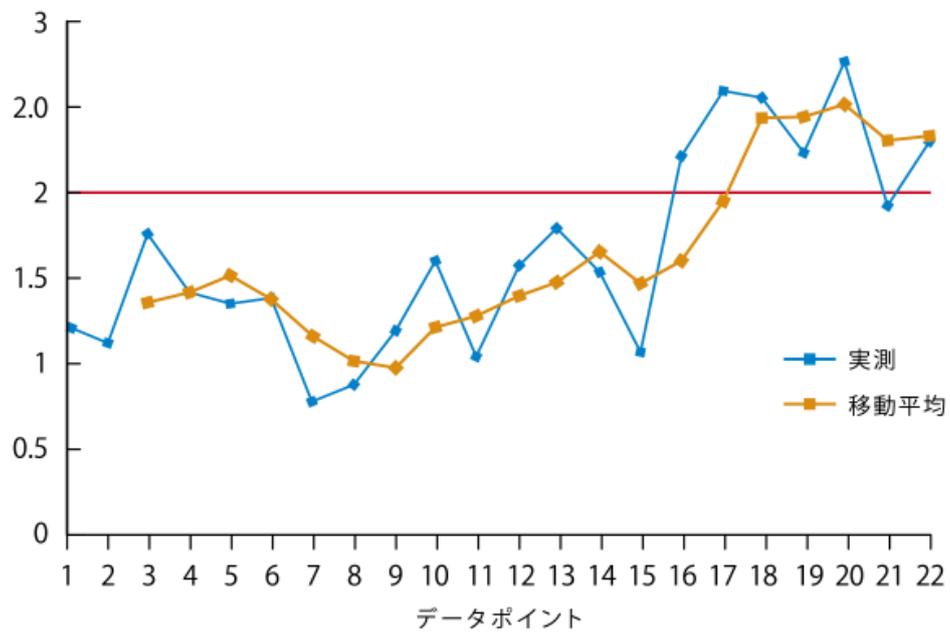


図 3-20 5点移動平均の結果（図 3-19 を処理）

本研究では、凝固前後で T-test の変化が大きかった 2 以上を分析対象とした。これにより、凝固前から凝固後の光音響波の変化が著しいのは、データポイント 18～22 だと分かった。

(3) 測定部位の選定

図 3-21 にデータポイントとマイクロチューブの位置の対応を示す。また、T-test の 2 以上の部位を青色で示した。

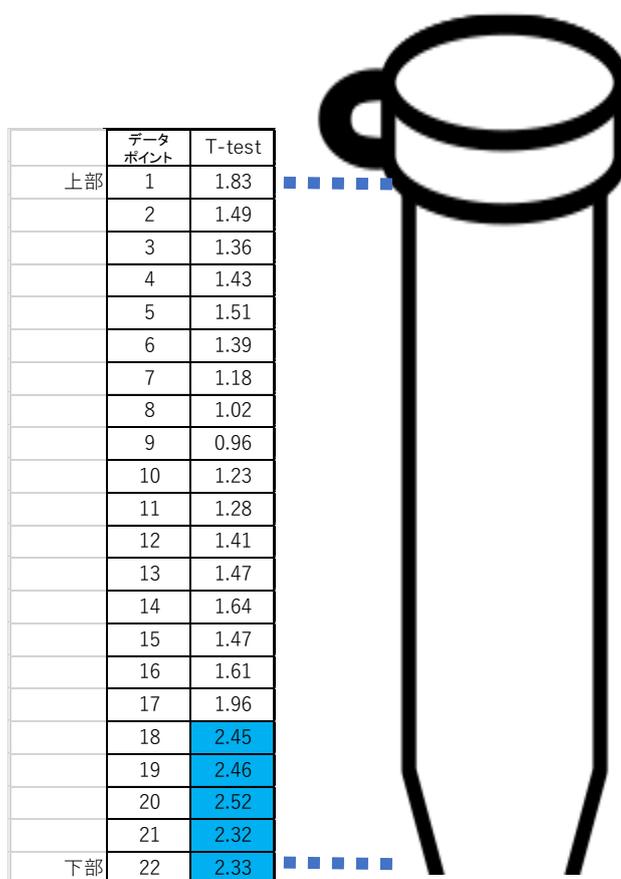


図 3-21 測定部位の選定（垂直方向）

マイクロチューブ水平方向への分析を行った。得られた“Diagnostic Feature Explorer”の Rank Features の結果を表 3-2 に示す。T-test の高い部分を黄色で示した。データポイント 5-7 では特徴として抽出するのが妥当と考え、凝固前後で変化の大きい T-test 5 以上のセルを黄色とした。

表 3-2 測定部位の選定（水平方向）

	左							右
データポイント	1	2	3	4	5	6	7	8
T-test	2.10	1.03	0.92	2.48	12.76	15.64	15.30	4.82

図 3-21 と、表 3-2 を掛け合わせた一覧を表 3-3 に表す。信頼区域を約 90%以上と定義したため、図 3-21 と、表 3-2 の T-test の結果を掛け合わせて 29 以上になる部位に着目した。29 以上をピンク色とした。

表 3-3 測定部位の選定（垂直方向と水平方向の T-test 掛け合わせ）

		左								右
		データポイント	1	2	3	4	5	6	7	8
		T-test	2.10	1.03	0.92	2.48	12.76	15.64	15.30	4.82
上部	1	1.83	3.84	1.88	1.68	4.54	23.35	28.62	28.00	8.82
	2	1.49	3.13	1.53	1.37	3.70	19.01	23.30	22.80	7.18
	3	1.36	2.86	1.40	1.25	3.37	17.35	21.27	20.81	6.56
	4	1.43	3.00	1.47	1.32	3.55	18.25	22.37	21.88	6.89
	5	1.51	3.17	1.56	1.39	3.74	19.27	23.62	23.10	7.28
	6	1.39	2.92	1.43	1.28	3.45	17.74	21.74	21.27	6.70
	7	1.18	2.48	1.22	1.09	2.93	15.06	18.46	18.05	5.69
	8	1.02	2.14	1.05	0.94	2.53	13.02	15.95	15.61	4.92
	9	0.96	2.02	0.99	0.88	2.38	12.25	15.01	14.69	4.63
	10	1.23	2.58	1.27	1.13	3.05	15.69	19.24	18.82	5.93
	11	1.28	2.69	1.32	1.18	3.17	16.33	20.02	19.58	6.17
	12	1.41	2.96	1.45	1.30	3.50	17.99	22.05	21.57	6.80
	13	1.47	3.09	1.51	1.35	3.65	18.76	22.99	22.49	7.09
	14	1.64	3.44	1.69	1.51	4.07	20.93	25.65	25.09	7.90
	15	1.47	3.09	1.51	1.35	3.65	18.76	22.99	22.49	7.09
	16	1.61	3.38	1.66	1.48	3.99	20.54	25.18	24.63	7.76
	17	1.96	4.12	2.02	1.80	4.86	25.01	30.65	29.99	9.45
	18	2.45	5.15	2.52	2.25	6.08	31.26	38.32	37.49	11.81
	19	2.46	5.17	2.53	2.26	6.10	31.39	38.47	37.64	11.86
	20	2.52	5.29	2.60	2.32	6.25	32.16	39.41	38.56	12.15
	21	2.32	4.87	2.39	2.13	5.75	29.60	36.28	35.50	11.18
下部	22	2.33	4.89	2.40	2.14	5.78	29.73	36.44	35.65	11.23
	データポイント	T-test								

表 3-3 より、マイクロチューブの壁面内側の下部を測定すると、血液凝固の経時的変化を測定しやすいと分かった。また、マイクロチューブの形状が変化している下部に超音響イメージングの変化が大きいことから、先細りしている形状が血液凝固に影響を与えている可能性があることが分かる。形状が変化している回路内での血液凝固促進は報告されている通りである。[16-17] 血液体外循環回路で置き換え、微小凝集塊捕捉フィルタが設置されている付近に血液凝固が発生しやすいのではと推測した。

3.5.3 考察

図 3-5 のグレースケール画像 水平・垂直方向の輝度変化が顕著な部位を、ImageJ を用いて選定した。なお、輝度変化の顕著な部位選定のため、MATLAB “Diagnostic Feature Explorer”の Rank Features を使用して画像分析を行った。分析結果から特定の部位に特徴量の可能性を見出すことが出来たと言える（図 3-21、表 3-2、表 3-3）。

3.6 マイクロチューブ内での経時的な血液凝固の変化を用いての予知保全プログラム

3.6.1 背景と目的

第 3 章の目的である、エアートラップチャンバ環境を模擬したマイクロチューブ内の、経時的血液凝固変化の予知保全の可能性について探る。3.4 測定輝度範囲の選定と 3.5 測定部位の選定で得られた、注目すべき輝度・測定部位を測定して、経時的輝度変化の結果を MATLAB の分類学習器を用いて、予知保全プログラムを試作した。

3.6.2 選定した輝度レベルと測定部位への光音響イメージング結果

測定部位は 3.5 測定部位の選定から、マイクロチューブ下部中心とした。分析する輝度レベルは 3.4 測定輝度範囲の選定から 109～169 としている。測定は (a) 血液封入直後、(b) 血液封入後 2 分、(c) 血液封入後 5 分、(d) 血液封入

後 10 分として、各 22 回行った。測定データの一部を表 3-4 に示した（測定 1・2・21・22 回目）。測定結果は MATLAB において分類学習させる都合上、輝度範囲を 109~139 と、140~169 と 2 つに分割して、2 軸とした。表に記した数値は輝度レベル 109~139、140~169 を示すセル数をカウントしている。それぞれ、血液凝固までの時間を (a) Long、(b) Medium (c) Short と表現した。封入 10 分後は血液凝固が完了しているので (d) Urgent と定めた。

表 3-4 予知保全システム作成のための入力データ一覧

	測定回数	Lum.109-139	Lum.140-169	Condition
血液封入 0分	1	21	27	Long
	2	21	27	Long
	21	9	30	Long
	22	14	28	Long
血液封入 2分	1	5	13	Medium
	2	7	13	Medium
	21	6	8	Medium
	22	12	5	Medium
血液封入 5分	1	11	7	Short
	2	6	5	Short
	21	8	13	Short
	22	8	10	Short
血液封入 10分	1	9	12	Urgent
	2	11	9	Urgent
	21	8	10	Urgent
	22	10	5	Urgent

3.6.3 MATLABによる学習プログラム作成の可能性について

どんなシステムでも異常（本研究では血液凝固）を事前に精度良く予測するのは簡単なことではない。そこで、超音響イメージングの測定結果に、飛行機のターボファンエンジンの故障の予兆検知や、メンテナンスの必要時期の予測など様々な実績がある MATLAB で機械学習を行った。[18-19]

本章でマイクロチューブ内の血液凝固の経時的変化を示せたので、機械学習の中から、教師あり学習を選択した。教師あり学習（学習のタイプ）は、学習データとしてラベル付きの入力とその正しい出力が与えられ、ある入力を受ける

と正しい出力ができるよう訓練を繰り返し学習させ、新しいデータを入れたときに正しく判別できるアルゴリズムである。教師あり学習の代表的なアルゴリズムのタイプには、「分類」と「回帰」がある。分類とは、既存のデータをもとに、判定するデータを、いくつかのクラスに分類する。離散的なラベルでは分類を用いる。回帰は、連続的な値を予測するアルゴリズムである。

予知保全システムの血液体外循環療法への実装を考え、最終的には回帰の手法を適用し、血液が凝固して血液体外循環療法として機能しない状態になるまでの時間をカウントダウン形式で表現したいが、血液を扱う研究において、回帰・分類学習に十分な測定回数を得るには現段階では叶わなかった。本研究では予知保全の可能性を探る段階なので、回帰（教師あり学習）の可能性を探るために分類学習にて、血液凝固の経時的変化を分類できるか判定した。MATLAB による分析結果を図 3-21 に示す。縦軸を表 3-4 の測定回数の中から輝度レベル 109～139 を示したセル数、横軸を輝度レベル 140～169 を示したセル数となっている。表 3-4 の (a) Long、(b) Medium (c) Short (d) Urgent を、それぞれ (a) 青 (b) 赤 (c) 黄 (d) 紫の色でマークした。また、真値と予測が合っていれば○：正、外れていれば ×：誤 と表現した。なお、測定回数が少ないため、分割数 5 で、交差検証を行った。

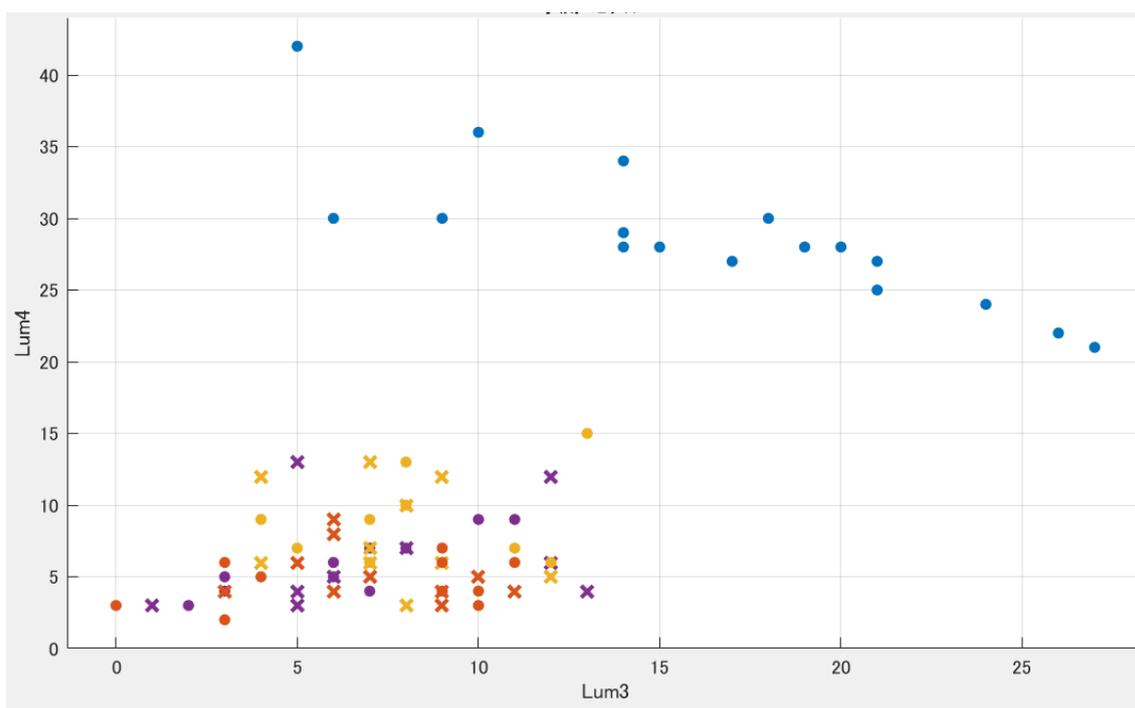


図 3-22 MATLAB による光音響イメージングの測定結果分析

マイクロチューブへ血液封入後 0 分の Long がグラフの右上に固まっており、Medium、Short、Urgent は、左下に集まっていて、Urgent になるにつれて、さらに左下へ分布が変化していくのが分かる。

また、線形判別から得られた混同行列を図 3-23 に示す。混同行列とは、学習システムをつかったあとに性能を評価する分類表である。実際のデータが Urgent のものに対して、正しく Urgent と予測されたものの計測回数、または、誤分類のされ方や割合も分かる。図 3-23 の、縦が実際のクラス、横が予測されたクラスを表す。さらに、混同行列の下に、陽性的中率（陽性の予測値）（Positive Predictive Value : PPV）と偽発見率（False Discovery Rate : FDR）を示す。

Urgent を例にすると、陽性的中率（PPV）は予知保全モデルが Urgent と予想したうち、実際にそれが Urgent である率を示し、FDR は Urgent と分類したうち実

際に **Urgent** ではない率を示す。**Long** に関しては、100%の予想をしているが、これはマイクロチューブへの血液封入後 10 分のデータの結果が、他のデータと比較して極端に開きがある状態にあるためだと考えられる。他の **Medium**(50.0%)、**Short**(45.8%)、**Urgent**(59.1%)となった。実装するには精度が低く、改善の必要がある。

真のクラス	Long	100.0%			
	Medium		50.0%	29.2%	22.7%
	Short		35.0%	45.8%	18.2%
	Urgent		15.0%	25.0%	59.1%
PPV		100.0%	50.0%	45.8%	59.1%
FDR			50.0%	54.2%	40.9%
		Long	Medium	Short	Urgent
		予測されたクラス			

図 3-23 MATLAB による光音響イメージングの測定結果からの混同行列

表 3-4 で得られたデータに対して使えるアルゴリズムを検討した。試したアルゴリズムの一覧を表 3-5 に示す。表 3-5 から、本研究で得られたデータからは、

線形判別が 63.6%と一番、精度が良かった。

表 3-5 最適アルゴリズムの確認

		精度(%)
木	複雑な木	60.2
	中程度の木	60.2
	粗い木	58.0
判別分析	線形判別	63.6
	2次判別	56.8
単純ベイズ分類器	ガウス単純ベイズ	51.1
	カーネル単純ベイズ	55.7
サポート ベクターマシン	線形SVM	59.1
	2次SVM	54.5
	3次SVM	55.7
	細かいガウスSVM	37.5
	中程度のガウスSVM	55.7
	粗いガウスSVM	52.3
最近傍分類器	細かいKNN	37.5
	中程度のKNN	54.5
	粗いKNN	22.7
	コサインKNN	50.0
	3次KNN	53.4
	重み付きKNN	47.7
アンサンブル分類器	ブースティング木	50.0
	バギング木	50.0
	部分空間判別	60.2
	部分空間KNN	47.7
	RUSBoost木	46.6

3.6.4 考察

マイクロチューブ内の血液凝固の経時的変化への超音響イメージングから得られるグレースケール画像から MATLAB で機械学習を行った。機械学習には、教師あり学習の分類の線形判別を用いた。表 3-5 から、線形判別の精度 63.6%と算出されたからである。(a) Long、(b) Medium、(c) Short、(d) Urgent の、陽性的中率 (PPV) は (a) 100%、(b) 50.0%、(c) 45.8%、(d) 59.1% となり、精度の低さは、現状、測定回数が少ないことが原因であると考えられる。測定回数が少ない理由としては、主となる測定装置を別の施設でお借りしていることや、そもそも測定回数を増やしにくい血液を用いた測定のためである。

3.7. 総括

3.3 マイクロチューブ内の経時的血液凝固時の超音響波変化の有無についてから、マイクロチューブ内に形成された血液凝固一つ一つの形状や、大きさなどの詳細の測定は出来なかったが血液凝固が進んでいると思われる部位からの経時的超音響波の変化を、LED 光源を用いた超音響イメージングにより透明プラスチック越しに確認できた。したがって、LED 光源を用いた超音響イメージングを使用しての、血液体外循環回路で発生した血液凝固の過程を測定出来る可能性を見出せた。

3.4 測定輝度範囲の選定では、マイクロチューブ内で形成された血液凝固の経時的な変化が、超音響イメージングから得られた画像の輝度に顕著な変化が出ていたことが分かった。輝度変化がより大きく表れる輝度の範囲を選定でき

たことで、本節の目的であった、光音響イメージングにて得られるデータ量を減らす可能性が見出された。

3.5 測定部位の選定 においては光音響イメージングにて取り扱うデータ量の低容量化を図るため、測定部位をマイクロチューブ全体ではなく、血液凝固前後で変化が著しい部位を特定して、その部位のみを測定部位の候補として選定を行えた。

3.6 マイクロチューブ内での経時的な血液凝固の変化を用いての予知保全プログラム では、上記の結果を用いて、精度 63.6%の予知保全モデルを試作できた。次章で行う血液体外循環回路内での血液凝固予知保全システムへの可能性を示せたと考える。

3.8 参考文献

- [1] Toshitaka Agano, Naoto Sato. “Photoacoustic Imaging System using LED light source”. IEEE. 19 December 2016. Published in: 2016 Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO).
- [2] Toshitaka Agano, Mithun Kuniyil Ajith Singh, Ryo Nagaoka, Kunio Awazu. ” Effect of light pulse width on frequency characteristics of photoacoustic signal – an experimental study using a pulse-width tunable LED-based photoacoustic imaging system”. International Journal of Engineering & Technology, 7 (4) (2018) 4300-4303.
- [3] T. Agano, N. Sato, H. Nakatsuka et al., "High frame rate photoacoustic imaging using multiple wave-length LED array light source," Proc. SPIE, 9708, 97084E (2016).
- [4] A. Hariri, J. Lemaster, J. Wang et al., “The characterization of an economic and portable LED-based photoacoustic imaging system to facilitate molecular imaging,” Photoacoustics, 9, 10-20 (2018).
- [5] Robert J Talbert, Scott H Holan, John A Viator. Photoacoustic discrimination of viable and thermally coagulated blood using a two-wavelength method for burn injury monitoring. IOP PUBLISHING PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY Phys. Med, Biol. 52 (2007) 1815–1829.
- [6] A.B. Karpouk, S.R. Aglyamov, S. Mallidi, J. Shah, W.G. Scott, J.M. Rubin, S.Y. Emelianov, Combined ultrasound and photoacoustic imaging to detect and stage deep vein thrombosis. phantom and ex vivo studies, *J Biomed Opt.*, Vol. 13, Issue 5, Sep-Oct 2008, 054061.

- [7] R.A. Weissleder : A clearer vision for *in vivo* imaging. Nat. Biotechnol.,19: 316-317,2001.
- [8] A.M. Smith,M.C.Mancini,S. Nie: Secound window for *in vivo* imaging,Nat. Nanotechnol.,4: 710-711.2009.
- [9] Jin Takashi. Non-Invasive Near-Infrared Fluorescence Imaging in the Second Optical Window. JJSLSM Vol.36 No.2(2015). pp.195-200.
- [10] Schneider, C.A, Rasband, W.S, Eliceiri, K.W. NIH Image to ImageJ, 25 years of image analysis. Nature Methods 9, 671-675, 2012.
- [11] Collins TJ "ImageJ for microscopy". BioTechniques. 25–30. 43 (1 Suppl). July 2007.
- [12] Burger W, Burge M Digital Image Processing: An Algorithmic Approach Using Java. Springer. 2007.
- [13] Dougherty, G. Digital Image Processing for Medical Applications. Cambridge University Press .2009.
- [14] Abramoff, M.D., Magalhaes, P.J., Ram, S.J. "Image Processing with ImageJ". Biophotonics International, volume 11, issue 7, pp. 36-42, 2004.
- [15] M. Abramoff, P. Magalhaes, S.J. Ram, Image Processing with ImageJ, *Biophotonics International*, Vol. 11, Issue 7, 2004, pp. 36-42.

- [16] Kirill Lykov, Xuejin Li, Huan Lei, Igor V.Pivkin, George Em, Karniadakis. Inflow/Outflow Boundary Conditions for Particle-Based Blood Flow Simulations:Application to Arterial Bifurcations and Trees. PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY. August 28, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004410>.
- [17] 丸山 修. 溶血と血栓. 人工臓器 43 卷 1 号. 2014 年. pp. 78-81.
- [18] <https://jp.mathworks.com/videos/predictive-maintenance-with-matlab-a-prognostics-case-study-121138.html>
- [19] <https://jp.mathworks.com/videos/series/Failure-Diagnosis-and-Prediction-by-MATLAB.html>

第 4 章

血液体外循環回路を用いての
血液体外循環療法時を模擬した血液凝固の
予知保全システムの可能性について

第4章では、実際に血液体外循環回路内に血液を流し、音響イメージングの実験検討を行った。4.2「血液体外循環回路内での血液凝固の状況と凝固までの時間について」では、血液体外循環回路内で血液凝固が進み、血液体外循環療法の機能不全となるまでの時間を確認した。4.3「血液体外循環回路内の血液凝固時の経時的音響波変化の確認」では、AcousticXを用いた音響イメージングにて、血液体外循環療法を模擬した回路内血液凝固の経時変化の有無を調べた。第3章に倣って、4.4「血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定」では測定で得られた音響イメージングから、血液凝固前後で変化が著しい、注目すべき輝度レベル範囲の選定と、血液体外循環回路測定部位の選定を行った。最後に4.5「血液体外循環回路内での経時的な血液凝固変化への予知保全プログラム」では、4.4「血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定」で得られた測定における諸条件を用いて、血液体外循環回路における血液凝固への予知保全システムの可能性を検討した。

4.1 背景と目的

実装を考え、血液体外循環装置と血液体外循環回路を用いて、血液凝固の経時変化を、LED光源の音響イメージング装置にて測定し、予知保全システムの可能性を探ることを目的とした。

4.2 血液体外循環回路内での血液凝固の状況と凝固までの時間について

第2章で確認した通り、エアートラップチャンバ内の環境を模擬したマイクロチューブ内での血液凝固は血液封入後10分で顕著な血液凝固の状態が確認できた。血液体外循環回路においても、血液凝固が完了したと判断できる時間的な指標が必要となってくる。ここでいう、本研究における血液凝固が完了した状態とは、血液体外循環療法として機能しなくなる程の状態まで、血液凝固が進んだことを指す。第2章で行った血液凝固が始まり血餅などの状態になった血液と、血液凝固が進んでいない液体状態の血液に分離して、重量を測る方法は本研究で使用する血液体外循環回路には不向きである。理由としては、マイクロチューブの容量の約1.5mLと比較すると、血液体外循環回路内の容量は非常に多く、血液の確保、測定のために回路内の血液を全て排出することは難しいと判断したからである。また、既存の凝固系・抗凝固系検査も第2章で触れた通り、本研究では適用できなかった。そこで、測定のための準備や、測定による血液凝固の経時的変化の判定を以下のように行った。

4.2.1 使用する血液

本実験に必要な血液量が、マイクロチューブ実験時(1.5mL)と比較して、大量に必要となるため、血液を生きたマウスから、市販の羊の血液に変更した。使用した羊の血液の詳細については以下の通りとなる。

使用血液：緬羊無菌保存血液（100 mL／容器）

12070210 コージンバイオ株式会社

ヘマトクリット値:下限値 13%を設定

抗凝固剤入り（アルセバー液）

4.2.2 血液体外循環回路のショートカット

予知保全システムの可能性の検討に際して、大量の血液を使うには予算がかかり、また実験後の廃棄にも時間と予算が必要となり、初期的研究の段階で行うには難しかったため、血液凝固の再現に影響が出ない程度に、使用する血液量を極力少なくして、測定回数を増やしたいと考えた。血液体外循環回路での実験で必要な血液量を極力減らすために、既存の血液体外循環回路より自作し、ショートカットした。本実験で使用する血液体外循環療法の回路には通常 300mL 弱が流入されるが、ショートカットにより、還流する血液量は 80mL 程度に減らせた。

4.2.3 凝固促進剤

使用する市販の血液は輸送のために、血液に抗凝固剤のアルセバー液 (ALSEVER'S SOLUTION) で、抗凝固処理が施されている。

2.1「血液凝固の機序について」で述べた通り、血液凝固を促進するためには、血液凝固に必要なカルシウムが必要になってくる。ちなみに、凝固因子、リン脂質はすでに血液に内包されているので、市販の羊血液に新たに付け加える必要はない。そこで、凝固促進剤として、グルコン酸カルシウムを使用した。なお、

グルコン酸カルシウムの上限溶解度は、100mL に対して 3.3g となっている。血液 50mL に、33mL の生理食塩水に 1.1g のグルコン酸カルシウムを溶かして注入する。

4.2.4 血液体外循環回路内での凝固発生時の判断基準について

血液体外循環中の回路内の血液凝固の進行具合を把握するのが困難なため、血液体外循環回路内で血液凝固が完了したときに表れる以下の 3 点を観察した。

- ① エアートラップチャンバ内血液液面の低下
- ② 圧力センサーで測定している静脈圧が低下
- ③ ローラーポンプの周辺に小さな気泡が発生

血液体外循環回路に血液を流してローラーポンプにて循環させて、上記の 3 点を観察した結果を以下に記す。

- ① 実験開始時の液面から 1.8cm の低下
- ② 陰圧状態(-1~-10mmHg)
実験開始時：60mmHg 程度
- ③ 気泡の発生

(図 4-1 の写真では少し分かり難いが、赤い矢印部に気泡が多数発生している)

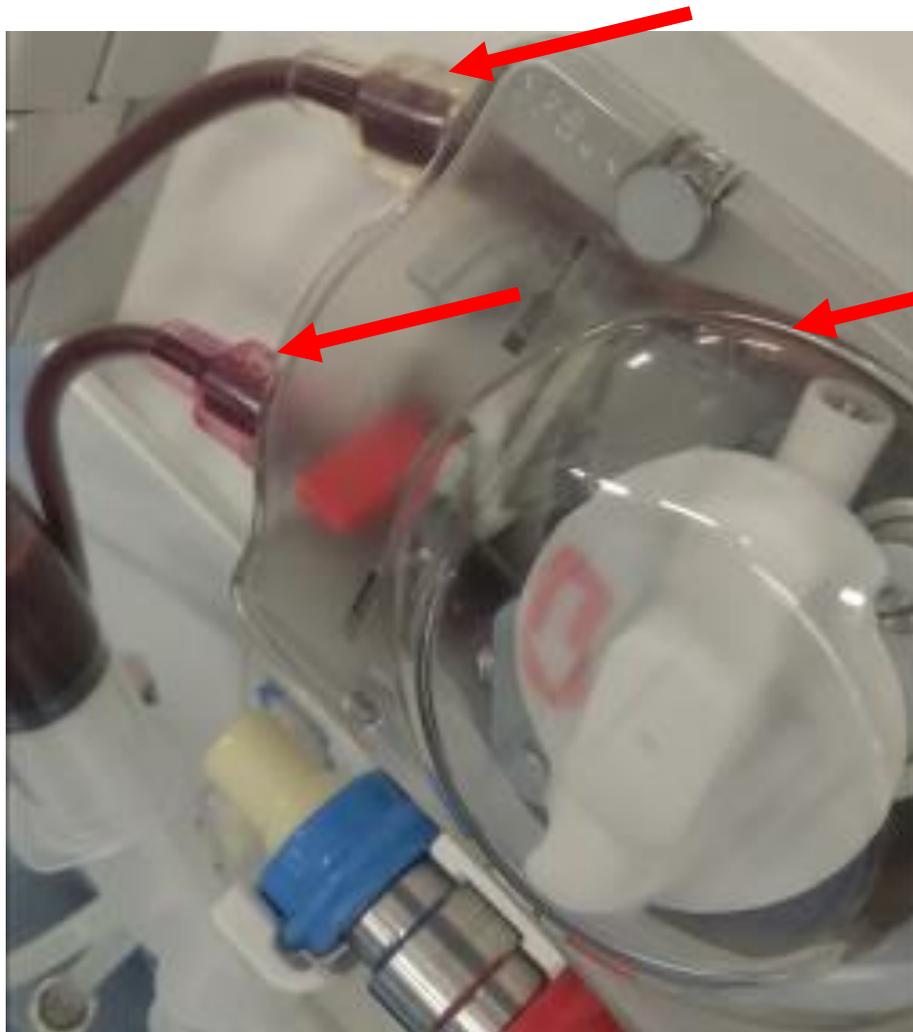


図 4-1 重度の血液凝固発生時のポンプ引き込み側の気泡

4.2.5 血液体外循環回路を用いた血液凝固状態確認の実験系

血液凝固の状態確認実験の手順を以下に記す。

- ① 血液を体外循環させるために、血液透析で用いるコンソール（患者監視装置）のローラーポンプに、血液体外循環回路を設置して、血液 50mL を通す。

- ② 血液体外循環回路内の血液を、血液体外循環療法で一般的に使用されている 37°C程度まで温める。
- ③ 急性血液浄化療法中に設定される血液量は、60～100 mL/min となっている。流速が遅いと、血液体外循環回路内で血液凝固が発生しやすい。本実験では、血液凝固の経時的変化を画像化することで確認するため、より強い超音響波を必要としている。よって、本節では流速 60 mL/min で血液を環流させた。

4.2.6 血液体外循環回路を用いた血液凝固状態確認の結果

実験結果は以下の通りである。グルコン酸カルシウム 1.1g と生理食塩水 33mL を注入後、ほぼ7分を経過したころから、微かな変化が見受けられた。10分後に4.2.4に示した発生を確認した。15分後には完全に凝固して血流がなくなった。15分後の回路内の血液状態を図4-2に示す。図4-2の写真から見てわかるように陰圧となり、エアートラップチャンバが凹み、気泡と判断できる部分も、気泡の形状のまま血液凝固が進み固まっている。よって、本研究では、グルコン酸カルシウムと生理食塩水注入後10分を血液体外循環療法における血液凝固完了時間とした。



図 4-2 グルコン酸カルシウムと生理食塩水を注入後 15 分の
エアートラップチャンバ

4.2.7 考察

血液体外循環療法を模擬して、実際に使用される血液体外循環回路を用いた。また、第 3 章で使用したマウスの血液から、市販の羊の血液に変更して、使用する血液量を極力減らすために、血液体外循環回路をショートカットして回路内に必要な流量を約 300mL から約 80mL に減らせた。

さらに、本節においての、血液凝固完了した時点の判断基準の正当性が確認できた。血液体外循環回路に血液を流して凝固させた。血液凝固前後で変化が見受けられる点は、①エアートラップチャンバの液面低下、②静脈圧低下、③ローラーポンプ周辺に小さな気泡が発生する の 3 点である。以上の 3 点を確認でき

たタイミングで、血液体外循環回路内の血液凝固完了を確認できた。血液体外循環回路内へのグルコン酸カルシウム注入後 10 分とした。

4.3 血液体外循環回路内血液凝固の経時的超音響波の変化確認

ローラーポンプを用いて血流がある状態で、血液体外循環回路のエアトラップチャンバを対象に、超音響イメージングの経時的変化の有無を確認した。超音響イメージングによる血液凝固の測定には、第 3 章と同様に、Acoustic X (CYBERDYNE,INC.) を使用した。測定データの分析には ImageJ を用いた。

4.3.1 測定機器の構成

血液が異物反応して凝固が進行しやすいエアトラップチャンバ壁面側から、AcousticX を用いて、第 3 章同様の実験構成で測定しようとしたところ、問題が生じた。医療現場で用いられる際に、血液等は一定温度で管理されるが、体温付近の 37°C と同等の温度設定にした場合、水槽内の水も 37°C もしくはそれ以上の温度で管理する必要がある。37°C の水中に超音響イメージング装置の LED 光源、超音波プローブを浸すと、温度により音響レンズの剥離等の破損を起こしてしまうことが分かった。そこで、第 3 章のように水中で測定するのではなく、本節では水中と、同等の音響インピーダンスを有し、光エネルギーの印加にも影響を及ぼさない透明ジェルスペーサー (CYBERDYNE,INC.) を LED 光源と超音波プローブの間に挟み、測定対象のエアトラップチャンバに直接付け、測定を行った。本研究で使用した実験の構成を図 4-3 に示した。図 4-3 の通り、治具で 2 つ

の高輝度高速パルス駆動 LED 光源アレイを 2 つ、超音波プローブの両側に取り付けた。角度は約 40° とした。透明ジェルスパーサーを介した超音波プローブとエアートラップチャンバの距離は約 1cm とした。また、LED アレイには 850nm の波長を用い、光エネルギーは約 $200\mu\text{J}/\text{pulse}$ 、パルス幅 70ns、繰り返し周波数 4kHz で照射した。中心周波数が 7MHz の超音波プローブを用いた。また、加算平均は 64 回で行った。

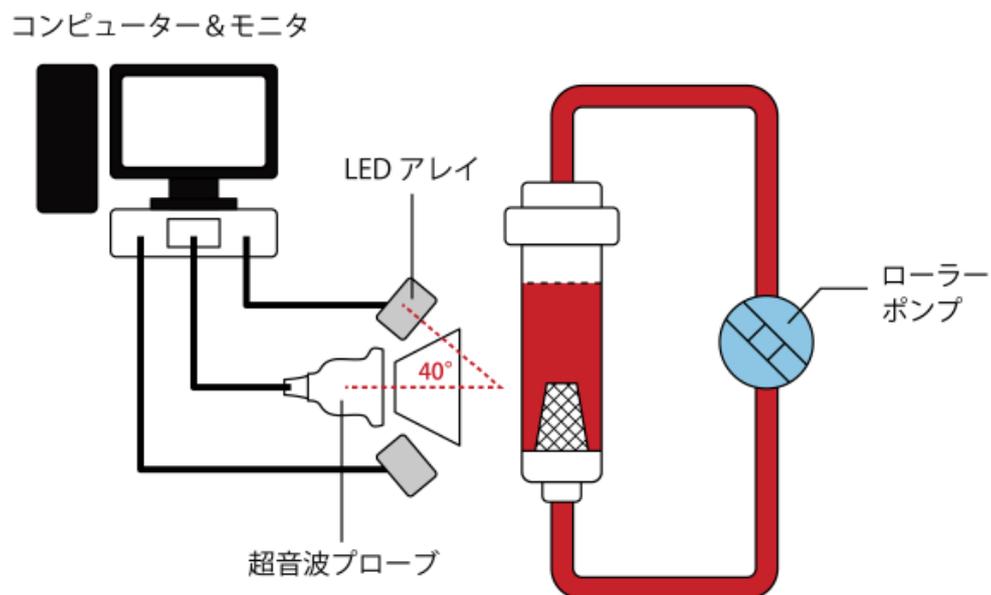


図 4-3 実験の構成図

4.3.2 血液体外循環回路内血液凝固の経時的超音響波変化の測定結果

(1) Bモード測定結果

4.2.5 の手順で血液を循環させ、血液凝固を促進させて超音響イメージングの測定結果を図 4-4 に示す。図 4-4 では、(a) 抗凝固剤注入後 0 分 (b) 2 分後 (c) 5 分後 (d) 10 分後となっている。

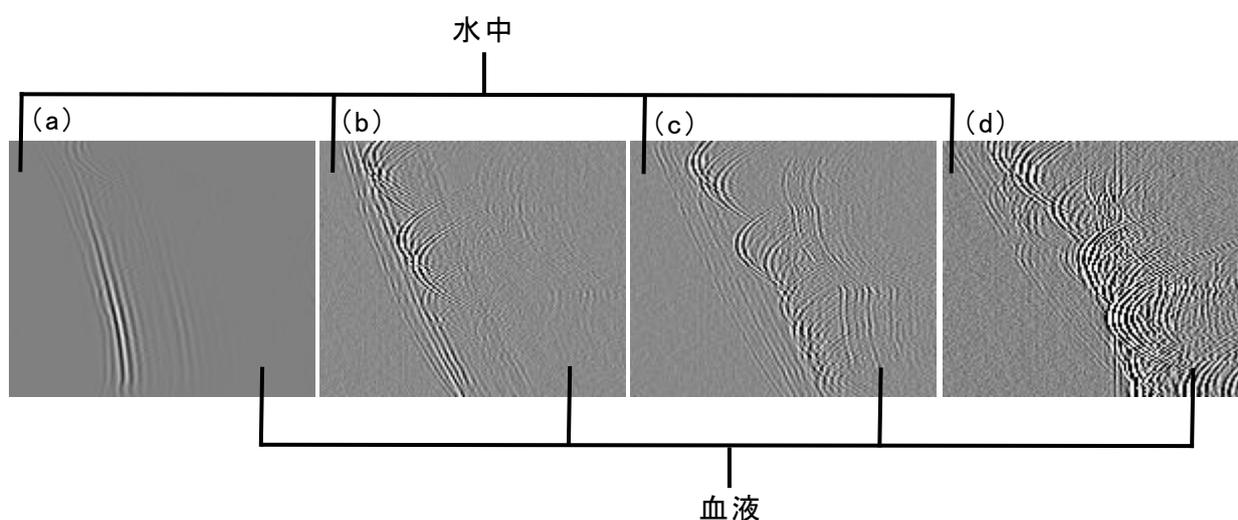


図 4-4 超音響イメージングによる血液凝固の経時的測定結果

(a) グルコン酸カルシウム注入後 0 分 (b) 2 分後 (c) 5 分後 (d) 10 分後

図 4-4 を分析すると、図 3-2 に示した画像の太い黒線(マイクロチューブ壁面)は表示されず、波紋のようなものが観察される。図 4-4 から、波紋の幅が 0.3cm 程度となっており、エアートラップチャンバ壁面の厚さと同等であり、測定位置からも、この幅のある波紋はエアートラップチャンバ壁面でないかと考えられる。マイクロチューブに比べエアートラップチャンバの壁面が柔らかいため、透

明ジェルスペーサーとの音響インピーダンス差が少なく太く黒い線として観測されなかったのではないかと考える。

本節の測定では、超音波プローブ・LED 光源とエアートラップチャンバ間に治具を利用せず、手で持ち測定している。透明ジェルスペーサーとエアートラップチャンバの間に空気の層が入らないよう力を入れると、透明ジェルスペーサーが柔らかいことからジェルスペーサーが変形してしまった。よって、超音波プローブと被測定対象の位置関係が斜めにずれてしまったと結論付けた。なお、測定者を変え、測定を繰り返しても同じような結果となった。今回は間に合わなかったが次回の測定以降は治具等を作製して、エアートラップチャンバに力を均一に掛けての測定が重要であることが分かった。

4.3.3 考察

図 4-4 において、(a) から (d) にかけて、光音響波を表す白い波紋のようなものの数と輝度が高くなっていることが分かる。血液が異物反応した内壁と微小凝集塊捕捉フィルタから、血液凝固の増加を確認できたと考えられる。ポンプにて血液が流動している血液体外循環回路外側から、LED 光源の光音響イメージング装置を用いた、回路内血液凝固への経時的変化測定の可能性を見出せた。

4.4 血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定

4.4.1 背景と目的

本節では測定時に取り扱うデータが過多にならないように、低容量化を目的とし、第3章と同様に光音響イメージングにて測定する輝度範囲と、血液体外循環回路の測定部位の選定結果を示す。

4.4.2 輝度範囲の選定

図4-4の測定データ（グレースケール画像）の3.4.2「測定輝度範囲の選定」に基づいて、輝度分析を行った。結果を表4-1に示す。縦軸を輝度（0～5、250～255）、横軸を測定箇所とした。各pixelの輝度の特徴量抽出は、ImageJにて行った。

表4-1 グレースケール画像からの輝度測定結果の一例

	測定開始10分後					測定開始0分後					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	←測定箇所
輝度0	15	18	15	13	15	0	0	0	0	0	
輝度1	2	4	1	2	1	0	0	0	0	0	
輝度2	2	0	6	0	0	0	0	0	0	0	
輝度3	1	3	1	1	2	0	0	0	0	0	
輝度4	1	2	2	1	2	0	0	0	0	0	
輝度5	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
輝度250	3	1	3	1	3	0	0	0	0	0	
輝度251	0	1	1	1	6	0	0	0	0	0	
輝度252	1	3	1	3	1	0	0	0	0	0	
輝度253	1	5	1	3	1	0	0	0	0	0	
輝度254	1	4	5	1	0	0	0	0	0	0	
輝度255	13	19	19	13	16	0	0	0	0	0	

次に、表 4-1 から、MATLAB Diagnostic Feature Designer (MATHWORKS) を用いて、特徴量を抽出した。さらに、第 3 章と同様、各輝度の血液凝固前後の、ピクセル数平均値の簡易的な比較判定として MATLAB による T-test を用いて、あたりをつけた。各輝度の T-test 一覧を、表 4-2 に示す。表 4-2 の数字は輝度 (0~255) を表しており、各輝度での T-test の結果を色分けして表している。T-test 6 を青色、7 を緑色、8~10 を黄色、11 以上をオレンジとした。測定すべき輝度範囲が、第 3 章同様に単独の輝度レベルではなく帯を持たせるのに青以上で分析すると、輝度レベル 126~173 が該当することが分かった。血液凝固前後で顕著な変化が表れた輝度範囲は 126~173 であり、測定時の着目すべき輝度範囲と定めた。

表 4-2 各輝度における凝固前後を比較した T-test 結果（一覧）

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111
112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127
128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159
160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191
192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207
208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223
224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239
240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255
11~	8~	7	6	5	4	3	2	1		T-test					

4.4.3 測定部位の選定

3.5「測定部位の選定」に倣って、測定部位の選定を行った。血液凝固前後の超音響イメージングにて得られた図（グレースケール画像）を ImageJ にて輝度解析を行い、MATLAB Diagnostic Feature Explorer の Rank Features にて特徴量を抽出した。血液体外循環回路内の血液凝固前後で、超音響波の変化が顕著な部

位を特定した。なお、測定は 4.4.2「輝度範囲の選定」で選定できた輝度 126～173 の範囲で、垂直・水平方向ごとに行った。測定結果を表 4-3、表 4-4 に示した。測定にあたって、表 4-3、表 4-4 とエアートラップチャンバの相対的な位置関係は、図 4-5 に示す。

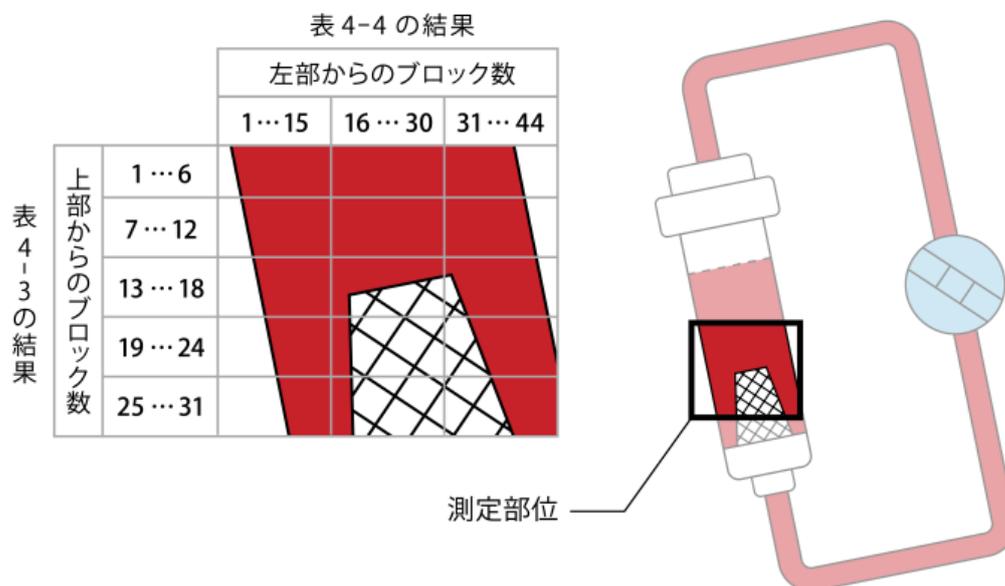


図 4-5 測定結果（表 4-3、表 4-4）とエアートラップチャンバの相対図

表 4-3 グレースケール画像の経時的輝度変化の特徴量抽出（垂直方向）

上部からのブロック数	T-test	上部からのブロック数	T-test
1	0.5706	17	0.7727
2	0.6335	18	0.8397
3	0.5937	19	0.7737
4	0.597	20	0.6836
5	0.6816	21	0.6737
6	0.7041	22	0.7307
7	0.7527	23	0.6914
8	0.7233	24	0.7023
9	0.6575	25	0.6722
10	0.7435	26	0.7083
11	0.6734	27	0.7075
12	0.7509	28	0.7581
13	0.6977	29	0.6901
14	0.7829	30	0.6655
15	0.7692	31	0.6762
16	0.8103		

表 4-4 グレースケール画像の経時的輝度変化の特徴量抽出（水平方向）

左部からの ブロック数	T-test	左部からの ブロック数	T-test
1	0.2867	23	1.4659
2	0.2881	24	1.6364
3	0.2807	25	1.6005
4	0.3019	26	1.5406
5	0.3172	27	1.4555
6	0.3211	28	1.2525
7	0.3567	29	1.2027
8	0.4333	30	1.0604
9	0.4822	31	0.8732
10	0.4895	32	0.8315
11	0.5309	33	0.6781
12	0.6778	34	0.6012
13	0.8276	35	0.6029
14	0.7841	36	0.6345
15	0.7822	37	0.6445
16	0.798	38	0.5969
17	0.5462	39	0.6622
18	0.7156	40	0.6299
19	1.0942	41	0.6708
20	1.5675	42	0.7122
21	1.3059	43	0.6332
22	1.2722	44	0.6036

表 4-3、表 4-4 の各成分を取り出して 2 次元マッピングした一部を表 4-5 に表した。測定で得られたグレースケール画像を水平方向に 44 分割、垂直方向に 31 分割して、顕著な変化を表した部位（0.9 以上）を青色とした。また、横軸の黄色、縦軸のオレンジは、水平・垂直方向の血液凝固前後で T-test の顕著な変化があった部位である。

表 4-5 測定部位の選定

		19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	左から ブロック
上部からの ブロック数	T-test	1.0942	1.5675	1.3059	1.2722	1.4659	1.6364	1.6005	1.5406	1.4555	1.2525	1.2027	
1	0.5706	0.624351	0.894416	0.745147	0.725917	0.836443	0.93373	0.913245	0.879066	0.830508	0.714677	0.686261	
2	0.6335	0.693176	0.993011	0.827288	0.805939	0.928648	1.036659	1.013917	0.97597	0.922059	0.793459	0.76191	
3	0.5937	0.649627	0.930625	0.775313	0.755305	0.870305	0.971531	0.950217	0.914654	0.86413	0.743609	0.714043	
4	0.597	0.653237	0.935798	0.779622	0.759503	0.875142	0.976931	0.955499	0.919738	0.868934	0.747743	0.718012	
5	0.6816	0.745807	1.068408	0.890101	0.867132	0.999157	1.11537	1.090901	1.050073	0.992069	0.853704	0.81976	
6	0.7041	0.770426	1.103677	0.919484	0.895756	1.03214	1.152189	1.126912	1.084736	1.024818	0.881885	0.846821	
7	0.7527	0.823604	1.179857	0.982951	0.957585	1.103383	1.231718	1.204696	1.15961	1.095555	0.942757	0.905272	
8	0.7233	0.791435	1.133773	0.944557	0.920182	1.060285	1.183608	1.157642	1.114316	1.052763	0.905933	0.869913	
9	0.6575	0.719437	1.030631	0.858629	0.836472	0.963829	1.075933	1.052329	1.012945	0.956991	0.823519	0.790775	
10	0.7435	0.813538	1.165436	0.970937	0.945881	1.089897	1.216663	1.189972	1.145436	1.082164	0.931234	0.894207	
11	0.6734	0.736834	1.055555	0.879393	0.856699	0.987137	1.101952	1.077777	1.03744	0.980134	0.843434	0.809898	
12	0.7509	0.821635	1.177036	0.9806	0.955295	1.100744	1.228773	1.201815	1.156837	1.092935	0.940502	0.903107	
13	0.6977	0.763423	1.093645	0.911126	0.887614	1.022758	1.141716	1.116669	1.074877	1.015502	0.873869	0.839124	
14	0.7829	0.856649	1.227196	1.022389	0.996005	1.147653	1.281138	1.253031	1.206136	1.139511	0.980582	0.941594	
15	0.7692	0.841659	1.205721	1.004498	0.978576	1.12757	1.258719	1.231105	1.18503	1.119571	0.963423	0.925117	
16	0.8103	0.886663	1.270145	1.058171	1.030864	1.187819	1.325975	1.296885	1.248348	1.179392	1.014901	0.974548	
17	0.7727	0.845488	1.211207	1.009069	0.983029	1.132701	1.264446	1.236706	1.190422	1.124665	0.967807	0.929326	
18	0.8397	0.9188	1.31623	1.096564	1.068266	1.230916	1.374085	1.34394	1.293642	1.222183	1.051724	1.009907	
19	0.7737	0.846583	1.212775	1.010375	0.984301	1.134167	1.266083	1.238307	1.191962	1.12612	0.969059	0.930529	
20	0.6836	0.747995	1.071543	0.892713	0.869676	1.002089	1.118643	1.094102	1.053154	0.99498	0.856209	0.822166	
21	0.6737	0.737163	1.056025	0.879785	0.857081	0.987577	1.102443	1.078257	1.037902	0.98057	0.843809	0.810259	
22	0.7307	0.799532	1.145372	0.954221	0.929597	1.071133	1.195717	1.169485	1.125716	1.063534	0.915202	0.878813	
23	0.6914	0.75653	1.08377	0.902899	0.879599	1.013523	1.131407	1.106586	1.065171	1.006333	0.865979	0.831547	
24	0.7023	0.768457	1.100855	0.917134	0.893466	1.029502	1.149244	1.124031	1.081963	1.022198	0.879631	0.844656	
25	0.6722	0.735521	1.053674	0.877826	0.855173	0.985378	1.099988	1.075856	1.035591	0.978387	0.841931	0.808455	
26	0.7083	0.775022	1.11026	0.924969	0.901099	1.038297	1.159062	1.133634	1.091207	1.030931	0.887146	0.851872	
27	0.7075	0.774147	1.109006	0.923924	0.900082	1.037124	1.157753	1.132354	1.089975	1.029766	0.886144	0.85091	
28	0.7581	0.829513	1.188322	0.990003	0.964455	1.111299	1.240555	1.213339	1.167929	1.103415	0.94952	0.911767	
29	0.6901	0.755107	1.081732	0.901202	0.877945	1.011618	1.12928	1.104505	1.063168	1.004441	0.86435	0.829983	
30	0.6655	0.72819	1.043171	0.869076	0.846649	0.975556	1.089024	1.065133	1.025269	0.968635	0.833539	0.800397	
31	0.6762	0.739898	1.059944	0.88305	0.860262	0.991242	1.106534	1.082258	1.041754	0.984209	0.846941	0.813266	

表 4-5 と図 4-5 より、エアートラップチャンバ内側の微小凝集塊捕捉フィルタ
 付近・直上で、血液凝固前後の超音響波の、揭示変化の測定が可能であることが
 分かった。

4.4.4 考察

着目すべき輝度範囲の選定では、表 4-2 から測定範囲を輝度 126~173 と特定することが出来たのではないかと考える。第 3 章のマイクロチューブでは、測定範囲が輝度 109~169 となっており、マイクロチューブ時より輝度の上限はあまり変化ないが、下限が上がっており、より取り扱うデータ量が削減できた。

測定部位の選定において、表 4-5 の T-test 結果は、表 3-4 と比較すると、水平×垂直：11×31 セル、表 3-4 は水平×垂直：3×5 セルと広がった。これは、エアートラップチャンバ内の血流により、血液凝固した血餅等がマイクロチューブのようにまとまらずに滞留しているため、超音響波の反応もマイクロチューブと比較して広がっているからではないかと考えられる。

4.5 血液体外循環回路内での経時的な血液凝固変化への予知保全プログラム試作

4.5.1 背景と目的

第 4 章の目的である、血液体外循環療法の環境を模擬した血液体外循環回路内での、血液凝固の経時的変化による予知保全システム開発の可能性について探る。4.4「血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定」で得られた測定すべき輝度範囲、測定部位（輝度範囲：126~173、測定部位：微小凝集塊捕捉フィルタ付近・上部（図 4-5））で測定した、超音響イメージング測定結果を、MATLAB の分類学習器を用いて、予知保全プログラムを試作する。

4.5.2 MATLAB の機械学習を用いた予知保全プログラムの試作

測定は (a) グルコン酸カルシウム注入後 0 分、(b) 2 分後、(c) 5 分後、(d) 10 分後として、各 11 回行った。測定結果は MATLAB において分析する都合上、2 軸にする必要があった。そこで、輝度範囲を 126~149 と、150~173 と 2 つに分割した。測定部位で輝度レベル 126~149、150~173 を示すセル数をカウントした。さらに、血液凝固までの時間を (a) Long、(b) Medium (c) Short と血液凝固の状態で表現した。なお、グルコン酸カルシウム注入 10 分後は血液が凝固完了しているので (d) Urgent と定めた。測定結果を表 4-6 に示す。

表 4-6 選定した輝度範囲・測定部位への光音響イメージングによる測定結果

		輝度126~149	輝度150~173	状態
0分	1	288	32	Long
	2	306	43	Long
	3	397	2	Long
	4	424	0	Long
	5	437	0	Long
	6	423	0	Long
	7	432	0	Long
	8	431	0	Long
	9	459	0	Long
	10	482	0	Long
	11	512	0	Long
2分	1	170	84	Medium
	2	174	81	Medium
	3	205	87	Medium
	4	237	78	Medium
	5	241	95	Medium
	6	283	96	Medium
	7	283	105	Medium
	8	328	81	Medium
	9	318	89	Medium
	10	330	80	Medium
	11	330	85	Medium
5分	1	260	81	Short
	2	215	102	Short
	3	208	101	Short
	4	175	115	Short
	5	161	71	Short
	6	131	86	Short
	7	135	84	Short
	8	137	84	Short
	9	134	94	Short
	10	165	114	Short
	11	198	106	Short
10分	1	311	56	Urgent
	2	304	60	Urgent
	3	308	62	Urgent
	4	288	69	Urgent
	5	288	63	Urgent
	6	292	59	Urgent
	7	260	77	Urgent
	8	238	71	Urgent
	9	223	65	Urgent
	10	227	57	Urgent
	11	212	67	Urgent

測定回数が少ないため、第3章と同様に、回帰（教師あり学習）の可能性を探るために分類学習にて、血液体外循環回路内での血液凝固の経時的变化について探った。MATLABによる分析結果を図4-6に示す。縦軸を測定範囲内で輝度レベル126~149を示したセル数、横軸を輝度レベル150~173を示したセル数となっている。表4-6で表した血液凝固の状態を（a）Long：青、（b）Medium：赤（c）Short：黄（d）Urgent：紫と表現した。また、○：正 と ×：誤 は、表4-6の既存データから作成された予測モデルと合致していれば ○：正 となり、外れていけば ×：誤 となる。なお、測定回数が少ないため、過適合防止に交差検証（分割数5）を行った。

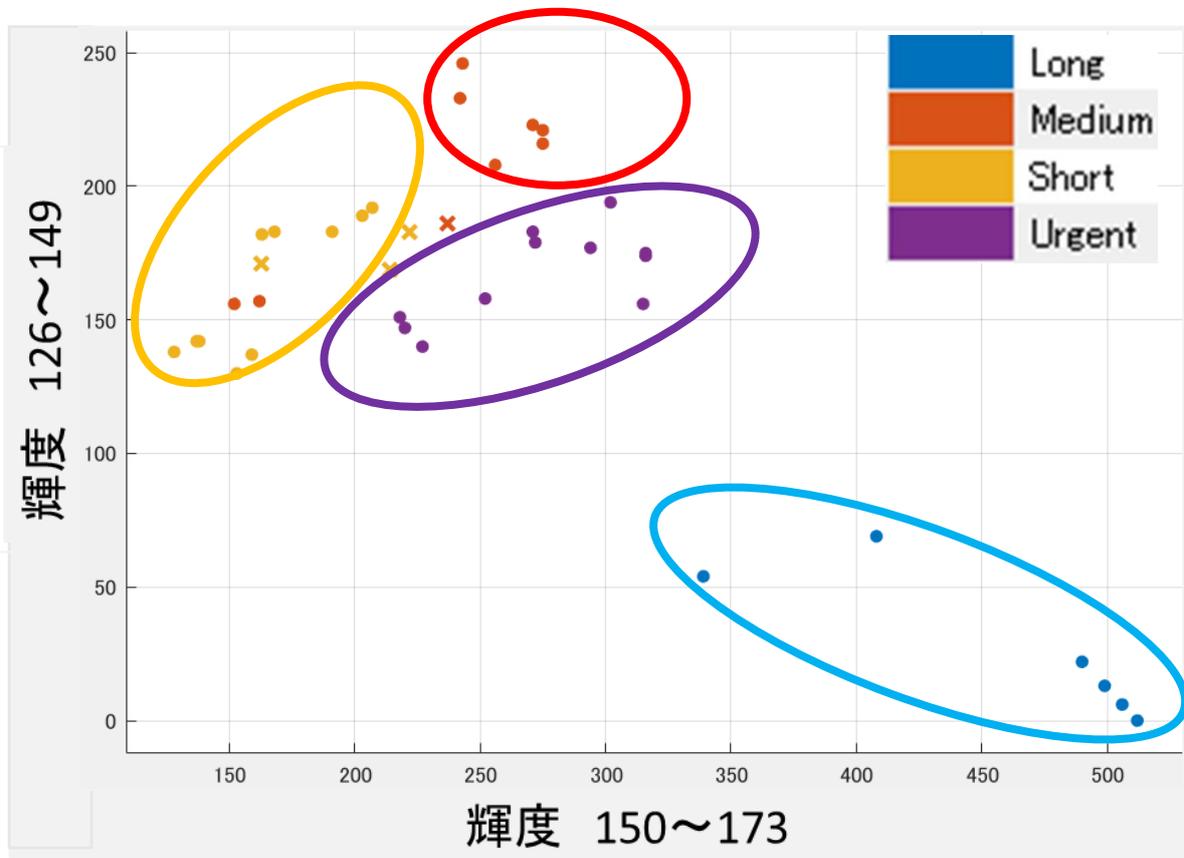


図 4-6 MATLAB による分類学習の結果

グルコン酸カルシウム注入後 0 分の Long がグラフの右下に固まっており、Medium、Short、Urgent は、左上に集まっている。Urgent になるにつれて、Long から反時計回りに分布が動いているように見て取れる。

表 4-6 で得られたデータに対して適当なアルゴリズムを検討した。検討したアルゴリズムの一覧を表 4-7 に示す。表 4-7 から、細かい KNN と細かいガウス SVM が 90.96% と最も、精度が高かった。

表 4-7 アルゴリズムの選定

		精度(%)
木	複雑な木	75.0
	中程度の木	75.0
	粗い木	70.5
判別分析	線形判別	79.5
	2次判別	70.5
単純ベイズ分類器	ガウス単純ベイズ	75.0
	カーネル単純ベイズ	77.3
サポート ベクターマシン	線形SVM	79.5
	2次SVM	70.5
	3次SVM	79.5
	細かいガウスSVM	90.9
	中程度のガウスSVM	79.5
	粗いガウスSVM	68.2
最近傍分類器	細かいKNN	90.9
	中程度のKNN	75.0
	粗いKNN	18.2
	コサインKNN	63.6
	3次KNN	75.0
	重み付きKNN	90.6
アンサンブル分類器	ブースティング木	18.2
	バギング木	81.8
	部分空間判別	77.3
	部分空間KNN	68.2
	RUSBoost木	18.2

一例として、細かい KNN の真の値に対しての予測正誤の発生を確認した。細かい KNN から得られた混同行列を図 4-7 に示す。縦が実際のクラス、横が予測されたクラスを表す。混同行列とは、学習システムを作成したあとに性能を評価するにあたって、実際のデータが Urgent のものに対して、正しく Urgent と予測された計測回数や割合を表現している分類表である。予測の正誤判断の特徴量を抽出できる。

真のクラス	Long	100.0%			
	Medium		88.9%	23.1%	
	Short		11.1%	76.9%	
	Urgent				100.0%
PPV	100.0%	88.9%	76.9%	100.0%	
FDR		11.1%	23.1%		
		Long	Medium	Short	Urgent
		予測されたクラス			

図 4-7 細かい KNN から得られた混同行列

陽性的中率 (PPV) から、Long と Urgent については 100% となり、Medium は 88.9%、Short は 76.9% となった。細かい KNN の精度も高く、陽性的中率 (PPV) から予測の偏りも高くない。本節の条件において、予知保全のための試作が出来たのではないかと考える。

4.5.3 考察

血液体外循環回路内血液凝固の経時的変化への超音響イメージングから得られるグレースケール画像から MATLAB で機械学習を行った。機械学習では、教師あり学習の分類で試作を行い、細かい KNN、細かいガウス SVM が精度 90.9% と、最も精度の高い予測モデルと分かった。混合行列の陽性的中率 (PPV) から、明らかな血液凝固前と後の Long、Urgent の予測はデータの区別が分かりやすく 100% となったが Medium は 88.9%、Short は 76.9% だった。

4.6 総括

4.2 「血液体外循環回路内での血液凝固の状況と凝固までの時間について」にて、血液凝固が完了するまでの時間が 10 分であると確認出来た。4.3 「血液体外循環回路内血液凝固時の経時的超音響波の変化確認」では、AcousticX にて、血液体外循環療法を模擬した回路内血液凝固の経時的変化を確認できた。また、4.4 「血液体外循環回路内の測定輝度範囲と測定部位の選定」では、扱う測定データの低容量化のため、血液体外循環療法中の測定に際して着目すべき輝度範囲 (126~173) と測定部位 (微小凝集塊捕捉フィルタ周辺・直上) を選定した。最後に 4.5 「血液体外循環回路内での経時的な血液凝固変化への予知保全プログ

ラム試作」にて、MATLAB を用いての予測モデル試作を図った。これらより、血液体外循環浄療法中の血液凝固への予知保全システムの可能性を示せたと考える。

第 5 章

結言

本研究では、血液体外循環療法時に発生する血液体外循環回路内の血液凝固を事前察知できる測定方法と、測定結果を用いての予知保全システムの検討をした。測定方法としては、超音響イメージングを用いた。また、血液体外循環療法への実装も考え、超音響イメージングの光源には、小型で安価な光源となる可能性をもつ LED を選んだ。

詳細は以下の通りである。第 2 章では、マイクロチューブ内の血液凝固の経時的変化を確認した。回路内の測定部位となるエアートラップチャンバを模擬したマイクロチューブ内での血液凝固測定を行うため、マイクロチューブ内の血液凝固の様子を把握する必要がある。しかし、既存の血液凝固状態の評価方法では、本研究には適用できなかつたため、血液体外循環回路内の血液凝固の新しい評価方法と時間的指標を提案した。本章では、マイクロチューブ内への血液封入後 10 分を血液体外循環療法として、機能しなくなる血液凝固完了までの時間として確認した。

第 3 章では、LED を光源とする超音響イメージング装置である AcousticX(CYBERDYNE)を用いて、マイクロチューブに封入された生きたマウスの血液の経時的超音響波の変化を確認した。さらに、マイクロチューブの血液に抗凝固剤であるヘパリンを注入して、先程の測定結果と比較した。以上のことから、LED 光源の超音響イメージングによって、血液体外循環回路外部から血液凝固状態を測定できる可能性があることが分かった。超音響イメージングから得られた画像は、画像処理を ImageJ、予知保全を検討するための輝度分析や機械学習に MATHWORKS 社の数値解析ソフトウェアである MATLAB を用いた。

また、予知保全を行う際に、超音響イメージの画像をそのままの容量で用いて分

析を行うとデータ量が大きく、簡易型システムでは処理に時間がかかるなどの問題があった。そこで、超音響で得られたイメージを低容量化の予知保全装置につなげられるように、血液凝固前後で変化が顕著に発生する計測部位と輝度範囲の選定を行った。

測定部位はマイクロチューブの先細っている先端側の中心部で、輝度範囲は輝度 109～169 で最も超音響波の変化が大きいことが確認できた。

さらに、これまでの研究結果を用いた超音響イメージングの測定結果から、MATLAB を用いて分類学習を行い、非凝固状態の分類は明確に行えたが、凝固状態の分類にはさらなる改良が必要であることが分かった。

第 4 章では、血液体外循環回路を使用するため、第 3 章と比較すると大量の血液量が必要となる。そこで、市販の羊の血液を用いて、循環状態の実験に合った血液凝固の発生及び、本節に合った血液凝固の時間的指標の作成を行った。その結果、血液凝固が発生して、血液凝固が完了するには凝固促進剤であるグルコン酸カルシウムを回路に注入してから 10 分後と分かった。第 3 章の結果を基に、血液体外循環療法で用いられる血液体外循環回路をショートカットして、血液を流入させ、AcousticX にて測定した。エアートラップチャンバ内にも超音響波の経時的变化が見られ、血液体外循環回路外部から血液凝固状態を観察できた。第 3 章同様に ImageJ と、MATLAB を用いて、輝度範囲・測定部位の選定、そして、予知保全システムの試作を行った。測定時の着目すべき輝度範囲は、126～173 となり、測定部位は、微小凝集塊捕捉フィルタ周辺・直上と選定した。さらに測定結果から、MATLAB にて予測モデルの検討を行った。分類学習の細かい KNN、細かいガウス SVM が、精度は 90.9% で最適と分かった。

よって、血液体外循環浄療法中の血液体外循環回路内における血液凝固への
予知保全システムの可能性を示せたと考える。

謝辞

本研究を進めるに当たり、主査として帝京科学大学 内田恭敬教授より、研究者としての心構え、研究への取り組む姿勢や、ポイントとしてではなくフローで捉える研究の考え方、研究方針・内容に関して、様々なことを手厚くご指導を賜りました。また、私の場合は働きながら大学院に通わせて頂いたので、学業と仕事の両立のために、親身になってサポートして頂きました。内田先生がいらっしゃらなければ、研究を途中で諦めていたと思います。心より感謝申し上げます。

帝京科学大学 永沼充教授には、お忙しい中、学位論文の副査をお努めいただき、更に本研究の超音響イメージングに関わる貴重なご助言を頂戴いたしました。厚く御礼申し上げます。

帝京科学大学 斉藤幸喜教授、松岡浩教授、帝京短期大学 大久保英一准教授には、学位論文の副査をお務め頂いた上に、博士論文学位取得に関わる諸手続き、研究に関して貴重なご指導を頂きました。ここに 心より感謝の意を表します。

東京工科大学 田仲浩平教授において、急なご依頼にも関わらず副査をお引き受け頂き、真にありがとうございました。また、医療分野の専門的なご指導も頂き、感謝申し上げます。

帝京科学大学 木暮嘉明名誉教授には、超音響イメージングの画像の読み方や、国際学会での発表について数々のご助言とお世話を頂きました。

帝京科学大学 小林和生教授には、内田恭敬教授をご紹介頂き、研究への道を切り開いて頂きました。深く感謝致します。

血液凝固の測定に AcousticX をお貸し頂き、論文を作成するにあたり多大なご協力を頂きました、帝京大学 鈴木亮教授、丸山一雄教授に深く感謝致します。

CYBERDYNE 佐藤直人 さまには、AcousticX の使用方法・データ処理など、経験がない私に分かりやすく、親身にご説明頂きまして、真にありがとうございました。

血液浄化療法や体外循環回路など、研究の中心となる知識や技術のご助言、論文を書くにあたっての表現等のご指導頂きました、帝京科学大学 堀和芳准教授に、御礼申し上げます。

環太平洋大学 川島徳道教授には、論文の書き方や発表の仕方などのご指導を賜りました。感謝申し上げます。

桐蔭横浜大学 辻毅一教授からは、研究の道に進むきっかけや、研究者としての考え方などをご教授頂きました。いつも、ありがとうございます。

研究手法について、親身に相談に乗って頂き、忙しいなかでも時間を割いてご協力頂きました東京医薬専門学校 藤井昭光 先生に御礼申し上げます。

東京医薬専門学校 江村宗郎先生には、研究を始めるにあたって、後押しを頂きました。感謝申し上げます。

最後に、筆者が本研究に専念できるように、理解と協力を頂いた家族に心より感謝申し上げます。