

## 血液内光伝播モデルの開発と体外循環治療における非侵襲連続モニタリングへの応用

## Development of Photon Propagation Model in Blood and Application to a Non-invasive and Continuous Monitoring in Extracorporeal Circulation Therapies

○ 迫田 大輔 (産総研) 小阪 亮 (産総研)

西田 正浩 (産総研) 丸山 修 (産総研)

\*Daisuke SAKOTA, \*Ryo Kosaka, \*Masahiro NISHIDA, \*Osamu MARUYAMA

\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

**Abstract:** To establish non-invasive and continuous diagnosis of blood in extracorporeal circulation therapies, photon propagation model through the blood have been developed. The newly developed photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) simulation describes the interaction of photons with 3D biconcave red blood cells (RBCs). The scattering is solved by micro-scopical RBC boundary condition based on geometric optics. By using pciMC we have modeled the RBCs inside the extracorporeal circuit would be oriented by the blood flow. In the experiment, the scattering of light by flowing blood at the He-Ne laser was significantly affected by the shear rate. The pciMC model could duplicate the changes in the photon propagation due to moving RBCs with various orientations. The resulting RBC's orientation that best simulated the experimental results was with their long axis perpendicular to the direction of blood flow. The finally developed model accurately predicted the hematocrit within 1% error rate.

**Key Words:** Monte Carlo simulation, Blood, Optical non-invasive diagnosis, Extracorporeal circulation.

## 1. 緒言

## 1-1 次世代体外循環治療

平成22年に本邦でも埋込型補助人工心臓の製造販売が承認されたが、心臓移植適用患者のみの使用に限定されているため、緊急に治療を要する場合は即時適用の判断が困難となる。そこで一次的に体外循環を行い、埋込型補助人工心臓へ移行するかを判断するための Bridge to Decision(BTD)という用途の血液ポンプが開発されている<sup>(1)</sup>。また、近年発展が目覚ましい次世代創薬技術や再生医療技術によって、将来はより積極的に心疾患を治療・回復させる医療が実現することも期待され、離脱が容易な体外循環の重要性は益々高まると予想される。

従来の体外循環は、手術中における人工心肺としての使用や、2,3日程度の心肺補助として適用するのが一般的であった。BTDや次世代心臓治療技術を発揮させる土台となるためには、2,3ヶ月程度は安全に行える体外循環を確立させる必要があると考えている。そのためには、血液適合性に優れた血液ポンプの開発が当然必要不可欠であるが、血液を管理するモニタリングシステムの発展も同様に重要な課題であると考えている。

## 1-2 可視・近赤外光による血液の非侵襲連続診断

波長600~900nm範囲の可視・近赤外光はヘモグロビンや水による吸収が低く、血液の非侵襲光診断に適している。体外循環における光計測は、これまで高精度ヘマトクリット計測<sup>(2)</sup>や溶血、微小血栓の計測<sup>(3)</sup>が提案されている。しかし、現状の計測では定量のためにキャリブレーションを必要とする。これは血液による光散乱を解くことができないことが原因であり、相対的な受光強度変化から目的物質を推定しているためである。そこで、体外循環回路内の光路を絶対的に解くことで、キャリブレーションを必要とせず、かつ血中の多様な物質を定量できる基盤技術確立すべく、血液内の光伝播モデルの開発を行った。

## 2. 方法

## 2-1 photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) simulation

開発した血液内光伝播シミュレーション pciMC<sup>(4-5)</sup>は、平均赤血球体積(Mean Corpuscular Volume: MCV[fL])、平均赤血球内ヘモグロビン濃度(Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration: MCHC[g/dL])、ヘマトクリット(Hematocrit: Hct [%])が入力パラメータになっている。これらを入力すると、入力パラメータに基づいた biconcave 形状の赤血球が血漿内に分散し、Fig.1に示すように光子が血液内に入射され、シミュレーションがはじまる。光子の振る舞いは全て確率的に決定される。光子は血液内でステップサイズ(Step size: S)だけ飛行した後、赤血球に衝突して吸収散乱イベントが発生する。Sは次式で計算される<sup>(4-5)</sup>。

$$S = RN(0,1) \frac{Hct(1-Hct)}{MCV} \sigma_c \quad (1)$$

ここで、 $RN(0,1)$ は0から1までの乱数、 $\sigma_c [\mu m^2]$ は赤血球の平均断面積<sup>(4-5)</sup>である。赤血球の吸収散乱イベント処理の概要を Fig.2に示す。まず、Sだけステップを経た光子の赤血球入射位置および入射ベクトルを赤血球の振る舞いに基づいて確率的に決定する。例えば、赤血球がランダムに配向している場合、入射位置およびベクトルはランダムに決

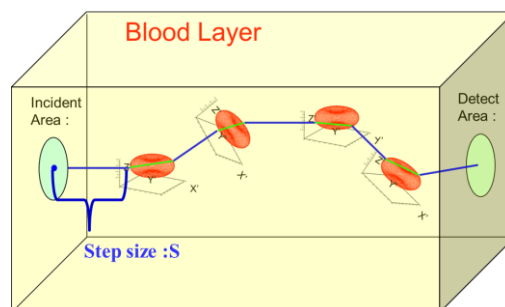


Fig.1 photon-cell interactive Monte Carlo simulation.

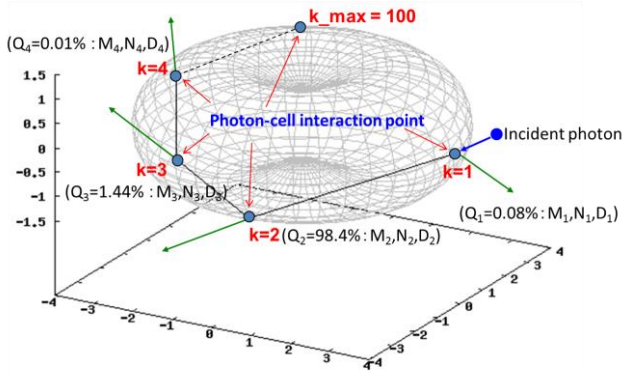


Fig.2 Light scattering and absorption in pciMC simulation.

定される。次に、光子が赤血球境界に何回衝突して赤血球を脱出するのかを確率的に決定させる。Fig.2の $k$ は、光子の細胞境界衝突回数をあらわしている。この脱出確率 $Q_k$ は、細胞境界で光子が反射するか透過するかの総計により求められる。光子の反射確率はFresnelの公式により計算される。反射ベクトル及び透過ベクトルはそれぞれ反射の法則およびSnellの法則によって計算される。pciMCは、 $k$ を選択し、それに対する赤血球脱出後の光子の位置 $M_k$ 、飛行ベクトル $N_k$ 、細胞内光路長 $D_k$ を返す。このとき、 $D_k$ とMCHCを使用して、Lambert-Beerの公式により吸収処理を行う。

## 2-2 血液サンプルの作成方法

血液の光吸収散乱はほぼ赤血球によって決定されるため、血液レオロジーと密接な関連がある。赤血球の振る舞いは、流場のせん断速度に依存する。更に低せん断域では赤血球凝集反応が起こり、これも血液の光学特性に強く影響を与える。これらを考慮して、実験では3種のサンプルRBC\_Plasma、RBC\_PBS、およびRBC\_PBS+DXを作成した。血液を遠心分離して血漿のみを抽出し、白血球及び血小板を除去した。RBC\_Plasmaは、残った血球層を血漿で懸濁することで作成された。RBC\_PBSは、血球層にリン酸緩衝生理食塩水を懸濁することで作成された。ここで、血漿とPBSの粘性は異なるため、分子量60000のデキストランをPBS 335ccに対して5g添加し、赤血球外液の粘性を実験で使用した血漿と同じ2cPに調整した。

## 2-3 in vitro 人工心肺回路における光計測

Fig.3に実験条件を示す。in vitroで模擬人工心肺回路を構成した。ブタ血液を連続流血液ポンプで0~2 L/min(計測部0~800 1/s)の範囲で循環させた。人工肺で血液の酸素飽和度を100%に維持した。人工肺出口の塩化ビニルチューブに光ファイバー固定用のプローブを取り付けた。このプローブはチューブをやや圧迫し、入射面がフラットになる様に設計されている。光計測部の横断面はFig.4の様になっている。光源には波長632.8nmのHe-Neレーザーを使用し、光ファイバーで導きプローブに対して垂直入射した。血液透過光位置、及び入射点からチューブ方向へ6mmの位置に受光ファイバーを設置した。ここで、赤血球凝集をコントロールするため、まず流量2L/minで十分に環流した後、突然ポンプを停止させた。流量が0L/minになったことを確認して直ちに連続流ポンプを駆動させ、流量2L/minに達するまで徐々に回転数を増加させていき、その間に計測を行った。

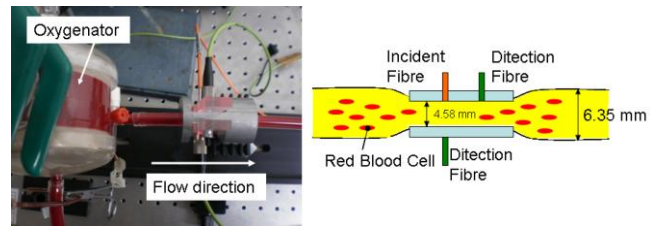


Fig.3 Experimental condition.

## 2-4 体外循環回路血流内光伝播モデルの開発

Fig.3に示す計測条件と同様の条件をpciMCによってシミュレーションを行った。血液が流れることで2-3における計測結果が変化するが、その理由を赤血球が流れに対して配向するためであると考え、計測結果と適合する様な赤血球の配向を探索する逆問題解析を行った。Fig.4に赤血球の配向モデルを示す。配向赤血球の振る舞いは、赤血球の長軸 $r$ が特定方向を向き、長軸を中心としてランダムに配向(回転)しているとした。Fig.4に示す様にモデルは3種類考慮したが、その理由として、プローブ断面が対称形状であるため、レオロジー的観点から考えてもプローブ中心に対して対称な振る舞いパターンが予想され、かつ光学的にも、光はプローブを中心として対象に散乱することが予想されるためであり、これらを満たす赤血球の配向パターンはFig.4の3種となる。Model1は、赤血球の長軸が流れ方向(チューブ方向)を向いているモデル。Model2は、管中心方向を向いている、これは速度勾配方向を向くモデルといえる。Model3はModel2の配向方向を90°回転させたもので、等流速線上に配向しているモデルといえる。流量が0 L/minの場合は全ての赤血球がランダムな配向をしており、流れがある状態では、各モデルで、配向している赤血球が混在するものとした。シミュレーションで吸収散乱イベントが発生した場合、配向している赤血球の存在率(配向率)に基づいて、ランダム配向赤血球の吸収散乱イベント処理か配向赤血球の処理を行うかを確率的に選択されるようにした。3種のモデルそれぞれのシミュレーションを行い、実験とシミュレーション内の計測結果を照合し、実験計測値=シミュレーション内計測値となる配向率を求めることで、血流内光伝播モデルを開発した。

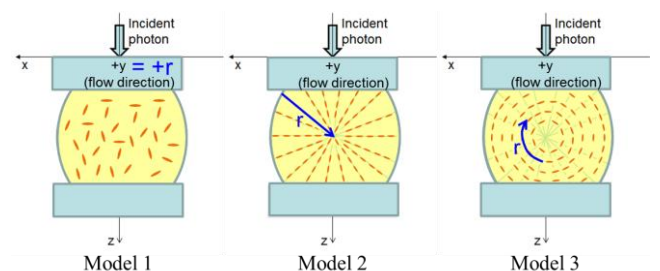


Fig.4 Red blood cells orientation model.

## 3. 結果および考察

### 3-1 実験結果および逆問題解析結果

Fig.5に全血に対する実験結果を示す。透過光強度は流れが発生すると急激に減少し、チューブ方向の後方散乱光は極僅かに増加した。Fig.6にせん断速度2001/s(約0.5L/min)における逆問題解析結果の一例を示す。Fig.6はFig.5の再現性をあらわしているが、実験値との誤差を最小にできるモデルはModel2であることがわかった。したがって、Fig.5に示すような光散乱の変化は、血液が流動することで赤血

球の長軸が流路管中心方向に配向するためであることが考えられた。赤血球は、低せん断域では長軸を回転軸として、流れ方向に向かって転がるように流動する Tumbling 運動をすることが知られている<sup>(6)</sup>。今回のモデルはこの Tumbling 運動に基づいて開発されたが、ここで Model1 は、長軸が流れ方向を向いており、Tumbling 運動とは配向方向が 90° 異なるため、Fig.6 に示すように最も実験結果と一致しないモデルとなったと考えられる。一方、Model2 及び Model3 は、両モデルとも配向方向が流れに対して垂直方向であり、Tumbling 運動に適合している。しかし Fig.6 に示す様に、Model3 は配向率を増加させていく程、誤差率は僅かに減少していったが、ほぼ横ばいであった。これは Model3 の様な配向赤血球を増加させていっても、シミュレーション結果がほとんど変化しないことを意味している。つまり Model3 における配向赤血球とランダム配向赤血球の光散乱にほとんど区別が無い。それに対して Model2 の配向赤血球は、ある配向率で実験値に収束した。これは特に、Fig.5 に示す前方散乱の減少を表現することができたためであった。Fig.7 に pciMC における散乱角と光子の赤血球脱出確率の分布を示す。これは、位相関数(Phase function)と呼ばれる。通常の生体組織や血液内の光伝播シミュレーションでは、位相関数は常に一定であるが、pciMC の場合は赤血球の振る舞いによって位相関数が変動する。これは赤血球が配向することで、赤血球の入射位置が非一様な確率で決定されるためである。ただし、ランダム配向の赤血球の場合では光子の入射位置及び入射ベクトルが一様乱数で決定されるため、光子の血漿中の飛行方向によって位相関数が変わることは無い。Fig.7 に示す様に、赤血球の入射角が増加するにつれて前方散乱が小さくなっていくことがわかる。これは入射角が大きくなる程、つまり赤血球の長軸に向かって光子が入射される場合、赤血球表面の曲率が大きく屈折角が上がるためである。Fig.4 の Model2 に示す様に、この配向の場合、光子が赤血球の長軸に向かって入射されるケースが増えるため、前方透過性が悪くなり、結果として Fig.5 を再現できるモデルとなった。したがって、

結論として光学的には赤血球は流動することで Model2 の様な配向をすることが予想されたが、実際は Model3 の様な配向をする赤血球が混在している可能性は十分にある。Model2 及び Model3 の混在比は流体力学的検討が必要であるが、光学的には Model3 による光散乱変化の影響が非常に低いため、Model2 のみを考えて体外循環回路血流内光伝播モデルとすることは実用上十分と考えた。

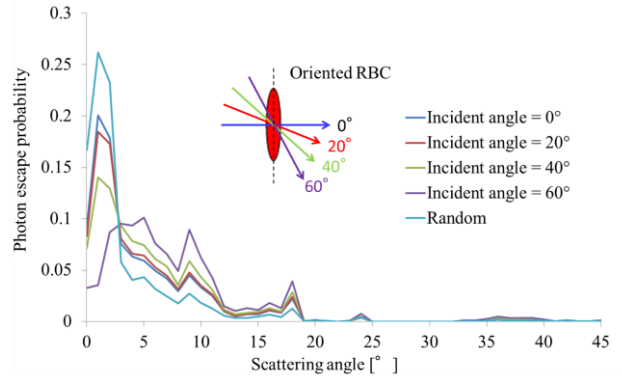


Fig.7 Phase function in pciMC simulation.

3-2 せん断速度と赤血球配向率の関係

Fig.8 にせん断速度 0~800 [1/s](0~2 L/min)の範囲における配向率の関係を示す。これは Model2 における逆問題解析の結果である。ここで RBC\_PBS は、Fig.5 に示すような受光強度の変化がほぼ無く一定であり、したがってせん断速度に関わらず配向率が 0%であった。Fig.9 に RBC\_Plasma と RBC\_PBS+DX の光学顕微鏡写真を示す。RBC\_Plasma は明らかに赤血球凝集反応を示した。一方、RBC\_PBS+DX 及び RBC\_PBS は凝集反応を示さなかった。これより、Fig.5 に示す光散乱変化、及び Fig.8 に示す配向率は赤血球外の粘性および凝集能が関係していることが明らかとなった。ここで、RBC\_PBS+DX は、粘性は血漿とほぼ同等であるが、凝集能を持たないため、Fig.8 の配向率差は凝集能による効果であると考えられる。加えて、Friebel 等<sup>(7)</sup>はせん断速度下における赤血球凝集能は 200[1/s]まで発揮され、それ以上では流体力が勝り凝集解が崩壊することを調査している。逆問題解析の結果、赤血球配向率が 200[1/s]でピークになったことから、赤血球凝集能は赤血球配向に強く影響を与えることが考えられた。200[1/s]以上のせん断速度からは配向率が徐々に減少していく結果となったが、これはレイノルズ数が上昇していくため、乱流性が強くなり配向の秩序が徐々に崩壊していったと考えられる。せん断速度 800[1/s]におけるレイノルズ数は Re=1642 であった。

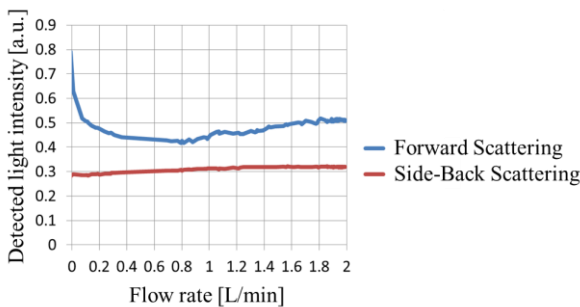


Fig.5 Changes in light scattering in the extracorporeal circuit.

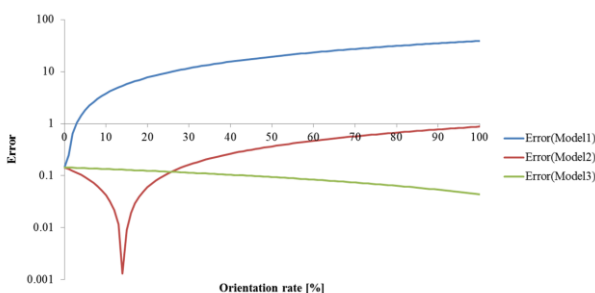


Fig.6 Error between experiment and simulation.

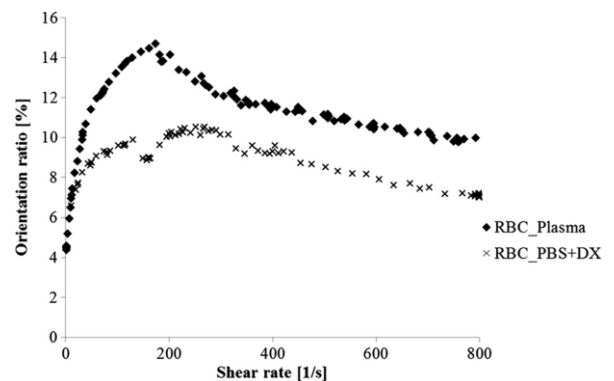


Fig.8 Orientation ratio with respect to the shear rate.

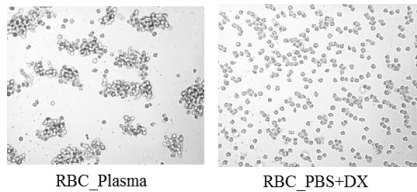


Fig.9 Red blood cell aggregation.

### 3-3 モデルの妥当性及び実用性評価

本研究の結果開発された、体外循環回路血流内光伝播モデルの後方散乱分布を Fig.10 に示す。配向率が 0%では、光は入射点を中心として円形に広がる。これは赤血球が全てランダム配向であるため、位相関数が一定であり、光子が一樣に広がるためである。しかしここで配向率を増加させていくにつれて、流れ方向に伸びる様に楕円形の広がりを示す結果が得られた。この様な楕円形の光の広がり、過去に Bitbol 等によっても報告されており<sup>(8)</sup>、モデルの妥当性が示唆された。この様に非一樣な広がりを表現できる光伝播モデルは過去に無く、世界初の流動する血液内光伝播モデルを開発することができた<sup>(9-10)</sup>。このモデルを使用して、体外循環回路を流れる血液の Hct の予測を試みた結果を Fig.11 に示す。結果として、採血測定との平均誤差約 1%の精度で Hct を予測でき、モデルの実用性と任意の Hct における血流内光伝播表現の妥当性が示唆された。

## 4. 結言

血液内光伝播シミュレーション pciMC による体外循環回路血流内の光伝播モデルを開発した。開発したモデルを用いて、ヘマトクリットを非侵襲的に予測できることを確認した。本モデルを使用すれば、血液内の光路長を正確に計算することが可能なため、キャリブレーションを必要と

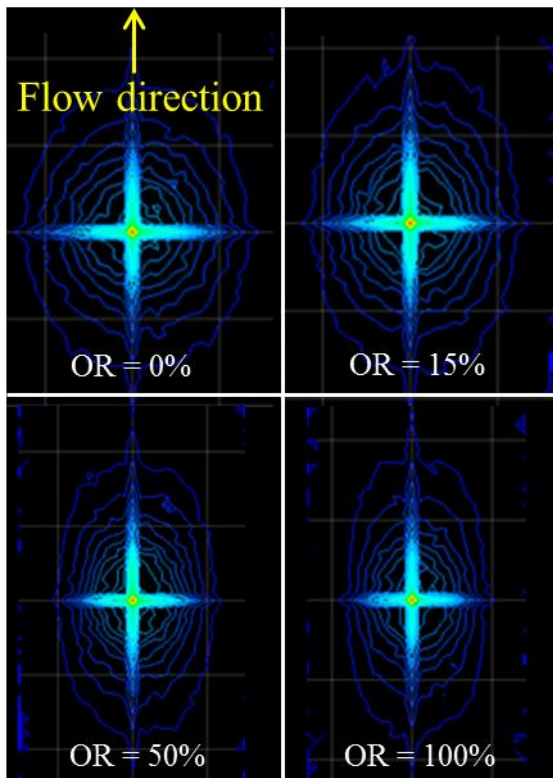


Fig.10 Changes in back scattering with respect to orientation ration (OR)

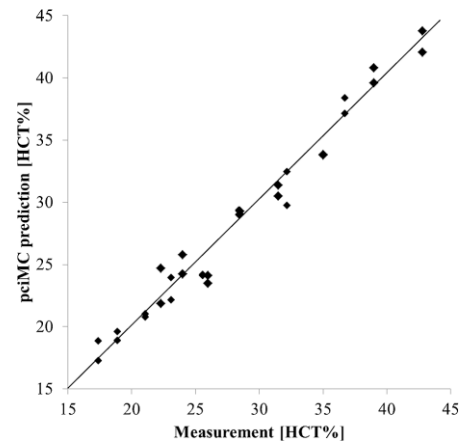


Fig.11 Prediction of Hematocrit

しない高精度の光計測の実現や、ヘモグロビン以外の血中物質の非侵襲診断の基盤技術と成り得る。今後の展望として、このモデルと様々な分光的手法を組み合わせ、血液凝固関連物質の定量診断の達成を期待している。

## 参考文献

- (1) F.D. Robertis, et al., "Bridge to Decision Using the Levitronix CentriMag Short-term Ventricular Assist Device", *J Heart Lung Transplant*, Vol. 27, No. 5, pp. 474-478, 2008.
- (2) S. Oshima et al., "Evaluation of optical propagation in blood for noninvasive detecting of prethrombus blood condition," *ASAIO J.*, Vol. 56, No. 5, pp. 460-467, 2010.
- (3) Y. Sankai et al., "Method of noninvasive and continuous hemolysis/thrombogenesis measurement by laser photometry during artificial heart development," *ASAIO J.*, Vol. 43, No. 5, pp. 682-686, 1997.
- (4) D. Sakota et al., "Photon-cell interactive Monte Carlo model based on the geometrical optics theory for photon migration in blood by incorporating both extra- and intra-cellular pathways," *J. Biomed. Opt.*, Vol. 15, No. 6, 06500, 2011.
- (5) 迫田大輔, 高谷節雄, "Photon-cell interactive Monte Carlo シミュレーション," *日本レーザー医学会誌*, Vol. 32, pp. 411-420, 2012.
- (6) J. M. Skotheim et al., "Red blood cells and other non-spherical capsules in shear flow: oscillatory dynamics and the tank-treading-to-tumbling transition," *Phys. Rev. Lett.*, Vol. 98, No. 18, 188302, 2007.
- (7) M. Friebel et al., "Influence of shear rate on the optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm," *J. Biomed. Opt.*, Vol. 12, 054005, 2007.
- (8) M. Bitbol, "Red blood cell orientation in orbit  $C = 0$ ," *Biophys. J.*, Vol.49, No.5, pp. 1055-1068, 1986.
- (9) D. Sakota et al., "Quantitative analysis of optical properties of flowing blood using a photon-cell interactive Monte carlo (pciMC) code: Effects of red blood cells' orientation on light scattering," *J. Biomed. Opt.*, Vol. 17, No. 5, 057007, 2012.
- (10) 迫田大輔, 高谷節雄, "赤血球の光散乱特性のモデル化と血流中の光伝搬解析," *光学*, Vol.41, No. 8, pp. 436-443, 2012.