

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：34416

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K14592

研究課題名(和文) ラグランジュ型シミュレーションによる細胞の透過・吸着ダイナミクスの解明

研究課題名(英文) Lagrangian simulation of transport and adhesion behavior of cellular particles through fibrous layer

研究代表者

大友 涼子 (Otomo, Ryoko)

関西大学・システム理工学部・助教

研究者番号：00726862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では多血小板血漿(PRP)作製のための濾過プロセスを念頭に置き、繊維層中を透過するマイクロ粒子の移動特性を調べることを目的とした。繊維層中を流れるマイクロ粒子の挙動をシミュレートするために、繊維・細胞間の相互作用を検討したが、粒子の繊維への付着は再現しきれなかった。しかし、繊維層内を付着せずに移動する粒子の運動を数値計算により求め、繊維層の構造、繊維の体積率、マイクロ粒子のサイズが粒子挙動に及ぼす影響について基礎的かつ定量的な知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多血小板血漿(PRP)作製のための濾過プロセスでは、白血球をできるだけ多く捕捉し、血小板をできるだけ捕捉しないことが望ましい。例えば本研究の数値解析結果の一つとして、サイズの異なる粒子はフィルター内の透過時間や移動に伴う粒子の拡がり方に違いがあることを定量的に評価した。こうした知見は、フィルターの最適設計や、流体中における細胞などのマイクロ粒子の操作および制御に役立つと期待される。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the transport phenomena of microparticles through fibrous layer has been investigated for preparation of the platelet-rich plasma (PRP) solution. We examined the interaction between fibers and cellular particles and attempted to replicate an adhesion of particles on fibers. Although the adhesion could not be successfully taken into account in our simulation code, the behavior of individual particles passing through fibrous media was carefully simulated. As a results of the simulation, fundamental and quantitative knowledge about the effects of the fiber shape, fiber volume fraction, size of microparticles on the transport behavior of particles.

研究分野：工学

キーワード：繊維層 移動特性 Stokes flow PRPフィルター 空隙構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血液は、赤血球、白血球、血小板、および血漿により構成されるが、そこから血小板および血漿のみを取り出した溶液は多血小板血漿 (Platelet-Rich Plasma, PRP) と呼ばれる。一般的に PRP を精製するための手順として、血液を遠心分離することによって上澄みの血小板と血漿の層を取り出すが、取り出した溶液には白血球も含まれる。白血球が多く含まれると病床性合併症を引き起こす恐れがあるため、最終的に専用のフィルターを用いた濾過によって白血球を取り除いた溶液が PRP として使用される。濾過をする際には白血球をできるだけ多く捕捉し、血小板をできるだけ捕捉しないことが望ましい。大きさや形状、硬さの違いなどの物理的特性、および繊維との相互作用などの化学的・生物学的特性を利用し、物質を分離・制御する技術が必要とされている。

フィルター繊維を用いた細胞の分離プロセスでは、細胞と繊維の表面間の化学的・生物学的相互作用、および、繊維細胞間および細胞同士の流体力学的相互作用 (繊維層中の流体および細胞の運動) について考える必要がある。Javadpour and Jeje[1]は、を表すモデルを組み込み、流体中の血小板個数濃度および白血球個数濃度に関する移流拡散方程式を解くことで、それぞれの細胞のフィルター繊維による捕捉効率を評価した。しかしながら、複雑な構造を有する繊維層内部の細胞の挙動、および繊維への細胞の付着について詳細に理解するためには、細胞の移動を個数濃度で表す移流拡散方程式だけではなく、一つ一つの細胞の運動を追う形のシミュレーションが有効であると考えられる。特に細胞を扱う際にみられるマイクロスケールの流動場では、レイノルズ数の条件がきわめて小さくなることが多い。こうした場合には、粘性による流体力学的効果を考慮した解析が必要となる。以上から、化学的・生物学的相互作用および流体力学的相互作用を考慮した新たな解析により、PRP フィルター内の細胞挙動をはじめとする繊維層中の物質の移動現象に関する知見が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、繊維層中を流れるマイクロ粒子の挙動を詳細にシミュレートすることで、複雑な繊維層の構造が懸濁物質の移動特性に与える影響を明らかにすることを目的とする。まずは、(1) PRP 溶液作製のための濾過プロセスを念頭におき、細胞 (血小板・白血球) - 繊維間に作用する化学的・生物学的相互作用による力の表現方法について検討する。次に、(2) 流体力学的相互作用を考慮し、流体で満たされた繊維層間隙中を細胞が移動する現象を表すシミュレーションコードを構築する。このシミュレーションコードに(1)の効果を組み込み、最終的には(3)さまざまな条件で解析を行う。特に、繊維の形状、繊維層体積率、細胞粒子のサイズに着目し、これらが細胞粒子の挙動に与える影響について考察した。

3. 研究の方法

(1) 細胞 (血小板・白血球) - 繊維間に作用する化学的・生物学的相互作用

繊維 - 細胞間に作用する力として、静電力・Van der Waals (VDW) 力・生物学的反応による力を対象とした。繊維と細胞の形状を考慮した VDW 力、静電力については、力の大きさに関わる物性値を調査・検討した。生物学的反応による力については、血小板および白血球に関する文献調査を実施し、本解析に適用可能なモデルについて検討した。

(2) 流体力学的相互作用を考慮した繊維層中の細胞粒子の挙動解析

繊維層を粒子でモデル化し、図 1 のように任意の角度 θ で屈曲した繊維を計算領域内にランダムに配置した。この繊維層内の細胞粒子の挙動を、研究代表者らがこれまでに用いてきた数値解析手法である Stokesian dynamics (SD) 法によりシミュレートした。これまでの研究では液体中の微粒子運動を解析するために用いてきた SD 法の計算コードを、繊維層中の微粒子挙動の解析に適用するために変更した。

(3) 繊維層の構造が内部の細胞の移動特性に与える影響

繊維の形状、繊維層体積率、細胞粒子のサイズを変化させた場合に、細胞粒子の挙動がどのように異なるかを定量的に整理し、考察した。特に粒子サイズに関しては、従来の計算コードでは繊維と粒子の半径が等しいという前提のものであったが、任意の半径を与えられるようにコードを変更した。変更後、新しい計算コードの妥当性を確認した。

4. 研究成果

(1) 細胞 (血小板・白血球) - 繊維間に作用する化学的・生物学的相互作用

まずは繊維 - 細胞間に作用する VDW 力について、繊維を円柱形状で近似し、円柱と球形粒子の間に作用する VDW 力を表面間距離の関数として求めた。静電力については、Javadpour and Jeje [1]により PRP フィルターの 1 本の繊維と血小板および白血球の間に作用する静電力が測定されているが、[1]で示された静電気力をそのまま用いると、繊維から離れた細胞粒子にも斥力が作用してしまう結果となった。そのため、[1]の結果をもとに、円柱 - 球形粒子間に作用する静電力を再検討した。

繊維への付着を考える場合には、これらに加えて生物学的反応により発生する力も考慮する必要があると考えられるため、血小板と PRP フィルターの間作用する力について文献調査を行った。結果として、血小板と血管壁の間に作用する力のモデルはいくつか見つかったものの、付着を適切に再現できるモデルの構築には至らなかった。また、市販の PRP フィルタ

一中で血小板および血球の透過挙動観察のための予備実験として、マイクロスケールの装置の自作や、血球成分を用いた実験を試みたが、期待した成果は得られなかった。

(2) 流体力学的相互作用を考慮した繊維層中の細胞粒子の挙動解析

繊維中の細胞挙動のシミュレーションには、Stokesian dynamics 法を用いる。繊維層を球形粒子の集合体でモデル化し(図1)、繊維層内部の流体で満たされた空隙部分を細胞粒子が移動する現象を再現した。研究代表者らがこれまでに用いてきた計算コードに改良を加え、その妥当性を評価した。さらに、各時刻における細胞粒子と繊維の位置関係に応じたVDW力および静電力を考慮する計算コードを完成させた。現状では繊維への粒子の付着は再現できていないが、任意の形状・配置を有する繊維層内部における細胞粒子の運動のシミュレーションが可能となった。

図2に繊維層中を移動する粒子挙動の一例を示す。粒子は繊維に妨げられながら移動するが、その過程で全体が広がっていく様子が確認された。これは流体を介した粒子間および繊維

粒子間の流体力学的相互作用による拡散と考えられる。繊維層の存在しない液中での粒子運動に比べ、空隙に粗密のある繊維層内では粒子の流体力学的拡散が顕著であることがわかった。そこで繊維層内の粒子挙動の特徴の一つとして流体力学的拡散に着目し、繊維層内部の空隙構造、各粒子の速度、粒子速度のばらつきなどについて調べた。その結果、繊維層内の空隙サイズの分散と粒子速度のばらつきが大きい場合に粒子が拡がりやすいことがわかり、これらが拡散を引き起こしている可能性が示唆された。繊維層内の空隙構造は繊維の形状や繊維層体積率によって異なるため、それらも粒子挙動に大きな影響を与える可能性と予想された。以上の結果は、学術論文として現在投稿中である。

(3) 繊維層の構造が内部の細胞粒子の移動特性に与える影響

本研究では特に、繊維の形状、繊維層体積率、細胞粒子のサイズに着目し、これらが細胞粒子の挙動に与える影響について考察した。繊維半径の1~2倍の半径をもつ細胞粒子の挙動を数値解析により求めた。本計算では、繊維に粒子が付着する現象は考慮されていないが、細胞粒子が繊維に引っ掛かり、それ以上動かなくなる場合がみられた。これを捕集と呼ぶことにする。繊維の配置が等しい繊維層中にサイズの異なる粒子を透過させた結果を比較すると、大きな粒子ほど繊維によって多く捕集されるものの、大きな粒子が捕集されない位置で小さな粒子が捕集される現象が起こった。その理由として、細胞粒子間の相互作用および繊維と粒子間の相互作用の違いにより、粒子のサイズによって繊維層中での挙動が大きく異なることが考えられた。挙動の違いとして、細胞粒子群の拡がり、個々の粒子の速度、粒子群の速度のばらつきについて詳しく解析し、粒子サイズによる影響を考察した。

これらの解析は、繊維体積率3%、5%、7%の各場合について行った。全体的な傾向は体積率によらず等しかったが、体積率の大きい場合には粒子が繊維を避ける頻度が高いため、粒子サイズによる挙動の違いが顕著であった。以上の結果は、学術論文として投稿準備中である。

また、繊維形状の影響として、繊維の屈曲に着目した。屈曲角を定義し、繊維の折れ曲がりの度合いで屈曲を表したところ、屈曲した繊維層の方が透過する粒子が拡がりやすいことがわかった。(2)と同様に繊維層の空隙構造を解析すると、繊維層体積率が等しい条件でも屈曲した繊維の方がより大きな空隙を多く含んでおり、空隙サイズの分散も大きかった。さらに繊維形状をより一般的な曲率と換率で表すことを考え、モデルを改良した。微粒子挙動の解析には至らなかったが、流体のみを流したときの透過率が曲率と換率の比によって影響を受けることを明らかにした。

以上から、細胞粒子の繊維への付着は再現しきれなかったものの、繊維層中での粒子1つ1つの挙動を解析した結果から、繊維層の構造の影響について、基礎的かつ定量的な知見を得ることができた。

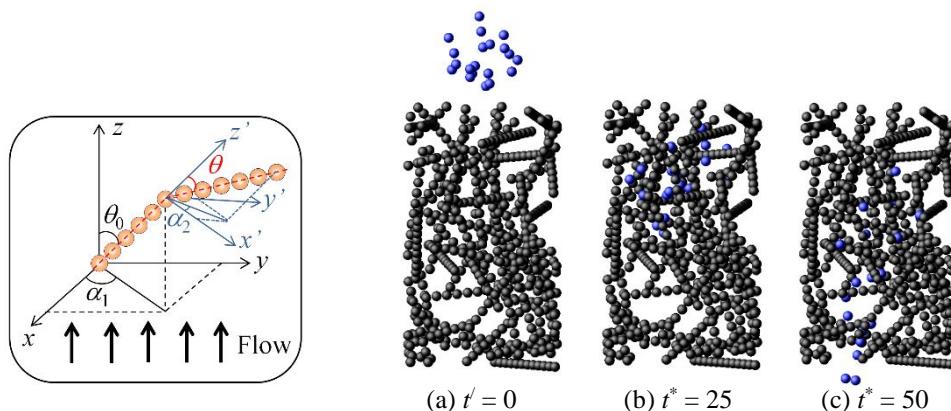


図1 屈曲した繊維を表す粒子モデル

図2 繊維層中の細胞粒子挙動の時間変化

(t^* は a/U で無次元化された値。 U は Stokes 沈降速度)

参考文献

- [1] F. Javadpour and A. Jeje, *Transp. Porous Media*, Vol. 91, pp. 677-696 (2012).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Otomo Ryoko, Mori Kazuki	4. 巻 23
2. 論文標題 Analysis of fluid permeability in tortuous fibrous bed based on pore radius distribution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Visualization	6. 最初と最後の頁 71 ~ 80
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12650-019-00613-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yuji Deguchi, Ryoko Otomo
2. 発表標題 Quantitative analysis on fluid permeation and pore structure in tortuous fibrous layer using particle model
3. 学会等名 15th International Conference on Fluid Control, Measurements and Visualization (FLUCOME 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野勇樹, 大友涼子
2. 発表標題 粒状多孔質体中を移動するマイクロ粒子挙動の数値解析
3. 学会等名 日本混相流学会 混相流シンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大友涼子
2. 発表標題 粒子層中を移動するマイクロ微粒子群の流体力学的拡散
3. 学会等名 日本伝熱学会関西支部 第26期 第3回講演討論会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大友涼子, 森和輝
2. 発表標題 繊維層中を移動する微粒子挙動のシミュレーション
3. 学会等名 粉体工学会 2018年度春期研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ryoko Otomo, Akihito Morita and Kiyoshi Bando
2. 発表標題 Hemolytic behavior of human red blood cells caused by osmotic pressure difference -Visualization of Hemoglobin behavior by use of light absorption characteristics-
3. 学会等名 ESCHM- ISB- ISCH 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 出口裕仁, 森和輝, 大友涼子
2. 発表標題 繊維層中の透過流動における内部の空隙構造と繊維形状の関係
3. 学会等名 日本機械学会 2018年度年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉良陵佑, 大友涼子, 田地川勉, 山本恭史, 板東潔
2. 発表標題 繊維層内における多分散粒子群の移動現象の数値解析
3. 学会等名 日本機械学会 2018年度関西学生会学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林雅哉, 大友涼子, 田地川勉, 山本恭史, 板東潔
2. 発表標題 多孔質体中における微粒子の流体力学的拡散に関する実験的解析
3. 学会等名 日本機械学会 2018年度関西学生会学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野勇樹, 大友涼子, 田地川勉, 山本恭史, 板東潔
2. 発表標題 多孔質体の間隙中を移動する微粒子挙動のシミュレーション
3. 学会等名 日本機械学会 2018年度関西学生会学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Mori and Ryoko Otomo
2. 発表標題 Numerical Analysis on Particle Behavior in the Flow through Tortuous Fiber Bed
3. 学会等名 7th Asian Particle Technology Symposium (APT 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大友涼子, 森和輝
2. 発表標題 粒子モデルによる屈曲した繊維層中の流体透過特性解析
3. 学会等名 日本混相流学会 混相流シンポジウム2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大友涼子, 森和輝, 出口裕仁
2. 発表標題 屈曲した繊維層中の透過流動における内部構造の影響
3. 学会等名 日本流体力学会年会 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森和輝, 大友涼子
2. 発表標題 屈曲した繊維層中を流れる粒子群挙動の数値解析
3. 学会等名 日本機械学会 2017年度年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 出口裕仁, 森和輝, 大友涼子, 田地川勉, 山本恭史, 板東潔
2. 発表標題 屈曲した繊維層中の空隙構造の評価および流体透過性解析
3. 学会等名 日本機械学会 2017年度関西学生会学生員卒業研究発表講演会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----