

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2010

課題番号：20200026

研究課題名（和文） 強磁場内血球の特性計測と血流シミュレータ用数値解析モデルの開発

研究課題名（英文） Measurement and Numerical Modeling of the Characteristics of Red Blood Cell Suspended in Fluid Under Uniform Magnetic Field

研究代表者

巽 和也 (TATSUMI KAZUYA)

京都大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：90372854

研究成果の概要（和文）：

本研究は、一様強磁場下における赤血球懸濁液について、マイクロセンサを用いた赤血球の電気的特性と変形能計測技術、レーザを用いた蛍光温度計測技術、そして個々の赤血球に関する運動を高空間・時間分解能測定可能な計測装置を開発した。これらの装置を用いることで単一赤血球の磁気特性の計測が可能であり、その実験結果を用いて、生体内のシミュレータを指向した、強磁場条件下の3次元赤血球・流体連成解析モデルを開発した。

研究成果の概要（英文）：

Experimental technology that can measure the magnetic and electric characteristics of a single red blood cell (RBC) suspended in a fluid exposed under strong magnetic field using high-speed camera, microchannels, micro-electric sensors was developed in this study. Further, a novel fluid temperature measurement in microchannels using fluorescent polarization method was also developed. By using these measurement technologies, the RBC motions in fluids under magnetic field of 0-10 Tesla could be analyzed. The measurement data was further used to develop a numerical model that can directly simulate the physics of the magnetic effect on the RBC membrane. This model possesses a high general versatility to simulate three-dimensional RBC motion in fluids and can be applied to a biologic numerical simulator.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2009 年度	9,500,000	2,850,000	12,350,000
2010 年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
総計	28,900,000	8,070,000	34,970,000

研究分野：伝熱工学，流体力学，マイクロ流体力学

科研費の分科・細目：熱工学

キーワード：赤血球，マイクロ流路，強磁場，数値解析，計算モデル，マイクロ電気センサ

1. 研究開始当初の背景

本研究は、10～30T オーダの強磁場における血液・赤血球の流動・電磁気・温度の解明と血流シミュレータを指向した数値解析モ

デルの開発を行うことを目的として、強磁場におけるマイクロ流路内の単一赤血球・血液等の諸特性に関する詳細な検討と知見の収集および、そのデータに基づいた微視的・巨

視的数値流体モデルとコードの開発を行う。

MRI (Magnetic Resonance Imaging) のように磁場を用いた医療診断装置や、発展著しいマイクロ・ナノ技術を活用したドラッグデリバリーシステムと呼ばれる体内・血管内でマイクロカプセルを磁場により所定の位置まで輸送・制御し、局所的に治療を行う手法について、研究と開発が行われている。今後、このように磁場を活用した医療機器の普及は必至であり、それに伴いその磁力も増大すると考えられるが、強磁場環境下における血液の特性に関する知見は少ない。血液では、磁場により赤血球が磁力線の方向に応じて配向し、膜の弾性率や酸素交換量など、その膜特性も変化することが知られている。これは、赤血球膜内のヘモグロビンやタンパク、脂質などの電気・磁気特性に起因するとされているが、まだ定量的な評価は、特に単一血球レベルでは、十分に行われていない。

一方、生体シミュレータの開発の一環として血流の数値解析コードの開発が行われているが、前述の医療機器を適用した場合のシミュレーションを行うには、強磁場内の血液の特性に関する知見の収集と、それに基づいた単一赤血球を対象とした微視的モデル、および巨視的なバルク流体モデルの構築が必要である。このように強磁場における血球の諸特性と数値シミュレーション用モデルが開発できれば、診断・治療用の機器開発を容易にし、医療の分野に大きく寄与すると考えられる。

本研究で用いる磁場強度における血液の諸特性の計測と、単一血球の熱・流動・電磁気・剛性の諸特性を同時に計測し、解析と解明を行った研究は国内外で見当たらない。また、これらの強磁場内の血液・血球に関する数値流体モデルも、まだ開発されていない。このことから、強磁場内の血球と血液について熱工学・流体力学・電磁気学の面からこれら諸特性を詳細に検討・解明し、その数値流体モデルを開発することは、血球構造の医学的な解明の意味だけでなく、医療記述の発展、マイクロデバイスの実用化、そして血流シミュレータの開発の面からも意義が深いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、強磁場における血球・血液の流動・電磁気・温度特性の解明と血流シミュレータを指向した数値解析モデルの開発を行うことを目的として、マイクロ PIV (Particle Image Velocimetry) による速度場計測、高速度カメラによる赤血球挙動・変形能の可視化と解析、薄膜 Pt マイクロセンサによる電気特性 (インピーダンス) 計測、レーザ蛍光偏光法による温度場計測、そして分光分析による血球膜の酸素結合率の計測を行い、強磁

場における単一赤血球や血液の微視的・巨視的な諸特性に関する詳細な検討と知見の収集、そして、そのデータに基づいた数値流体シミュレーション用モデルの開発を行う。

3. 研究の方法

本研究では、10~30T の強磁場内にマイクロ流路を設置し、その中を流れる単一血球と血液について、冒頭で述べた諸計測を行い、そのデータに基づく血液・流体シミュレーション用の微視的・巨視的数値流体モデルの開発を行う。実験では、ポーランドの大学機関の研究協力者と打合せ、まず強磁場発生装置を購入した。この装置に、既存の PIV 計測装置、高速度カメラ、金属スパッタリングで製作した薄膜電気マイクロセンサ、そしてレーザ蛍光偏光計測装置、それぞれを改良して導入することで、血球周りの流体速度や膜剛性、インピーダンス・周波数特性の測定、血球挙動・変形の可視化、局所温度、そして酸素結合率の測定を行った。

μ PIV 計測では、既存のシステムの高解像度化を行い、血球近傍 (10 μ m 四方の領域) を含めた流れ場計測とせん断場の解析を行うことにより、配向や Tank Tread Motion、変形能など血球膜特有の現象解明や磁場との相関を求めた。これに合わせて高速度カメラを用いて、高時間分解能で赤血球の形状や運動の測定を行った。

電気的特性の計測では、薄膜 (50~200nm 厚) センサを用いた。このセンサは、MEMS (マイクロ電気・機械製作技術) を用いて製作した。これに自作の回路とインピーダンスアナライザ、そして解析プログラムを用いてセンサ間を通過する溶液 (血液) や血球の抵抗と周波数特性を測定・解析した。この場合、電流計測を行う場合には、測定電流が微弱 (μ A) であるため、電極表面に特殊メッキを施し、さらに電極形状と配置を工夫することで、電気二重層の影響低減と電気力線の整流を行い、センサ感度の向上を図る。

レーザ蛍光偏光計測では、励起光の光源として、新規に購入した半導体レーザを直線偏光励起光源として顕微鏡へ供給した。これを用いて流体中に混入した蛍光分子の蛍光偏光度を、光学素子を用いて測定することでマイクロ流路内の流体温度を求める。測定では、溶媒やその pH、極性、そして蛍光粒子の物性の影響も検討しながら、偏光度と温度の相関を導出し、溶液の温度分布の測定を可能とした。

血流シミュレーション用数値流体計算モデルの開発は、独自に開発した 2・3次元の流れと温度場の解析が可能な数値流体シミュレーションコードに、流体内の単一血球の数値解析モデルとして、有限体積法を用いた流体解析と有限要素法またはバネ・ネットワ

一モデルを用いた血球の応力・変形解析を、Immersed Boundary (境界埋込) 法を適用してカップリングを行った。さらに、強磁場での血球膜の磁気特性を考慮した新たなモデルを考案し、流体・赤血球連成解析コードに組み込むことで、磁場印加条件下での血球の配向や変形、運動について計算を行う。その結果を、強磁場中に設置したマイクロ流路を用いた単一赤血球の運動測定結果と比較することで、解析手法の妥当性を検討した。

4. 研究成果

(1) マイクロ流路と電気センサを活用した赤血球のインピーダンス計測および変形能計測技術の開発

赤血球を含む一般的な生細胞の細胞膜導電率は約 $1 \times 10^{-6} \text{S/m}$ 以下であり、細胞質や生理条件を満たす溶媒に対しては絶縁体と見なせる。従って、細胞に外部電場を印加した場合、伝導電流は、十分に電場の周波数が低い限りにおいて細胞膜を通過せず、電流密度は細胞形状に沿った分布形状を示すと考えられる。本研究では、マイクロ流路内の高せん断流れを活用し、赤血球一つ一つの電気抵抗分布を測定することで、赤血球のインピーダンスならびに抵抗値だけでなく、赤血球の変形能を測定することが可能である。

単一赤血球に関する測定の様子の一例として、電極部を通過中の正常赤血球の一連の画像を図 1 (a)~(d) に示す。図に示す黒い領域が開発した電気センサの先端であり、その間を高速に通過する各赤血球の電気特性を高精度に測定出来る。また図から、赤血球は主流方向に引き伸ばされた形を保持しながら流れており、一方、硬化赤血球では、このような変形過程はほとんど見られなかった。

次に、マイクロセンサにより求めた電気信号の解析値 δ と、赤血球の撮影画像から求めた DI との関係を図 2 に示す。 $DI = 0.5$ 及び $DI = 0$ 付近における赤血球の半値幅は互いに異なり、画像解析による赤血球変形形状を反映した DI と、電気的測定によって得られた δ との間に相関が見られる。このように、本研究のマイクロセンサを用いることで単一赤血球のインピーダンス (または抵抗) と変形能を高速カメラを用いずに連続的に測定可能であることが分かった。このセンサ開発により、磁場装置内などの限られた空間での赤血球の特性を計測することが可能となった。また、この装置は携帯診断装置への活用も可能であり、臨床分野においても大きく資すると考えられる。

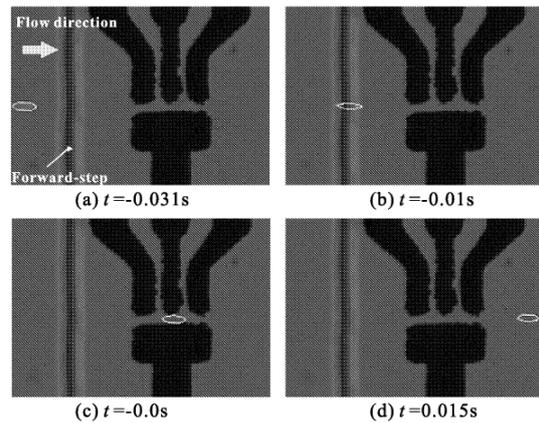


図 1 : センサ通過赤血球の高速カメラ撮影

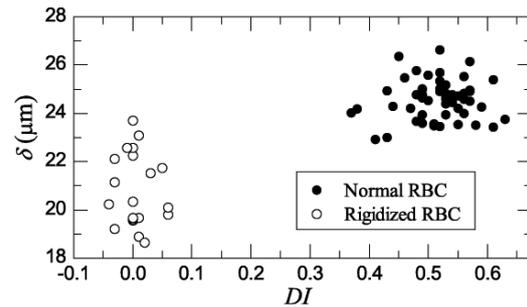


図 2 : 赤血球変形度 DI と半値幅 δ の相関

(2) 蛍光偏光特性を活用したマイクロ流路内の温度場計測技術の開発

赤血球懸濁溶液の高精度温度場測定を行うために、蛍光分子溶液から発せられる蛍光の偏光度を測定して流体温度を求める手法を開発した。この手法では、蛍光偏光度は原理的に流体の pH や測定時間などの影響が小さく、従来の LIF 法と比較して測定精度が向上することが考えられ、生体溶液の温度測定手法として期待される。

測定精度を示すために、リザーバとマイクロ流路内の流体温度を測定した結果を図 3 と 4 に示す。図に示すように、従来の手法である蛍光強度 I を用いる LIF 法では、著しく pH と測定時間 (蛍光消光) の影響を受け、流体の温度測定にばらつきが生じることが分かった。一方、本手法である蛍光偏光 P 測定では、pH や時間に寄らず一定であり、これらの影響が大幅に緩和される。また図 4 に示すように、マイクロ流路内の流体温度を良好に測定しており、これらの結果から、本技術は安定で高い測定精度を持つことを示した。

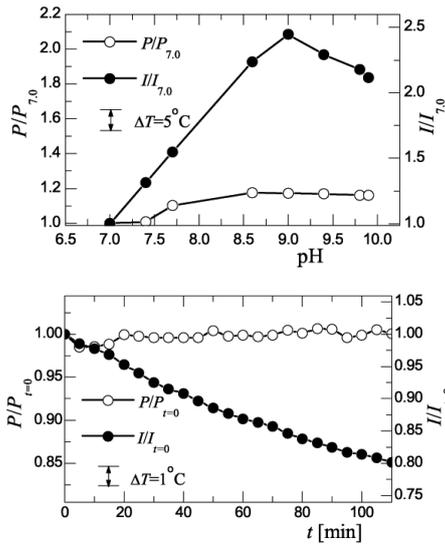


図3 測定精度に与える流体 pH と測定時間の影響

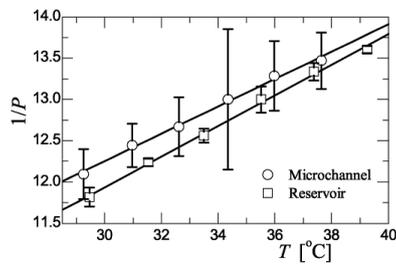


図4：リザーバとマイクロ流路内の温度測定結果

(3) 強磁場下の流体中における赤血球の運動特性の計測

強磁場発生装置とマイクロ流路を用いて、一様強磁場下に置かれた流体に懸濁した赤血球の配向運動を高速カメラで撮影および解析することで、赤血球の運動特性を詳細に解明した。この場合、流路と赤血球は常に一様な磁場が印加された状態であるため、赤血球の初期角度と位置を定めるのが困難となるが、本実験では、マイクロ流路内流れの速度分布と急制御バルブを用いることで、赤血球の初期角度を設定すること可能とし、種々の角度について配向運動の測定を行った。測定画像の一例を図5に示す。

撮影画像から赤血球の配向角度の時間履歴の一例を図6に示す。図に示す通り、赤血球の配向角度は減少し、その減数率も角度と共に減少するが、これは次式に示す、細胞の磁気トルクの関係と良く一致する。

$$T = -\frac{B^2}{2\mu_0} \Delta\chi \sin 2\varphi$$

このようにして、赤血球の初期角度や磁場強度、流速を変化させ、それらの配向運動な

どに及ぼす影響を詳細に検討し、種々の新たな知見を収集することができた。

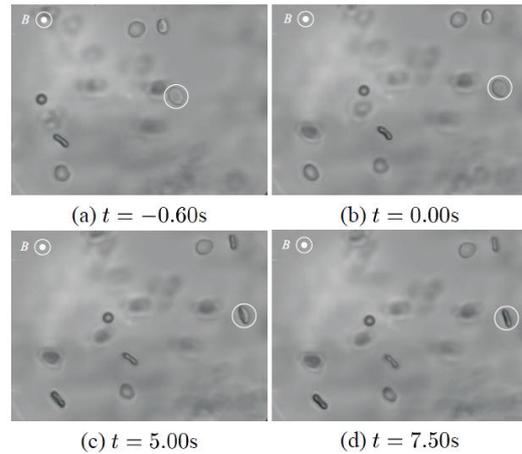


図5：高速カメラを用いた強磁場環境下に置かれたマイクロ流路内の赤血球運動測定

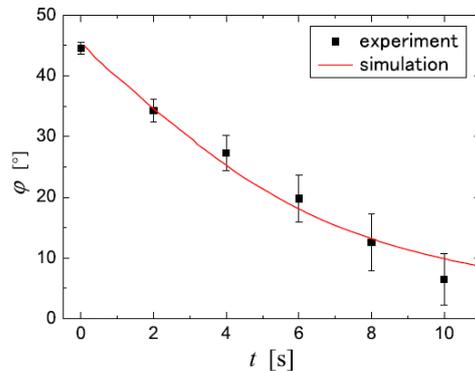


図6：赤血球の配向運動分布（初期角度 45° ）

(4) 強磁場下の流体中における赤血球の運動に関する数値解析モデルの開発

本研究の数値シミュレーションの流れ場の解析には有限体積法を用いた。一方、赤血球の計算には、限要素法および弾性ばねモデルの2通りの手法を適用した。流体と赤血球間の連成解析には、Immersed-boundary methodを用いた。この場合、赤血球膜において各節点力を流体の生成項に適用し、流体速度を各節点速度に適用した。

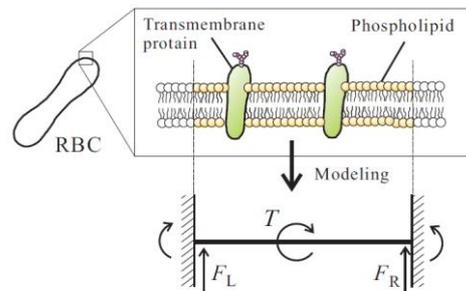


図7：赤血球と膜磁気特性に関する数値解析モデルの模式図

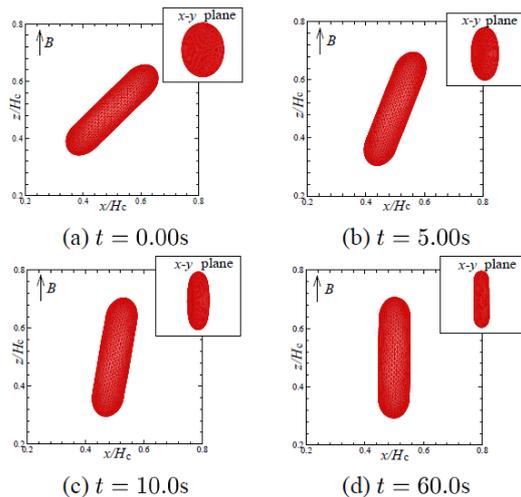


図 8：赤血球の配向運動に関する数値解析結果

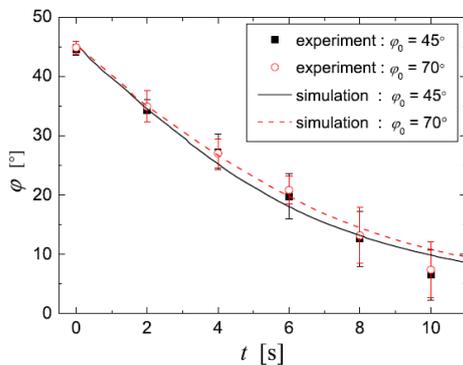


図 9：数値シミュレーションと実験の比較

さらに赤血球にリン脂質や膜貫通蛋白質の磁気特性を模擬したモデルを新たに提案し、数値解析コードに導入した。図 7 に磁気モデルの概要を示す。リン脂質と膜貫通蛋白質は、赤血球膜上に図のように配列しており、このような高分子に一樣な静磁場を印加すると、磁気トルクが誘起されると考えられる。本モデルでは、これらが前述の赤血球モデルの各辺要素に均一に分布しているとして不静定梁モデルを設定し、リン脂質と膜貫通蛋白質のトルクによる辺要素の両端にかかる力を求めた。

これらのモデルとコードを用いて、流体中に懸濁した 3 次元赤血球の運動について計算を行い、成果 (3) に示した実験結果と比較することで計算の妥当性を示した。

図 8 に数値解析における赤血球の配向運動に関する結果の一例を、図 9 に赤血球の配向角の時間履歴に関する実験との比較を示す。図 8 では、 $t=0s$ で磁界方向に対して傾斜した赤血球が、磁場印加により回転運動して配向する。さらに、図 9 に示すように、この配向運動は定量的に実験と良く一致する。また、赤血球全体の異方的磁化率を計算結果から求めた場合、その値は $2.4 \times 10^{-26} m^3$ となり、

こちらにも定量的に実験と良く一致する。これらの結果から、赤血球の膜要素の磁気特性の物理を正確に模擬する新たな数値解析モデルを示せた他に、マイクロ流路を用いた赤血球の磁気特性（異方的磁化率）を求める手法も提案することができた。

これらの成果は、電気的・熱的要因が磁場内の赤血球運動と血流に与える影響の検討をさらに行うことで、より高精度な強磁場下の血管内流れに関する数値解析モデルの開発が可能であることを示しており、今後の応用展開についての指針も示すことができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① K. Tatsumi, R. Kuroki, M. Nakamura and K. Nakabe, Numerical Investigation on Fluid Flow and Heat Transfer Characteristics in a Peristaltic Micro Pump, Progress in Computational Fluid Dynamics, 2011, (in printing), 査読有り.
- ② K. Tatsumi, Y. Nishitani, K. Fukuda, K. Katsumoto and K. Nakabe, Measurements of Electroosmotic Flow Velocity and Electric Field in Micro-channels using PIV, Measurements Science and Technology, Vol. 21, No. 10, 2010, pp. 105402-1 - 11, 査読有り.
- ③ Y. Katsumoto, K. Tatsumi, T. Doi and K. Nakabe, Electrical Classification of Single Red Blood Cell Deformability in High Shear Rate Micro-Channel Flows, International Journal of Heat and Fluid Flow, Vol. 31, No. 6, 2010, pp. 985-995, 査読有り.
- ④ 勝本洋一, 巽和也, 土井立樹, 中部主敬, 高剪断マイクロ流れと電気的測定を用いた赤血球変形能の評価, 日本機械学会論文集, B 編, Vol. 75, No. 759, 2009, pp. 2215-2224, 査読有り.
- ⑤ 巽和也, 福田啓介, 勝本洋一, 中部主敬, PIV を用いたマイクロ流路内の電気浸透流速と電場強度計測, 日本機械学会論文集, B 編, Vol. 75, No. 750 (2009), pp. 251-258, 査読有り.
- ⑥ K. Tatsumi, Y. Matsunaga, Y. Miwa and K. Nakabe, Numerical Study on Fluid Flow Characteristics of Peristaltic Pump, International Journal of Heat and Fluid Flow, Progress of Computational Fluid Dynamics, Vol. 9 (2009), pp. 176-182, 査読有り.

[学会発表] (計 13 件)

- ① R. Fujiwara, K. Tatsumi, Y. Katsumoto and K. Nakabe, Numerical and Experimental Study on Measurement of a Single Red Blood Cell Deformability using a Microchannel and Electric Sensors, 3rd Int. Symposium on Computational Heat Transfer and Fluid Flow (ASCHT-2011), (2011), September 22-26, Kyoto.
- ② Y. Komori, T. Arakawa, K. Nishitani, K. Tatsumi and K. Nakabe, Motion of Red Blood Cell in Stationary Fluid under Uniform Magnetic Field, 3rd Int. Symposium on Computational Heat Transfer and Fluid Flow (ASCHT-2011), (2011), September 22-26, Kyoto.
- ③ K. Tatsumi, R. Kuroki, K. Nishitani, T. Arakawa and K. Nakabe, Numerical Modeling of Red Blood Cell Suspended in a Channel with Uniform Magnetic Field, ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference (AJK2011), July 24-29, Hamamatsu.
- ④ K. Tatsumi, A. Tozaki and K. Nakabe, Microscopic Fluid Temperature Measurements using Fluorescence Polarization Method, ASME/JSME 8th Thermal Engineering Joint Conference (AJTEC2011), (2011), pp. AJTEC2011-44461, March 13-17, Honolulu.
- ⑤ K. Tatsumi, A. Tozaki and K. Nakabe, Microscopic Fluid Temperature Measurements in Channels using Fluorescence Polarization Method, 10th Kyoto - Seoul National - Tsinghua University Thermal Engineering Conference, (2010), pp. 173-176, October 27-29, Bejin.
- ⑥ 巽和也, 黒木遼, 荒川智樹, 中部主敬, 一様磁場下の流路内赤血球運動に関する数値解析, 日本機械学会 2010 年度年次大会, 名古屋, 2010/9, 名古屋.
- ⑦ 遠崎晃久, 巽和也, 中部主敬, マイクロ蛍光偏光法を用いた流路内の流体温度計測 (第 2 報), 第 47 回日本伝熱シンポジウム, 2010/5/27, 札幌.
- ⑧ 遠崎晃久, 巽和也, 中部主敬, マイクロ蛍光偏光法を用いた流路内の流体温度計測, 熱工学コンファレンス 2009, 2009/11, 山口.
- ⑨ R. Kuroki, K. Tatsumi, M. Nakamura and K. Nakabe, Numerical Study on Flow and Heat Transfer Characteristics of Peristaltic Pump, 2nd Asian Symposium on Computational Heat Transfer and Fluid Flow, (2009), pp., October 20-23, Jeju.
- ⑩ Y. Katsumoto, K. Tatsumi, T. Doi and K. Nakabe, Measurements of Human Red Blood Cell Deformability in Micro-channel Using Electric Sensors, International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2009), (2009) pp. 424-426, November 1 - 5, Jeju.
- ⑪ 西谷幸祐, 土井立樹, 勝本洋一, 巽和也, 中部主敬, 高せん断マイクロ流路内流れにおける赤血球変形能の電氣的計測 (第 2 報), 日本機械学会 2009 年度年次大会, 2009/9, 盛岡.
- ⑫ K. Tatsumi, Y. Katsumoto, T. Doi, K. Nishitani and K. Nakabe, Red Blood Cell Deformability Sensing System using Electric Sensors and Micro-channels, 9th Kyoto - Seoul National - Tsinghua University Thermal Engineering Conference, (2009), pp. 173-176, October 27-29, Kyoto.
- ⑬ Y. Katsumoto, K. Tatsumi, T. Doi and K. Nakabe, Electrical Classification of Single Red Blood Cell Deformability in High Shear Micro-Channel Flows, 7th World Conference on Experimental Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics (ExHFT-7), (2009), pp. 201-208, June 28 - July 03, Krakow.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

巽 和也 (TATSUMI KAZUYA)

京都大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号 : 90372854

(2) 研究分担者

なし

研究者番号 :

(3) 連携研究者

なし

研究者番号 :