

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：21201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K14651

研究課題名（和文）赤血球膜の実構造に基づいた数値モデルの構築と破壊・損傷メカニズムへの応用

研究課題名（英文）Development of a numerical model to clarify the rupture/damage mechanics of the red blood cell

研究代表者

ニックス ステファニー（NIX, Stephanie）

岩手県立大学・ソフトウェア情報学部・講師

研究者番号：00756637

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、赤血球の破壊や損傷のメカニズムを解明するため、赤血球膜の微細構造を正確に再現する新しい数値モデルを開発しました。このモデルは、赤血球膜の複雑な構造を考慮し、従来のモデルよりも現実に近い挙動をシミュレーションできます。この成果は、人工心臓や透析装置などの医療機器の改良に貢献し、患者さんの負担を軽減する可能性があります。また、赤血球に関する基礎研究の進展にも寄与すると期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した赤血球膜のモデルは、赤血球の破壊メカニズムの解明に貢献する。これは学術的に重要な進展であり、血液に関する基礎研究を前進させる。社会的には、この知見を活用することで、人工心臓や透析装置などの医療機器の設計改良が可能となり、溶血（赤血球の破壊）のリスクを低減できる。結果として、これらの機器を使用する患者さんの安全性と生活の質の向上につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed a new numerical model that accurately reproduces the microstructure of red blood cell membranes to elucidate the mechanisms behind red blood cell rupture and damage. This model considers the complex structure of the cell membrane cytoskeleton, allowing for more realistic simulations compared to conventional models. Our findings have the potential to contribute to the improvement of medical devices such as artificial hearts and dialysis machines, potentially reducing the burden on patients. Additionally, this research is expected to advance basic research on red blood cells.

研究分野：計算生体力学

キーワード：赤血球

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内において赤血球が損傷を受けることが少ないが、血液が補助人工心臓や透析装置を通過する際に、高い流体せん断応力や乱流により溶血（赤血球の内容物であるヘモグロビンが流出すること）が発生することが知られている。その場合、流出したヘモグロビンが血小板の活性化を引き起こし、血栓が作られる。その血栓が微小血管を塞ぎ、血栓塞栓症を発症するため、血栓形成の元となる溶血の発生を防ぐ必要がある。その他に、赤血球の破壊により赤血球数が減少し、貧血や腎不全になることもある。そのため、赤血球の破壊を理解することが、医療機器の開発をはじめに多くの分野において重要な課題となっている。

また、赤血球が破壊まで至らなくても補助人工心臓などの医療機器から血液への損傷を引き起こすことが明らかになってきた。Kameneva らの研究グループをはじめに、臨床研究の視点から人工器官と血液損傷の関係を研究対象としている先行研究が多く行われている (Olia et al., 2016)。これらの結果の中で、赤血球への損傷を軽減するための工夫がいくつか報告されているが、赤血球の破壊・損傷の根本的なメカニズムが未解明なままであるため、赤血球に損傷を起こさない医療機器のデザインがまだ大きな課題として残されている。

赤血球の破壊時の挙動を解明するための研究もされている。例えば、1970年代から Sutera らが強いせん断流れ中の赤血球を固定し、ある時刻の赤血球の形状や赤血球外ヘモグロビン濃度などの結果が得られた。その結果の画像から、著しい変形や断片化したような赤血球の形状が観察されたが、途中の形状や膜内の変化に関するデータはなかった (Sutera, 1977)。赤血球の破壊・損傷のメカニズムを解明するために、赤血球全体（直径：約 $8\ \mu\text{m}$ ）の挙動と赤血球膜の構造物（代表長さ：約 $10\sim 100\ \text{nm}$ ）のデータを同時に取得することが望ましいため、実験技術だけで解明することが難しい。

実験による解明が難しいため、数値計算を用いた研究も近年行われている。その中で、血液を連続体として扱ったマクロな流れの特徴から溶血の程度を推定する研究結果 (Giersiepen et al., 1990) や、負荷蓄積を考慮した赤血球破壊モデルなどの研究結果 (Ezzeldin et al., 2015) が報告されている。しかしながら、これらのモデルが主に現象論的計算となっているため、実際に膜内にかかる物理的な過程の情報が不足しており、破壊・損傷の根本的なメカニズムがまだ明らかになっていない。本来のメカニズムの解明に必要なのは、赤血球膜の実構造を考慮した数値モデルと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、赤血球膜の実構造に基づいた数値モデルを開発し、赤血球の破壊・損傷のメカニズムの新規候補を提案することである。具体的に、赤血球の破壊・損傷に大きく影響しているのは、これまでの数値計算で扱っていない細胞骨格のネットワークのトポロジー特性や細胞骨格の主成分の結合解離の2つと考えている。

本研究の数値モデルが赤血球の内外流体の部分と赤血球膜の部分の2部分から構成されている。流体の部分に関しては、赤血球の半径が約 $4\ \mu\text{m}$ でレイノルズ数が1より十分小さいと仮定し、ストークス流れの厳密解を示す境界要素法を用いる。また、赤血球膜に関しては、実構造の挙動を再現するために、これまでは主に細胞組織の動態に使われてきたバーテックスモデルを試す。

赤血球を扱う多くの数値計算では赤血球膜を連続体として扱うが、本研究では赤血球膜の実構造を反映したモデルを用いる。その利点は、赤血球膜が破れる時の物理的なメカニズムを推測することが可能であるが、欠点としては、膜の主成分の代表長さが赤血球のサイズに比べ100倍程度異なるため、膨大な計算時間が要する。計算時間を短縮するために、並列計算に特化した計算機 (graphics processing unit, GPU) を用いる。

また、本研究ではバーテックスモデルを赤血球膜のモデリングに適応することで、実際の赤血球膜構造に合ったモデルを提案することができる。先行研究でよく用いる赤血球のモデルのほとんどは、トポロジーが一定で作成しやすい三角形メッシュを用いるが、赤血球膜骨格が不規則な多角形のネットワークを構成している。そこで、バーテックスモデルが本来細胞組織の動態を表現するために開発されているため、任意な多角形構ネットワークの力学を安易に扱うことができ、メッシュのトポロジカルな変化も簡単に処理できる。この特徴から、バーテックス

モデルの方が、赤血球膜のモデリングに適しているように考えている。

赤血球の破壊・損傷メカニズムの解明に成功すれば、正常赤血球のモデリングや人工臓器の開発などに貢献すると考えられる。例えば、破壊・損傷に関係なく赤血球の挙動が膜のトポロジーに依存性があるなら、赤血球の数値計算の結果を見直す必要があると考えられる。また、単一赤血球の破壊・損傷を正確に再現することができれば、人工臓器の開発への応用を考えられる。例えば、本計算手法を用いて赤血球数を増加し、損傷を受ける赤血球の統計的解析を行う研究方向や、本研究結果から破壊・損傷を反映した膜構成則を提案し、大きい血管内の血流まで粗視化する研究方向などを考えられる。

3. 研究の方法

赤血球膜の構造の不均一性、そしてそれに伴う物理的特性の異方性を考慮した赤血球膜のモデリング手法を提案する。赤血球の膜骨格は、異なる結合数を持つ 2 種類の頂点で連結する膜タンパク質の非構造的なネットワークで構成されているため、任意の二次元メッシュ構造を扱える手法が必要となる。パーテックスモデルに着想を得た膜モデルは、従来手法よりも構造的に正確な膜の力学を再現することができ、これらの要件をより適切に扱うことができる。この膜モデルを境界要素法と組み合わせることで、膜の時間依存的な動態を解析する。

4. 研究成果

Nestor-Bergmann らの提案手法に倣い、赤血球膜を、共有する辺で連結された任意の数の頂点を持つ要素の集合として定義する。限られた数の要素を持つ平面ではなく、Evans and Fung によって提示された両凹板の楕円体の形状を持つ閉曲面として定義する。頂点の位置は x_i で表され、速度と応力ベクトルはそれぞれ u_i と q_i で表される。

頂点の応力ベクトルは以下の力から計算される。辺に沿った膜骨格タンパク質の変形による弾性力 f^s 、脂質二重層の曲率をゼロに戻そうとする曲げ弾性力 f^b 、局所的な二重層要素と膜全体の面積の変形を抑制する面積力 f^a 、赤血球の体積を保存するために膜に作用する体積力 f^v を用いる。これらの力は以下のように表される。

$$f^s = k^s(L - L_0)\hat{t}$$

$$f^b = k^b \sin(\theta - \theta_0)\hat{n}$$

$$f^a = k^a \left(\frac{A - A_0}{V - A_0 V_0} \right) \tilde{t}$$

$$f^v = k^v \left(\frac{V - V_0}{V_0} \right) \hat{n}$$

ここで、各力が骨格タンパク質の長さ、要素内の曲げ程度、要素の面積、要素に所属する体積に対して線形的に変化する。応力ベクトルは、各力が作用する面積を用いて計算される。曲げ弾性力と体積力は要素に垂直に作用するため、対応する面積はそれらが作用する要素から計算される。骨格の弾性力と面積力は要素に接線方向に作用するため、脂質二重層の厚さを一定の 4 nm と仮定する。

これらの応力ベクトルが計算されると、境界要素法を用いて速度を計算する。赤血球のスケールと約 1 cm/s 未満の速度では、流体力学の支配方程式である非圧縮性ナビエ・ストークス方程式の慣性項を無視でき、流れをストークス流れとして近似できる。一般的な非圧縮性流れとは異なり、点力によって誘起される流れの速度場には解析解が存在する。この解は、曲面の移動によって誘起される流れに拡張でき、曲面上の応力ベクトルを積分することで以下の形をとる。

$$u_i = u_i^\infty - \frac{1}{8\pi\mu} \int_S G_{ij} q_j dS$$

ここで、 μ が赤血球内外の粘度、 u_i が与えられた流れの速度場、 G_{ij} が無限流体のグリーン関数である。左辺の速度場を用いて、各頂点の位置を更新する。

E. Evans and Y.-C. Fung, "Improved measurements of the erythrocyte geometry," *Microvascular Research*, vol. 4, no. 4, pp. 335-347, Oct. 1972, doi: 10.1016/0026-2862(72)90069-6.

H. M. Ezzeldin, M. D. de Tullio, M. Vanella, S. D. Solares, and E. Balaras, "A Strain-Based Model for Mechanical Hemolysis Based on a Coarse-Grained Red Blood Cell Model," *Ann Biomed Eng*, vol. 43, no. 6, pp. 1398-1409, Jun. 2015, doi: 10.1007/s10439-015-1273-z.

M. Giersiepen, L. J. Wurzinger, R. Opitz, and H. Reul, "Estimation of Shear Stress-related Blood Damage in Heart Valve Prostheses - in Vitro Comparison of 25 Aortic Valves," *Int J Artif Organs*, vol. 13, no. 5, pp. 300-306, May 1990, doi: 10.1177/039139889001300507.

J. C. Hansen, R. Skalak, S. Chien, and A. Hoger, "Influence of network topology on the elasticity of the red blood cell membrane skeleton," *Biophysical Journal*, vol. 72, no. 5, pp. 2369-2381, May 1997, doi: 10.1016/S0006-3495(97)78882-9.

S. E. Olia, T. M. Maul, J. F. Antaki, and M. V. Kameneva, "Mechanical Blood Trauma in Assisted Circulation: Sublethal RBC Damage Preceding Hemolysis," *The International Journal of Artificial Organs*, vol. 39, no. 4, pp. 150-159, Apr. 2016, doi: 10.5301/ijao.5000478.

S. P. Suter, "Flow-induced trauma to blood cells.," *Circ Res*, vol. 41, no. 1, pp. 2-8, Jul. 1977, doi: 10.1161/01.RES.41.1.2.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Stephanie Nix
2. 発表標題 A numerical study on the dependence of red blood cell rupture on membrane cytoskeleton topology
3. 学会等名 The 11th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Stephanie Nix
2. 発表標題 Development of an biomechanical erythrocyte model that reflects the membrane microstructure
3. 学会等名 Twenty-first International Conference on Flow Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------