

機関番号：12701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21700467

研究課題名（和文） 病変を伴う微小血管内での人工赤血球輸送プロセスに関する数値流体力学的研究

研究課題名（英文） Numerical Study on Transport Process of Liposome-encapsulated Hemoglobin in Microvascular Flow with Considering Erythrocyte Aggregation

研究代表者

百武 徹 (HYAKUTAKE TORU)

横浜国立大学・工学研究院・准教授

研究者番号：20335582

研究成果の概要（和文）：赤血球の病的な状態である赤血球集合現象が、微小血管分岐部内において人工赤血球動態にどのような影響を与えるのかを調べるため、赤血球集合現象のモデル化、および、集合した赤血球と人工赤血球を含んだ微小血管分岐部内の流動解析を行った。解析の結果、赤血球の集合体形成による赤血球および人工赤血球の管内分布の違いが微小血管分岐部における各粒子の分配特性に大きな影響をもたらすことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Flow analysis at microvascular bifurcation after partial replacement of red blood cell (RBC) with liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) was performed. When the half of RBCs was replaced by isovolumic LEH particles, the biasing of RBC flow was enhanced. However, LEH particles flowed favorably into the lower-flow branch because many LEH particles within the parent vessel were suspended in the plasma layer that is impenetrable to RBCs. The biasing of the RBC flux was enhanced when the RBC aggregation was taken into account in the model. It was clarified that the RBC aggregation-induced change of the plasma layer thickness has a marked influence on the fractional LEH flux at the microvascular bifurcation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：流体力学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：微小循環、格子ボルツマン法、人工赤血球、埋め込み境界法

1. 研究開始当初の背景

急速な少子高齢化の到来に伴う輸血用血液製剤不足の解消、また現行の血液製剤に対する様々なリスクの軽減を目指し、現在、赤血球製剤の代替物として、様々なタイプ

の人工酸素運搬体が開発中である。このうち、ヘモグロビンをリポソームに封入したカプセル型人工赤血球は、主に日本で開発が先行しており、すでに赤血球代替物としての有用性が確認されつつある。

カプセル型人工赤血球の特徴として、その直径が約 200-250nm とヒトの赤血球の 1/30 程度であり、赤血球が到達できない微小循環部位にも容易に酸素を運搬することができると考えられる。したがって、心筋内灌流のように不均一性の高い微小循環においては、赤血球の人工赤血球への置換が、不均一性の改善へつなぐと考えられており、微小循環障害治療薬としての用途も期待されている。このように、人工赤血球の循環器疾患への利用を念頭に置いた場合、血管内における人工赤血球の流体力学的挙動の理解が非常に重要となってくる。また、微小循環系における酸素運搬過程は、人工赤血球と赤血球とのインタラクションの影響下にあるため、人工赤血球による微小循環血流への作用は複雑となる。現在、ラットによる実験などでその検証が行われているが、未だ詳細なことは分かっておらず、さらに微小血管内における不均一性改善メカニズムを解明するためには、数値シミュレーションによる血球の流動解析が必要不可欠となる。

2. 研究の目的

このような背景のもと、本研究では、微小血管分岐部に着目した。分岐部における赤血球と人工赤血球の分配比を調べることで、人工赤血球の投入が微小分岐部において酸素供給の不均一性改善をもたらすメカニズムを明らかにできると考えられる。また、本研究の対象となっている微小血管内では、赤血球の集合現象が起こることが予想され、人工赤血球の流動特性を考える上で、この現象は無視できないものとなる。そこで今回、我々は赤血球の病的な状態である赤血球集合現象が、微小血管内において人工赤血球動態にどのような影響を与えるのかを調べるため、赤血球集合現象のモデル化、および、集合した赤血球と人工赤血球を含んだ微小血管分岐部内の流動解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 概要

本研究では、2次元 Y 型微小血管分岐部モデルを構築した。管径は Murray の法則に従い、主流血管の直径 $D_0 = 20 \mu\text{m}$ に対して、分岐 (娘) 血管 b_1, b_2 の直径 $D_1 = D_2 = 15.87 \mu\text{m}$ とした。分岐角度は $\alpha_1 = \alpha_2 = 45^\circ$ である。ここで、主流血管の流量 Q_0 に対して分岐血管の流量 Q_1, Q_2 とし、この割合を変化させることによって、様々な血流分配比で解析を行った。この分岐部モデルにおいて重要となるのが、主流血管に流入してくる赤血球、および人工赤血球の管断面における血球分布である。一般に、赤血球は変形によ

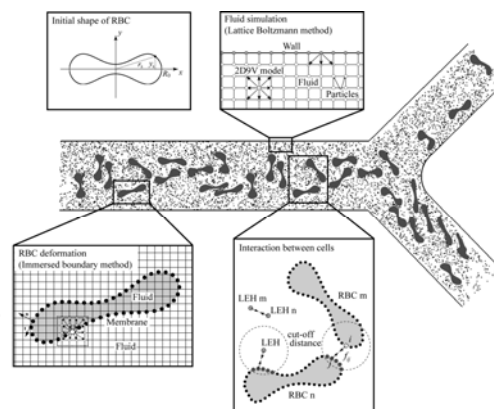


Fig. 1 Flow analysis at microvascular bifurcation was performed using the lattice Boltzmann method. The equation proposed by Evans and Fung was employed for the initial shape of RBC. The immersed boundary method was employed to incorporate the fluid-membrane interaction between the flow field and deformable RBC. The cell membrane is treated as a neo-Hookean viscoelastic material and a Morse potential was adopted to model the intercellular interaction. Flow in the parent vessel was assumed to be fully developed (Poiseuille flow)

り管中心部へ軸集中し、管壁に血しょう層が形成される。この現象を再現するために、本研究では、予め各血球を含む直管内流れ (ポワズイユ流れ) の解析を行い、十分に時間が経った状態の管断面の血球分布を本分岐モデルでの主流血管の血球分布に適用した。

(2) 流体シミュレーション手法

本研究では流体の解析に格子ボルツマン法 (Lattice Boltzmann method, 以下 LBM) を適用した。LBM とは、図 1 右上に示すように、連続体である流体を各格子上にある仮想的な粒子の集合体と仮定し、この仮想粒子の速度分布関数を用いて衝突と並進の計算を繰り返すことにより、流体の巨視的変数を求める手法である。LBM の特徴として、①アルゴリズムが簡単であるため並列計算に適している、②複雑な形状に対して境界条件の設定が容易である、③質量および運動量の保存性に優れているなどがあり、特に液滴や気泡などを含む混相流の解析に適した手法として近年注目されている流体解析手法のひとつである。したがって、本研究の対象となっている様々な血球を含む混相流の解析に対して有効であると考えられる。

(3) 赤血球のモデル化

赤血球の形状に関して、次式のように変形していない状態を図 1 左上のように

Evans and Fung によって提案された両凸形状とした。さらに、図 1 左下のように赤血球膜を節点で表現し、計算開始後は Immersed boundary 法を用いて赤血球膜と流体との連成解析を行った。また、赤血球膜モデルに関しては neo-Hookean モデルを考え、赤血球膜を表す節点にかかる力を次のように考えた。

$$\mathbf{T} = T_e \mathbf{t} + T_b \mathbf{n} \quad (1)$$

ここで、 \mathbf{t} , \mathbf{n} はそれぞれ赤血球膜上での接線方向および法線方向を示す。 T_e , T_b はそれぞれ、節点にかかる張力および曲げ抵抗を表している。2次元膜において T_e は以下のように表される。

$$T_e = \frac{E_s h}{\varepsilon^{3/2}} (\varepsilon^3 - 1) \quad (2)$$

ここで、 ε は節点間距離の伸長率、 E_s は膜の弾性係数、 h は膜厚を示している。 T_b に関しては次の曲げ抵抗を考えた。

$$T_b = \frac{d}{dl} [E_b (\kappa - \kappa_0)] \quad (3)$$

ここで、 κ は曲率、 κ_0 は初期形状の曲率、 E_b は曲げ係数、 l は膜表面に沿った弧長を示している。このモデルは厳密に赤血球膜を表現している訳ではないが、特徴的な赤血球運動特性（軸集中や tank-treading motion）を再現できており、本研究の目的である微小血管分岐部内における人工赤血球/赤血球の分配特性を調べることにってはこの簡単なモデルで問題ないと考えられる。

次に、赤血球および人工赤血球間のインタラクションに関しては、図 1 右下のようにカットオフ距離内において赤血球の節点 i, j 間に次のような Morse ポテンシャルから導かれる力が働くと考えた。

$$f(r)_{ij} = -\frac{\partial \phi(r)_{ij}}{\partial r} = 2D_e \beta [e^{2\beta(r_0-r)} - e^{\beta(r_0-r)}] \quad (4)$$

ここで、 r は節点 i, j 間の距離、 D_e は表面エネルギー、 β はスケーリングファクターである。また、 r_0 は節点 i, j 間でポテンシャルの最も低い距離を意味している。つまり、 $r = r_0$ で $f=0$ となる。

(4) 人工赤血球のモデル化

一般に、管内を流れる剛体粒子は、その回転により管軸と壁面の間に平衡位置が存在する。平衡位置に達するまでの時間は

レイノルズ数に依存しており、レイノルズ数が低くなるほど平衡位置に達するまでの時間が長い。今回の微小血管分岐部では非常にレイノルズ数が小さいために、ナノ粒子としての人工赤血球単体が周囲の流体から受ける力はその半径方向への移動にほとんど寄与しないと考えてよい。一方、本シミュレーションでは、赤血球の半分を同体積の人工赤血球に置換した場合を想定しているため、人工赤血球の全体積は大きく、人工赤血球どうしまたは赤血球とのインタラクションによる移動が流れに大きな影響を与えると考えられる。したがって、本研究では、粒子が流体から受ける力による回転の影響は考慮していないが、図 1 右下のように、人工赤血球間、および赤血球膜の節点との間に対して Morse ポテンシャルを適用した。

本解析では、人工赤血球を直径 $D_L = 300$ nm の剛体粒子として取り扱い、遅い粘性流の 2次元円柱周りで成り立つオセーン近似に基づき、人工赤血球および流体の速度（各々 \mathbf{V} および \mathbf{u} ）から人工赤血球にかかる力 \mathbf{F} を求めた。

$$\mathbf{F} = \frac{1}{2} \rho_L (\mathbf{V} - \mathbf{u})^2 D_L \frac{8\pi}{\mathbf{R}_L (2.002 - \log \mathbf{R}_L)}, \quad (5)$$

$$\mathbf{R}_L = \frac{(\mathbf{V} - \mathbf{u}) D_L}{\nu} < 0.5$$

これにより、次ステップにおける人工赤血球の速度、および位置を求めることができる。

4. 研究成果

まず始めに、ポワズイユ流れの解析結果を示す。図 2 上に赤血球のみ ($Ht^R = 0.30$) を流した場合のある瞬間での赤血球の様子、および管断面における赤血球膜の節点分布を示す。赤血球膜の節点分布は、赤血球膜を表す各節点が下流面を通過する際の半径方向座標をカウントすることにより算出している。分布図の横軸 η は赤血球膜を表わす節点と中心軸との無次元距離を表している。図より明らかなように、赤血球は流体との干渉、さらには血球間のインタラクションにより変形しながら管内を流れた。特に、壁面付近では流れのせん断応力が大きいため、赤血球はより変形をしながら管中心へと移動し、いわゆる軸集中が生じた。結果として、本シミュレーション手法により、管内の壁面付近で赤血球の存在しない血しょう層の形成が再現できた。図 2 下に赤血球のヘマトクリットの半分を人工赤血球に置換した場合 ($Ht^R = Ht^L = 0.15$) のある瞬間での各血球の様子、および管断面における赤血球膜の節点分布と人工赤血球の

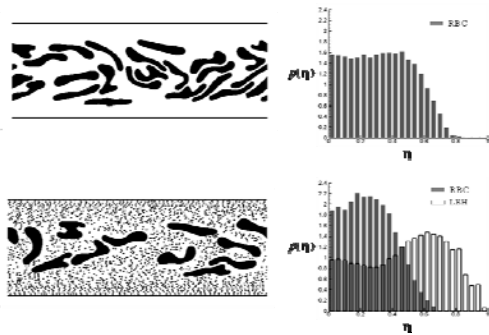


Fig. 2 Snapshot images and longitudinally distributions of RBC and LEH in the case of the normal model. The upper figures show the case of $H^R = 0.30$ and the lower figures show the case of $H^R = H^L = 0.15$.

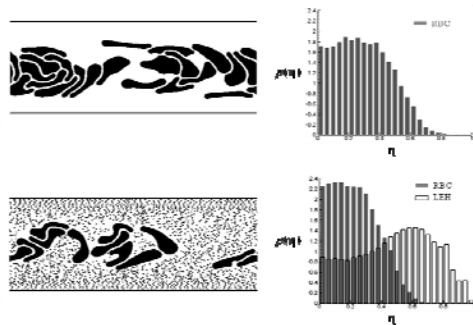


Fig. 3 Snapshot images and longitudinally distributions of RBC and LEH in the case of the RBC aggregation model. The upper figures show the case of $H^R = 0.30$ and the lower figures show the case of $H^R = H^L = 0.15$.

中心点分布を示す。黒い点が人工赤血球を表している。ヘマトクリットの減少により赤血球の軸集中は促進され、血しょう層が厚くなっていることが分かる。これにより、サイズの小さい人工赤血球はこの血しょう層へと移動し、結果として、赤血球とは異なり人工赤血球は血しょう層付近に多く分布するようになった。

次に、赤血球集合モデルの場合を示す。図3にそれぞれ、赤血球のみの場合（上図）と、その半分を人工赤血球に置換した場合（下図）の流れの様子、および粒子分布を示す。図より、赤血球が集合体を形成することにより、集合体は中心付近へ移動し、軸集中が促進されていることが分かる。また、人工赤血球へ置換することにより、正常モデルの場合と同様に、人工赤血球は血しょう層へ移動し、赤血球の分布とは異なり、人工赤血球は血しょう層へ多く分布するようになる。

前述のポワズユ流れの解析結果を用い

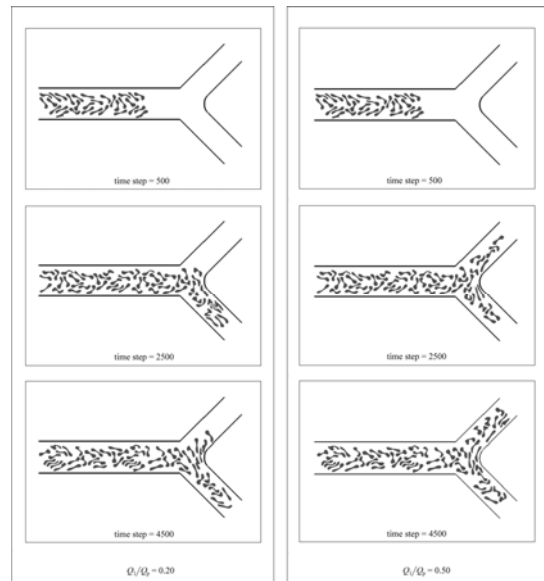


Fig. 4: Images of RBCs passing through the bifurcation at three time points. The hematocrit in the parent vessel $H^R = 0.30$. The fractional flow into daughter branch b_1 is $Q_1/Q_p = 0.20$ in the left, and $Q_1/Q_p = 0.50$ in the right.

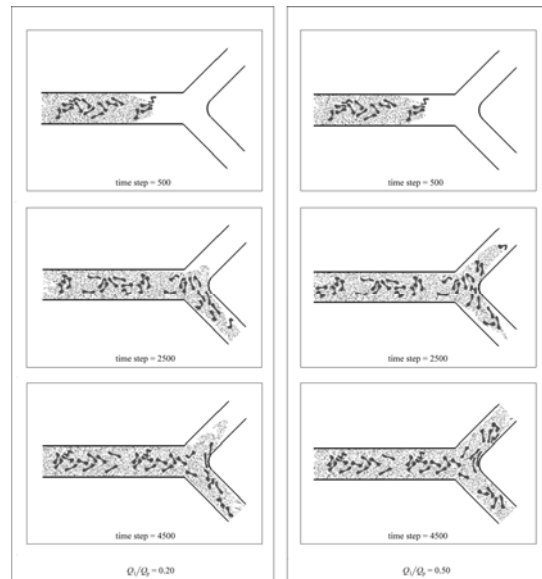


Fig. 5: Images of RBCs and LEHs passing through the bifurcation at three time points. In the parent vessel, hematocrit H^R is 0.15, and the volume fraction of LEH H^L is 0.15. The fractional flow into daughter branch b_1 is $Q_1/Q_p = 0.20$ in the left, and $Q_1/Q_p = 0.50$ in the right.

て、分岐部内流れの解析を行った。まず、赤血球のみを分岐部に流した場合の結果を示す。図4に、それぞれ血流分配比 $Q_1/Q_p = 0.20$ および 0.50 における $500, 2500, 4500$ step での赤血球流れの様子を示す。図より、分岐部付近では、赤血球は大きく変形をし

ながら、血流分配比に応じて各分岐血管へと分配された。また、 $Q_1/Q_p = 0.50$ では赤血球もほぼ同数がそれぞれの分岐血管へ分配されるのに対して、 $Q_1/Q_p = 0.20$ では二つの分岐血管間の血流分配量が大きく異なるため、赤血球の多くは血流分配量が多い分岐血管 b_2 へと分配され、分岐血管 b_1 の赤血球分配比 N_1^R/N_p^R は Q_1/Q_p により小さくなった。さらに Q_1/Q_p が減少すると、赤血球分配比 N_1^R/N_p^R はほとんど 0 となり、血しょう分離が生じた。また、赤血球が集合体を形成している場合、同様に分岐部に流した結果、赤血球集合による主流血管での血漿層の強化が、分岐での赤血球のさらなる偏りをもたらすことが分かった。

次に人工赤血球を投与した場合 ($H^R = H^L = 0.15$) を考える。図 5 に、それぞれ血流分配比 $Q_1/Q_p = 0.20$ および 0.50 における 500, 2500, 4500 step での赤血球と人工赤血球の流れの様子を示す。 $Q_1/Q_p = 0.50$ では赤血球、人工赤血球ともにほぼ同数がそれぞれの分岐血管へ分配される。 $Q_1/Q_p = 0.20$ では二つの分岐部間の血流分配量が大きく異なるため、赤血球の多くは血流分配量が多い分岐血管 b_2 へと分配されている。一方、人工赤血球の一部は赤血球の分配されない分岐血管 b_1 へと分配されていることが分かる。図 4 の赤血球のみの場合 ($H^R = 0.30$) と比べてみると、赤血球は、自身のヘマトクリット値の減少、および人工赤血球との干渉の影響で、 b_1 への血球分配比 (N_1^R/N_p^R) が減少しており、さらに赤血球の偏りが増加した。一方、人工赤血球は、赤血球に比べると、血しょう層付近に多く分布しているため (図 2)、その一部は血流分配量の少ない分岐血管 b_1 へと分配され、人工赤血球分配比 (N_1^L/N_p^L) の上昇が見られた。この傾向は他の血球分配比においても見られた。また、赤血球が集合体を形成しているときもこの傾向は見られ、正常な場合に比べてさらに人工赤血球の効果があった。以上の結果は、人工赤血球の投入により、微小血管分岐部における酸素供給の不均一性が改善されていることを示唆している。

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 3 件)

① 百武徹, 松本健志, “微小血管分岐部内の人工赤血球/赤血球動態に関する流体シミュレーション”, *人工血液*, 査読有, Vol.18, No.1 pp. 25-32, 2010.

② Mohammed M. E. Shatat, Shinichiro Yanase, Toshihiro Takami and Toru Hyakutake, “Drag Reduction Effects of Micro-bubbles in Straight

and Helical Pipes”, *Journal of Fluid Science and Technology*, 査読有, Vol. 4, No. 1, pp. 156-167, 2009.

③ Toru Hyakutake, Yuki Hashimoto, Shinichiro Yanase, Koji Matsuura and Keiji Naruse, “Application of a Numerical Simulation to Improve the Separation Efficiency of a Sperm Sorter”, *Biomedical Microdevices*, 査読有 Vol. 11, No. 1, pp. 25–33, 2009.

[学会発表] (計 11 件)

① 赤木裕貴, 井丸大幹, 百武徹, 柳瀬眞一郎, 松本健志, “病的な赤血球を伴う微小血管内での人工赤血球動態に関する数値解析的研究”, 日本機械学会中国四国支部第 49 期総会・講演会, 2011.3.5, 岡山理科大学, 岡山市

② 百武徹, 足立文也, “病的な赤血球を伴う微小血管内での人工赤血球動態に関する数値解析的研究”, 第 23 回バイオエンジニアリング講演会, 2011.1.9, 熊本大学, 熊本市

③ Toru Hyakutake, Yuki Akagi, Taiki Imaru, Takeshi Matsumoto and Shinichiro Yanase, “Numerical Study on Effects of Liposome-Encapsulated Hemoglobin on Blood Flows at Microvascular Bifurcation with Considering Erythrocyte Aggregation”, Korea-Japan CFD Workshop, 2010.11.19, POSCO International Center, Pohang, Korea.

④ 百武徹, “シミュレーションによる人工赤血球動態の流体力学的考察”, 第 17 回日本血液代替物学会年次大会, 2010.10.19, 熊本市国際交流会館, 熊本市

⑤ Toru Hyakutake, “Numerical Study on Effects of Liposome-encapsulated Hemoglobin on Blood Flows at Microvascular Bifurcation with Considering Erythrocyte Aggregation”, Japan-Russia Workshop on Numerical Investigation of Hydrodynamic Instabilities and Turbulence with High-performance Computing, 2010.10.7, Okayama, Japan

⑥ Toru Hyakutake, Yuki Akagi, Taiki Imaru, Takeshi Matsumoto and Shinichiro Yanase, “Numerical Study on Effects of Liposome-encapsulated Hemoglobin on Blood Flows at Microvascular Bifurcation with Considering Erythrocyte Aggregation”, 6th World Congress on Biomechanics, 2010.8.4, Singapore

⑦ 井丸大幹, 谷茂樹, 百武徹, 柳瀬眞一郎, “微小血管内での赤血球流動が人工赤血球に与える影響に関する数値解析的研究”, 日本機械学会中国四国学生会第 39 回学生員卒業研究発表講演会, 2010.3.5, 広島工業大学, 広島市

⑧ 百武徹, 谷茂樹, 赤木裕貴, 松本健志, 柳瀬眞一郎, “微小分岐部内での病的な赤血球

動態に対する人工赤血球の効果に関する数値解析”，第 22 回バイオエンジニアリング講演会, 2010.1.9, 岡山理科大学, 岡山市

⑨ Toru Hyakutake, Shigeki Tani, Yuki Akagi, Takeshi Matsumoto, Shinichiro Yanase, “Numerical Study on Flows of Red Blood Cells with Liposome-encapsulated Hemoglobin at Microvascular Bifurcation”, 62st Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics, 2009.11.22, Minneapolis, USA

⑩ Toru Hyakutake, “A Numerical Study on Flows of Red Blood Cells with Liposome-encapsulated Hemoglobin at Microvascular Bifurcation by Lattice Boltzmann Method”, Russia-Japan Symposium on “Numerical Experiment on Hydrodynamical Instability and Turbulence with High- Performance Computing”, 2009.11.12, Moscow, Russia

⑪ 谷茂樹, 赤木裕貴, 百武徹, 松本健志, 柳瀬眞一郎, “人工赤血球が赤血球の流動に与える影響に関する数値解析的研究”, 第 4 回日本流体力学会中四国・九州支部講演会, 2009.5.16, 高知工科大学, 高知県香美市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

百武 徹 (HYAKUTAKE TORU)
横浜国立大学・工学研究院・准教授
研究者番号：20335582

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：