

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月27日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22560155

研究課題名（和文） 微小循環系のマルチスケール血流バイオメカニカルシステムの同定

研究課題名（英文） Multi-scale biomechanical system of blood flow in microcirculation

研究代表者

坪田 健一 (KEN-ICHI TSUBOTA)

千葉大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：10344045

研究成果の概要（和文）：赤血球のタンブリングータンクトレディング運動遷移の計算機シミュレーションを粒子法および境界要素法を用いて行い、*in vitro* 実験観察結果を表現できる膜の弾性定数と自然状態のパラメタセットを決定した。また、血球の力学的相互作用に応じた見かけの血流特性を、二分岐血管モデルおよびイメージベースト微小血管網モデルに対して二次元シミュレーションを用いて明らかにした。以上より、微小循環系における赤血球から見かけの流動特性に至る血流の振る舞いについて、マルチスケールな力学モデル構築に必要な定量的データを得た。

研究成果の概要（英文）：A computer simulation of transition between tumbling and tank-treading motions of a red blood cell was carried out to determine a parameter set of cell membrane's elastic constants and natural states that can reproduce a motion transition observed in *in vitro* experiments. Apparent blood flow properties depending on mechanical interaction among red blood cells were clarified for a two-branch blood vessel model as well as an image-based capillary network model with two dimensional simulations. Through these studies, quantitative data is obtained for mechanical modeling of multiscale blood flow behaviors from a red blood cell to apparent flow behaviors in microcirculatory system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計			4,420,000

研究分野：流体力学

科研費の分科・細目：

キーワード：バイオメカニクス，血流，流体力学，固体力学，計算力学

## 1. 研究開始当初の背景

末梢組織への物質輸送を直接担う微小循環系では、流路径が数 100  $\mu\text{m}$  以下の血管ネットワークにおける血流挙動が重要な役割を果たす。これまでに、微小血管網構造の形態、血管路における血流速度および圧力などが、多くの実験的および理論的研究により

明らかとなってきた。一方、各種血球成分の変形運動、血管壁の受動的変形と流路境界条件、管路ネットワークの構造的複雑さ、間質液との流入出条件など、力学的に取り扱いの難しい問題が数多く存在するため、力学的な観点では、血流挙動の定量的な理解は十分進んでいない。また、血球の血管壁への接着や

凝集、血管支配神経による血管壁形状の能動的な変化など、生物学的な因子が力学的条件として血流に働きかける点も無視出来ない問題である。これらの問題を含めて血流現象を理解するためには、血球レベルから臓器レベルに至る血流挙動の全般について、力学的な因子を詳細に考慮した検討が必要である。この点において、1次近似的に単純化したモデルに加えて、可能な限り実物に忠実な高次のモデリングが不可欠となる。

## 2. 研究の目的

本研究では、力学的には流体力学と固体力学の両者の視点を持ちながら、血球運動から見かけの流動特性に至る幅広いスケールの血流現象を力学システムとしてモデル化する。具体的には、微小循環系における血球個々の受動的運動( $\sim 1\mu\text{m}$ ,  $\sim 10^4\text{Hz}$ ), 複数の血球群の運動に応じた血流特性( $\sim 10\mu\text{m}$ ,  $\sim 10^3 \sim 10^2\text{Hz}$ ), および単一血管から血管ネットワーク全体の血流特性( $\sim 100\mu\text{m} \sim 10\text{cm}$ ,  $\sim 10^1 \sim 0.1\text{Hz}$ )について、一連のバイオメカニカルシステムを同定するために必要な力学パラメータを定量的に同定することを目的とする。

## 3. 研究の方法

赤血球と血しょうから構成される血液モデルを考える。さらに、赤血球は、表面の弾性的な細胞膜と内部の粘性流体に分けてモデル化する。この血液モデルを用いて、単一赤血球の運動変形、二分岐血管における血流、および微小血管網における血流の3項目について、順に計算力学シミュレーションを行う。それぞれの項目について、単一の赤血球から見かけの血流挙動に至る力学的な振る舞いを定量的に示す。

### 3. 1 単一赤血球モデル

細胞膜の弾性変形として、面内のせん断変形および面外の曲げ変形を考えた。面内せん断変形の構成式は、

$$T_1 = G(\lambda_1/\lambda_2)[(\lambda_1^2 - 1) + C\lambda_2^2(\lambda_1^2\lambda_2^2 - 1)] \quad (1)$$

ここで、 $T_1$  [N/m]は主合応力、 $\lambda_1$ および $\lambda_2$  ( $\lambda_1 \geq \lambda_2$ )は主ストレッチ、および $G$  [N/m]はせん断弾性係数である。面外曲げ変形には、ばねモデルによる弾性エネルギー：

$$W_B = k_B N_l \sum_{l=1}^{N_l} w_l [1 - \cos(\theta_l - \theta_{0l})],$$

where weighting  $w_l = L_l / \sum_{l=1}^{N_l} L_l$ , (2)

を考えた。ここで、 $k_B$  [N·m]はばね定数、 $L_l$  [m]は膜を離散化する三角形要素の間に位置する辺 $l$ の長さ、 $\theta_l$ は辺 $l$ を挟んで隣り合う二つの三角形要素の外向き法線ベクトルがなす角度、 $N_l$ は辺 $l$ の総数をそれぞれ表す。さらに、実測値にしたがい、赤血球の膜面積を $A_0 = 94.1 \mu\text{m}^2$ 、体積を $V_0 = 134.1 \mu\text{m}^3$ に保つ

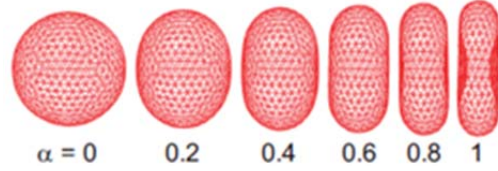


図1 弾性膜モデルの自然状態

制約条件を考えた。膜の自然状態は、形状の不均一性を示すパラメータ $\alpha$  ( $0 \leq \alpha \leq 1$ )を用いて以下のように決定した。

$$\mathbf{r}_i^0 = \mathbf{r}_i^{Sphere} + \alpha(\mathbf{r}_i^{BD} - \mathbf{r}_i^{Sphere}) \quad (3)$$

ここで、 $\mathbf{r}_i^0$ 、 $\mathbf{r}_i^{Sphere}$ および $\mathbf{r}_i^{BD}$  [m]は膜上の物質点 $i$ の位置ベクトルであり、上付きの0は自然状態、 $Sphere$ は表面積 $A_0$ を持つ球形、および $BD$ は体積 $V_0$ および表面積 $A_0$ の両凹円盤形を示す。 $\alpha$ を変化させることで、球形( $\alpha = 0$ )と両凹円盤形( $\alpha = 1$ )の間の形を、図1に示すように、連続的に表現した。以上のモデルを用いて、せん断弾性係数 $G$ 、等価曲げ剛性 $B = k_B/(2\sqrt{3})$ および自然状態 $\alpha$ を与えて細胞膜の弾性変形問題を解き、両凹円盤形の釣合形状を得た。

赤血球単体の運動および変形を観察した実験モデルを参照し、ストークス流れを仮定して、単純せん断流れ場 $\mathbf{u}^\infty = (\dot{\gamma}y, 0, 0)$ に単一の赤血球を懸濁した場合について、境界要素法を用いた赤血球の運動変形シミュレーションを行った。赤血球の内外の流体の粘度比 $\lambda$ は0.2とし、自然状態 $\alpha$ およびキャピラリー数 $Ca = \mu\dot{\gamma}a/G$ に応じた赤血球の変形運動挙動を求めた。ここで、 $\mu$ は流体の粘度、 $a = 2.82 \mu\text{m}$ は赤血球の特徴長さである。赤血球の運動は、流れ方向とせん断面における赤血球の長軸とがなす角度を $\varphi_{LA}$  ( $-0.5\pi < \varphi_{LA} \leq 0.5\pi$ )、細胞膜上の物質点と赤血球の重心とを結んだ線とがなす角度を $\varphi_{Mem}$  ( $-0.5\pi < \varphi_{Mem} \leq 0.5\pi$ )と、それぞれ定義した。初期状態 $t = 0$ で $\varphi_{LA} = \varphi_{Mem} = 0.5\pi$ とした。

### 3. 2 二分岐微小血管モデル

親管に対して45度傾いた対称な2つの娘管を持つ二次元モデルを作成した。親管径を $D_p = 11.2 \mu\text{m}$ 、娘管径を $D_D = 9.0 \mu\text{m}$ とし、管径比はMurrayの法則にしたがい $D_p^3 = 2D_D^3$ によって決定した。境界条件として、流入速度を $u_0 = 0.01 \text{ m/s}$ 、出口圧力を $P = 0 \text{ Pa}$ とした。流入および流出条件の影響が十分に小さい領域として、親管で $L_p = 50 \mu\text{m}$ 、娘管で $L_D = 70 \mu\text{m}$ 、管路全体で $L_E = L_p + L_D = 120 \mu\text{m}$ を血流シミュレーション結果の着目領域とした。また、この着目領域について、管軸方向に無次元座標 $L^* = L/L_E$ を設定した。

血しょうは、水の物性値を仮定して粘度を  $\mu = 1.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 、密度を  $\rho = 1.0 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$  とした。赤血球の内部流体の粘度は、血しょうの粘度の5倍の値とした。流入部では、赤血球を  $5.6 \mu\text{m}$  の等間隔で配置し、流入血液のヘマトクリット値を  $Ht = 0.33$  とした。流入速度  $u_0$ 、血しょう粘度  $\mu$ 、密度  $\rho$  および親管径  $D_p$  に対するレイノルズ数は  $Re = \rho u_0 D_p / \mu = 0.11$  とした。二次元赤血球の長径は  $8.0 \mu\text{m}$ 、凹部の最も薄い部分の径を  $2.6 \mu\text{m}$  とした。二次元赤血球モデルの曲げばね定数は  $k_B = 2.0 \times 10^{-11} \text{ N}$  とし、膜の曲げばね力と血しょう流れによる粘性力との比として定義した無次元流体力  $\mu l_{RBC}^2 \Phi_{RBC} u_0 / (D_p k_B l_0)$  を  $2.8$  とし、血流シミュレーションを行った。ここで、 $l_{RBC} = 8.0 \mu\text{m}$  および  $\Phi_{RBC} = 2.5 \mu\text{m}$  は、それぞれ赤血球の特徴長さおよび特徴曲率半径であり、 $l_0$  は曲げばねが受け持つ線要素の長さである。

以上のモデルに対して、約 19000 個の粒子を用いて離散化し、非圧縮粘性流れを仮定して、MPS 法を用いて流体計算を行った。この際、赤血球膜粒子については、ばね力を NS 方程式の外力項に代入することで、膜変形と膜周囲の流体流れとの連成計算を行った。

### 3. 3 微小血管網モデル

Zweifach and Lipowsky の血流計測実験を参照し、家兎腹膜の微小血管網モデルを作成した。観察される微小血管網は、主な流路となる血管網と、別の血管網につながる血管部の2つから構成されている。本報では、次元問題を扱うため、血管の重なりを避けて、主な流路となる血管網のみを画像から読み込み、画像のピクセルをそのまま計算粒子に置き換えることで、計算モデルを作成した。血管の直径は  $13 - 23 \mu\text{m}$  の範囲とした。約 310000 個の粒子を用いて離散化し、3. 2 節と同様の手法を用いて、膜変形と流体流れとの連成計算を行った。

## 4. 研究成果

### 4. 1 せん断流中の単一赤血球の運動変形シミュレーションの結果

赤血球は、実験観察結果と同様に、赤血球全体が剛体のように回転するタンブリング(T)運動、および全体が一定の形を保ちながら膜面がキャタピラのように回転するタンクトレッディング(TT)運動を示した。また、TT運動は、赤血球全体の回転振動(S)を伴った。

$\alpha = 0$  の時、赤血球は TT 運動のみを示し、TT 運動中に S 運動は示さなかった。 $\alpha = 1$  の時、図2に示すように、赤血球は  $Ca$  が小さい時に T 運動を、大きい時に TT 運動を、それぞれ示し、運動が遷移する  $Ca$  値は  $0.16$  であった。この  $Ca$  値は、実験的に推定されるせん断

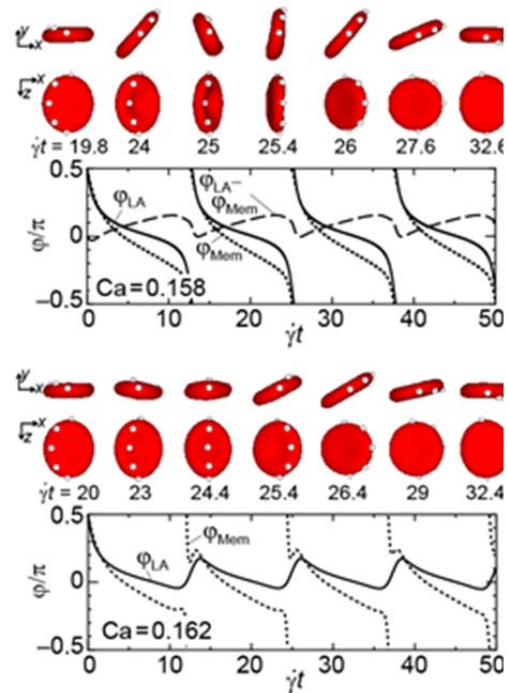


図2 赤血球のタンブリング—タンクトレッディング運動遷移 ( $\alpha = 1$ )

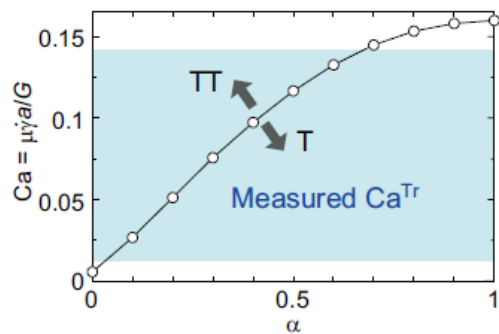


図3 キャピラリー数  $Ca$  および膜の自然状態  $\alpha$  に応じた赤血球運動の相図

係数  $G = 2.5 \times 10^{-6} \text{ N/m}$  を仮定すれば  $\mu\dot{\gamma} = 0.14 \text{ Pa}$  に相当し、実験で得られる運動遷移時のせん断応力  $\mu\dot{\gamma} = 0.015 - 0.075 \text{ Pa}$  (すなわち  $Ca = 0.017 - 0.085$ ) と比較して2倍程度大きい。遷移時の  $Ca$  値は、図3に示すように、 $\alpha$  に応じて単調に増加した。上述の  $Ca = 0.017 - 0.085$  で運動が遷移するために必要な  $\alpha$  の条件は、 $G = 1.5 - 3.5 \times 10^{-6} \text{ N/m}$  を仮定すると、 $\alpha = 0.003 - 0.67$  であった。なお、T 運動において、 $\phi_{LA} - \phi_{Mem}$  は、 $Ca$  が大きいほど周期的な増減が顕著となった。これは、 $Ca$  が大きいほど T 運動中の赤血球膜の回転変形が大きいことを反映している。また、TT 運動では S 運動が伴っており、その振動 ( $\phi_{LA}$  の振幅) は  $Ca$  が大きいほど小さくなった。以上から、実験的に観察される T 運動と TT



運動の遷移を力学的に表現するためには、膜の自然状態は、球形( $\alpha = 0$ )と両凹円盤形( $\alpha = 1$ )の中間の形状である必要性が示された。

#### 4. 2 二分岐微小血管における血流挙動

血流シミュレーションを行った結果、図4に示すように、分岐管の位置に応じた特徴的な赤血球の運動と変形が示された。親管に流入した赤血球は、上流側で凹形、下流側で凸形となるパラシュート形に変形して、下流へ移動した。その後、赤血球は分岐部の壁面に衝突し、流れの滞り点に対応するように停留する場合、および停留せずにスムーズに娘管へ移動する場合の2通りの運動が、非定常に生じた。分岐部で赤血球が停留する場合には、赤血球が分岐部頂点の壁に沿うように変形するとともに、後方から移動してきた赤血球と集合し、複数の赤血球が凝集する結果となった。凝集部の赤血球の数が増えると、凝集が崩れて赤血球はスリッパ形に変形しながら、娘管に向かって移動した。赤血球が分

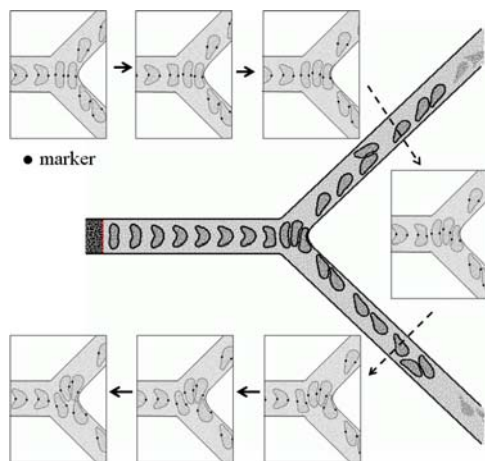


図4 分岐部における赤血球の凝集と崩壊挙動

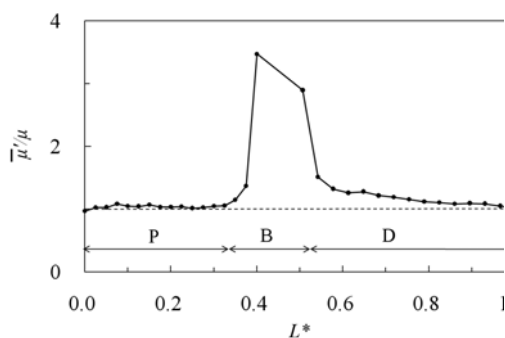


図5 二分岐血管の位置 $L^*$ に対する見かけの比粘度 $\bar{\mu}/\mu$

岐部で凝集せずにスムーズに娘管に移動する場合には、赤血球が上下の娘管に交互に分配される傾向が確認された。娘管に入った赤血球は、膜のタンクトレディング運動を伴いながら分岐部の壁に沿って下流方向へ移動し、同時に、流れのせん断速度勾配に応じて、管の中心軸方向にも移動した。

見かけの血流特性として、図5に示すように座標 $L^*$ に対する見かけの比粘度 $\bar{\mu}/\mu$ を求めた。比粘度 $\bar{\mu}/\mu$ は、親管部Pで $\bar{\mu}/\mu = 1.05$ 、娘管部Dで $\bar{\mu}/\mu = 1.29$ であった。一方、分岐部Bでは、領域内 $[0.32 \leq L^* \leq 0.51]$ の平均値で $\bar{\mu}/\mu = 2.22$ 、最大値で $\bar{\mu}/\mu = 3.47$ となり、親管部Pおよび娘管部Dより大きな値を示した。このように分岐部の見かけの粘度が増加する結果は、弾性円盤を用いた拡大モデル実験と定性的には良い一致を示した。

以上のように、分岐血管においては、分岐部における赤血球の凝集・崩壊に応じて見かけの比粘度が決定されることが示された。

#### 4. 3 微小血管網における血流挙動

血流シミュレーションにより得られた赤血球の速度分布を図6に示す。赤血球はA B間の分岐部で、停留・凝集する場合、スムーズに移動する場合の2通りの運動を示した。この分岐部からB部へ向かって赤血球は軸集中しながらスムーズに移動した。一方、C部に至る血管に移動した赤血球は、C部を通過してE部に向かうものと、C部を通らずに、より距離が短い流路を通過してE部に向かうものの2通り存在した。

A~Eの各部について、比圧力 $P^* = P/P_A$ ( $P_A$ : A部の圧力)はその時間平均値に対し0.8~1.2倍で、また血流速度 $u$ は、その時間平均値に対して0.8~1.3倍で、それぞれ変動した。比圧力 $P^*$ と流速 $u$ の時間平均値は、図7に示すように、実験的に計測される場所に応じた流速の違いを良く表現した。

一方、圧力 $P$ の時間平均値は、実験計測値よりも小さく、A~D部についてそれぞれ、0.08倍、0.08倍、0.16倍、0.26倍であった。ここで、同じ平均流速の二次元平行平板間流れと三次元円管流れを比較したとき、二次元問題の圧力降下は三次元問題の3/8倍と見積もられる。そこで計算値を8/3倍して補正した場合、A~D部の圧力は、それぞれ、0.20倍、0.18倍、0.33倍および0.49倍となり、実験計測値より小さい結果となった。このことから、圧力降下を正確に評価するためには、赤血球と血管との三次元的な幾何学的関係およびそこから生じる力学的な挙動を十分に表現する必要があるものと考えられ、今後の検討課題である。

以上のように、生体組織における生理的な微小循環の血流挙動の定量的な理解が進んだ。今後の課題として、血流の力学に応じた

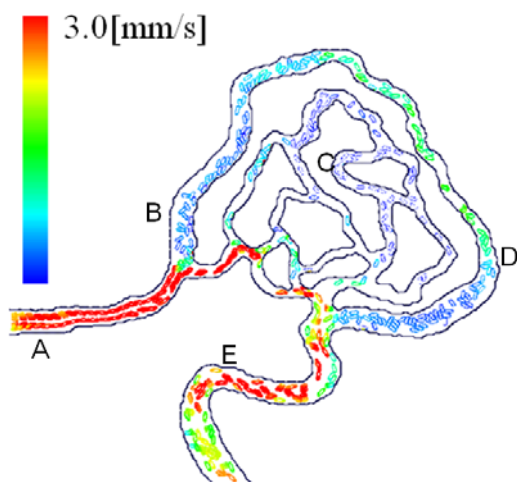


図6 微小血管網における赤血球運動  
比粘度 $\bar{\mu}^*/\mu$

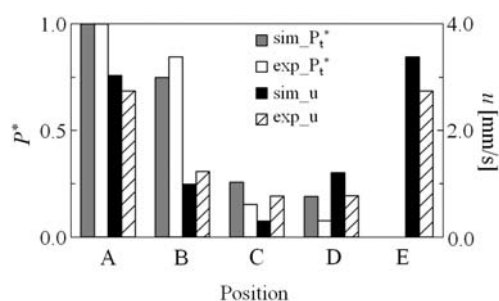


図7 微小血管網における無次元圧力 $P^*$ および  
流速 $u$

物質輸送状態の定量的なモデリングを進めると共に、循環挙動に応じた組織の生理的機構ならびに病変の機構について検討を加え、予測医学や生物学における本バイオメカニカルモデルの有用性を検証していく予定である。

##### 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計14件)

1. Tsubota, K., Wada, S. and Liu, H., Red blood cell motion under shear flow depending on natural state of, Elastic cell membrane, 19th Congress of the European Society of Biomechanics (2013.8.25-28, Patras Greece), 査読有
2. Tsubota, K., Computer Simulation of Motion and Deformation of Red Blood Cell Under Shear Flow Considering Membrane's Natural State, The 5th Conference on Computational Methods for Coupled Problems in Science and Engineering (COUPLED 2013) (2013.6.17-19, Ibiza, Spain), 招待講演
3. Tsubota, K., Elastic behavior of a red blood cell with the membrane's nonuniform natural state, Joint Scientific Symposium of The Hong Kong University of Science and Technology, Shanghai Jiao Tong University and Chiba University (JSSHSC2013) (2013.4.25-27, Hong Kong), 招待講演
4. 坪田健一, 粒子法を用いた赤血球の変形運動シミュレーション, 日本機械学会第25回計算力学講演会 (2012.10.6-9, 神戸市), 査読有
5. Tsubota, K., Computational Biomechanics of Passive and Active Cell Motion Based on Elastic Deformation and Fluid Flow, KSME-JSME Joint Symposium on CM & CAE 2012 (2012.9.12, Kanazawa), 査読有
6. 坪田健一, 和田成生, 劉浩, 細胞膜の弾性変形に基づく赤血球の釣合形状およびせん断流中の運動遷移 (膜の自然状態の役割) 日本機械学会第24回バイオエンジニアリング講演(2012.1.7-8, 豊中市), 査読有
7. 高橋航, 坪田健一, 劉浩, 微小血管網における血流の二次元粒子法シミュレーション, 日本機械学会第23回バイオエンジニアリング講演(2011.1.9, 熊本市), 査読有
8. 坪田健一, 和田成生, 劉浩, 単純せん断流中の赤血球運動の三次元粒子法シミュレーション, 日本機械学会第23回バイオエンジニアリング講演(2011.1.9, 熊本市), 査読有
9. Tsubota, K., Wada, S. and Liu, H., Effect of the natural state of an elastic cellular membrane on tank-treading and tumbling motions of a single red blood cell, 63rd Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics (2010.11.22, Long Beach, USA), 査読有
10. 坪田健一, 和田成生, 劉浩, 単純せん断流中の赤血球運動の三次元粒子法シミュレーション, 日本機械学会第23回計算力学講演会 (2010.9.23, 北見市), 査読有
11. Tsubota, K., Takahashi, W., Suzuki, R., Wada, S., Sugimoto, K. and Liu, H., Computer simulation of blood cells' motions using particle method and its application to prediction of thrombogenesis in single ventricle, 6th World Congress of Biomechanics (2010.8.5, Singapore), 招待講演
12. Tsubota, K., Wada, S. and Liu, H., Computer simulation of tank-treading and tumbling motions of red blood cells under the influence of the natural state of an elastic cellular membrane, ECCOMAS CFD (2010.6.15, Lisbon, Portugal), 招待講演

13. 坪田健一, 和田成生, 劉浩, 赤血球膜における自然状態と弾性定数の関係, 第15回日本計算工学講演会 (2010.5.26, 福岡市), 査読有

[その他]

ホームページ:

<http://www.em.eng.chiba-u.jp/~lab8/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

坪田 健一 (TSUBOTA KEN-ICHI)  
千葉大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 10344045