

機関番号：34416

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25630057

研究課題名(和文)光コヒーレンス断層法による血球挙動の計測

研究課題名(英文) Movement of blood cell components measured by Optical Coherence Tomography

研究代表者

関 眞佐子 (Sugihara-Seki, Masako)

関西大学・システム理工学部・教授

研究者番号：80150225

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)：血球粒子の血管内断面分布とその非一様性のメカニズムを流体力学的に解明するために、光コヒーレンス断層法(OCT)を用いた粒子挙動計測システムを開発し、血管内での血球分布の計測に応用することを目的とした。近赤外低干渉長の光源を用いたOCTシステムを試作した後、広帯域の光源の使用と周波数領域のOCTシステムへの改良によって、10ミクロン以下の高空間分解能かつ高速な撮像が実現し、流れ中の粒子のOCT像を得ることが可能となった。一方、血球を模擬するモデル粒子を用いた数値シミュレーションを行った結果、赤血球と血小板の断面内分布の差異は、その大きさと変形性の差異が共に寄与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study was aimed to develop an optical coherence tomography (OCT) system which can measure the spatial distribution of blood cell components in microvessels. First we developed a time-domain OCT system using a super luminescent diode (SLD), the spatial resolution of which was about 12  $\mu\text{m}$  in water. Polystyrene particles with 10  $\mu\text{m}$  diameter floating in a tube with inner diameter less than 1 mm could be observed by this OCT system. Next, the OCT system was improved to a frequency domain OCT by replacing the light source with a swept source laser with broader band width and high repetition rate, resulting in a higher spatial resolution as well as a higher-speed tomography. This improvement enabled the measurement of positions of particles flowing through sub-millimeter tubes. Further the segregation behavior of blood cell components was numerically simulated using a two-dimensional model, and its mechanism was examined by comparing the results with experimental observations.

研究分野：生理流体力学

キーワード：光コヒーレンス断層法 血球

## 1. 研究開始当初の背景

血液は、主として水から成る血漿に、血球成分である赤血球、白血球、血小板が高濃度に浮遊しているサスペンションである。血球の3成分はそれぞれ大きさや物性が異なり、血液流れ中での挙動が異なっている。特に血管内において動径方向の分布に大きな差異があり、赤血球は血管中央付近に集まる傾向があるのに対し、血小板は血管壁付近に多く分布 (Near Wall Excess、NWE) し、白血球は特に流量が低下した場合に細静脈壁付近に現れることが知られている。これら血球挙動は、血小板の止血作用や白血球の免疫作用など、血球各成分の機能と密接に関係しているため、血管断面内における血球の分布を明らかにすることは生理学的に重要である。

血管内において血球は受動的に流されているので、血球の挙動は流体力学的に解明できる現象であると考えられる。これらの現象について、その重要性から、動物実験だけでなく、最近では人工流路を用いた実験や数値シミュレーションによる解析が行われているが未だ統一的理解には至っていない。上記のような血球の挙動が特に重要になるのは、直径約100 $\mu\text{m}$ から1mm程度の血管である。これらの血管に対して血球個々の計測が困難である大きな理由は、血液が赤血球の高濃度サスペンションであり光学的に不透明だからである。そのため通常の光学顕微鏡で観察できるのはせいぜい数10 $\mu\text{m}$ 程度の深さまでに限られる。光コヒーレンス断層法 (Optical Coherence Tomography、OCT) は生体組織のような強散乱媒質に対して10 $\mu\text{m}$ 程度の空間分解能で数mmの深さまで観察を可能とする手法である。したがって、光学顕微鏡と比較してOCT法は、血液流れ中の血球の空間分布を計測するのに有効な手法と考えられる。

## 2. 研究の目的

前節で述べたように、血管内血液流れにおける血球成分の血管断面内分布は生理学的に重要であるにもかかわらず、計測手法の困難さを主因としてその流体力学的なメカニズムの解明には至っていない。この問題を実験的に解決するためには、内径1mm程度までの管路内の血液流れを用いた *in vitro* 実験において、流れを精密に制御し、粒子の断面内位置を数 $\mu\text{m}$ 程度の空間分解能で計測する必要がある。

光コヒーレンス断層法 (OCT) は、生体組織の断層観察において数mmの観察深度で10 $\mu\text{m}$ 程度の空間分解能を有している。より広帯域の光源を選択すれば数 $\mu\text{m}$ の空間分解能は可能である。本研究は、OCTの手法を適用して、血液流れ内部の血球運動が計測できるシステムを構築することを目指している。更に開発したOCTシステムを用いて血球個々の運動を計測し、空間分布を求めることを目的とする。また、現在当研究室で進行中である数値シミュレーションにおいては、血

球のサイズと変形性、血球間および血管壁との流体力学的作用が血球の挙動に重要な因子であることが示唆されている。このような数値シミュレーションとOCTによる計測結果とを統合することにより、血球成分による挙動の違いの原因を明らかにし、そのメカニズムを解明しようとするものである。

## 3. 研究の方法

### (1) OCTシステムの製作と計測

#### 試作と改良

赤血球による吸収・減光を小さくするために近赤外発光で低干渉性の super luminescent diode (SLD) を光源に用いて、マイケルソン型の干渉計を基本とした時間領域OCTを試作する。干渉長が短いより広帯域のSLD光源を用いることによって空間分解能を10 $\mu\text{m}$ 以下にまで高める。

#### OCTシステムの評価

微小管路に白血球を模擬した直径7 $\mu\text{m}$ のポリスチレン粒子や、血小板を模擬した直径3 $\mu\text{m}$ の粒子を流し、試作したOCTシステムにより粒子位置を測定しシステムの評価を行う。更に赤血球サスペンションにポリスチレン粒子を混入し、OCTシステムを用いて粒子位置が計測可能なことを確認するとともに、計測可能な赤血球体積分率を調べる。

#### OCTを用いた粒子速度計測

運動する粒子からの反射光はドップラ周波数偏移を受ける。このドップラ周波数を計測できるようにOCTシステムを拡張、改良する (ドップラOCT)。これによって粒子の位置と同時に粒子速度の計測が可能となる。

#### 計測システムの高速度化

周波数掃引レーザ光源を用いた周波数領域OCTへ発展させるとともに、ガルバノミラーを用いてサンプルを高速に2次元走査することにより、粒子位置及び速度データの高速度取得を図る。

### (2) 数値シミュレーションによる流体力学的メカニズムの検討

#### 数値シミュレーションモデル

赤血球と血小板を模擬したモデル粒子を用いて管内流れ中の粒子運動を数値解析する。本研究では大きさと変形性の違いに着目し、大きさと表面張力が異なる2種類の液滴が混じった流体が流路内を流れる場合に対して2次元数値シミュレーションを行い、それぞれの液滴の横方向移動について調べる。

#### メカニズムの検討

大きさや物性の異なる粒子を混在させた場合に、それらの違いに起因した粒子挙動の差異を数値シミュレーションによって明らかにしたのち、OCTを用いて得られる血球運動および流路内空間分布及び、粒子挙動の差異に関して比較することによって、流体力学的観点から検討し、それらの決定因子について明らかにする。

## 4. 研究成果

(1)OCTシステムの構築と評価

図1に示す時間領域 OCT システムを試作し、その性能を評価した。波長 820nm、帯域幅 20nm の SLD 光源を用いた場合、空気中で実測した空間分解能は 16 $\mu$ m、水中に換算すると 12 $\mu$ m であった。内径 280 $\mu$ m のポリエチレンチューブの断面を本システムで観察した像を図2に示した。チューブ内に直径 10 及び 20 ミクロンのポリスチレン粒子を浮遊させた流体を流し撮像した結果、チューブ断面に存在する粒子の OCT 像を得ることができ、各粒子の光軸方向（深さ方向）の位置を求めることで、管内の粒子分布を得ることができた。

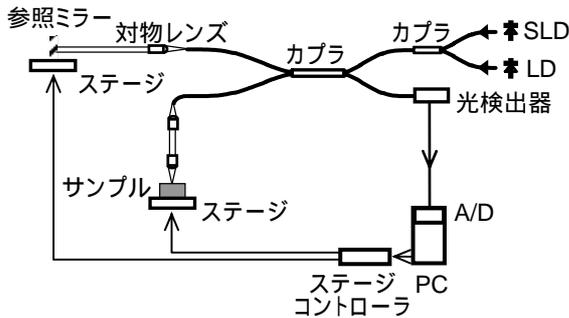


図1. 時間領域 OCT システム

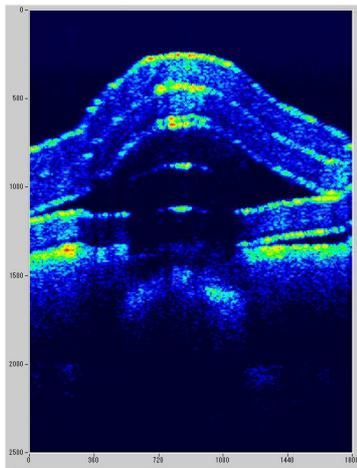


図2. パラフィルムに包埋したポリエチレンチューブ（内径 280、外径 610 $\mu$ m）の OCT 像

このシステムに波長 1300nm、帯域幅 110nm のより広帯域の光源を用いることによって、水中での空間分解能を 9 $\mu$ m にまで向上させることができ、直径 10 ミクロン以下の粒子の測定にも応用可能となった。また 820nm と比較してより長波長の近赤外光源を用いることによって、血液中より深い位置まで観察できる。

更に、波長 1325nm、帯域幅 125nm、掃引周波数 16kHz の周波数掃引レーザ光源を用いた周波数領域 OCT システムを構築するとともに、ガルバノミラーを用いてサンプルビームを高速に走査することによって断層像を

10 倍以上高速に撮影することを可能にした。これにより、流れ中の粒子の位置が計測可能となった。

(2) 数値シミュレーションによる粒子運動の解析

血小板と赤血球とのサイズの違いによる管路断面内での空間分布の差異（血小板の NWE、赤血球の軸集中）を引き起こすメカニズムを調べるために、大きさの異なる 2 種の液滴が混じった流れに対してフロントトラッキング法を用いてシミュレーションを行った。

二平行平板間のポアズイユ流れに、大きい液滴と小さい液滴（大きい液滴の 1/2 の直径）が混在した場合の計算結果の一例を図3に示す。ランダムに分布した初期条件からスタートし、定常状態に達したのちのスナップショットを示す。ただし、液滴の表面張力係数は等しく、液滴内外の流体の粘度も等しい。図3から明らかであるように、一般に大きい液滴は流路の中央付近に寄って分布し、小さい液滴は壁近傍に寄る傾向を示すことができた。これは血小板の NWE を再現するものであると考えられる。大小の液滴のサイズ比が大きいほど NWE の効果は大きいことも確認できた。また、大きさが等しく表面張力係数が異なる 2 種の液滴について同様に調べたところ、一般に変形し易い粒子は流路中央寄りに、変形しにくい粒子は流路壁寄りに流れることも示された。これらのことから、血小板の NWE は、赤血球と血小板の大きさの差異と変形性の差異の両者が寄与しており、いずれも血小板の NWE を促進する効果を有していることが分かった。

更に、レイノルズ数の影響について調べたところ、血管径 0.1-1 mm の血液流れに相当する流速において、慣性の影響によっても血球分布が非一様となる可能性が示唆された。

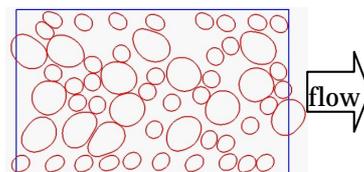


図3. 大きさの異なる 2 種の液滴を含む二平行平板間ポアズイユ流れ（定常状態）

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 10 件)

1. Fluid permeability of fibrous layer with finite thickness, Otomo, R., Sugihara-Seki, M., Journal of Biorheology, (印刷中), 査読有。
2. 慣性による球形粒子のマイグレーション：実験によるアプローチ, 三浦和真, 原田翔弥, 板野智昭, 関眞佐子, 数理解析研究所講究録 No.1940 生物流体力学における計測問題, 68-75, 2015, 査読無,

- <http://www.kurims.kyoto-u.ac.jp/~kyodo/kokyuroku/contents/pdf/1940-08.pdf>
3. 慣性による球形粒子のマイグレーション：数値シミュレーションによるアプローチ，中川 尚人，加瀬 篤志，大友 涼子，牧野 真人，板野 智昭，関 眞佐子，数理解析研究所講究録 No.1940 生物流体力学における計測問題，76-81，2015，査読無，<http://www.kurims.kyoto-u.ac.jp/~kyodo/kokyuroku/contents/pdf/1940-09.pdf>
  4. 流路内流れに中立浮遊する粒子の運動，関 眞佐子，ケミカルエンジニアリング(化学工業社)，60，279-40，2015，査読無.
  5. Inertial migration of neutrally-buoyant spheres in a pressure-driven flow through square channels, Miura M., Itano T, Sugihara-Seki M., J. Fluid Mech. **749**, 320-330, 2014, 査読有, DOI: 10.1017/jfm.2014.232.
  6. 光コヒーレンス断層法による臓器微小循環計測，関 淳二，関 眞佐子，日本バイオレオロジー学会誌 28, 127-131. 2014, 査読有. <http://www.biorheology.jp/br.html>
  7. Simulation of binary dispersion system of droplets with size and surface tension difference under Couette flow, Makino M., Sugihara-Seki M., J. Biorheology **28**, 7, 2014, 査読有. DOI:10.17106/jbr.28.7
  8. Segregation of large and small droplets suspended in Poiseuille flow, Makino M., Sugihara-Seki M., Theor. Appl. Mech, Jpn. **62**, 69-78, 2014, 査読有. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/nctam/62/0/62\\_69/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/nctam/62/0/62_69/pdf)
  9. Venular valves and retrograde perfusion, Koyama, T., Sugihara-Seki M., Sasajima, T. and Kikuchi, S., Oxygen Transport to Tissue XXXVI, Advances in Experimental Medicine and Biology 812 (Springer), 2014, 査読有 DOI: 10.1007/978-1-4939-0620-8\_42.
  - 10 Lateral migration of large and small droplets suspended in channel flow, Makino M., Sugihara-Seki M., Special issue of the ASME Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine, 11th ASME International Conference on Nanochannels, Microchannels and Minichannels (ICNMM), 2013, 査読有. DOI: 10.1115/ICNMM-73126.
- [学会発表](計 34 件)
1. Experimental studies on particle migration in channel flows, Sugihara-Seki M., 15th International Congress of Biorheology, (invited) Seoul (Korea), 2015.5.27.
  2. Cross-sectional distributions of platelets in blood flow through microchannels, Kimura, T., Noso, R., Sakamoto, K., Seki J., Sugihara-Seki M., 15th International Congress of Biorheology, Seoul (Korea), 2015.5.26.
  3. Experimental measurements of the particle lateral migration in submillimeter channel flows, Shichi, H., Seki J., Itano, T., Sugihara-Seki M., 15th International Congress of Biorheology, Seoul (Korea), 2015.5.26.
  4. 管内流れにおける中立浮遊粒子の運動，加瀬篤志，関 眞佐子，第 19 回先端科学技術シンポジウム，関西大学（吹田）2015.1.23.
  5. 流路流れ中の弾性カプセルの変形と運動，加瀬篤志，関 眞佐子，第 27 回バイオエンジニアリング講演会，新潟，2015.1.9.
  6. 微小血管内における血球分布の偏り，関 眞佐子，第 14 回日本流体力学会中四国・九州支部講演会，特別講演，岡山大学（岡山）2014.12.14.
  7. 赤血球サスペンション流れ中の血小板の断面内分布，木村友哉、能祖良太、板野智昭、関 眞佐子，第 18 回酸素ダイナミクス研究会，京都大学（京都）2014.11.29.
  8. Inertial migration of spherical particles in square channel flows, Miura, K., Itano, T., Sugihara-Seki M., APS 67th Annual Meeting, Division of Fluid Dynamics, San Francisco (USA), 2014.11.24.
  9. Lateral migration of a spherical particle in square channel flows, Sugihara-Seki M., Nakagawa, N., Kase, A., Otomo, R., Makino, M., Itano, T., APS 67th Annual Meeting, Division of Fluid Dynamics, San Francisco (USA), 2014.11.23.
  10. 流路内流れ中の中立浮遊粒子の運動，加瀬篤志，関 眞佐子，第 62 回レオロジー討論会，福井市交流プラザ（福井）2014.10.17.
  11. 赤血球サスペンション流れに浮遊する血小板模擬粒子の流路断面内分布，能祖良太、木村友哉、関 淳二、板野智昭、関 眞佐子，第 62 回レオロジー討論会，福井市交流プラザ（福井）2014.10.17.
  12. 有限厚さをもつ繊維層の短部近傍における流体透過特性，大友涼子，関 眞佐子，第 62 回レオロジー討論会，福井市交流プラザ（福井）2014.10.15.
  13. 矩形管内流れにおける球形粒子の運動，中川尚人、加瀬篤志、大友涼子、牧野真人、関 眞佐子，日本流体力学会年会 2014，東北大学（仙台）2014.9.15.
  14. 円管内層流に中立浮遊する球形粒子のマイグレーション，森田悠介、板野智昭、関 眞佐子，日本流体力学会年会 2014，東北大学（仙台）2014.9.15.
  15. 流路内の血球挙動：流体力学的な考察，関 眞佐子，日本機械学会 2014 年度年次大会ワークショップ「血液の見える化研究」招待講演，東京電機大学（東京）2014.9.10.

16. Lateral migration of spherical particle in channel flow, Nakagawa, N, Miura, K., Otomo, R., Makino, M., Sugihara-Seki, M., 11th World Congress on Computational Mechanics, Barcelona (Spain), 2014.7.21.
  17. End effect on fluid permeability of particulate layers, Otomo, R. and Sugihara-Seki, M., 11th World Congress on Computational Mechanics, Barcelona (Spain), 2014.7.21.
  18. 有限厚さを有する粒子層中の透過流動, 大友涼子, 関眞佐子, 混相流シンポジウム 2014, 北海道大学 (札幌) 2014.7.29.
  19. 微小流路内赤血球サスペンション流れにおける血小板の断面内分布, 木村友哉, 能祖良太, 関淳二, 大友涼子, 板野智昭, 関眞佐子, 第 37 回日本バイオレオロジー学会年会, 大宮ソニックシティ (大宮) 2014.6.5.
  20. 赤血球サスペンション流れに浮遊する球形粒子の流路断面内分布, 能祖良太, 木村友哉, 田中慎之介, 関淳二, 大友涼子, 板野智昭, 関眞佐子, 日本物理学会第 69 回年次大会, 東海大学 (平塚) 2014.3.28.
  21. 円管内ポアズイコ流れ中に浮遊する球形粒子の断面内分布, 佐藤詩織, 森田悠介, 三浦和真, 板野智昭, 関眞佐子, 第 18 回関西大学先端科学技術シンポジウム, 関西大学 (吹田) 2014.1.23.
  22. 凝集体形成に及ぼす流れの影響, 関眞佐子, 大友涼子, 第 18 回関西大学先端科学技術シンポジウム, 関西大学 (吹田) 2014.1.23.
  23. 分散系の側方移動や縁取り効果のシミュレーション, 牧野真人, 関眞佐子, 第 18 回関西大学先端科学技術シンポジウム, 関西大学 (吹田) 2014.1.24.
  24. 有限厚さを有する繊維層中の透過流動, 大友涼子, 関眞佐子, 第 18 回関西大学先端科学技術シンポジウム, 関西大学 (吹田) 2014.1.24.
  25. 微小流路内における血小板模擬粒子の断面内分布, 木村友哉, 能祖良太, 田中慎之介, 関淳二, 大友涼子, 板野智昭, 関眞佐子, 第 17 回オーガナイズド混相流フォーラム, 九十九里 (千葉) 2013.12.5.
  26. 円管内層流に浮遊する球形粒子のマイグレーション, 森田悠介, 佐藤詩織, 三浦和真, 板野智昭, 関眞佐子, 第 17 回オーガナイズド混相流フォーラム, 九十九里 (千葉) 2013.12.5.
  27. 大きさ、表面張力の異なる液滴の 2 分散系のシミュレーション, 牧野真人, 関眞佐子, 日本流体力学会年会 2013, 東京農工大学, 東京, 2013.9.12.
  28. 管内流れ中における球形粒子の運動, 中川尚人, 牧野真人, 大友涼子, 板野智昭, 関眞佐子, 日本流体力学会年会 2013, 東京農工大学 (東京) 2013.9.12.
  29. 大きさの異なる液滴のマージネーションのシミュレーション. タテだけでなくヨコも-大きさの異なる液滴分散系 -, 牧野真人, 関眞佐子, 日本機械学会 2013 年度年次大会, 岡山大学 (岡山) 2013.9.9.
  30. マイクロチャネル内流れ中の血小板模擬粒子の運動, 田中慎之介, 関淳二, 板野智昭, 関眞佐子, 日本機械学会 2013 年度年次大会, 岡山大学 (岡山), 2013.9.9.
  31. Lateral migration of large and small droplets suspended in channel flow, Makino, M., Sugihara-Seki, M., 11th ASME International Conference on Nanochannels, Microchannels and Minichannels, 札幌, 2013.6.17.
  32. マイクロチャネル内流れ中の血小板模擬粒子の運動, 田中慎之介, 関淳二, 板野智昭, 関眞佐子, 第 36 回日本バイオレオロジー学会, 九州大学 (福岡) 2013.6.8.
  33. 円管内流れ中の粒子の分布, 名村和平, 三浦和真, 板野智昭, 関眞佐子, 第 36 回日本バイオレオロジー学会, 九州大学 (福岡) 2013.6.8.
  34. 大きさの異なる液滴のマージネーションのシミュレーション, 牧野真人, 関眞佐子, 第 36 回日本バイオレオロジー学会, 九州大学 (福岡) 2013.6.8.
- 〔図書〕(計 1 件)
1. Vascular Engineering (Tanishita et al. eds) Chap. 2 Fundamentals of vascular bio-fluid and solid mechanics, Sugihara-Seki, M. and Yamada, H., Springer, 2015, 420, ISBN 978-4-431-54800-3.
- 〔その他〕
- ホームページ等  
 関西大学システム理工学部 物理・応用物理学 流体力学研究室 HP  
<http://fluid.phys.kansai-u.ac.jp/>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
関 眞佐子 (SUGIHARA-SEKI, MASAKO)  
 関西大学・システム理工学部・教授  
 研究者番号: 80150225
  - (2) 研究分担者  
 なし
  - (3) 連携研究者  
関 淳二 (SEKI, JUNJI)  
 関西大学・先端科学技術推進機構・非常勤研究員  
 研究者番号: 20163082
- 牧野 真人 (MAKINO, MASATO)  
 山形大学大学院・理工学研究科・助教  
 研究者番号: 10649172