

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560198

研究課題名(和文) 傾斜遠心力場における赤血球と内皮細胞との力学的相互作用の解明

研究課題名(英文) Clarification of mechanical interaction between erythrocytes and endothelial cells in an inclined centrifugal force field

研究代表者

早瀬 敏幸 (Hayase, Toshiyuki)

東北大学・流体科学研究所・教授

研究者番号：30135313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、これまで未知であった毛細血管内を流動する赤血球と内皮細胞との力学的相互作用を解明することである。そのための研究の新しいアプローチとして、申請者が独自に開発した傾斜遠心顕微鏡内の赤血球と内皮細胞を対象とした数値解析を行う。単純化された力学条件下で毛細血管内の相互作用を模擬し、赤血球の変形と流動特性、内皮表面層の変形挙動と内皮細胞への力学的影響を明らかにする。解析の妥当性は、赤血球の摩擦特性を実験結果と比較することで検証する。毛細血管内の赤血球と内皮細胞との力学的相互作用の解明は、内皮細胞の損傷に起因する循環器系疾患の機序の解明や新しい治療法の開発に大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Elucidation of the mechanical interaction between an erythrocyte and an endothelial cell is an important issue relating to mechanisms of cardiovascular diseases. The objective of this study was to clarify the mechanical interaction between an erythrocyte moving in medium subject to inclined centrifugal force and endothelial cells on a plate. Three-dimensional numerical simulation was performed with contact force models between an erythrocyte and glycocalyx on the surface of endothelial cells and two-dimensional analysis was conducted using a lubrication theory for compressible porous media and a simple erythrocyte model. In the 3D simulation, two contact force models were adopted in which shear stresses acting on the bottom surface of an erythrocyte varied proportional or inversely proportional to the distance to the base plate. As a result, the experimental frictional characteristics for an endothelia-cultured plate were properly reproduced by the inverse proportion model.

研究分野：流体工学

キーワード：細胞バイオメカニクス 傾斜遠心顕微鏡

### 1. 研究開始当初の背景

赤血球は、毛細血管内を、血管表面の内皮細胞との干渉の結果、大きく変形しながら流動する。また、内皮細胞の損傷は、動脈硬化や動脈瘤の発生の引き金になると考えられており、赤血球と内皮細胞との力学的相互作用の解明は、循環器系疾患の機序の解明や新しい治療法の開発につながる。

申請者は、傾斜遠心顕微鏡を開発し、血漿中の基板上を傾斜遠心力を受けながら移動する赤血球の摩擦特性を明らかにした (Kandori, Hayase ら, J. Biomech. Eng. 2008, Hayase, Proc. ICMF, 2013)。計測された摩擦特性には、内皮細胞と赤血球との間の力学的相互作用が反映しており、傾斜遠心顕微鏡下での赤血球の挙動を数値解析により明らかにすれば、毛細血管内の赤血球と内皮細胞の相互作用が解明できるのではないかと発想を得た。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、傾斜遠心顕微鏡(図 1)により、血漿中で内皮細胞を培養した基板上を、任意の傾斜遠心力負荷を与えた状態で移動する赤血球を対象とした数値解析を行う。赤血球の変形と流動特性、内皮表面層の変形挙動と内皮細胞への力学的影響を数値解析的に明らかにする。

期間内に解明を試みる研究項目は、以下のとおりである。

1) 傾斜遠心力下で、内皮細胞上を移動する、血漿中の赤血球の数値解析を行い、赤血球の変形と流動特性、内皮表面層の変形挙動、血漿の流動を明らかにする。

2) 赤血球の摩擦特性に注目して、実験との比較により、数値解析結果の妥当性を検証する。

3) 赤血球と内皮細胞の力学的相互作用を明らかにする。

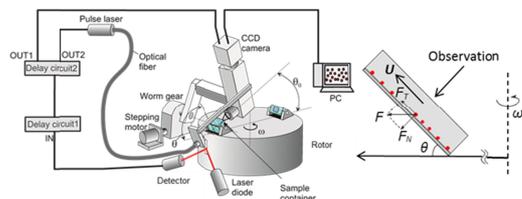


図 1 傾斜遠心顕微鏡

### 3. 研究の方法

#### 3-1 3D 数値解析

本研究では、Oshibe らの 3D 数値解析法 (Oshibe, et al., 2014) に接触モデルを加えることにより、内皮細胞上の赤血球の摩擦特性を再現する。図 2 に示すように血漿層厚さ  $h_{min}$  と迎角  $\alpha$  を持ち、傾斜遠心力と流体力、接触力およびそれらのモーメントがつり合う平衡状態で基板上を一定速度  $U$  で運動する赤血球を考える。赤血球は剛体として扱う。平

衡状態では以下のつりあいの式が成立する。

$$M_F = M_C \quad (1)$$

$$F_N = F_L \quad (2)$$

$$F_T = F_D + F_\tau \quad (3)$$

ここで、 $M_F$  は流体力のモーメント、 $M_C$  は傾斜遠心力のモーメント、 $F_N$  は傾斜遠心力の押し付け力 (基板に対して垂直方向)、 $F_L$  は揚力、 $F_T$  は傾斜遠心力の摩擦力 (基板に対して水平方向)、 $F_D$  は抗力、 $F_\tau$  は接触力である。それぞれの力は図の矢印の方向を正にとる。式(1)、(2)、(3)では迎角  $\alpha$  は小さいと仮定している。平衡状態の赤血球に対し、基板表面に存在するグリコカリックス層 (図 2 の網がけ部分) により赤血球底面に作用するせん断応力が、基板との距離  $h$  に比例して減少するモデルと反比例して減少する 2 つのモデルを用いた。

正比例モデル(A)

$$f_\tau = \begin{cases} 0 & h_g < h \\ a(1 - h/h_g) & 0 \leq h \leq h_g \end{cases} \quad (4)$$

反比例モデル(B)

$$f_\tau = \frac{bh_g}{h} \quad (5)$$

ここで、 $h_g$  はグリコカリックス層の厚さであり、 $\alpha$  は  $h = 0$  におけるせん断応力、 $b$  は  $h = h_g$  におけるせん断応力である。これらのせん断応力は平坦な底面のみに作用するとした。また、A 点まわりのモーメントを考えているのでせん断応力による力のモーメントは 0 となることに注意する。

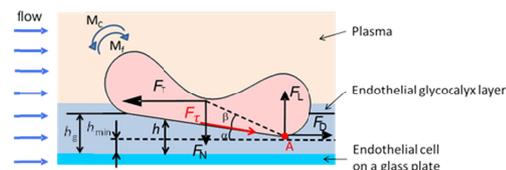


図 2 赤血球モデル

3 次元流体解析の計算領域と赤血球モデルの幾何形状を図 3 に示す。計算領域は、 $L_x \times L_y \times L_z = 80\mu\text{m} \times 54\mu\text{m} \times 80\mu\text{m}$  とし、上面、底面、2 側面は固体壁である。赤血球モデルは底面の中心の上に設置した。赤血球は傾斜遠心力の作用により固定底面上を速度  $U = 50\mu\text{m/s}$  で運動する場合を考える。本問題は赤血球とともに速度  $U$  で移動するカーテン座標  $(x, y, z)$  で記述される。座標原点は底面の中心である。境界条件として上流端に一樣平行流  $U$  を与え、側面と上面に速度  $U$  を与え、下流端は自由流出とした。赤血球の形状は Oshibe らと同一であり、底面が平坦な剛体赤血球モデルを仮定した (図 3b)。赤血球まわりの血漿の密度は  $1025 \text{ kg/m}^3$ 、粘度は  $0.0012 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  とした。

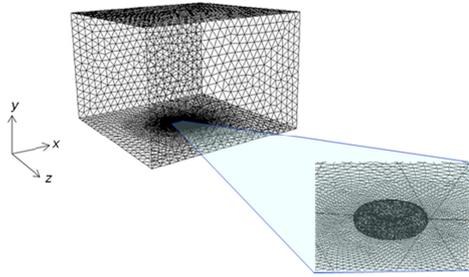


図3 計算格子と赤血球モデルの幾何形状

計算モデル及び計算格子の作成に GAMBIT2.4(ANSYS, Inc., USA)を使用した。また、非圧縮 Navier-Stokes 方程式を FLUENT6.3(ANSYS, inc., USA)を使用して解いた。計算格子サイズは赤血球周りを 0.05  $\mu\text{m}$ 、その他の領域を 2.0  $\mu\text{m}$  の四面体格子とした。要素数は約 260 万である。3次元数値解析の詳細については文献(Oshibe, et al., 2014)を参照のこと。血漿層厚さ  $h_{\min} = 0.02 \sim 0.15 \mu\text{m}$  に対して迎角を種々に変化させて3次元流体解析を行い式(1)-(3)を満足する平衡状態の解を求めた。そして赤血球底面でグリコカリックスによる正比例または反比例モデル(式(4)または(5))のせん断応力を積分した接触力  $F_T$  を用いて、 $F_T$  を式(3)から算出し、摩擦特性を求めた。

### 3-2 圧縮性多孔質潤滑理論

3次元解析で用いた接触モデルの物理的意味の理解のために、傾斜遠心力場の2次元単純化赤血球モデルと圧縮性多孔質媒体によるグリコカリックスモデルに対して潤滑理論を適用して赤血球底面に作用する力を算出する。赤血球を平板で近似したモデルでは、力とモーメントがつり合う平衡状態を説明することができないことがわかっている(Oshibe, et al., 2014)。そこで、赤血球の縁の形状を近似的に考慮したモデルを考える。基板を模擬した平板に座標軸( $x, y$ )を固定し、基板が $x$ 軸の正の方向に速度  $U = 50 \mu\text{m/s}$  で運動するものとする。赤血球モデルは長さ 6.1  $\mu\text{m}$  の底面 BA に水平方向の長さ 1.2  $\mu\text{m}$  の縁 BC、AD が両端に取り付けられている。両縁は底面に対して角度  $\theta_0$  傾いている場合を考えるが、端点 C、D を  $y$  方向のみ移動させそれぞれの点を C'、D' とする。そのモデル C'BAD' を A 点周りに迎角  $\alpha$  だけ回転させて、モデル C''B''AD'' を得る。なお C'' の  $x$  座標が 0 となるように  $x$  座標を定義する。 $x = 0, x_1, x_2, x_3$  における平板の高さを  $h = h_1, h_2, h_3, h_4$  とする。この赤血球モデルでは、隙間  $h$  と移動速度  $U$  と血漿粘度によるレイノルズ数は極めて小さいため、潤滑理論を適用することができる。縁の取り付け角度に関しては、Oshibe らによる 3D 数値シミュレーション結果と定性的に良い一致を示した縁の角度  $\theta_0 = 15^\circ$  を用いた。その結果は紙面の都合上省略する。

血管内皮細胞上のグリコカリックス層を圧縮性多孔質媒体とみなし、Weinbaum らが提案した圧縮性多孔質媒体に対する以下の潤滑理論(Feng and Weinbaum, 2000)を適用した。流速  $u(x, y)$  と圧力  $p(x)$  に関する次式が得られる。

$$f + \frac{1}{\beta^2} \frac{dp}{dx} (2f - h) = h + C \quad (6)$$

$$u = \frac{\sinh \beta y}{\sinh \beta h} - \frac{1}{\beta^2} \frac{dp}{dx} \left\{ \cosh \beta y - 1 - \frac{\sinh \beta y}{\sinh \beta h} (\cosh \beta h - 1) \right\} \quad (7)$$

ここで、

$$f = \frac{\cosh \beta h - 1}{\sinh \beta h} \quad (8)$$

$$\beta = \frac{H}{\sqrt{K_p}} = \frac{H}{a} \sqrt{\frac{F_p c}{\mu U \pi}} \quad (9)$$

$$c = \frac{2\pi}{\left(2 + \frac{\Delta_1}{a}\right) \left(2 + \frac{\Delta_2}{a}\right)} \quad (10)$$

$$C = \frac{\int_0^1 \beta^2 (h - f) / (2f - h) dx}{\int_0^1 \beta^2 / (2f - h) dx} \quad (11)$$

である。 $\beta$  は圧縮性多孔質媒体の無次元透過性パラメータ、 $H$  は多孔質媒体の初期厚み、 $K_p$  は Darcy 透過率、 $c$  は繊維アレイにおける繊維分率であり、繊維半径  $a$  と繊維の形状パラメータ  $\Delta_1, \Delta_2$  によって決定される。ただし、 $\Delta_2$  は多孔質媒体の圧縮性を考慮するパラメータであり、次式の関係式より求まる。

$$\frac{h}{H} = \frac{2a + \Delta_2}{2a + \Delta_{2H}} \quad (12)$$

$F_p$  は繊維に働く抗力であり、本研究における繊維分率  $c$  が小さい条件では、繊維に働く抗力  $F_p$  は次式で与えることができる(Sangari and Acrivos, 1982)。

$$\frac{F_p}{\mu U} = \frac{4\pi}{\ln c^{-\frac{1}{2}} - 0.745 + c - \frac{1}{4}c^2} \quad (13)$$

$\Delta_1, \Delta_{2H}$  は初期パラメータであり、本研究では  $\Delta_1 = 70 \text{nm}$ ,  $\Delta_{2H} = 130 \text{nm}$ ,  $H = 500 \text{nm}$  とする。 $a$  に関しては、 $h = H$  のときに  $\beta = 5, 10$  となるように  $a$  を設定する。なお、 $\beta = 0$  の場合には多孔質媒体でない、標準的な Reynolds 方程式となる。

2D 単純化赤血球モデルに作用する抗力  $F_D$ 、揚力  $F_L$ 、モーメント  $M_F$  は次式により算出される。

$$F_D = L \int_0^{x_3} \mu \frac{du}{dy} \Big|_{y=h} dx \quad (14)$$

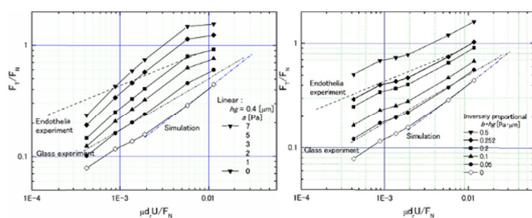
$$F_L = L \int_0^{x_3} p dx \quad (15)$$

$$M_F = \sum_{i=1}^3 \int_{x_{i-1}}^{x_i} p dx \times \frac{\int_{x_{i-1}}^{x_i} x p dx}{\int_{x_{i-1}}^{x_i} p dx} \quad (16)$$

ここで、 $L$  は奥行き方向の長さであり、3次元数値解析に用いた赤血球モデルと等価な底面積をもつように  $L = 4.79 \mu\text{m}$  とした。以上の方程式より 2D 単純化赤血球モデルに働く力とモーメントが釣り合う平衡状態を算出して摩擦特性を求めた。

#### 4. 研究成果

最初に 2 種類の接触力モデルを用いた 3D 数値解析の結果を述べる。図 4 は正比例接触力モデルと反比例接触力モデルを用いた今回の 3D 数値解析と従来の実験による無次元摩擦特性を示している。横軸は無次元赤血球移動速度、縦軸は無次元摩擦力である。正比例モデルの図 4(a)の  $a = 0$  と反比例モデルの図 4(b)の  $b = 0$  の結果は、ともに摩擦力が 0 であり、ガラス基板とコーティング基板の赤血球の摩擦特性を再現した Oshibe らの 3D 解析結果 (Oshibe, et al., 2014) と同じものである。図 4(a)の正比例モデルでは、 $a$  の増加により接触力が大きくなるにしたがって、無次元摩擦力が大きくなり内皮細胞培養基板における実験結果に近づくが、傾きが実験結果と異なるため、実験結果を再現することができなかった。一方、図 4(b)の反比例モデルでは、 $b$  の増加により接触力が大きくなるにしたがって、無次元摩擦力が大きくなり、 $bh_0 = 2.52 \times 10^{-7} \text{ Pa}\cdot\text{m}$  において、内皮細胞培養基板における摩擦特性を良好に再現した。



(a) 正比例 (b) 反比例

図 4 接触モデルの解析による摩擦特性

図 5 に圧縮性多孔質媒体潤滑理論モデルにより得られた無次元摩擦特性を実験、3次元シミュレーションと比較して示す。全体的に潤滑理論を用いた解析結果は実験結果や 3D シミュレーション結果に比べ、小さな値となっている。 $\beta = 0$  の非多孔質媒体の結果はガラス基板やコーティング基板の実験結果および接触力なしの 3D 解析結果の傾きと近い傾向を示している。多孔質媒体潤滑理論の結果は、透過率  $\beta$  の増加により無次元摩擦力

$F_T/F_N$  は大きくなるが、内皮細胞培養基板の実験結果および反比例および正比例モデルの接触力を考慮した 3D 解析結果とは明らかに異なる傾きとなっている。

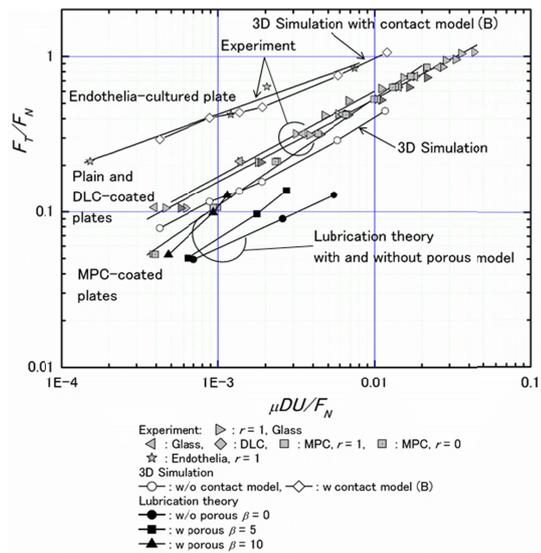


図 5 摩擦特性

#### 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 2 件)

1. Akira YATSUYANAGI, Toshiyuki HAYASE, Suguru MIYAUCHI, Kenichi FUNAMOTO, Kosuke INOUE, Atsushi SHIRAI and Luca BRANDT, Numerical analysis for elucidation of mechanical interaction between an erythrocyte moving in medium subject to inclined centrifugal force and endothelial cells on a plate, Journal of Fluid Science and Technology, 査読有, Vol. 11, No. 4 (2016-12-0) 1-10. DOI: 10.1299/jfst.2016jfst0029
2. Takashi Oshibe, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, and Atsushi Shirai, Numerical analysis for elucidation of nonlinear frictional characteristics of a deformed erythrocyte moving on a plate in medium subject to inclined centrifugal force, Journal of Biomechanical Engineering, 査読有, Vol. 136, (2014-10-2) 121003-1-121003-9.

[学会発表](計 10 件)

1. 宮内優, 早瀬敏幸, Luca Brandt, Fredrik Lundell, Shervin Bagheri, 傾斜遠心力場における円形カプセル挙動の 2 次元数値解析 (膜の弾性の影響), 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集(CD), No. 16-76 (2017-1-19)ウイングあいち(愛知県・名古屋市) IC15.
2. Suguru Miyauchi, Toshiyuki Hayase, Luca

- Brandt, Fredrik Lundell, Shervin Bagheri, Two-Dimensional Numerical Simulation for the Effect of Capsule Elasticity on its Behavior near a Plate in a Fluid under an Inclined Centrifugal Force Field, Abstracts book of the 16th International Conference on Biomedical Engineering, (2016-12-7)Singapore (Singapore) 35.
3. Suguru Miyauchi, Toshiyuki Hayase, Arash Alizad Banaei, Jean-Christophe Loiseau, Luca Brandt, Three-Dimensional Numerical Analysis for an Erythrocyte Behavior near a Wall in a Fluid under an Inclined Centrifugal Force, Proceedings of the Sixteenth International Symposium on Advanced Fluid Information, Vol. , No. (2016-10-11)仙台国際センター(宮城県・仙台市) 138-139.
  4. 宮内優, 早瀬敏幸, Luca Brandt, Fredrik Lundell, Shervin Bagheri, 傾斜遠心力場におけるカプセル挙動の2次元数値解析(傾斜遠心力の角度がカプセル挙動に与える影響), 日本流体力学会年会 2016 講演論文集(USB),(2016-9-28)名古屋工業大学(愛知県・名古屋市) 127-1-2.
  5. Suguru Miyauchi, Toshiyuki Hayase, Luca Brandt, Fredrik Lundell, Shervin Bagheri, Two-dimensional simulation of interaction between solid wall and capsule in fluid under centrifugal force field, Abstract book of International Workshop on Flow Dynamics and Spintronics, Vol. , No. (2015-11-13) ストックホルム(スウェーデン) 22.
  6. Akira Yatsuyagagi, Toshiyuki Hayase, Suguru Miyauchi, Kenichi Funamoto, Kosuke Inoue, Atsushi Shirai, Luca Brandt, Fundamental Study of Interaction between Erythrocyte and Endothelial Cell under Inclined Centrifugal Force (Physical Explanation of Interaction Model), Proceedings of Twelfth International Conference on Flow Dynamics (ICFD2015), (2015-10-28) 仙台国際センター(宮城県・仙台市) 320-321.
  7. 井上浩介, 早瀬敏幸, 船本健一, 白井敦, 傾斜遠心顕微鏡による内皮細胞上の赤血球の摩擦特性の計測(傾斜遠心力の垂直成分の影響), 日本機械学会第 27 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, No. 14-67 (2015-1-9) 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟県・新潟市) 169-170.
  8. 八柳暁, 早瀬敏幸, 船本健一, 井上浩介, 白井敦, 傾斜遠心力場における赤血球と内皮細胞との力学的相互作用の解明(相互作用モデルの物理的解釈), 日本機械学会第 27 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, No. 14-67 (2015-1-9) 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟県・新潟市) 171-172.
  9. Kenichi Funamoto, Luca Brandt, Akira Yatsuyanagi, Kosuke Inoue, Toshiyuki Hayase, Elucidation of Mechanisms of the Frictional Characteristics of Erythrocytes under Inclined Centrifugal Force, Proceedings of the 14th International Symposium on Advanced Fluid Information (AFI-2014), (2014-10-9) 仙台国際センター(宮城県・仙台市) 100-101.
  10. Akira Yatsuyanagi, Toshiyuki Hayase, Kenichi Funamoto, Kosuke Inoue, Atsushi Shirai, Fundamental Study of Interaction between Erythrocyte and Endothelial Cell under Inclined Centrifugal Force (Reproduction of Friction Characteristics by Numerical Analysis Using Simple Interaction Model), Proceedings of the Eleventh International Conference on Flow Dynamics (ICFD2014),(2014-10-8) 仙台国際センター(宮城県・仙台市) 296-297.
- 〔その他〕  
ホームページ  
[http://www.ifs.tohoku.ac.jp/jpn/crfrd\\_isbel.html](http://www.ifs.tohoku.ac.jp/jpn/crfrd_isbel.html)
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
早瀬 敏幸 (HAYASE, TOSHIYUKI)  
東北大学・流体科学研究所・教授  
研究者番号：3 0 1 3 5 3 1 3
  - (2)研究分担者
  - (3)連携研究者
  - (4)研究協力者  
井上 浩介 (INOUE, KOSUKE)  
東北大学・流体科学研究所・技術専門職員  
宮内 優 (MIYAUCHI, SUGURU)  
東北大学・流体科学研究所・助教