

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19760108

研究課題名(和文) 局所的力学環境に応じた血小板および赤血球の活性化による二次血栓形成機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of Secondary Thrombogenesis Based on Activation of Platelets and Red Blood Cells in Response to Local Mechanical Environment

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

研究成果の概要：

血小板および赤血球の凝集力と接着力を考慮して、二次血栓形成の血流シミュレーションモデルを構築した。シミュレーションの結果、血小板と赤血球の質量の違い、血管形状等に応じた血流速度などが、血栓形成に大きな影響を与えることがわかった。また、生体外実験で観察される赤血球の接着が、pN のオーダーの接着力で再現されること、赤血球膜の自然状態と物性の組み合わせによって赤血球の運動挙動が決まること等が分かった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	0	1,700,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学，流体力学

キーワード：バイオ流体力学

1. 研究開始当初の背景

血小板凝集による一次血栓に続いて生じる二次血栓では、フィブリノーゲンのフィブリンへの変化などによる凝固反応の進行が生じる。そこでは、既に凝集した血小板の物理的特性の変性、血小板の周囲に存在する赤血球の生物学および力学的な影響、あるいは血流に応じた血球成分の輸送など、生物学因子と力学的因子が連成した複雑な機構が存在する。

近年になり、血小板血栓の形成過程の実験的検討が進みつつあり、流速などに代表され

る流体力学的因子が、血小板の活性に関する生化学的カスケードに重要な影響を与えることが示されている。また、これらの現象を、数理モデル化して計算機シミュレーションにより再現し、そのメカニズムの理解を試みようとする研究も始められている。これらの研究では、力学的因子の定量化が見かけの血流レベルのスケールで行われてきているが、血栓形成における生物学あるいは生化学的因子は、血球と同程度かそれ以下のスケールで考えるべき因子であり、そこに影響を与える力学的因子も同様のスケールで取り扱

う必要性がある。また、血栓の種類としては、一次血栓については多くの研究が行われているが、二次血栓において血小板と赤血球の両者が関わる場合については、2つの血球成分が関与することに起因する現象の複雑さから、取り扱われている例が少ない。

2. 研究の目的

重要臓器の梗塞や生理的な止血機能において主要な役割を果たす血栓形成に関して、力学環境と密接に関連した血小板および赤血球の生物学的な活性化過程と、それにより引き起こされる二次血栓形成過程を明らかにすることを目的とする。まず、血小板と赤血球が混在する血液の流れにおいて、血小板と赤血球の置かれる力学環境を血球スケールで表現する。次に、様々な力学環境下において、血小板や赤血球が生物学的にどのように活性化されるのかについて検討する。これにより、力学的因子と血小板・赤血球の生物学的因子との関連、血小板と赤血球間の力学的および生物学的な相互作用、および生物学的な因子に起因する血小板および赤血球の物理的特性の変化を記述し得る数理モデルの構築と、その計算力学シミュレーション手法の構築を目指す。これらの結果から、局所の力学環境に応じた血栓形成過程が、心臓血管系の生理的な機構、および機構の異常による病理的な状態への遷移過程について、新たな知見を加える。

3. 研究の方法

血球成分である血小板および赤血球と、液体成分である血しょうとの力学的相互作用を直接的に表現する血液の数理モデルと、その計算機シミュレーション手法を構築する。様々な条件における計算機シミュレーションを通じて、2次血栓形成現象における生体力学的な機序を定量的に示す。モデル化とシミュレーションには、従来提案されてきたモデルを、下記のように改良して用いる。

(1) 粒子モデル

血液は、赤血球、血小板および血しょうを構成成分として考えて、図1に示すように、粒子を用いて離散的に表現する。各粒子は血液成分の種類に応じた特性を有しており、位

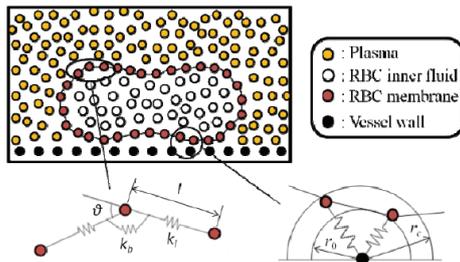


図1 赤血球の変形と接着のばねモデル

置、速度、圧力などの物理量を持つ。すべての粒子の運動は、非圧縮性流れを仮定し、連続の式およびNS式に基づいたMPS法により計算する。この際、以下に示す赤血球膜変形のばね力、赤血球と壁との接着力、血小板の粘着力は、各粒子に対するNS式に、外力項として代入する。

(2) 赤血球モデル

赤血球は、表面の弾性的な細胞膜と、細胞膜に包まれた内部の粘性流体によりモデル化する。細胞膜の弾性特性を表現するため、ここでは、和田・小林のばねモデルを用いる。このモデルでは、図1に示すように、隣接する赤血球膜粒子を伸縮と曲げに対してそれぞれ抵抗を持つばねで結合させる。膜の有する弾性エネルギーは、長さ変化について線形ばねを考えると

$$E_l = \frac{k_l}{2} \sum_{l=1}^N \left(\frac{l_l - l_0}{l_0} \right)^2 \quad (1)$$

と表す。ここで、 l_l および l_0 は、それぞればね要素 l の長さとおよび自然長、 k_l はばね定数、 N はばねの個数を表す。曲げに対する弾性エネルギーは、2つの長さ変化ばねの外向き法線ベクトルのなす角度 θ_l の関数として

$$E_b = \frac{k_b}{2} \sum_{l=1}^N \tan^2 \left(\frac{\theta_l - \theta_l^0}{2} \right) \quad (2)$$

と表す。ここで k_b はばね定数、 θ_l^0 は定数で自然状態（内力が無い状態）における各ばねの角度を表す。仮想仕事の原理にしたがって、各粒子に加わるばね力は、粒子の位置に対して弾性エネルギーの偏微分を計算することで求められる。

赤血球と血管壁との接着は、図1に示すように伸縮ばねによる結合でモデル化する。このモデルでは、赤血球膜粒子 i と血管壁粒子 j との距離が閾値 r_c 以下になるとばねにより結合され、 r_c を超えると切断される。2つの粒子 i と j との位置ベクトルの差を $\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i$ 、ばね定数を k_{ad} 、自然長を r_0 とすると、粒子 i が j から受ける接着力は、

$$\mathbf{F}_i^{ad} = k_{ad} \left(|\mathbf{r}_{ij}| - r_0 \right) \frac{\mathbf{r}_{ij}}{|\mathbf{r}_{ij}|} \quad (3)$$

と表すことが出来る。

(3) 血小板モデル

血管壁の損傷部においては、血小板による1次血栓が形成される。これを表現するため、血小板粒子に対しては、血管壁の損傷部に近い領域で、血小板同士の粘着力を(3)式により与えた。これにより、血小板が血管壁損傷部の前後で、粒子的な物質から、広がりのある固体的な物質に相変化することを表現している。

4. 研究成果

(1) 血流シミュレーション手法

前節のモデルを用いた血流シミュレーションにより、血小板や赤血球の物理的特性、血小板からその凝集塊への相変化のタイミング、赤血球の接着特性、血流速度、血管形状など、様々な血流条件に対する柔軟な計算が実用的に可能となった。

(2) 血栓形成シミュレーション

血流下における血栓形成の数値シミュレーションを行った。その結果、血小板と赤血球の質量の違い、血管形状等に応じた血流速度などの力学的因子が、血栓形成に大きな影響を与えることがわかった(図2)。一方、フィブリンネットワーク形成に関して、2次血栓様の凝集塊が出来るためには、等方的な凝集モデルでは不十分であることが判明し、フィブリンネットワークそのものの形成過程を詳細に再現する必要があることが、今後の課題として明らかとなった。また、これらのシミュレーションを将来大規模で行うための準備として、力学計算の大規模ソルバーについても開発も行った。

(3) 赤血球の壁接着

二次血栓において重要な役割を果たす赤血球の壁接着を反映した赤血球の変形運動モデルを提案し、その基本的特性を検証した。粒子法を用いた数値シミュレーションの結果、生体外実験で観察される赤血球の接着が、pNのオーダーの接着力で再現されることが分かった(図3)。またシミュレーション結果は、流入速度の増加とともに接着した赤血球数が減少する実験結果と定性的に一致した。一方、実験では同じ流入速度に対して、壁面に固定する赤血球と、固定されずに下流へと流されていく赤血球の両者が存在する。すなわち、赤血球同士の力学的な相互作用や、赤血球の個々で接着力が異なることが、赤血球の運動に影響を与えると考えられる。このため、今後の課題として、確率的な接着特性の考慮や、複数血球に対する大規模な血流シミュレーションを行う必要がある。

(4) 自然状態に応じた赤血球運動

赤血球の接着特性を決定する因子として、

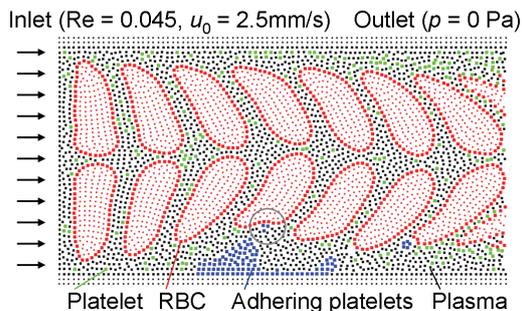


図2 血小板凝集と赤血球の運動・変形の連成シミュレーション

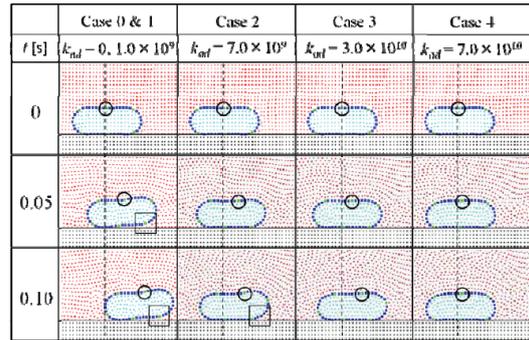


図3 血管壁近傍における接着強さに応じた赤血球の運動シミュレーション

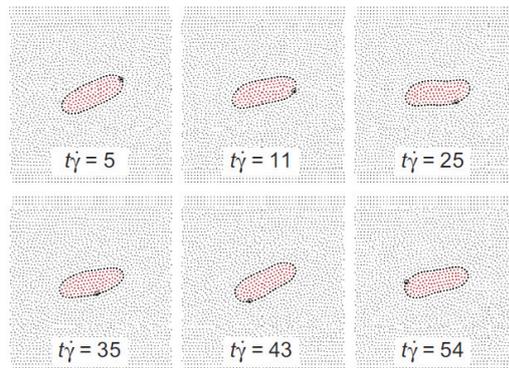


図4 定ずり速度下における赤血球の運動シミュレーション

赤血球個々の運動特性がある。この運動を決定する因子として、赤血球膜の材料力学的な特性を検討した。膜の粘性力と弾性力との比としてキャピラリー数 Ca を定義し、 Ca に対するパラメータスタディを行った結果、定ずり速度を受ける赤血球の運動は、 Ca のみではなく、これまであまり着目されて来なかった膜の自然状態(無負荷時の形状)に大きく影響を受けることが分かった。膜の自然状態が空間的に一様な時は、膜は、 Ca に関わらずタンクトレディング運動を行うのみであった。一方、膜の自然状態が空間的に非一様な時は、 Ca に応じて、タンクトレディング運動からタンプリング運動へと遷移し、遷移する時には、長軸の振動運動と膜のタンクトレディング運動が同時に生じた。これらの結果は、実験的に観察される赤血球の様々な運動挙動や膜の形状記憶効果を良く表現している。

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4件)

(1) K. Tsubota, T. Yamada, T. Adachi, Y. Suzuki, M. Hojo, 2007, Three-Dimensional Computer

- Simulation of Trabecular Surface Remodeling In Human Proximal Femur Using Large-Scale Voxel Finite Element Model, Proceedings of 3rd International Congress on Computational Bioengineering, pp.117-122. 査読有
- (2) K. Tsubota, 2007, Computer simulation of blood flow in microcirculation considering motion of blood cells, Proceedings of 3rd Asian-Pacific Congress on Computational Mechanics in conjunction with EPMESC XI, CD-ROM (6 pages). 査読有
- (3) K. Tsubota, Y. Suzuki, T. Yamada, M. Hojo, A. Makinouchi, T. Adachi, 2009, Computer simulation of trabecular remodeling in human proximal femur using large-scale voxel FE models: Approach to understanding Wolff's law, Journal of Biomechanics, Vol. 42, pp. 1088-1094. 査読有
- (4) H. Kondo, Y. Imai, T. Ishikawa, K. Tsubota and T. Yamaguchi, 2009, Hemodynamic Analysis of Microcirculation in Malaria Infection, Annals of Biomedical Engineering, Vol. 37, pp. 702-709. 査読有
[学会発表] (計8件)
- (1) K. Tsubota, T. Yamada, T. Adachi, T. Suzuki, M. Hojo, 2007.9, Three-Dimensional Computer Simulation of Trabecular Surface Remodeling In Human Proximal Femur Using Large-Scale Voxel Finite Element Model, 3rd International Congress on Computational Bioengineering, Isla Margarita, Venezuela. 査読有
- (2) K. Tsubota, 2007.12, Computer simulation of blood flow in microcirculation considering motion of blood cells, 3rd Asian-Pacific Congress on Computational Mechanics in conjunction with EPMESC, Kyoto, Japan. 査読有
- (3) 三枝尚太郎, 坪田健一, 劉浩, 2008.10, 白血球の偽足形成の粒子法シミュレーション, 第13回計算工学講演会, 仙台市. 査読有
- (4) 坪田健一, 2008.10, 微小循環における血流の粒子法シミュレーション, 日本学術会議材料工学連合講演会, 京都市. 査読有
- (5) 坪田健一, 2008.11, 微小循環における血流の計算力学シミュレーション, 第2回日本血流血管学会, 水戸市. 査読有
- (6) 寺内望, 坪田健一, 劉浩, 2009.1, 血管壁への接着特性に応じた赤血球運動の粒子法シミュレーション, 日本機械学会第21回バイオエンジニアリング講演会, 札幌市. 査読有
- (7) K. Tsubota, N. Terauchi, H. Liu, 2009.4 (Accepted), Computer Simulation Study on Blood Cell Motion near Vessel Wall under Viscous Flow with Adhesion Force, 4th Asian

Pacific Conference on Biomechanics, Christchurch, NZ. 査読有

- (8) 坪田健一, 和田成生, 2009.5 (採択), 弾性膜の自然状態を考慮した赤血球の運動・変形シミュレーション, 第14回計算工学講演会, 東京都. 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