

課題名 (タイトル) :

細胞運動のバイオメカニクスシミュレーション

利用者氏名 : 坪田健一

理研での所属研究室名 : 本所 光量子工学研究領域 光量子技術基盤開発グループ 先端光学素子開発 チーム
フロント

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

細胞運動の関係するバイオメカニクスの現象を明らかにするための計算機シミュレーションを進めている。特に、血球運動を対象として、以下の課題を進めた。

A. 細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響

赤血球の変形運動は細胞膜の粘弾性に影響を受ける。膜の弾性を考慮した研究は多く行われてきたが、粘性の効果は十分に調べられていない。ここでは、単純せん断流れにおける赤血球運動の計算機シミュレーションを行い、*in vitro* 実験で観察されるタンクトレッド運動を再現する膜粘弾性の条件を調べた。

B. 赤血球の変形と運動が微小血管網内血流に及ぼす影響

赤血球の運動が血流に与える影響は、血管径が小さいほど大きくなる。この点を詳細に理解するためには、細胞膜の粘弾性に応じた変形と、それによる赤血球の運動を力学的にとらえる必要がある。ここでは、微小な 2 分岐管内における血流の三次元数値シミュレーションを行い、細胞膜の弾性が赤血球の変形および運動に与える影響を調べる。さらに、既報の *in vivo* 血流計測実験を参照して血流路を作成し、赤血球の運動が血流に及ぼす影響を検討する。

C. 心臓血管系における血栓形成の三次元粒子法シミュレーション

血栓は、血小板などの血球運動と密接に関連すると考えられる。大血管では、このような血栓が出来ると、重要臓器の梗塞につながる。ここでは、心臓血管内における血流と血栓形成の関係を調べることを目的とする。

2. 具体的な利用内容、計算方法

A. 細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響

粘弾性膜と内部流体でモデル化した赤血球を単純せん断流れ場 $\mathbf{u}^\infty = (\dot{\gamma}y, 0, 0)$ に置いた。膜の面内弾性には Skalak 則を、膜の面内粘性にはニュートンの粘性法

則を、それぞれ用いた。せん断速度は $\dot{\gamma} = 20 - 200 \text{ s}^{-1}$ とした。伸長変形 D と膜回転振動数 F を *in vitro* 実験とシミュレーションで比較し、実験結果を再現するせん断弾性係数 G と表面粘性係数 η を決定した (Fig.1)。外部流体の粘度は $\mu = 28.9$ または $31.0 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ とした。赤血球内部の流体の粘度を 6.4 mPa 、面積を $134.1 \mu\text{m}^2$ 、体積を $94.1 \mu\text{m}^3$ とした。Stokes 流れを仮定し、膜の粘弾性変形と赤血球内外の粘性流れとの連成解析を境界要素法を用いて行った。赤血球の膜は三角形要素に離散化し、その数を 1246 とした。

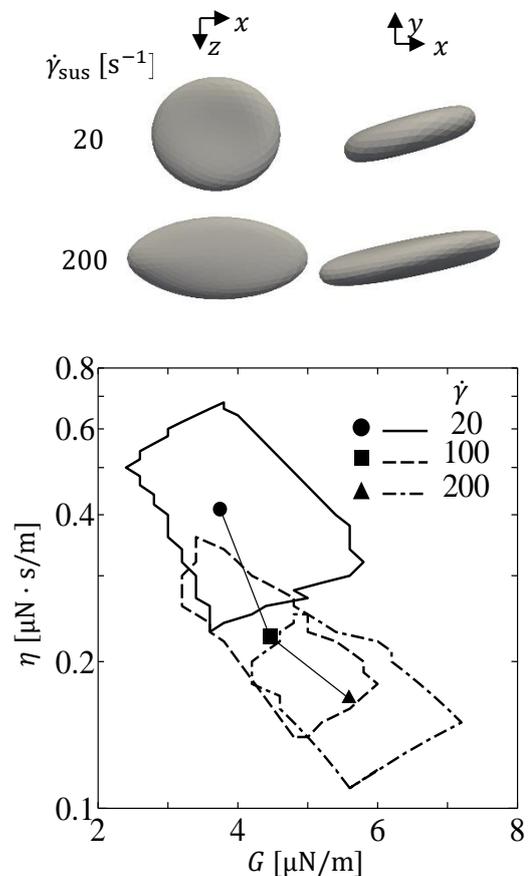


Fig. 1 Relationship between shear modulus G and surface viscosity η to reproduce tank-treading motion of red blood cell in experiment⁽¹⁾⁽²⁾.

B. 赤血球の変形と運動が微小血管網内血流に及ぼす影響 血液の構成成分として、赤血球と血しょうを考慮した。赤血球は表面の弾性細胞膜と内部の粘性流体に分けてモデル化した。細胞膜の弾性変形は膜の面内せん断、面外曲げおよび膜面積の非圧縮性を考慮した。非圧縮粘性流れを仮定し、連続の式および NS 方程式に基づく粒子法を用いて流れを計算した。弾性細胞膜は三角形要素を用いて分割し、要素の頂点*i*に流体粒子*i*を配置する。弾性力 F_i を粒子*i*に関する NS 式に外力項として代入することで、非圧縮粘性流れと膜弾性変形との連成解析を行った。分岐部を持つ微小血管を想定し、Fig.2 に示す微小 2 分岐管モデルを作成した。本モデルは親管と45°の角度をなす 2 本の娘管から構成される。管直径は、親管で $D_p = 12.0 \mu\text{m}$ 、娘管で $D_D = 9.5 \mu\text{m}$ とした。家兎大網の微小血管網画像を参照して管路モデルを作製した (Fig.3)。この際、モデルの簡略化のために、電気回路モデルを用いた流れ解析を血管網に対して行い、流量が流入流量の 0.5%以下となった血管部分を省略した。モデルの作製には、画素を計算粒子に置き換えるイメージベースドモデリングを使用し、メディアアンフィルタ処理を行うことで、表面形状を滑らかにした。血しょうの密度は $\rho = 1.0 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ 、粘性係数は $\mu_{fluid} = 1.2 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ とした。境界条件として流

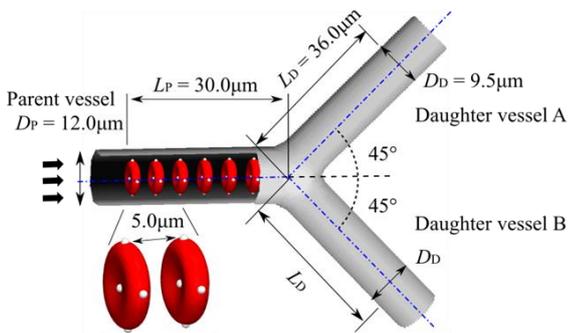


Fig.2 Micro bifurcated vessel model

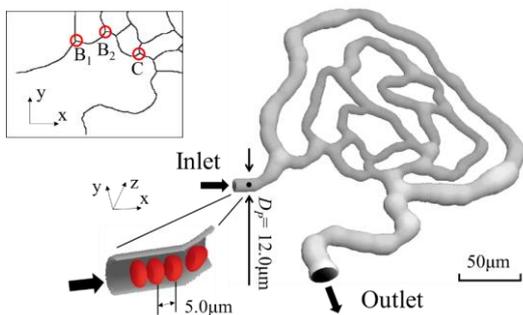


Fig.3 Micro vessel network model

入部には血流計測実験を参照して速度 $u_0 = 10.0 \text{ mm/s}$ を与えた。流出部は自由境界とし、管壁は剛体とした。このとき、流入部において赤血球を $5.0 \mu\text{m}$ 間隔で規則的に配置することで、ヘマトクリット値 Ht_0 を 0.24 とした。赤血球は直径 $L_{RBC} = 8.16 \mu\text{m}$ の両凹円盤形とし、内部流体の粘度を血しょうの 5 倍、弾性細胞膜のせん断弾性係数を $G = 1.25 \times 10^{-5} \text{ N/m}$ とした。流入部の平均せん断速度 $\dot{\gamma} = 16u_0/(3D_p)$ を用いて、血しょうの粘性力と膜の弾性力の比として無次元数 $Ca = \mu_{fluid}\dot{\gamma}L_{RBC}/G$ を定義すると $Ca = 0.35$ 、レイノルズ数は流入部 (管径 $D_p = 12.0 \mu\text{m}$) について $Re = \rho u_0 D_p / \mu = 0.101$ となった。

C. 心臓血管系における血栓形成の三次元粒子法シミュレーション 血液を非圧縮性流体として、連続の式および NS 方程式に基づいて粒子法の一つである LSMPS 法を用いて血流解析を行った。血流のうっ滞による血液凝固をモデル化した。壁粒子あるいは血栓粒子に対してせん断速度の時間履歴 $F(t)$ 、血液の凝固量 $m(t)$ をそれぞれ定義し、凝固量があるしきい値を超えたとき最近傍にある血液粒子を血栓粒子に変化させた。血栓粒子は近傍の壁粒子あるいは血栓粒子とばねによる凝集力 f^c で結合させた。このばね力を NS 方程式の外力項に代入することで血流と血栓形成との連成計算を行った。

3. 結果

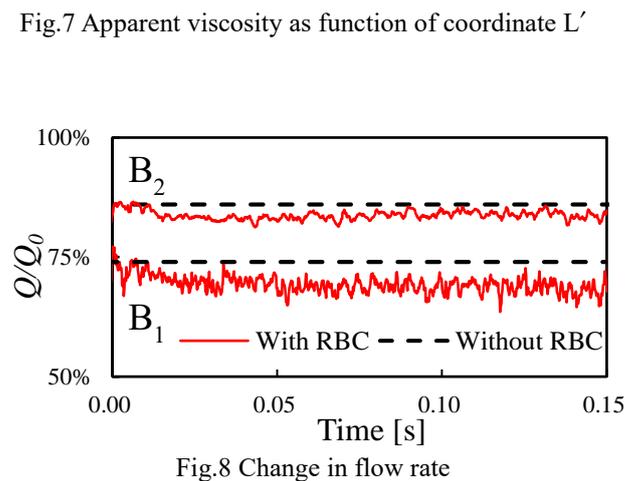
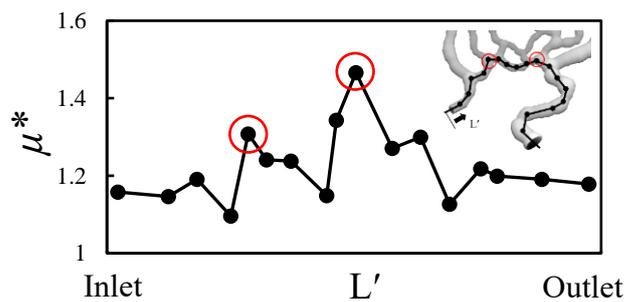
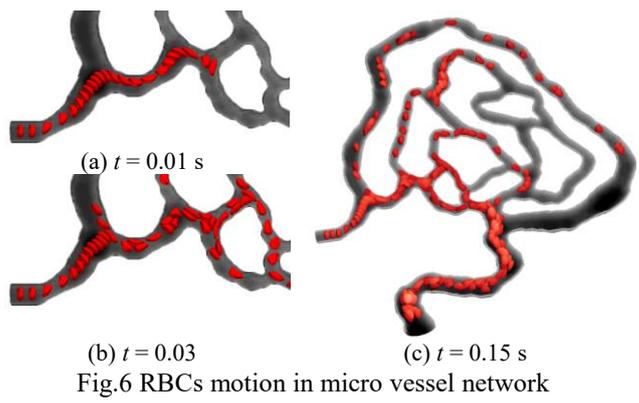
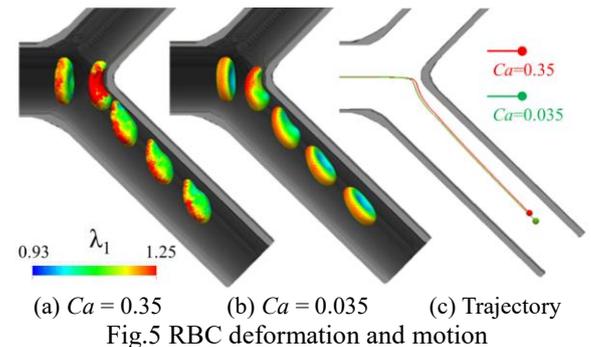
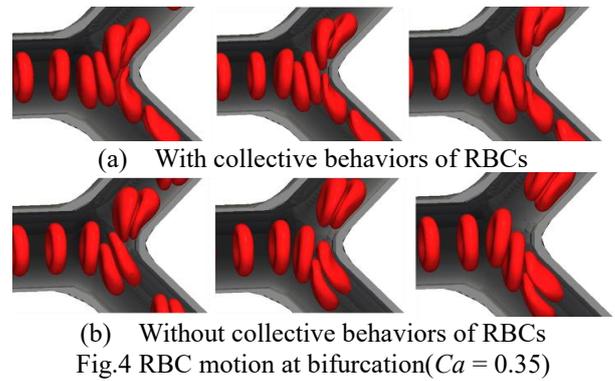
A. 細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響 実験計測における D と F の平均値を再現する G と η の組み合わせは、Fig.1 の直線で結ばれたプロットで示すように、ただ一つに定まった。 $\dot{\gamma}$ について G が増加することから、Skalak 則よりもひずみ硬化の程度が大きいことが示された。また、 $\dot{\gamma}$ について η が減少することから、shear-thinning の粘性が示された。実験計測値 D および F のばらつき (平均値 ± 標準偏差) を再現するためには、各 $\dot{\gamma}$ において、 G について $2.4 - 3.0 \mu\text{N/m}$ 、 η について $0.14 - 0.45 \mu\text{N}\cdot\text{s/m}$ の幅が必要であった (Fig.1 中の閉じた線内側の領域)。

B. 赤血球の変形と運動が微小血管網内血流に及ぼす影響 赤血球は流入時の間隔を保ったまま親管部を移動した後、分岐部の壁面に衝突し停留する場合 (Fig.4 (a))、および停留せずに娘管へと流れる場合 (Fig.4 (b)) の 2 種類の運動パターンを非定常に繰り返した。赤血球が停留する場合には、赤血球が 2 本の娘管方向に引っ張

られることで分岐部壁面に沿った形状に変形し、後続の赤血球が近づくことによって凝集した。分岐部に停留した赤血球は、この凝集による流れの変化に応じて、どちらか一方の娘管へと移動し、その結果赤血球の凝集は崩壊した。 $Ca = 0.035$ でも同様のシミュレーションを行い、先頭を流れる赤血球の変形と運動の様子を Fig.5 に示す。 $Ca = 0.35$ の場合、赤血球は分岐部の壁面に近づくと、2本の娘管方向に引っ張られることで、赤血球膜の全面で大きな伸び変形が生じた (Fig.5 (a))。これにより赤血球は分岐部壁面へと近づき、そのまま娘管の管壁付近を壁側と管軸側の速度差によってタンクトレッド運動をしながら移動した。これに対して、 $Ca = 0.035$ の場合の赤血球は、膜の変形が小さいため分岐部壁面に近づかず、そのまま娘管の管軸付近を移動した。このとき赤血球は平衡形状に近い形状のまま移動した (Fig.5 (b) および (c))。その結果、先頭を流れる赤血球の流入から流出にかかる時間は、 $Ca = 0.35$ の場合は 79.0 ms, $Ca = 0.035$ の場合は 76.0 ms となり、 Ca が大きい場合の方がより停留することが示された。大部分の赤血球は、流入部から流出部への最短距離である内側の血管を流れた。これは、最も圧力勾配が大きく、流量の大きな経路である。赤血球の流入が進むと、流入部に最も近い分岐部 B_1 で赤血球は停留、衝突し、その一部は圧力勾配が小さい方の血管へと流れた。流入部から流出部への最短距離である血管の軸上に座標 L' を定義し、見かけの粘度と血しょうの粘度の比である粘度比 μ^* を Fig.7 に示す。粘度比 μ^* は流入部から流出部に至るまで 1.0 以上の値となり、赤血球の存在によって見かけの粘度は増加していることを示している。特に流量の大きな分岐部 B_1 で $\mu^* = 1.31$, 合流部 C で $\mu^* = 1.47$ と見かけの粘度は大きく増加した。このように、特定の血管内を大部分の赤血球が移動することにより、流出部側の娘管の流量比は分岐部 B_1 で 74% から 69% に、分岐部 B_2 で 86% から 84% に減少した (Fig.8)。

C. 心臓血管系における血栓形成の三次元粒子法シミュレーション

本研究で用いた静脈血栓形成モデルの特性を調べるために Narracott らの実験を想定した二次元狭窄流路モデルおよび、二次元 APC フォンタンモデルを用いて血栓形成シミュレーションを行った。狭窄流路モデルでは、作動流体の、密度 $\rho = 1.06 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, 動粘度 $\nu = 4.43 \times 10^{-6} \text{ m}^2/$



s, とした. 流入部における平均流入流速は $u_0 = 5.5375 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ とした. レイノルズ数は流入部に対して $Re = 100$ であった. 二次元 APC フォンタンモデルでは, 作動流体は, 密度 $\rho = 1.06 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, 動粘度 $\nu = 8.86 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$, とした. 流入部における平均流入流速は下大静脈ともに $u_0 = 9.2 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ とした. レイノルズ数は上下大静脈に対して $Re \approx 207$ であった. シミュレーションの結果, パラメータ α の値に応じて形成される血栓の形状が変化した. 狭窄流路モデルでは, 管路拡大直後の隅部および再付着点近傍から血栓が形成され, α の値によって, 再循環領域に血栓が堆積する場合と隅部および再付着点近傍にのみ血栓が形成される場合が見られた(Fig.9). 二次元 APC フォンタンモデルでは, 上下大静脈から右心房への流入部において流路が急拡大していることで, 心房の左隅にうっ滞領域が形成され, また, 上下大静脈から流入した血流が衝突することによって右壁付近にもうっ滞領域が形成された(Fig.10A). $\alpha = 0.8$ では, 心房左隅から渦領域外縁部にわたって血栓が形成され, また, 右壁においては大きな山型の堆積が見られた(Fig.10C). $\alpha = 3.0$ では, 右壁の血栓は三か所に堆積する様子が見られた(Fig.10D). いずれの流路モデルにおいても, Kaibara による実験結果から得られた α を用いた場合にはせん断速度の分布に関係なく血栓が形成された(Fig.9B, Fig.10B). これは, 本静脈血栓モデルでは, 血管壁の抗凝固作用が導入されていないことが原因と考えられる. α の値を増加させると, せん断速度分布の影響が表れることから, α の値を大きくとることで, 疑似的に抗凝固作用が表現できると考え, 本研究においては, α の値を実験値よりも大きくとるものとした.

医用画像に基づいて構築した三次元フォンタン循環血流路を用いて血栓形成シミュレーションを行い, APC と TCPC それぞれのフォンタン手術によって形成される血流路内における血流の挙動と, それに基づく血栓の形成過程について調べた. 作動流体は, 密度 $\rho = 1.06 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, 動粘度 $\nu = 1.55 \times 10^{-5} \text{ m}^2/\text{s}$ とし, 静脈血栓モデルのパラメータとして, 血液凝固の流体力学的履歴に対する感度 $\alpha = 1.0$, せん断速度履歴に対する凝固量の比例定数 $c = 2.44 \times 10^{-8}$ とした. 平均流入流速は, SVC で $u_{SVC} = 6.51 \times 10^{-2} \text{ m/s}$, IVC で $u_{IVC} = 6.67 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ とした. レイノルズ数は IVC で $Re \approx 100$ となった. APC フォンタンモデルでは, 下大静脈から右心房への流入部付近では左側に低せん断速度の領域が見られた. これは, 下大静脈と右心房の合流部にお

いて流路が左側に向かって急拡大していることから, 流れが剥離し, 速度とせん断速度が低くなった. また, 右心房中心部では, 剥離した下大静脈血流が再付着

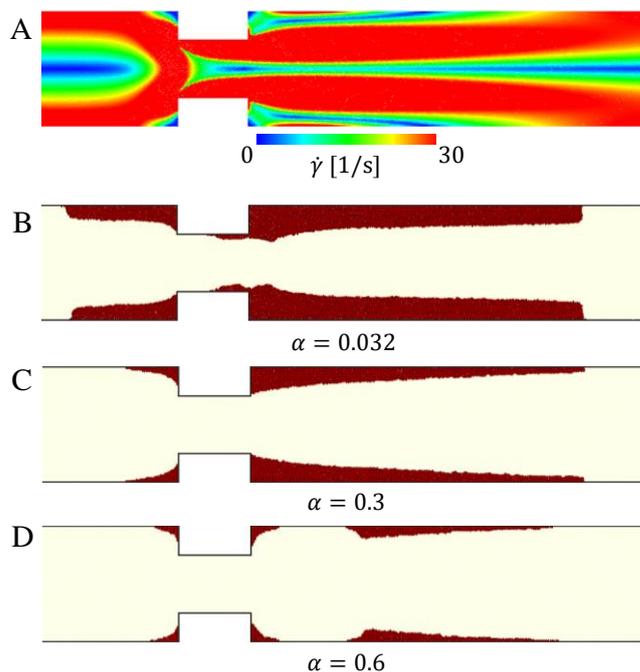


Fig.9 Distribution of shear strain rate(A) and thrombus(B-D) in stenosed channel ($Re=100$)

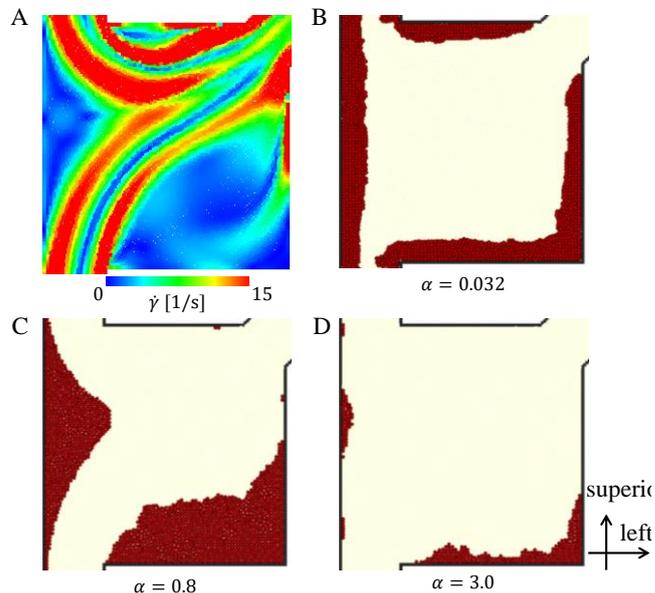


Fig.10 Distribution of shear strain rate(A) and thrombus(B-D) in 2-D APC channel ($Re=207$)

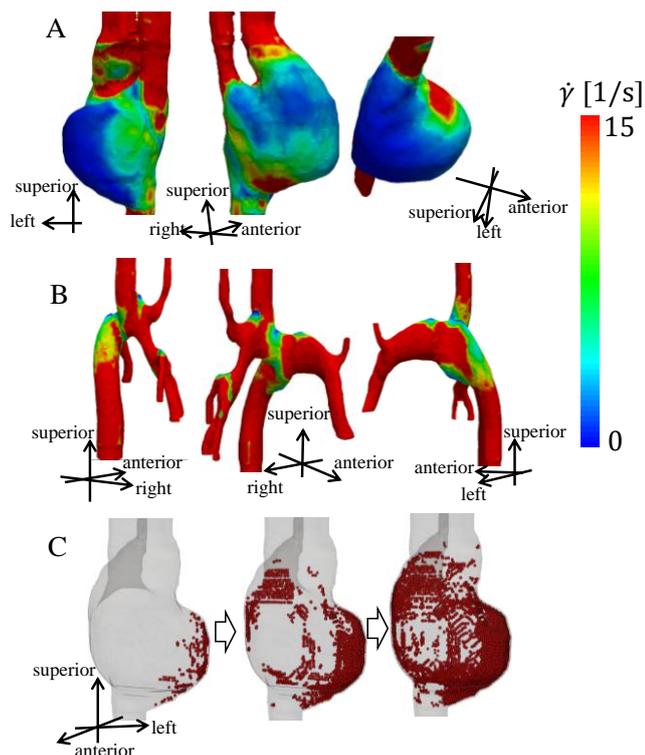


Fig.11 Distribution of wall shear strain rate in 3-D APC channel (A), Distribution of wall shear strain rate in 3-D TCPC channel (B), and thrombus development in 3-D APC channel(C)

せず、心房左側が大きなよどみ領域となっている。右心房上部では、肺動脈に向かって流路が減少するので、流れは強制的に再付着し、心房左側でもせん断速度が高くなった。流れの剥離による低せん断速度領域と対応して、心房左壁面から血栓形成が起き、層状に成長していった。このことから、APC では術後の心房拡大によって形成されるうっ滞領域において血栓が形成されると考えられる。対して、TCPC では大きなよどみ領域は形成されなかった。これは、右心房を流路の一部として含まないことから、大きな剥離が発生せず、うっ滞領域が形成されにくくなったと考えられる。このため、TCPC モデルにおいては、APC モデルと同等の時間スケールでは血栓は形成されなかった。このことから、本シミュレーションにおいては、血栓形成に関して TCPC は APC よりも優位であることが示唆された。

4. まとめ

A. 細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響
粘弾性を考慮した単一赤血球の変形運動の計算機シミュレーションを行った。実験計測の結果を再現するためには、単純せん断流れ場のせん断速度が増加するに

つれて弾性係数を増加、粘性係数を減少させる必要があった。

B. 赤血球の変形と運動が微小血管網内血流に及ぼす影響
赤血球と血しょうから構成される微小血管内血流の三次元計算機シミュレーションを行った。分岐部の壁面に衝突し停留する場合、および停留せずに娘管へと流れる場合を非定常に繰り返し、 Ca が大きい場合により停留した。赤血球は流量の大きな血管を移動し、見かけの粘度を増加させることで、流量比は変化した。

C. 心臓血管系における血栓形成の三次元粒子法シミュレーション
APC フォンタン流路では、流路の急拡大によって流れの剥離が生じ、それに起因するうっ滞領域において血栓が形成される。TCPC フォンタン流路では、流路の急拡大が起こらないため、うっ滞領域が形成されにくく、APC と同等の時間スケール内において血栓形成は見られなかった。以上のことから、血栓症リスクの観点において TCPC は APC よりも優位であると考えられる。

5. 今後の計画・展望

A. 細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響
赤血球の自然状態における不均一性パラメータと粘弾性係数を考慮したシミュレーションを行い、実験計測の結果を再現するための条件を詳細に調べていく。

B. 赤血球の変形と運動が微小血管網内血流に及ぼす影響
白血球および血小板を含めた血流シミュレーションを行い、計算結果と実験計測値との詳細な比較をすることで、シミュレーションモデルの定量的な同定を進める。

C. 心臓血管系における血栓形成の三次元粒子法シミュレーション
血管壁における抗凝固作用のモデル化および、正常な心房を想定したシミュレーションを行い、フォンタン循環における血栓形成過程の定量的な評価を目指す。

平成 29 年度 利用研究成果リスト

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 竹内拓也, 「フォンタン循環における三次元血栓形成シミュレーション」, 日本機械学会 2017 年度年次大会, 2017 年 9 月 3~6 日, 埼玉
2. 金井陵真, 「微小血管内における赤血球運動の数値シミュレーション (細胞膜の粘弾性の影響)」, 日本機械学会 第 28 回 バイオフロンティア講演会, 2017 年 10 月 28~29 日, 徳島
3. 金井陵真, 「赤血球の粘弾性に応じた微小管網内血流の計算機シミュレーション」, 日本機械学会 第 30 回 バイオエンジニアリング講演会, 2017 年 12 月 14~15 日, 京都
4. 竹内拓也, 「フォンタン循環における血栓形成の計算機シミュレーション」, 日本機械学会 第 30 回 バイオエンジニアリング講演会, 2017 年 12 月 14~15 日, 京都
5. 野崎雄太, 「細胞膜の粘弾性が赤血球の変形運動に与える影響」, 日本機械学会 第 30 回 バイオエンジニアリング講演会, 2017 年 12 月 14~15 日, 京都