バイオ・医療分野における混相流*

Multiphase Flows in Bio-Medical Field

高 木 周**

TAKAGI Shu

松 本 洋一郎**

MATSUMOTO Yoichiro

Abstract As seen in the blood flows containing a large number of red blood cells, many of the flows in the human body are multiphase flows and their multiphase characteristics are effectively used to sustain the life. However, as research topics in the field of multiphase flows, the bio-medical topics are relatively new compared with the classical application such as nuclear engineering, chemical engineering etc. In this review paper, we pick up mainly two topics. One is the blood flows with red blood cells. The other is the microbubbles for the medical application. That is, microbubbles as ultrasound contrast agents and their utilization for the ultrasound therapy as thermal energy converter and drug delivery agents.

Keywords: Blood Flows, Red Blood Cells, Drug Delivery System, Microbubbles, Ultrasound therapy

1. 緒 言

バイオ分野における流体力学は、生き物の飛び方や泳ぎ方を研究の対象とするものと、血流や呼吸のように生体内における流動現象を対象とするものがある。本稿では、医療分野にも関連する応用として、後者の内容に関連したものを説明する。特にここでは、分散混相流と関連して赤血球などの血流内の分散相に関連する研究についてまとめる。また、次世代型の低侵襲治療法として大きな期待が寄せられている超音波治療に関連して、超音波血管造影剤としてのマイクロバブルを治療に利用するための新たな試みについて紹介する。

2. 血流のシミュレーション

血液は一般に非ニュートン流体と呼ばれるが、この表現は正確でない。血液の非ニュートン性を支配しているのはその体積割合（ヘマトクリット値）で 35-50%程度を占める赤血球である。すな

わち赤血球も含めた血流の平均的流動構造が、血管径に応じて非ニュートン流体としての振る舞いを示すことになる。したがって、赤血球のサイズと血管径の比が、血液の非ニュートン性にとって重要な意味をもつ。血管径が十分大きい場合には、赤血球も含めた血液をニュートン流体として見なすことも可能で、血管径の減少とともに赤血球のもたらす非ニュートン性が現れはじめ、特に毛細血管などでは、血管径と赤血球のサイズが同程度となるため、非ニュートン流体として平均化した描像で議論するのも適切ではなく、血漿と血球などを分離して考える分散混相流としての扱いをしなければならない。

血流は、医学的には古くから様々な研究がされているが混相流分野の研究として増え始めたのは、数値計算法の開発と関連した部分が多い。1990 年代中ごろから、それまで液滴や変形粒子あるいは変形気泡の数値計算のために開発されてきた手法が、赤血球や白血球、あるいは脂質二

* 2012.11.21 受付

** 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL: (03)5841-6426 FAX: (03)3818-0835 E-mail: takagi@mech.t.u-tokyo.ac.jp

*** 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻

分子膜で覆われたベシクルの挙動を解析するのに適用されるようになった。超弾性体の膜モデルを用いて、固定格子上で変形する赤血球の計算を行ったバイオニクス的研究として、Eggleton & Popel[1]を挙げることができる。彼らは、Peskinの開発した Immersed Boundary Method[2]（以下、IB 法）を、単純せん断流中におけるベシクルおよび赤血球の変形問題へ適用し、解析を行っている。また、Bagchi[3]は、IB 法を用いて赤血球を模擬した多数の細胞を含む流れの解析を行っている。なお、オリジナルの Peskin の IB 法は、粘性に関しては場全体で一定値を仮定した手法である。赤血球内外の粘性を変化させる場合には、赤血球の内外を判定するために Indicator 関数のポアソン方程式を解くことになる。この部分は、オリジナルの Peskin の IB 法に対して、Tryggvason が改良を加えた Front Tracking 法[4]を用いることにより対応できる。Tryggvason の Front Tracking 法は、多数の気泡や変形液滴を含む分散混相流の研究分野で多くの成果を挙げており、このことが、1990 年代半ば以降に、混相流の分野で赤血球を含む血流の数値解析が増えた理由の一つになっている。実際、上記の Bagchi は、それまでは、せん断流中の球形粒子に働く揚力の研究[5]で境界適合格子を用いた手法で顕著な業績を持つ混相流分野の研究者であるが、多数の赤血球を含む流れに関する研究では、Front Tracking 法を用いて解析を行っている。また、著者らも同様に混相流の研究として、変形気泡の研究から、赤血球を含む血流の分野へと研究テーマを広げてきた。初期の研究として Peskin の IB 法による計算で赤血球[6]やベシクル[7]の計算を行い、ベシクルに関しては、せん断流中における Tank Treading 運動に関する実験を行い、計算結果との比較により膜モデルの影響について評価している[8]。ここで一点、赤血球の計算について触れておく。連続体力学の計算における赤血球の超弾性膜モデルとして、Skalak モデル[9]がよく用いられる。このモデルを用いて計算はしばしば数値的不安定をもたらし、Eggleton らの IB 法を用いた計算に関しても、論文中で長時間の計算で計算が不安定になることが述べられている。Skalak モデルが数値的に不安定になることは、Pozrikidis[10]の Stokes 流れに対して境界積分法を用いた計算においても述べられている。

Fig.1 Snapshot of the simulation result of the flow with red blood cells and platelets [13].

Fig.2 Largest-scale massively parallel computation of blood flow containing RBC-like particles [14].

さて、大変形する超弾性膜をもつベシクルを扱ったこれまでの計算は、膜の構成方程式を計算する際に膜表面の物質点を Lagrange 的に追跡する手法が用いられる。これに対して Li らは、固定格子上でオイラー的表記を用いて、大変形する超弾性膜を扱う手法を開発した[11]。この方法は、Sugiyama らにより開発された大変形する超弾性体と流体の連成問題に対する有限差分法に基づく完全オイラー型流体-構造連成手法[12]を、流体-膜の連成問題に発展させたものになっている。この手法により、赤血球膜として Pozrikidis らにより提案されている (Skalak モデル) + (曲げ剛性) の膜モデルにより計算を行った結果[13]を Fig. 1 に示す。実験的によく観測されるスリッパ型の形状が達成されているのがわかる。なお、大量の赤血球を模擬した粒子を含んだ超大規模計算としては Lattice Boltzman 法によるものがある[14]。計算規模を説明した図を Fig. 2 に示す。この計算では赤血球の変形は考慮されていない

ため、毛細血管において赤血球の変形がもたらす効果に対しては再現できないことになる。

ところで、実際の循環器系の疾患の観点からは、白血球、血小板などの血球細胞の表面にある膜タンパクと血管壁に接着したタンパク質間の相互作用による結合力が極めて重要となる。すなわち、流体力学的に血球を引きはがそうとする力と、タンパク質間相互作用で引き留めようとする力の関係で血球細胞がその場にとどまるか、流れでとばされるかが決まる。そのような立場から、白血球や血小板の挙動を解析したものとして、[15]、[16]などの研究が挙げられる。これらの研究では連続体としての流動現象の扱いと、血球細胞表面のタンパク質分子からもたらされる結合力の間の競合現象を再現している。

さて、心筋梗塞・脳梗塞の最終段階である血栓症は、動脈硬化を起こし内皮細胞が剥がれ損傷血管壁を修復するために血小板が粘着することからプロセスが始まる。粘着した血小板は活性化し、その後さまざまなタンパク質の寄与を通して血栓の成長へと繋がり、フィブリンと呼ばれるタンパク質のネットワーク構造に多数の赤血球を捕獲して凝固のプロセスが進行し血管閉塞へといたる。この一連のプロセスは、まさしく分散混相流がタンパク質分子を介して接着され凝固した塊へと向かうものである。血栓症の薬として知られる抗血小板薬はこの初期段階にあたる血小板の粘着を押さえる薬であり、実際の疾患に対して薬がどの程度効くのかをシミュレートするためには、血小板表面および内部で起こる化学反応と流動現象の連成が必要である。このような見地に立ち、上記の膜-流体構造連成に血小板表面の膜タンパク分子(GP1b α)と損傷血管壁に接着したvWF分子のタンパク質間相互作用をモンテカルロ法で取り扱った計算と連成させ計算した結果を Fig. 3[17]に示す。図には、赤血球も含めて流れている血流中で血小板が血管壁に吸着している様子が再現されている。なお、この計算で赤血球を含めない場合には血小板は壁面に吸着しない。これは、赤血球がもたらす血漿の揺らぎが存在しないため、血小板は流れにのってわずかな揚力を受けながら壁面にはほぼ平行に移動し、壁面近傍に接近し吸着できる位置にやっこないことによる。この傾向は実験においてよく知られた結果であり、平行平板流中の血小板は赤血球なしで

は、壁面に粘着しないことになる。

以上のように混相流の研究としては、赤血球の動きを中心とした流体構造連成の部分に注目が行くが、医療応用の観点からは、タンパク質の役割を含めた生理学的効果を取り入れることが極めて重要となる。今後は、混相流分野の血流解析もそのような方向に向かっていくものと考えられる。

Fig.3 Simulation result of platelet adhesion [17].

3. マイクロバブルの医療応用

混相流の分野においては、マイクロバブルは、大きな比表面積と小さな上昇速度を利用した水処理技術や、乱流境界層における渦との複雑な相互作用によりもたらされる船舶の乱流摩擦抵抗低減効果などの研究テーマで近年大きな注目を集めてきた。一方、マイクロバブルの医療分野への応用に関しては、混相流分野の研究テーマとしてはまだ大きな注目を集めていないが、直径数 μm 程度のマイクロバブルは、超音波血管造影剤としてすでに医療現場で利用されている。体外から照射された超音波により、血管内にある気泡が体積振動して超音波を大きく反射する。気泡から返ってくるこの反射音进行处理することにより、超音波の波長より十分細い血管を造影することができる。肝臓癌のような癌細胞の周りには毛細血管が非常に発達し、またその様相も通常のものと大きく異なることが知られている。そのため、癌細胞の近傍ではマイクロバブルが集積しやすく、反射音が正常な細胞とは異なるため、癌細胞の部位を検出することも可能となる。すなわち、マイクロバブルによる超音波造影は単純に毛細血管

の位置を調べるだけでなく、腫瘍の位置を診断するのに用いられる。

さて、上記のように診断に用いられているマイクロバブルを治療に利用していくことも考えられている。例えば、マイクロバブルの集積した領域に超音波を集束させると、体外から与えられる集束超音波によるマイクロバブルが体積振動し、その部位で大きな発熱をもたらす。以下、集束超音波によるマイクロバブルの発熱効果について調べた実験の結果[18]について紹介する。ここでは、体組織と音響特性の近いポリアクリルアミドゲルを用い、その内部に向かって集束超音波を照射させた実験を行っている。超音波の焦点近傍には、ゲル内に空間を設け、その中にマイクロバブル血管造影剤である Levovist® (平均直径: 1.3 μm 、内部気体: 空気) を含んだ水を注入して、超音波照射を行っている。照射している超音波の周波数は 2.2 MHz、焦点における出力は 200 W/cm² である。Fig. 4 には、感温液晶シートによる温度分布の変化を可視化した結果を、マイクロバブルを含まない系に超音波を照射した場合の結果と共に示してある。超音波照射開始後 60 秒たった時点で、マイクロバブルが存在しない場合は、直径数 mm 程度の焦点領域のみで温度が上昇している。それに対しマイクロバブルを注入した場合は、温度上昇領域が時間とともに広がっている様子がわかる。これは、気泡の体積振動により外側から与えられた音響エネルギーがその部分で散逸され、熱エネルギーに変換されることによる。この温度上昇の効果はマイクロバブル内部に封入されたガスの種類によっても異なってくる。すなわち、ガスの比熱比の違いにより、体積振動しやすい血管造影剤向きのものと、温度上昇に適したものなど性質が異なってくる。超音波音場中では、マイクロバブルのこのような熱的效果以外に、造影剤で重要となる超音波を反射する音響的效果、さらに気泡の体積振動(崩壊運動)や並進運動に伴う力学的効果などを利用して様々な医療効果が期待できる。上記の腫瘍焼灼以外にも、マイクロバブルが崩壊するときの崩壊圧を用いて細胞に穴を開け遺伝子導入を試みるあるいはマイクロバブルそのものに薬剤を添加してドラッグデリバリーシステム(DDS)として利用することも考えられている。それぞれの用途に合わせてマイクロバブルの持つどの機能を活かすのか、そのた

めにはマイクロバブルをどのようにデザインしていくのかが異なってくる。

以上のように、様々な用途が考えられる医療用マイクロバブルであるが、生体への適用を考えた場合、安全面から以下のような制約が課される。気泡が血管を閉塞させずに毛細血管をすり抜けることができるように、血管に注射されるすべての気泡が、合体せずに直径 5 μm 以下のサイズを保つ必要がある。また、血流中で十分長い間(通常 10 分以上)、溶解せずにその機能を果たす必要がある。以上の制約条件を満たすために、マイクロバブル表面を脂質分子などの両親媒性分子によるコーティングするが、当然のことであるが、これらの物質は生体にとって無害なものでなければならない。

Fig.4 Effect of microbubbles for HIFU treatment.

様々な応用の中で、マイクロバブルを用いたドラッグデリバリーシステム[19]は実用に向けた期待が大きい。薬剤を封入したマイクロバブルあるいはマイクロバブルを内包したベシクルを作成し、腫瘍の近傍の血管にて、その位置に向けて集束超音波を照射することによりマイクロバブルあるいはベシクルを破壊し、封入した薬剤をその部位で放出させる方法である。そのような機能をマイクロバブルに持たせるには、腫瘍に選択的に接着する物質(タンパク質)で表面修飾されたマイクロバブル(ベシクル)を生成し、その内部に薬剤を封入する必要がある。このように機能性をもたせたマイクロバブルを生成するためのシステムとしてマイクロチャネルを利用した方法が検討されている。Fig. 5 は Hettiarachchi ら[20]

Fig.5 Microbubble generator using flow focusing type device [20].

(a) Simple T-junction type

(b) Orifice-type

Fig.6 Microbubble generation using T-junction type microchannel.

により作成された、Flow Focusing 型のマイクロバブル生成装置である。現時点では、このタイプの装置がもっともサイズの小さな単分散の気泡の生成が可能であり、図に示した装置では、最小で直径 $3\ \mu\text{m}$ の気泡の生成に成功している。また、彼らはこの装置を用いて、気泡の表面に脂質膜をコーティングすることにも成功している。著者らの研究グループでは、T-Junction 型のマイクロバブル生成装置の開発を進めている[21]。Fig. 6 に作成されたマイクロバブルの様子を示す。サイズ

の揃った気泡が、非常に規則的に生成されている様子がわかる。Fig. 6 (b)では、単純な T-Junction 型からチャネル形状を工夫し、オリフィス型にすることにより、直径 $6\ \mu\text{m}$ の微細マイクロバブルの生成に成功している。現在、水に高粘性の液体を加えることにより、 $5\ \mu\text{m}$ 以下の気泡径のものを作ることができるようになっている。今後は、気泡表面に薬剤を封入し、さらに目的部位に選択的に接着するタンパク質を気泡表面に修飾していく技術の開発が必要となる。

4. 結 言

医療分野における流体力学の研究は、生体内で起こる様々な熱・物質輸送をその解析対象とする。歴史的には、医学的に知見の蓄積が多い血流や呼吸に関連したものが多いが、リンパの流れや、飲食物を口にしてから排出するまでの体内における消化プロセスなども物質の流動現象である。リンパの流れは、心臓のようにポンプの役割をする器官を陽に有していないため、その流れについて解析するのは易しくない。一方、リンパを介したがんの転移は言うなれば、がん細胞がリンパの流れに乗ってもたらされるものであり、これ自身マイクロ混相流の研究対象となり得る。飲食物の流れに関しては、まさしく化学反応を伴う固気液三相流である。胃の中の流動現象に関しては、東北大の山口、今井らによる報告[22]はあるが、固気液三相としての混相流の観点からの詳細な研究は、世界的に見てもほとんど進んでない。消化から栄養分の吸収、老廃物の排出は生命維持の本質的な部分であり、今後はこの分野の研究も増えてくると考えられる。

最後に、超音波治療に対するマイクロバブルの利用について触れておく。現在実用化されている超音波治療器では、超音波照射に伴う温度上昇によりキャビテーションが発生するのを避けるようにして治療を行う。これは、キャビテーションの発生によりターゲット以外のところにも急激な温度上昇が起きるのを避けるためである。これに対し Michigan 大の Charles Cain らの研究グループ[23]では、キャビテーションを狭い領域に閉じ込め、キャビテーションを積極的に利用して効率良く腫瘍焼灼を行う Histripsy と呼ばれる手法の開発を行っている。実際の生体のように非一様な細胞により構成される組織では、キャビテーショ

ン発生位置を予測・制御するのは必ずしも易しくない。超音波血管造影剤としてのマイクロバブルを利用した腫瘍焼灼法は、気泡位置を超音波で確認しながら気泡振動を利用することができるため、キャビテーション気泡を利用するよりは制御性の良いものとなり得る。現在実用化されているものでは、利用が考えられていないが、今後は実用化に向けたこの領域の技術開発も進んで行くと考えられる。さらに、制御性の良さからは、温度上昇により腫瘍を焼灼する技術にも増して、ドラッグデリバリーシステムにおいてマイクロバブルを利用していくことが、低強度の超音波による治療に繋がっていき、実用的には重要であると考ええる。今後は、こういった領域にも混相流関連の研究者が積極的に取り組むことにより、新たな展開が生まれて来ることを期待している。

参考文献

- [1] Eggleton, C.D. and Popel, A.S., Large deformation of red blood cell ghosts in simple shear flow, *Phys. Fluids*, Vol. 10, 1834-1845(1998).
- [2] Peskin, C.S., Flow patterns around heart valves: a numerical method, *J. Comput. Phys.* Vol.10, 252-271(1972)
- [3] Dodd, S.K. and Bagchi, P., Three-dimensional computational modeling of multiple deformable cells flowing in microvessels, *Phys. Rev. E* 79, 046318 (2009).
- [4] Unverdi, S.O. and Tryggvason, G., A Front-tracking method for viscous incompressible multi-fluid flows, *J. Comput. Phys.* Vol.100, 25-37(1992).
- [5] Bagchi, P. and Balachandar, S., Effect of free rotation on the motion of a solid sphere in linear shear flow at moderate Re. *Phys. Fluids* 14, 2719-2737(2002).
- [6] Gong, X., Sugiyama, K., Takagi, S. and Matsumoto, Y., The deformation behavior of multiple red blood cells in a capillary vessel, *J. Biomech. Eng.* 131 074504(2009).
- [7] Takagi, S., Yamada, T., Gong, X. and Matsumoto, Y., The Deformation of a Vesicle in a Linear Shear Flow, *Journal of Applied Mechanics*, Vol.76, 021207(2009).
- [8] Hatakenaka R., Takagi, S. and Matsumoto, Y., Orientation and internal flow of a vesicle in tank-treading motion in shear flow, *Physical Review E*, Vol.84, 026324(2011).
- [9] Skalak, R., Tozeren, A., Zarda, R.P. and Chien, S., Strain energy function of red blood cell membranes, *Biophys. J.*, Vol.13, 245-264(1973).
- [10] Pozrikidis, C., Effect of membrane bending stiffness on the deformation of capsules in simple shear flow, *J. Fluid Mech.*, Vol.440, 269-291(2012).
- [11] Li, S., Gong, X., Sugiyama, K., Wu, J., Huang, H. and Takagi, S., A Full Eulerian Fluid-Membrane Coupling Method with a Smoothed Volume- of-Fluid Approach, *Commun. Comput. Phys.*, Vol.12, 544-576(2012).
- [12] Sugiyama, K., Li, S., Takeuchi, S., Takagi, S., and Matsumoto, Y., A full Eulerian finite difference approach for solving fluid-structure coupling problems, *J. Comput. Phys.*, Vol.230, 596-627 (2011).
- [13] Li, S., Sugiyama, K., Takagi, S. and Matsumoto, Y., A Computational Blood Flow Analysis in a Capillary Vessel including Multiple Red Blood Cells and Platelets, *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, Vol.7, 72-83(2012).
- [14] Bernaschi, M., Bisson, M., Fatica, M., Melchionna, S. and Succi, S., Petaflop hydrokinetic simulations of complex flows on massively GPU clusters, *Computer Physics Communications* Vol.184, 329-341(2013).
- [15] Khismatullin, D.B. and Truskey, G.A., Three-dimensional numerical simulation of receptor-mediated leukocyte adhesion to surfaces: Effects of cell deformability and viscoelasticity, *Physics of Fluids*, Vol.17, 031505(2005).
- [16] Mody, N.A. and King, M.R., Platelet Adhesive Dynamics. Part I: Characterization of Platelet, Hydrodynamic Collisions and Wall Effects, *Biophysical Journal*, Vol.95, 2539-2555 (2008).
- [17] Yanagida, T., Takagi, S. et al., Keisan to Seimei, (Iwanami Computational Science Series, #4), Chapter 5, Iwanami-shoten (2012).
- [18] Matsumoto, Y. et al., Medical ultrasound with microbubbles, *Experimental Thermal and Fluid Science*, Vol.29, 255-265(2005).
- [19] Ng, K. and Liu, Y., Therapeutic ultrasound: Its application in drug delivery, *Medical Research Reviews*, Vol.22, 204-223(2002).
- [20] Hettiarachchi, K., Talu, E., Longo, M. L. Dayton, P. A. and Lee, A. P., On-chip generation of microbubbles as a practical technology for manufacturing contrast agents for ultrasonic imaging, *Lab on a Chip*, Vol.7, 463-468(2007).
- [21] Ichiyanagi, M., Miyazaki, R., Ogasawara, T., Kinefuchi, I., Matsumoto, Y. and Takagi, S., Measurements of Microbubble Generation Process in Microchannel Using Ultra High-Speed Micro- PTV System, *Microfluidics and Nanofluidics*, in press (2012).
- [22] Kobayashi, I., Imai, Y., Ishida, S., Ishikawa, T. and Yamaguchi, T., A numerical study on fluid motion in the stomach, 6th World Congress in Biomechanics (2010).
- [23] <http://www.histotripsy.umich.edu/index.html>, Therapeutic Ultrasound Group, Biomedical Engineering Department, University of Michigan, 2012/10/31