血流のミクロ・シミュレーション*

高野 龍雄^{*1}, 田中 伸厚^{*2}, 増澤 徹^{*2}

Micro-simulation of Blood Flow

Tatsuo TAKANO, Nobuatsu TANAKA^{*3} and Toru MASUZAWA^{*3} Department of Mechanical Engineering, Ibaraki University,
4-12-1 Nakanarusawa, Hitachi-shi, Ibaraki, 316-8511 Japan

We have developed a microscopic blood model, that can express the deformation of an erythrocyte in micro-circulation, based on the Smoothed Particle Hydrodynamics (SPH) method. In the method, plasma fluid is discretized by SPH particles and an erythrocyte is modeled by internal SPH particles wrapped in elastic membrane particles. For verifying the model, in two dimensions, we numerically analyzed a popular phenomenon of erythrocyte; the tank tread motion of an erythrocyte under a constant shear field. The numerical results agreed well with the experimental data and the tank tread motion of erythrocyte was well realized by the model. From these results, it is confirmed that our blood model based on the SPH method can well express microscopic and rheological properties of erythrocytes.

Key Words: Bio-Fluid Mechanics, Numerical Analysis, Shear Flow, SPH Method, Blood Flow, Micro-circulation, Erythrocyte, Tank Tread Motion

1. 緒 言

直径100 μm 程度以下の極細い径を持つ循環系(微小循環系)は、血液と周囲組織や間質液との間で、盛んに物質交換や体液循環の調節を行い、生体内の環境を維持する上で重要な役割を担っている。微小循環系の障害は組織の機能不全を引き起こし、生命の損失に繋がる恐れもある。それゆえ微小循環系の血流特性を知ることは、生理学的にも病態学的にも非常に重要である^①。そこで血液のミクロな力学的挙動を解明する有力な手法として、数値流体力学的手法が挙げられ、数値シミュレーションが行われている。

微小循環の一特徴は、血液を均質な連続流体とみなせない点にある^②。血液は血漿中に赤血球などの有形成分を含む懸濁液であるが、管径の太い大動脈などの部位では、血球のサイズ、血液の非ニュートン性が無視できるため、血液を単相とみなすことで、従来の格子に基づく数値解析手法により解析可能である。しかし、管径の細い微小血管では、血液中の血球成分の

サイズが有意となり無視できず、またレイノルズ数は0.01~0.1で、粘性効果のほうが慣性効果よりも大きい。更に、微小血管内で見られる赤血球の特徴的な流動挙動、物理的外力による赤血球の変形現象や軸集中現象など、血球のレオロジー的性質が大きく流れに影響する。したがって、微小循環の数値シミュレーションでは、血液を混相として扱い、血球の変形現象等も考慮しなければならない。赤血球は外力により容易に変形し、微小血管内ではパラシュート形、スリッパ形など多様に変形する^③。このような血球と流体との境界が大きく変形するような流れの解析において、従来の格子に基づく数値解析手法(境界要素法^④、有限要素法^⑤など)では、本質的な困難さがある。

そこで近年になり血球の複雑な運動や変形を詳細に取り扱うため、物体の位置や形状の変化をラグランジュ的に追跡する粒子法が用いられ始めた。岩田ら^⑥は、赤血球を剛体球でモデル化し、管内流れにおける流動挙動の解析を行っている。また石川ら^⑦は、赤血球を球とばね・ダンパ要素による構造体でモデル化し、赤血球膜の弾性をばね要素で、赤血球内質の流動抵抗をダンパ要素で、赤血球に働く流体抗力を球要素

* 原稿受付 2004年2月9日。

^{*1} 茨城大学大学院機械工学専攻。^{*2} 正員、茨城大学工学部機械工学科(〒316-8511 日立市中成沢町4-12-1)。

E-mail: tanaka@mech.ibaraki.ac.jp

まわりの Stokes の抵抗則より評価している。これらのモデルでは、赤血球モデルの背景に血漿である流体が重なって存在する問題が生じる。高野らは、解析手法として Smoothed Particle Hydrodynamics (SPH) 法^{9,10}を用い、赤血球と血漿すべてを粒子の集団として取り扱う方法を提案している^{11,12}。しかし、赤血球のモデル化において、石川らの方法と同様に赤血球を粒子とばね要素による弾性体でモデル化しているため、内部構造が実際の赤血球と異なり、内部流体の粘性効果や内部流体と赤血球膜の摩擦効果を考慮するには何らかのモデル化が必要となる。我々はその問題を解決するため、赤血球を血球膜と内部流体に分け、赤血球膜にばね要素を、内部流体に SPH 粒子を用いる手法により、より現実的な血液のモデルを開発している^{13~16}。一方、坪田ら^{17,18}は、Moving Particle Semiimplicit (MPS) 法を用いて、血漿と赤血球の連成シミュレーションを行っているが、赤血球内部の流体を無視し、赤血球を膜のみでモデル化している。そのため赤血球内部流体から赤血球膜、血漿への作用が考慮されていない。本研究で解析対象とする赤血球の最も基本的な挙動である tank-tread 運動は、内部流体を考慮しないと、膜と内部流体の摩擦効果や内部流体の粘性効果が妥当に評価されず、その挙動が正しく再現できないものと考えられる。

本研究は、文献(13)~(16)に従い、SPH 法を用いたマイクロ・スケールの血液モデルとして、赤血球にばね要素を、血漿と赤血球内部流体に SPH 粒子を用いる手法を採用する。そのモデルでは、実際の血液と同様、赤血球膜を介し血漿、赤血球内部流体の相互作用を考慮することになる。本論文では、まず、3 章でそのモデルについて簡単に説明する。5 章では、その検証として、二次元定ずり速度下での単一赤血球の挙動 (tank-tread 運動) を解析し、実験結果と比較することにより、本モデルが微小循環における赤血球のレオロジー的性質が表現可能であることを示す。

2. 主な記号

- A_i : 粒子 i の物理量
- B : 基準密度
- h : カーネルの大きさを決めるパラメータ (粒子間相互作用の影響範囲の半径)
- m_i : 粒子 i の質量
- N : 総粒子数
- p_i : 粒子 i の圧力
- $\mathbf{r}_i$: 粒子 i の位置ベクトル

- t : 時間
- t^* : 無次元時間
- U : 代表速度
- $\mathbf{v}_i$: 粒子 i の速度ベクトル
- W : カーネル (重み関数)
- $\dot{\gamma}$: ずり速度
- μ : 粘性係数
- ζ : 粘性の強さを決めるパラメータ
- ρ_i : 粒子 i の密度
- ρ_0 : 基準密度

3. 解析手法と血液のモデル化

3.1 SPH 法 SPH 法は、流体を粒子の集合体として近似的に表す。流体の支配方程式を粒子間相互作用モデルで置き換え、各粒子が持つ速度などの変数の変化を粒子間相互作用に基づいて計算する。カーネルと呼ばれる重み関数 W を導入し、粒子のもつ物理量を周囲に重み付けすることで、評価点の物理量を内挿する。すなわち、粒子はカーネルで表される物理量の分布を持っており、それらの重ね合わせにより物理量の分布が表現されている。任意の位置 $\mathbf{r}$ における物理量 $A(\mathbf{r})$ は式(1)のように表わされる。

$$A(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^N m_j \frac{A_j}{\rho_j} W(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j, h) \quad \cdots \cdots \cdots (1)$$

また、 W を微分することにより場の勾配の評価をえることができる。

$$\nabla A(\mathbf{r}) = \sum_{j=1}^N m_j \frac{A_j}{\rho_j} \nabla W(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j, h) \quad \cdots \cdots \cdots (2)$$

本論文のすべての解析において、カーネルには次式の 3 次のスプラインカーネルを用いている。

$$W(\mathbf{r}, h) = \frac{15}{7\pi h^2} \begin{cases} \frac{2}{3} - s^2 + \frac{s^3}{2} & 0 \leq s \leq 1 \\ \frac{1}{6} (2-s)^3 & 1 \leq s \leq 2 \\ 0 & s \geq 2 \end{cases} \quad \cdots \cdots \cdots (3)$$

ここで $s = |\mathbf{r}|/h$ である。

SPH 法で対象とする流れは、基本的には圧縮性流れである。圧縮性流れの連続の式(4)、Navier-Stokes の式(5)を、式(2)より粒子間相互作用モデルで置き換えると、それぞれ式(6)、(7)のように表わされる。

$$\frac{D\rho}{Dt} = -\rho \nabla \mathbf{v} \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$\frac{D\mathbf{v}}{Dt} = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \frac{\mu}{\rho} \Delta \mathbf{v} \quad \dots\dots\dots(5)$$

$$\frac{D\rho_i}{Dt} = \sum_{j=1}^N m_j (\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_j) \nabla_i W(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j, h) \quad \dots\dots\dots(6)$$

$$\frac{D\mathbf{v}_i}{Dt} = -\sum_{j=1}^N m_j \left(\frac{p_i}{\rho_i^2} + \frac{p_j}{\rho_j^2} + \Pi_{ij} \right) \nabla_i W(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j, h) \quad \dots\dots\dots(7)$$

ただし、粘性項に関しては次式を用いた⁽¹⁹⁾。これに関しては次章で詳しく述べる。

$$\Pi_{ij} = -\frac{\xi}{\rho_i \rho_j} \frac{4\mu_i \mu_j}{(\mu_i + \mu_j)} \frac{\mathbf{v}_{ij} \cdot \mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}^2 + (0.01h)^2} \quad \dots\dots\dots(8)$$

本研究で対象とする流れは非圧縮性流れであるが、SPH法に擬似圧縮性法を導入することで、非圧縮性流れにも適用がされている。その際、状態方程式には次式が用いられている。

$$p = B \left[\left(\frac{\rho}{\rho_0} \right)^\gamma - 1 \right], \quad B = \frac{100U^2 \rho_0}{\gamma} \quad \dots\dots\dots(9)$$

密度の変化に対して、圧力が大きく変化することで、擬似的に非圧縮性を実現する。本論文の解析では、 $\gamma=7$ としている。

SPH法の特徴として、界面の大変形や流体の分裂・結合を有する問題に対しての有効性が挙げられる。そのため構造物の変形・破壊といったような問題に対しても適用可能である⁽²⁰⁾。これより、赤血球のモデル化を考える際に、血球膜を構造物として取り扱うことも、本解析手法では充分可能であるといえる。

3.2 血液のモデル化 血液は血球成分と血漿から成っており、血球成分としては、体積割合として血液全体の40-45%を占める赤血球、0.5%以下の白血球と血小板がある。これより血液はその組成の割合から赤血球と血漿の二相流とみなせる。また赤血球は血球膜とそれに包まれた内部の流体から成っている。そこで本研究では、図1(a)の様な赤血球⁽²⁰⁾を図1(b)に示す様に二次元でモデル化した。赤血球については血球膜をばねによる弾性構造物、内部流体を液体粒子としてモデル化した。血漿は液体粒子として扱う。血液は非ニュートン流体であることが知られているが、その非ニュートン性は、低ずり速度のときは赤血球の凝集、高ずり速度のときは赤血球の変形と配向によるものとされている⁽²²⁾。血漿のみの場合においても非ニュートン流体であるという報告もある⁽²³⁾が、本研究では、血液

の非ニュートン性は、血球成分の作用によるものと仮定し、血漿はニュートン流体として扱うこととした。また赤血球内部流体もニュートン流体と仮定した。

赤血球膜内外の流体は膜粒子により仕切られ、血球膜を介してのみ相互作用を行う。図2に示すように赤血球膜と流体との相互作用は圧力を介して行う。流体

Fig. 1 Modeling of blood

Fig. 2 Action for elastic membrane particles from fluid particle and plasma particle

が赤血球膜へ与える力は、膜内外の流体の圧力差より計算する。逆に赤血球膜から流体へ作用する力は、赤血球膜の粒子に圧力を境界条件として与え SPH 法の相互作用より計算する。このとき赤血球膜と流体との間は non-slip 条件とし、摩擦力を考慮する。また赤血球膜は、膜粒子間のばねは伸びに対して力が比例する Hooke 則に従うものとする。このモデルは生体膜のモデルとしてよく知られている Helfrich のモデル²⁴⁾を、ばね弾性のみを考慮するように簡素化したものである。従来の Helfrich モデルでは曲げ剛性の効果を考慮する^{24)~26)}。しかし、5.2 節で考察するように、曲げ剛性効果は本論文で取り扱ったような問題や条件では逆にデメリットとなってしまうことが懸念されるため今回は導入をしていない。

4. 粘性の評価

1 章で述べたように微小循環における血流では粘性効果が支配的であり、その効果を正確に評価する必要がある。そのためここでは、ポアズイユ流れによって、式(8)中の粘性の強さを決めるパラメータ ζ の較正を行った。

4.1 粘性項 今回 non-slip 条件を考える際に、流体の粘性係数を μ 、新たに粘性の強さを決めるパラメータ ζ を導入して、それぞれを式(10)、式(11)のように置き換える。

$$\mu = \mu_i = \mu_j \quad \dots\dots\dots(10)$$

$$\zeta = \xi \frac{2\mu_i\mu_j}{(\mu_i + \mu_j)} = \xi \frac{2\mu^2}{2\mu} = \xi\mu \quad \dots\dots\dots(11)$$

これより、式(8)は次式のように書き換えられる。

$$\Pi_{ij} = -\frac{2\zeta}{\rho_i\rho_j} \frac{\mathbf{v}_{ij} \cdot \mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}^2 + (0.01h^2)^2} \quad \dots\dots\dots(12)$$

式(12)において、影響半径 h を一定とし、 ζ と粒子 i, j 間に働く流体の粘性力 Π_{ij} との相関を調べれば、 ζ とその流体の粘性係数 μ との対応が求まる。求めた ζ と μ の関係式より、解析する流体の粘性係数 μ に対応する ζ が一意に決まることになる。

4.2 ポアズイユ流れ 二次元ポアズイユ流れの解析より、 ζ と μ の関係を調べた。解析体系を図3に示す。解析体系・条件は、次章で行う赤血球モデルの検証解析と同様とした。 y 方向の流体粒子数を46個、粒子間相互作用の影響半径 $h=2\mu\text{m}$ である。また流体の密度 $\rho=1040\text{kg/m}^3$ とした。初期状態で静止

Fig. 3 Verification problem (Poiseuille flow) of viscosity model

Fig. 4 An example of the comparison of exact solution of Poiseuille flow and the numerical results

Fig. 5 The relation between ζ parameter and viscosity coefficient

している流体粒子に x 方向に圧力勾配力に相当する加速度 100m/s^2 を加え続けることで流体粒子が動き出す。解析結果の一つとして、 $\zeta=0.05$ の速度分布を、 $\mu=0.01235$ の厳密解と比較したものを図4に示す。静止状態から流れが発達していく過程、発達した状態ともよく一致している。 ζ を変えて計算した結果と対応する μ をプロットしていき、プロット点から最小二乗法よりフィッティングして得られた ζ と μ の関係を図5に示す。これからわかるように、 $\mu \propto \zeta$ であることがわかる。

5. モデルの検証

5.1 解析条件 モデルの検証として、二次元の定ずり速度下での単一赤血球の挙動を調べた。解析体系を図6に示す。総粒子数は2397個で、そのうち26個が赤血球膜粒子、31個が赤血球内の流体粒子、2058個が赤血球膜外の流体（血漿）粒子、282個が壁の粒子である。赤血球膜のばね定数に関して、本研究では膜の伸縮はわずかであると仮定し、南谷らによる赤血球の弾性計測の結果²⁹⁾よりも充分大きい値である $8 \times 10^3 \text{ N/m}$ とした。その他赤血球モデルのサイズは図1に示すようにヒトの赤血球とほぼ同じにした。赤血球膜外の流体（血漿）の粘性係数は比較対象となる実験^{29,30)}と合わせるため、 $0.023 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ とした。また赤血球膜内の流体の粘性は、実際の血漿の粘性（約 $0.0023 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ ）の10倍とした。赤血球膜、内部流体、外部流体全て密度は 1040 kg/m^3 とした。血漿のずり速度は、 $\mathbf{v} = (y, 0)$ となるように与えた。 $x'y'$ 座標系はモデルの重心を原点とし、 x 軸、 y' 軸はそれぞれ x 軸、 y 軸と平行である。

Fig. 6 Schematic figure of tank-tread test of the present erythrocyte model under a constant shear rate and its initial condition

5.2 解析結果と考察 ずり速度を $551/\text{s}$ としたときの解析結果のスナップショットを図7に示す。 t^* は無次元時間 ($t^* = t\dot{\gamma}$) である。膜の回転運動がわかりやすいように膜粒子2点の標記を変えてある。速度ベクトルは、赤血球の重心と共に移動する座標系から見たものである。初期状態では流れ方向に垂直に置かれていたモデルが、流れ方向に楕円状に細長くなり、弾性膜が回転運動を始めるのがわかる。この姿勢は流れに及ぼす影響が少ない向きをとろうとする赤血球の配向効果によるものであり、回転運動も血漿との間の摩擦を低減させている。また膜と内部流体との摩擦により、膜の回転運動に合わせて、内部流体に回転する速度場が形成されていることが、速度ベクトルからよくわかる。内部流体までモデル化したことにより、血漿、膜、内部流体の相互作用が考慮され、赤血球の挙動が正しく表現されているものと考ええる。

図8に、 $t^*=7.0$ のときの圧力コンター図を示す。この圧力は相対的な圧力である。データを 23×23 の等間隔格子点に補間し、そのデータをもとに作成されたものである。これより赤血球モデルの中心部、内部流体の部分の圧力が高くなっているのがわかる。速度場、圧力場から、赤血球膜にかかる応力に関して、今後詳細な検討をしていく。

図9は、赤血球の回転姿勢と変形形状を、解析とほぼ同じずり速度 $575/\text{s}$ においての実験結果と比較したものである。赤血球モデルの重心とその重心から最も離れた膜粒子とを通る直線と x' 方向とがなす角より、回転時の姿勢の傾きを表すと、 $6.7 \sim 16 \text{ deg}$ であった。実験では、 $5 \sim 7 \text{ deg}$ と報告されており解析結果とほぼ一致している。変形形状は、流れ方向に長軸をとった楕円形状をとっており、こちらもよく合っているが、長軸方向の長さに大きな違いがある。

図10は、任意の膜粒子の x' 座標の時間変化を、実験値と比較した。グラフは解析結果、実験値ともに極値をとる位置での曲率が高く、その間が直線的である。これは赤血球の変形形状が、図7、図9(b)の解析結果、図9(a)の実験結果にあるように、流れ方向に長軸をとった楕円形状をとるためである。このことから赤血球の変形形状がよく一致していることがわかる。しかし実験値は解析結果に比べ、振幅が大きく周期が長い。この振幅のずれは、変形形状の長軸方向のずれと同じ意味をもつ。その主な要因としては、次元の違いが挙げられる。実験は三次元であるため赤血球は三次元的に変形し、またずり速度が大きい条件下ではその変形は大きく、流れ方向に $20 \mu\text{m}$ もの長さとなり、膜はその外周分を回転運動する。本解析は二次

元であるため、陰な形で、表に現れない三次元方向に変形がなく、実験に比べ外周が短くなってしまい振幅も小さくなる。また、せん断速度はほぼ同程度であるため、膜の回転速度は等しく、周期が短くなったと考えられる。

赤血球は図 9(a)に示すように、ずり速度下で非常に大きな変形をし、楕円の長軸方向には非常に鋭角な形状を示す。そのため、図 10 の実験データに示されているように、赤血球膜の挙動は三角波的なものとなっている。Helfrich モデルで考慮されている曲げ弾性効果は、膜を構成する粒子数が十分多い場合には効果があると考えられるが、今回のモデル程度の粒子数の場合は、逆にその部位の角度が丸まってしまい、赤血球

膜の挙動を正しく表現することができないと思われる。そのため、本研究の赤血球モデルでは、赤血球膜にばね弾性効果のみを考慮している。図 10 からわかるように、曲げ剛性を考慮していないため、赤血球膜の三角波的な挙動は良く捉えられている。

今後三次元での解析を行い、このことに関して更に検証し、赤血球膜の伸縮（ばね定数）等も含め、考察していく予定である。

SPH 法の短所として、圧縮性流れの解法であるため、音速より時間刻みが制限されることが挙げられる。今回時間刻みは、 5×10^{-10} s としており、計算時間の短縮化は、今後の課題である。

Fig. 7 Numerical results of erythrocyte behavior under a shear rate of 551/s (Vectors represent the relative particle velocity from viewpoint of a RBC gravity center)

Fig. 8 Distribution of dimensionless pressure around erythrocyte ($t^* = 7.0$)

(a) Shape of erythrocyte of an experiment⁽²⁹⁾

(b) Standard shape of erythrocyte of a numerical analysis

Fig. 9 Comparison between the deformation of erythrocyte of a numerical analysis and that of an experiment⁽²⁹⁾ Fig. 10 Comparison between the time histories of the x' position of a numerical analysis and that of an experiment⁽²⁹⁾

6. 結 言

SPH 法に基づき、血漿を液体粒子として扱い、赤血球については、赤血球膜をばねによる弾性構造物、内部流体を液体粒子として表現する、血液のマイクロモデルを開発した。

その検証として、二次元において、定ずり速度下での単一赤血球の挙動を解析し、実験と比較して妥当

な結果を得た。このモデルで赤血球の基本的挙動である tank-tread 運動を良好に再現できることがわかった。また、同モデルにより血流で見られる軸集中現象の再現も可能であることが示されており^(13,14)、今回、提案した血液モデルは、血液のレオロジー的性質や微小循環における血流特性についてマイクロレベルで解析する上で有効であると考えられる。

今後、二次元から三次元への拡張、また実際の血管形状を想定した複雑体系での解析を行う予定である。

謝 辞

本研究の一部は文部科学省科研費 (No.14380389) の援助のもとに行われた。

文 献

- (1) 前田, ながれ, **21** (2002), 129-134.
- (2) 岡, バイオレオロジー (1984), 装華房.
- (3) P. Gachters et al., *Blood Cells*, **6** (1980), 799-812.
- (4) S. Ramanujan, C. Pozrikidis, *J. Fluid Mech.*, **361** (1998), 117-143.
- (5) 白井, 日本数値流体力学会誌, **9-4** (2001), 106-111.
- (6) 岩田・田中, 茨城講演会講演論文集 (2003-9), 35-36.
- (7) 石川・ほか2名, 機論, **66-650, B** (2000), 130-137.
- (8) 石川・ほか2名, 機論, **67-661, B** (2001), 30-37.
- (9) J.J. Monaghan, *Comput. Phys. Comm.*, **48** (1988), 89-96.
- (10) J.J. Monaghan, *J. Comput. Phys.*, **110** (1994), 399-406.
- (11) 高野, 茨城大学卒業論文 (2003-3).
- (12) 高野・ほか3名, 生活支援工学系連合大会講演予稿集 (2003-5), 36.
- (13) 高野・ほか2名, 理論応用力学講演会講演論文集 (2004-1), 363-364.
- (14) N. Tanaka, et al., *ECCOMAS 2004, Jyväskylä, Finland*, (2004).
- (15) 高野・田中, 日本流体力学会年会講演論文集 (2003-7), 100-101.
- (16) 高野・ほか3名, 機講論 No.03-1(VII) (2003-8), 41-42.
- (17) 坪田・ほか2名, 機講論 No.03-38 (2004-1), 61-62.
- (18) 坪田・ほか2名, 機講論 No.03-26 (2003-11), 297-298.
- (19) P.W. Cleary, et al., *J. Cast Metals Research*, **12** (2000), 335-355.
- (20) 酒井, 粒子法研究会第6回報告書 (2002), 42-46.
- (21) 橋本, 生体システム工学入門 (1996), 東京電機大学出版局.
- (22) 貝原・坂西, バイオレオロジー (1999), 米田出版.
- (23) S.E. Charn and G.S. Kurland, *Cardiovascular Fluid Dynamics* (ed. D.H. Bergel) (1972), 157-203.
- (24) W. Helfrich, *Z. Naturforsch* **28e** (1973), 693-703.
- (25) 鯉淵, 機論, **68-671, B** (2002), 94-100.
- (26) 和田・小林, 機論, **69-677, B** (2003), 14-21.
- (27) 南谷・ほか5名, 電学論, **122-9, C** (2002), 1664-1671.
- (28) T.M. Fischer et al., *Blood Cells*, **3** (1977), 351-365.
- (29) T.M. Fischer, *Biophys. J.*, **32** (1980), 863-868.