

## バイオメカニクス —流れの停滞による血栓形成のシミュレーションの進歩—

関西大学システム理工学部機械工学科

田地川 勉

Tsutomu TAJIKAWA



### 1. はじめに

現代バイオメカニクスの創始者であるY. C. Fung先生は、著書『Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues』<sup>1)</sup>の冒頭で、バイオメカニクスを「Biomechanics is mechanics applied to biology」と定義している。また、Fung先生は次の節の冒頭で、「Biomechanics seeks to understand the mechanics of living systems. It is a modern subject with ancient roots and covers a very wide territory」と述べていることから、バイオメカニクスは生体に関する分子から個体スケールまでの力学を取り扱う可能性があり、その範疇は非常に広い。

そのため、ここでは筆者の専門分野である流体力学・工学分野に焦点を当てたい。なお、昨今のコンピュータのめざましい発達によって、流体力学の世界では計算流体力学 (computational fluid dynamics, CFD) 手法による研究が大きなウエイトを占めている。特に、人工臓器にも関係する血流についての諸問題は、商用もしくはオープンソースのCFD解析ソフトの発展と汎用性の向上によって、流体力学者でなくても流れのシミュレーションが可能な時代になっている。しかし、血液特有の問題として血栓の形成や溶血が挙げられるが、現在のCFDではそこまで複雑な物理現象をモデルとして組み込んでいないため、それらの現象を再現できる状況ではない。そのため、例えば、血流停滞が主な原因で形成される赤色血栓の発生とその防止の予想は、これまでの血液のレオロジー的観点での研究成果と血行力学的観点での研究結果に基づいて、問題となる血流場の解

析結果を考察することによってなされてきた<sup>2)</sup>。

一方で、例えば、人工臓器内などで実際に血栓が形成されるのかについては、動物実験<sup>3)</sup>か、新鮮な動物血を使った *ex vivo* 実験<sup>4)</sup> のいずれかで確認されているのが現状である。しかし、今後は動物実験だけでなく動物由来の血液を使った実験の実施も困難になると予想されることから、動物や生体試料を使わない *in vitro* もしくは *in silico* による血栓形成の予測が望まれる。

そこで本稿では、ヒトや動物の血液を使わずに、人工臓器内における血栓形成を予測可能な実験法として、筆者らが試みている赤色血栓形成を再現した模擬血液の開発と、それを使用した流れの停滞による凝塊形成の模擬実験例について紹介する。

### 2. 流れの停滞による凝集形成を再現する模擬血液

牛乳に塩とレンネットと呼ばれる酵素とを加えることで、凝集・凝固が起こりやすくなることが知られており、これを過凝集性牛乳という。この工程は、バターやチーズを作るプロセスの一部として知られているが、古くからその凝塊形成過程が、赤色血栓の形成過程に類似していると指摘されてきた<sup>5), 6)</sup>。実際に、これを模擬血栓形成モデルとして使用した先行研究<sup>7), 8)</sup>があるが、赤色血栓の形成に重要な力学的刺激であるせん断ひずみ速度と過凝集性牛乳の凝塊形成との関係などのレオロジー特性が不明で、筆者らが検証実験をしたところ、生乳では成分調整が難しく、さらに、保存期間の影響を受けてレオロジー特性が変化した。そのため、筆者らはスキムミルクを使って、流れの停滞によって赤色血栓と類似の凝塊を形成し、かつ血液のレオロジー特性を再現した模擬血液を開発した<sup>9), 10)</sup>。これは、培養用培地としても使用されるスキムミルクと生理食塩液作製の食塩で構成されており、それらを純水に溶解

#### ■ 著者連絡先

関西大学システム理工学部機械工学科  
(〒564-8680 大阪府吹田市山手町3-3-35)  
E-mail. tajikawa@kansai-u.ac.jp

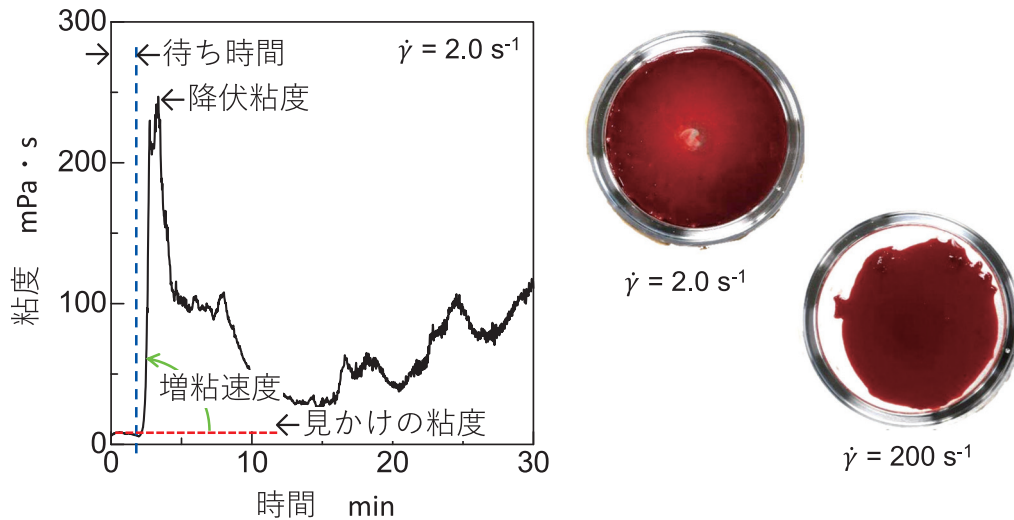


図1 ヒト血液の赤色血栓形成過程における粘度変化  
 $\dot{\gamma} = 2.0 \text{ s}^{-1}$ では粘度測定後にサンプル全体が血栓化しているが、 $\dot{\gamma} = 200 \text{ s}^{-1}$ ではほとんど血栓が見られない。

する濃度を変えることで、ある程度自由にレオロジー特性が調製でき、微生物由来のレンネットといわれる酵素を添加することで凝塊形成が促進される。その調製に先だって、筆者らは、ヘパリンナトリウム入りの真空採血管を使って採血したヒト血液に、硫酸プロタミン水溶液を添加することで抗凝固を解除した血液サンプルに対して、コーンプレート型粘度計を使ってそのレオロジー特性を評価した(関西大学研究倫理委員会承認済み)。その結果、図1に示すように、流れの停滞による赤色血栓形成過程では、血液は最初の数分間は負荷されたせん断ひずみ速度に応じた見かけの粘度を示し、一定時間(待ち時間)後に粘度が急上昇(この単位時間当たりの増粘量を増粘速度という)し、粘度の最大値(降伏粘度)を示した。別途実施したレオスコープによる観察結果と照らし合わせると、この時間経過に伴うレオロジー特性の変化は、一定時間低せん断に曝された血液が凝集することで急激に増粘し、その後成長した凝塊が粘度計の間隙を埋めたため、過度なせん断変形により凝塊が破壊されたことで粘度の降伏値が現れたと考えられる。なお、負荷するせん断ひずみ速度の増加に対して、待ち時間は一定もしくはやや増加する傾向に、また、粘度増加速度と降伏粘度は減少する傾向にあった。

このようなヒト血液とレオロジー特性がおよそ一致するスキムミルク溶液の構成濃度(一般的な牛乳に含まれるタンパク質量の8~9倍となるスキムミルク濃度など)を見いだすことで、図2に示すように $2 \text{ s}^{-1}$ 以上のせん断ひずみ速度において文献的<sup>11)</sup>に知られている血液と同じ粘度特性を示し、レンネットを添加することで流れのよどみに

200~300秒曝させると凝塊を形成する模擬血液が作製できた。

### 3. スキムミルクを使った模擬血液による血栓形成の模擬実験

開発した模擬血液の有用性を検証するために、筆者らが過去に開発に参加した、未破裂脳動脈瘤治療用の多孔薄膜カバードステントなどを使った経カテーテル治療を模した生体外模擬実験を行った。図3に示すような循環回路に、開発した模擬血液を充填し、回路の一部にシリコンゴムで作製した直径10 mmの嚢状動脈瘤を有する血管径5 mmの親血管モデルを設置した。さらに、その開口部に未破裂脳動脈瘤の血管内治療で使われるflow diverter stent (FD)を模した金属製メッシュや、国立循環器病研究センター発の多孔化カバードステント(NCVC-CS1, 以下, CS)を瘤開口部に経カテーテル的に留置し、レンネット水溶液を注入して凝固を促し、一定時間経過ごとに異なる色のアクリルカラーを含むスキムミルクを少量追加した。十分に凝塊形成したと考えられる実験開始10~30分後に実験を終了し、動脈瘤モデルをカミソリで切断して、瘤内に形成された凝塊を観察した。その結果、図4に示すように動脈瘤モデルは、FDやCSを留置しない場合でもスキムミルクの凝塊で塞栓されていたが、FDやCSの留置によって凝塊形成の進行速度が明らかに異なっていた。筆者らが過去に行った、ほぼ同じ大きさや形状の動脈瘤・親血管モデルを使って実施した流れの可視化実験および動物の新鮮血を使った血栓形成*ex vivo*実験の結果(図5)と比較すると、血液でもデバ

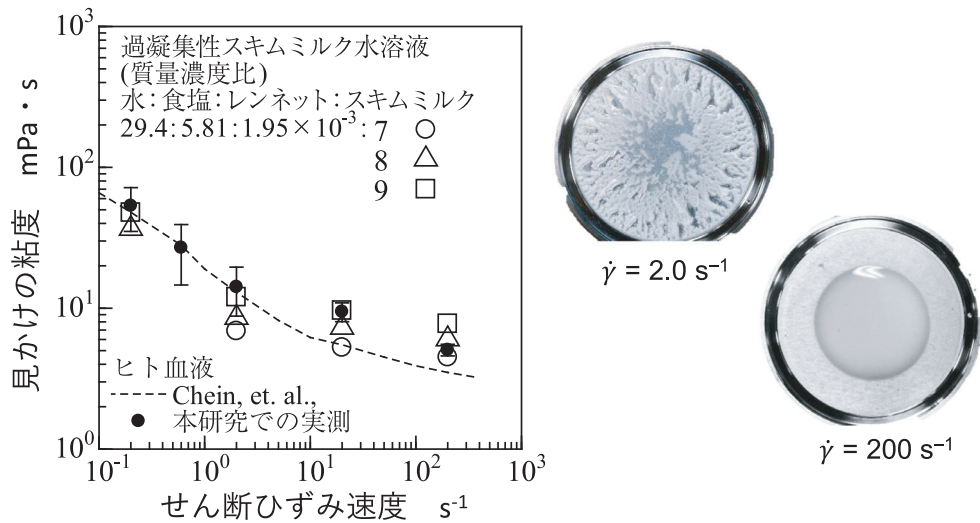


図2 過凝集性スキムミルクのレオロジー特性  
 $\dot{\gamma} = 2.0 \text{ s}^{-1}$ では粘度測定後に凝塊が形成されていたが、 $\dot{\gamma} = 200 \text{ s}^{-1}$ では凝塊形成がほとんど見られない。

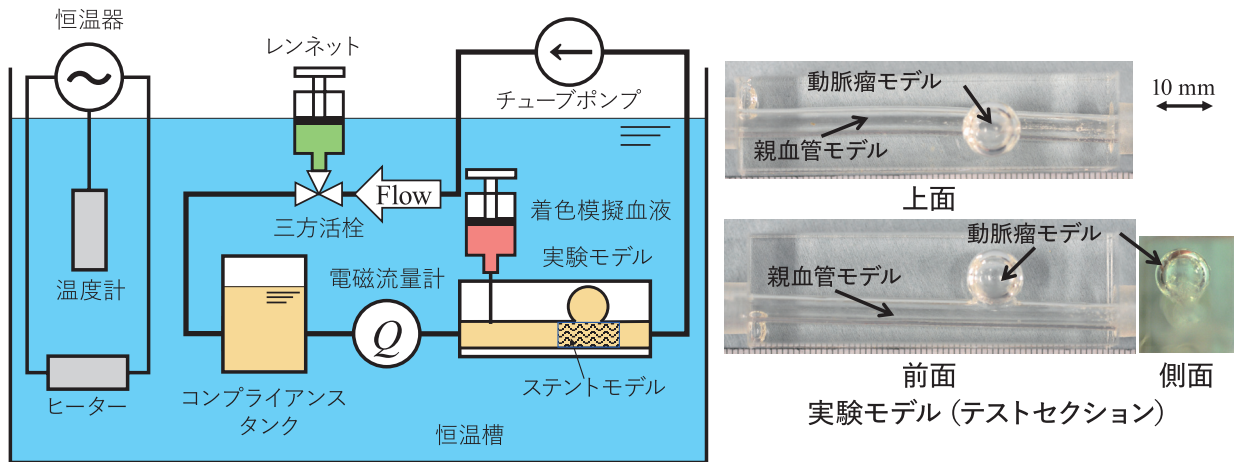


図3 流れの停滞による凝塊形成検証実験の装置概略図と使用した狭状動脈瘤を有する血管モデル<sup>10)</sup>

イス未留置で血栓が形成されていたが、塞栓効果が高いと考えられる低開口率・小孔径のCSを留置する方が、早期に血栓が形成された。また、主観的ではあるが形成された凝塊が硬く、FDやCSの留置によって流れが大きくよどむ瘤頂上部から凝塊が形成されていたことから、筆者らが開発した模擬血液は、実際の血液で起こり得る赤色血栓の形成をシミュレーションできたと考えられる。

また、本模擬血液を使った実験の場合、図6に示すように実験モデルのスライスする位置を変えて観察し、凝塊の色の情報を追跡することで、瘤内で凝塊が沈着・成長する様子を時系列で追跡可能となるため、最終的に瘤モデルが塞栓される過程を定量評価できるようになった。

#### 4. おわりに

本稿では、医療機器に関わる赤色血栓の形成をシミュレーションする方法として、流れの停滞により凝塊形成する模擬血液と、それを使った模擬実験例を紹介した。当然、シミュレーションとして現象の再現には限界があるが、取り扱いが煩雑な動物の新鮮血を使った実験よりも再現性の高い実験・評価が期待できる。なお最近では、コンピュータシミュレーションのための赤色血栓形成の数理モデルがいくつか提案<sup>12~16)</sup>されており、その結果についてはFDと血液を使った*in vitro*実験との比較・検証がなされたりしている。今後、血栓形成などの複雑な現象含んだCFDが

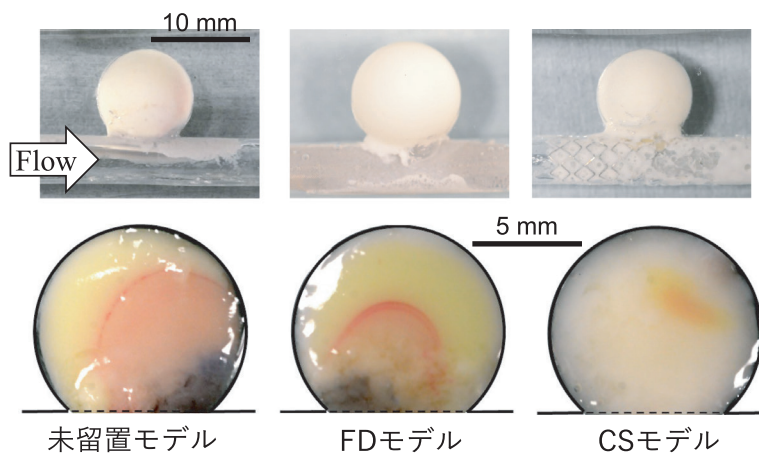


図4 流れの停滞により形成された動脈瘤内のスキムミルク凝塊の様子<sup>10)</sup>  
 実験では、黄→緑→赤→青→黒の順序で時間差を設けて色を注入。CSモデルの凝塊形成が明らかに早い。

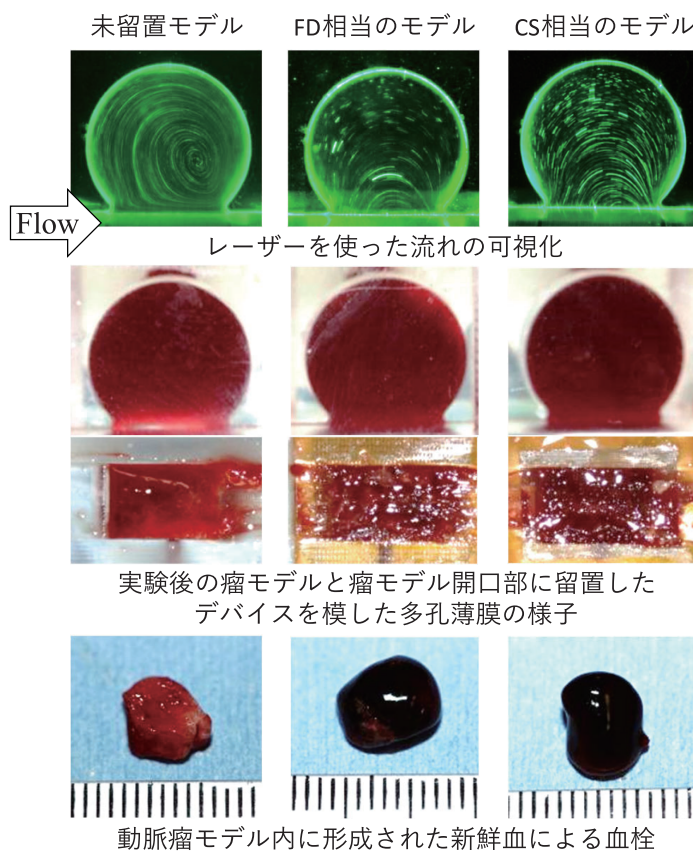


図5 動脈瘤モデル内の流れの可視化と動物血を使った血栓形成検証実験の比較  
 実験では、FDとCSの開口率などほぼ同じ多孔板を使用。開口率に応じて形成された血栓の硬さが異なっていた。

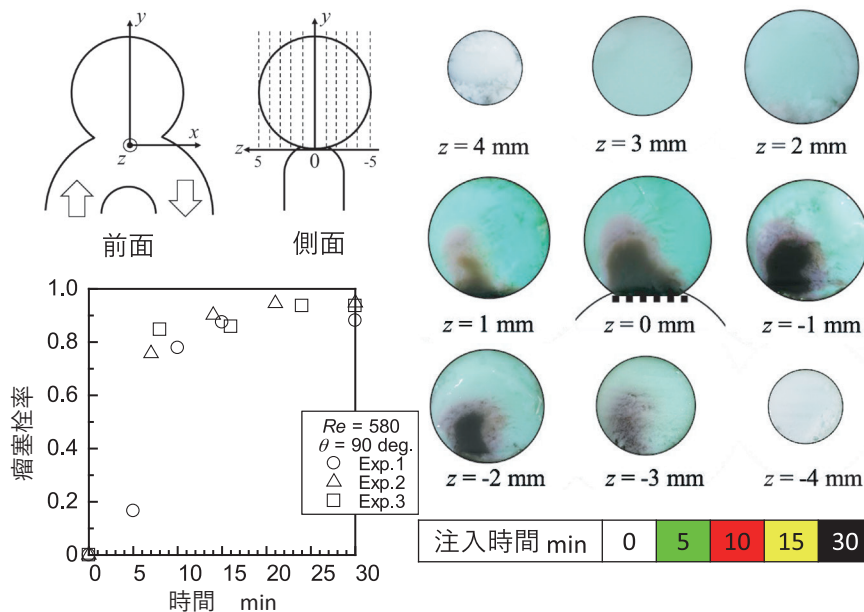


図6 動脈瘤モデル内での凝塊の成長の様子と塞栓率の経時変化  
 瘤の頂上部付近から凝塊形成が始まり、ネック部に向かって成長する様子が見とれる。スライス像から体積を計算すると、3回の実験ではほぼつきがない塞栓率の変化が捉えられた。

ますます期待されるが、血液を使った *ex vivo* 実験と動物実験を補助するためには、将来的に、模擬血液を使った *in vitro* 実験や、数理モデルに基づく *in silico* 実験において、より多くの事例のシミュレーションとその検証を行うことが必要不可欠と考えられる。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

## 文 献

- 1) Fung FC, Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues 2nd Ed. Springer-Verlag, New York, 1993
- 2) Otani T, Ii S, Shigematsu T, et al: Computational study for the effects of coil configuration on blood flow characteristics in coil-embolized cerebral aneurysm. *Med Biol Eng Comput* **55**: 697-710, 2017
- 3) Sasaki N, Ishii A, Yagi S, et al: Bioresorbable Poly (L-Lactic Acid) Flow Diverter Versus Cobalt-Chromium Flow Diverter: In Vitro and In Vivo Analysis. *Stroke* **54**: 1627-35, 2023
- 4) Matsuhashi Y, Sameshima K, Yamamoto Y, et al: Real-time visualization of thrombus formation at the interface between connectors and tubes in medical devices by using optical coherence tomography. *PLoS One* **12**: e0188729, 2017
- 5) Scott Blair GW, Burnett J: An equation to describe the rate of setting of blood and milk. *Biorheology* **1**: 183-91, 1963
- 6) Lewis JM, Macleod N: A blood analogue for the experimental study of flow-related thrombosis at prosthetic heart valves. *Cardiovasc Res* **17**: 466-75, 1983
- 7) Narracott A, Smith S, Lawford P, et al: Development and validation of models for the investigation of blood clotting in idealized stenoses and cerebral aneurysms. *J Artif Organs* **8**: 56-62, 2005
- 8) Koike K, Tsubota K, Liu H: Experimental measurements of thrombus formation under fluid flow in micro channel, *Proceedings of the 8th Asian-Pacific Conference on Biomechanics*: 232, 2015
- 9) 廣野 充, 矢野良輔, 田地川勉: 過凝集性スキムミルク溶液を使った赤色血栓形成過程模擬血液の開発. 日本機械学会 第32回バイオエンジニアリング講演会講演論文集: 1E25, 2019
- 10) Tajikawa T, Hirono M, Tanaka M, et al: Model blood for simulating red thrombus formation owing to stagnant blood flow using hypercoagulable skim milk solution, *J Biomech Sci Eng*, 2023, <https://doi.org/10.1299/jbse.23-00350>, Epub ahead of print.
- 11) Chien S: Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. *Science* **168**: 977-9, 1970
- 12) Aida Y, Shimano K: Modelling of blood coagulation in cerebral aneurysms. *WIT Trans. Biomed. Health*, **17**: 51-62, 2013
- 13) Bodnár T, Fasano A, Sequeira A: Mathematical models for blood coagulation. In: *Fluid-Structure Interaction and Biomedical Applications* Springer-Verlag, Basel, 483-569, 2014
- 14) Sarrami-Foroushani A, Lassila T, Hejazi SM, et al: A computational model for prediction of clot platelet content in flow-diverted intracranial aneurysms. *J Biomech* **91**: 7-13, 2019
- 15) Manning KB, Nicoud F, Shea SM: Mathematical and Computational Modeling of Device-Induced Thrombosis. *Curr Opin Biomed Eng* **20**: 100349, 2021
- 16) 倉田海登, 小宮賢士, 氏原嘉洋, 他: 血管内治療による脳動脈瘤血栓化予測に向けた血栓形成数理モデルの開発. 日本機械学会第33回バイオフロンティア講演会講演論文集, 2022