

流れを利用した新たな細胞選別法の基礎研究

[1] 要旨

赤血球の希薄浮遊液を微小正方形管に流し、下流断面における赤血球の位置を計測することにより様々な流速における赤血球の断面内分布を求めた。流速が大きいと赤血球は管断面の対角線上の4点に集中することが観察された。この現象は、慣性に加え赤血球の変形性に起因して周囲の流体から揚力(主流に対し垂直方向の力)を受けるために生じたもので、ほぼ同サイズの剛体球粒子では断面各辺の中央付近の4点に集まるのと対照的である。また、血漿に浮遊する剛体球粒子の断面内分布より血漿のもつ弾性の存在が示され、これが赤血球挙動に影響を与える可能性が示唆された。

[2] 本文

非常に多数の細胞の中から少数の特定細胞を検知し、選別することは、生化学の分野だけでなく最先端医療や診断医療を含む広範な分野で不可欠となっている。例えば、がん組織から血液中に出てくる循環腫瘍細胞はその数が極めて少ないために検出が非常に困難であるが、もし簡便な手法で精度の良い検出が可能となれば採血のみでがんの診断や治療のモニタリングが実現することになる。その他、白血球の種別ごとの検出や精子の選別など、細胞の検出・選別は様々な場面で重要となることから、その手法について世界中で多くの研究が行われている。多様な手法が開発される中で、マイクロ流体デバイスを用いた流れによる選別法は、流路内流れに浮遊した細胞に働く流体力(周囲の流体が細胞に及ぼす力)が細胞の大きさや物性によって異なることを利用した新たな選別手法である。細胞浮遊液を流体デバイスに流す操作のみで実現する簡便なこの手法は、連続的使用が可能で細胞の固定・染色が不要であるなどの多くの利点を有している。そのため、マイクロ流体デバイスが精巧かつ安価に作製できる現在では、標的細胞ごとに適切なデバイスが開発されればこの手法は極めて有力な細胞の検出・分離法となる。一方、流体デバイスの設計の基本となる、細胞に働く流体力については基礎研究が圧倒的に不足しているのが現状である。最も単純な、断面が円形あるいは正方形の真っすぐな流路内流れに対しても、浮遊粒子が周囲の流体から受ける力について十分には分かっていない。

流路内流れに浮遊する粒子が、流れ方向の力(抗力)だけでなく、流れと垂直方向にも力(揚力)を受けることが最初に報告されたのは60年ほど前である。円管内流れに剛体球粒子を浮遊させたところ、粒子は次第に管半径の約0.6倍の半径の位置に近づくことが見いだされた。この現象は流速がある程度速く慣性が大きくなると生じる現象であるため、慣性集中(**inertial focusing**)現象または**Segre-Silberberg(SS)**効果と呼ばれ、粒子が集まる環は**SS環**と名付けられた。その後の理論解析により、浮遊粒子には(放物型速度分布に起因する)剪断速度勾配による外向き揚力と壁効果による内向き揚力がはたらき、この二つの力の釣り合う位置として**SS環**の半径が決まることが明らかにされた。

マイクロ流体デバイスでは、流路の断面形状は一般に矩形である。円管のような軸対称性のない正方形管内の流れでは、浮遊粒子は一旦環状に集まるものの、最終的には各辺の中央付近の4点(図1(b)□印)に集中することが10年余り前に見いだされた。暫定的に粒子集中が起こる環は**pseudo-SS環(pSS環)**と呼ばれている。しかし、このような粒子集中は、粒子径と流路幅の比(サイズ比)が0.2程度より小さく、流速(正確には慣性力と粘性力の比を表すレイノルズ数 Re)が比較的小さな場合に

限られることが分かった。現在のところ、剛体球粒子が水、アルコールのような弾性をもたないニュートン流体の正方形管流れに浮遊している場合、サイズ比とレイノルズ数によって様々な粒子集中のパターンが存在することが実験や数値シミュレーションにより示されている。

細胞は一般に変形性をもち、流れの中では周囲から受ける応力により形状を変化させる。また、細胞を浮遊させる媒質としてしばしば用いられる高分子水溶液は粘弾性を示す。従って、細胞の慣性集中現象を考える場合には、浮遊粒子の変形性や媒質の弾性の影響も考慮する必要がある。

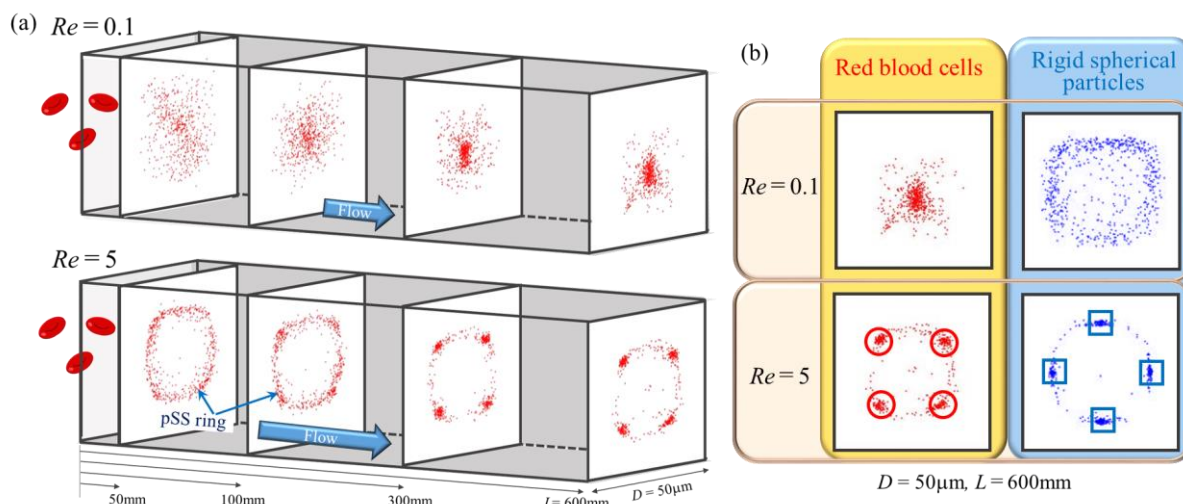


図 1 (a) 血漿中の赤血球分布の進展($L=50\sim 600\text{mm}$), (b) 赤血球と剛体球の分布の比較

近年、関西大学システム理工学部物理・応用物理学科の流体物理研究室では、微小管の出口付近を正面から観察する実験システムを開発し、管断面における浮遊粒子の位置を高精度で計測することにより精密な粒子分布を得ることを可能にした。これまで、ニュートン流体や高分子溶液に剛体粒子を浮遊させた場合の慣性集中現象を調べてきたが、最近、赤血球を浮遊粒子とした場合の実験結果を報告した。赤血球は静止状態で直径 $8\mu\text{m}$ 、厚さ $2\mu\text{m}$ 程度の円板状で大きな変形性をもつ。図 1(a)は、微小正方形管の入口から様々な距離の断面における赤血球分布を示すもので、計測された赤血球重心の位置を点で表している。流れが遅い($Re=0.1$)場合には既存研究で報告された管中心軸への集中を確認するとともに、流速が増加する($Re=5$)と対角線上の 4 点(図 1(b)○印)に集中することを初めて見出した。図 1(b)に示すように、ほぼ同じ大きさの剛体球粒子では、低速の場合ほとんど揚力がはたらかず断面全体に広がり、流速が大きくなると各辺の中央付近(図 1(b)□印)に集まるのと対照的である。この分布の差異は主として浮遊粒子の変形性の有無に起因することが、薬剤で変形性を劣化させた硬化赤血球を用いた実験により確認された。さらに、媒質として血漿とニュートン流体を用いた場合の剛体球粒子の分布の差異より、血漿のもつ弾性の存在が示され、これが赤血球挙動に影響を与える可能性が示唆された。この成果は、JPSJ の 2022 年 8 月号に掲載された。

原論文 (2022 年 7 月 14 日公開済)

Inertial Focusing of Red Blood Cells Suspended in Square Capillary Tube Flows

S. Tanaka and M. Sugihara-Seki, J. Phys. Soc. Jpn. **91**, 083401 (2022).

<情報提供：関 眞佐子（関西大学システム理工学部 教授/大阪大学大学院基礎工学研究科）>