대한기계학회 2000년도 추계학술대회논문집 B pp. 381~384 KSME 00F177

입자영상유속계를 이용한 혈관내피세포 모형 주위의 유동가시화

노형운* · 서상호** · 유상신***

Flow Visualization around the Endothelial Cell Model by the PIV System

Hyung-Woon Roh, Sang-Ho Suh, and Sang-Sin Yoo

Key Words: Flow Visualization(유동가시화), Endothelial Cell(혈관내피세포), Particle Imaging Velocimetry(입자영상유속계, PIV)

Abstract

Relationships between biochemical phenomena and hemodynamics on human endothelial cells are very important to study the mechanism of atherosclerotic formation and development. The objective of this study is to investigate the flow phenomena around the endothelial cell model by the PIV experiment. The microscopic images of endothelial cells were acquired by a CCD camera to fabricate the shape of endothelial cell. The cell models were fabricated by using a photoforming process. Two consecutive particle images were captured by the CCD camera for the image processing. Conifer powder as the tracing particles was added to water to visualize the flow field.The cross-correlation method was applied for the image processing of the flow visualization. Pressure and wall shear stress variations on the surfaces of the endothelial cells were calculated to investigate the effects of hemodynamic forces on the morphological changes.

1. 서 론

혈관질환의 병리학적 특성을 이해하기 위해 혈관내 혈액유동과 관련하여 가장 중요시되는 부분은 혈관내피세포 주위의 미소유동특성이다. 혈관내피세포는 모든 혈관계에 단일층의 혈액접촉면을 형성한다. 크고 작은 동맥에서 이들 혈관내피세포는 아세틸콜린이나 다른 혈액내의 신경호르몬들에 대한 반응으로 평활근세포를 이완하도록 하는 기능을 수행하고, 혈압이 일정한 혈액유동에 의한 기계적인 자극에 능동적으로 반응을 하는 것으로 여겨지나 그 기전에 대해서는 자세하게 밝혀진 바가 없다. 혈관내피세포가 혈류역학적인 힘의 매개체라는 생각은 이들 혈관내피세포가 혈관계의 긴장력을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다. 혈관내피세포층은 유동장을 형성하는 혈액과 혈관계사이에서 이들을 연결시켜 주는 역할을 하고 있으므로, 유동장 속에 노출된 혈관내피세포는 혈류역학적인 힘에 의해 구조적인 혹은 동적인 특성이 변화되기 쉽다. 혈관내피세포의 하부세포막은 세포외기질에 점착이 잘 되도록 특화되어 있으며, 수직부분의 세포막은 주위의 혈관내피세포들과 교감할 수 있는 gap junction들이 많이 분포하고 있어 혈관내피세포들 사이에서 일어나는 신호의 전달이 원활해지도록 한다. 세포외기질상에 도포된 혈관내피세포가 혈류의 흐름에 의해 받는 영향에 대한 분석은 생체내에 이식된 혈관내피세포의 생리적 반응을 이해할 수 있으며, 동맥경화 등의 혈관계 질환의 기전을 밝히는 데에도 매우 중요한 역할을 한다. 특히, 혈액유동에 의한 압력과 전단응력에 반응하는 혈관내피세포의 생리적 의한 신체에 이식된 인조혈관 등의 혈액 및 생체적 합성을 파악하는데 가장 기본이 된

* 숭실대학교 기계공학과 연구원
** 숭실대학교 기계공학과 교수
*** 한국항공대학교 항공우주 및 기계공학부 교수

다고 할 수 있다.

혈관내에서 혈관내피세포는 유동방향으로 일렬로 정렬하지만 유동장의 교란으로 인해 혈관내피세포는 형태학적 변화를 나타낸다. 이러한 형태학적인 변화는 혈관질환과 관련이 있는 것으로 증명되어 있다[1,2]. 따라서 혈관내피세포의 거동에 관한 연구는 혈관질환의 치료에 크게 기여할 것으로 기대된다.

본 연구에서는 혈관내피세포주위의 유동장을 가시화하여 혈류역학과 혈관내피세포의 상관관계를 분석하고자 한다. 이를 위하여 혈관내피세포의 형상을 1000배정도 확대하여 찰흙으로 제작한 후 전단응력을 부가하여 혈관내피세포 모형주위의 유동현상을 영상처리기법으로 가시화하였다.

2. 혈관내피세포의 형상

혈관내피세포의 형상을 얻기 위하여 생체조건과 유사한 실험장치를 구성하였다[3]. 혈관내피세포층의 아래와 윗쪽에 세포관찰용 창을 설치하여 현미경으로 관찰이 용이하도록 하였으며, 현미경 위에 직접 설치하여 세포의 거동을 시간에 따라 연속적으로 관찰 할 수 있도록 하였다. 상부 저장조에는 시험유체를 37℃로 유지 할 수 있는 온도조절기를 병렬로 설치하였고, 내장된 CO_2 발생기로 시험유체의 산도를 생리적 조건으로 만들어 주었다. 온도조절기는 순환유체의 온도를 직접적으로 관찰하면서 가열기로 물을 가열하였다. 저장조 사이의 높이차를 이용하여 유동이 형성되도록 하였다. 배양액을 흘려가면서 혈관내피세포의 변화를 관찰한 사진은 Fig. 1과 같다. Fig. 1은 유동에 노출되기 전 혈관내피세포의 형태이다. 유동실험을 시작하기 전 실험장치의 표면에 처음 놓여진 세포는 조약돌(cobble-stone)형태를 나타낸다.

Fig. 1과 같은 알돌형태의 내피세포형상은 식 (1)과 같이 나타내고, Fig. 2(a)와 같이 찰흙으로 내피세포 모형을 제작하였다. 만들어진 세포모형을 Fig. 2 (b)와 같은 기준형태자를 이용하여 형상을 확인하였다.

Fig. 2(a)와 같이 결정된 내피세포 형상의 크기는 in vitro실험시 가장 먼저 결정되어야 하는 파라미터이다. 선행연구자인 Shuichiro등[4]은 내피세포주위의 유동장을 PTV로 실험을 하기 위하여 약 100배로 확대하였다. 그러나, 본 연구에서는 PIV실험시 원통형 렌즈가 만들 수 있는 시트빔의 최소두께가 5mm정도이고 유동장을 정확히 파악하기 위해서는 적어도 내피세포의 높이가 1cm정도는 되야 된다고 판단되어 혈관내피세포의 높이를 1cm로 맞추었다 이는 실제 혈관내피세포의 평균이인 10㎛의 약 1000배이다.

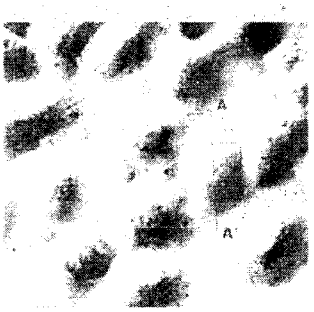
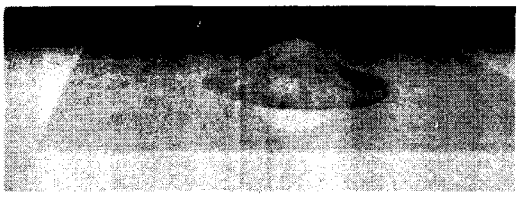
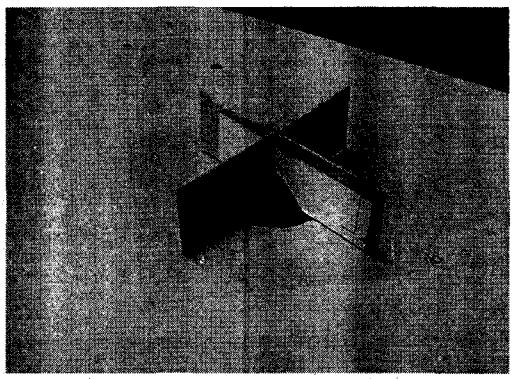


Fig. 1 Micrograph of endothelial cells

$$y_{shape} = 0.00423\left[1 - \cos\left(\frac{2\pi x}{0.025}\right)\right] mm \qquad (1)$$



(a) shape



(b) reference scales

Fig. 2 The shape of the endothelial cell model and reference scales

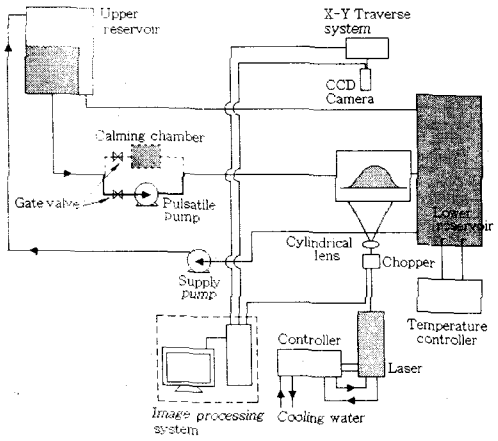


Fig. 3 Schematic diagram of the experimental setup

3. PIV 실험장치

혈관내피세포 주위의 유동특성을 가시화하기 위한 실험장치의 개략도는 Fig. 3과 같다. 실험장치는 유동순환장치와 PIV장치로 구성되어 있다. Fig. 3과 같이 시험부는 두께가 5 mm인 투명 아크릴판으로 100mm의 사각 채널로 만들었다. 혈관내피세포 모형 주위의 가시화영상을 획득하기 위한 광원으로는 출력 5W의 아르곤-이온 레이저를 사용하였다. 출력 5W의 아르곤-이온 레이저로부터 투사되는 점광원의 확산을 방지하고, 강도를 증가시키기 위하여 초점렌즈를 사용하였다. 평면경을 통한 점광원은 원통형 렌즈를 통과하면서 혈관내피세포의 중심축 단면을 가로지르는 시트빔을 만들 수 있다. 이 시트빔을 혈관내피세포 중심으로 조사해서 입자들의 산란광을 CCD카메라를 이용해서 촬영한다. 원심펌프를 이용해서 저수조에서 고수조로 작동유체를 공급하였다. PIV를 이용한 유동가시화실험에서 영상을 얻기 위해 유동장에 투입되는 추종입자의 밀도는 작동유체의 성질과 비슷한 입자를 사용하여야 한다. 따라서 유동을 잘 추종할 수 있는 입자로서 선행연구[5]의 결과에 따라 천연상태의 송화가루(conifer powder)를 채택하였다. 본 연구에서는 미소 시간간격을 주고 이 시간간격 사이에서 두 장의 영상을 획득하여 영상을 분석하는 2-frame법을 이용하였다. 일반적으로 영상분석은 추종입자와 배경으로 이분화된 영상으로부터 두개의 프레임

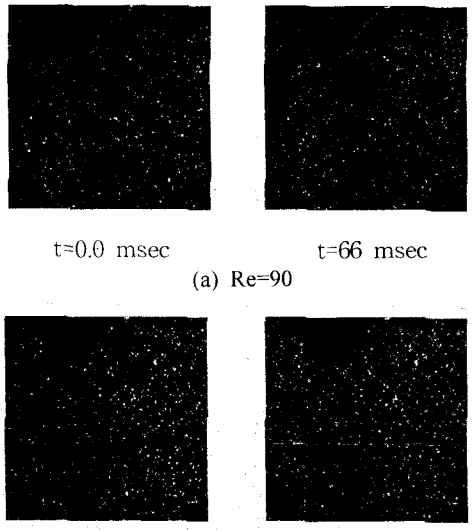


Fig. 4 Acquired raw images around the endothelial cell at Re=220

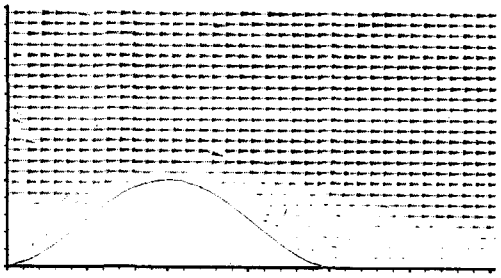
간의 미소시간동안 각 입자들이 이동한 변위를 계산하여 속도를 계산하게 된다. 계조치상호상관법(grey level cross correlation method)을 이용하여 유동장내의 속도벡터를 구하였다.

4. 결과 및 검토

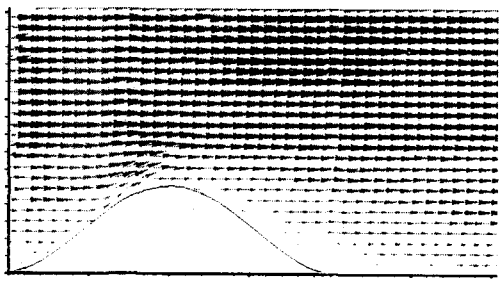
혈관내피세포 주위의 유동장을 해석하기 위하여 혈관내피세포 모형을 이용하여 PIV 실험을 수행하였다. 계조치 상호상관 PIV 방법으로 속도벡터를 획득하기 위하여 구한 한 쌍의 영상을 Fig. 4에 나타내었다. 해석영역은 CCD 카메라 초점거리의 제약으로 인하여 혈관내피세포의 후류영역으로 한정하였다. 계조치 상호상관법을 적용하기 위하여 격자의 크기는 40×40으로 하였고, 상관영역과 탐색영역의 크기는 시행착오법으로 결정하였다.

Fig. 4의 영상은 상온인 작동유체의 유량이 각각 9.19ml/s와 22..88ml/s 일 때 측정된 영상이다. 이때의 평균속도는 0.0919cm/s와 0.228cm/s로서 레이놀즈수는 각각 90과 220이다. 이는 실제의 혈관내피세포 주위 유동의 레이놀즈수(약 13.7)에 비하여는 약 6배와 15배 큰 정도이다.

Fig. 5에는 계조치상관법으로 계산한 속도벡터를 나타내었다. 그림에서 보듯이 혈관내피세포 주위의 유동장은 저레이놀즈수 유동장이다. 혈관

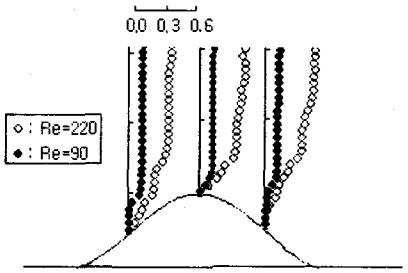


(a) Re=90



(b) Re=220

Fig. 5 Velocity vector maps around the endothelial cell model



Fig, 6 Comparison of the velocity profile on the endothelial cell for different Reynolds numbers

내피세포 전면에 부딪힌 유동장은 혈관내피세포 표면을 따라 흘러가고 있음을 알 수 있다. 혈관내피세포를 따른 유동은 저레이놀즈수의 유동이기 때문에 후류영역에서는 유동이 비대칭적임을 알 수 있었다. 이를 확인하기 위하여 Fig. 6에 레이놀즈수가 다른 경우의 속도분포를 비교하였다. Fig. 5에서 살펴본 바와 같이 후류에서 유동이 비대칭적으로 발생되고 있음을 알 수 있었고, 유동장이 빨라짐에 따라 내피세포 전면에 강한 속도구배의 영향을 받음을 알 수 있다. 즉 유동장이 저레이놀즈수이더라도 세포의 전면에는 계속적인 전단응력과 압력을 받게 된다. 이 때문에 내피세포는 유동장에 노출된 시간이 증가함에 따라 평균항력을 낮추는 방향으로 형태를 변화시키게 된다.

5. 결론

본 연구에서는 혈관내피세포 모형주위의 유동장을 PIV 실험으로 가시화하였다. 혈관내피세포 모형 주위의 유동장은 저레이놀즈수 유동장이므로 혈관내피세포 전면에 부딪힌 유동은 혈관내피세포를 따라 후류로 흘러가고 있으며 후류영역에서는 유동이 비대칭적으로 발생됨을 알 수 있었다. 레이놀즈수가 증가함에 따라 내피세포 전면에 강한 속도구배의 영향을 받음을 알 수 있다.

후기

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 지원되었음(1998-001-E00066)

참고문헌

(1) Malek, A. M. and Izumo, S., 1996, "Mechanism of Endothelial Cell Shape Change and Cytoskeletal Remodeling in Response to Fluid Shear Stress", J. Cell Science, Vol. 109, pp. 713-726.

(2) Barbee, K. A., Davis, P. F., and Ratneshwar Lal, 1994, "Shear Stress-Induced Reorganization of the Surface Topography of Living Endothelial Cells Imaged by Atomic Force Microscopy", Circulation Research, Vol. 74, No. 1, 163-171.

(3) 서상호, 유상신, 민병구, 장준근, 1998, "혈액유동이 혈관내피세포의 형태변화에 미치는 영향", 대한기계학회논문집 B권, 제22권, 제11호, pp. 1521~1529.

(4) Shuichiro, F., Ai, Nagatsu, Magato Kaibara, Kptaro, O., and Kazuo, T., 1999, "Wall Shear Stress Distribution on the Surface of Realistic Endothelial Cell Model" BED-Vol. 43, Advanced in Bioengineering, ASME

(5) 서상호, 최율, 노형운, 도덕희, 1998, 입자영상유속계와 컴퓨터시뮬레이션을 이용한 분기관내 유동해석", 대한기계학회 논문집 B권, 제23권 제 1호, pp. 123~130.