

# 赤血球の光散乱特性のモデル化と血流中の光伝搬解析

迫田 大輔<sup>\*,\*\*</sup>・高谷 節雄<sup>\*</sup>

## Light Scattering Model of a Biconcave Red Blood Cell and Analysis of the Photon Migration in Continuous Blood Flow

Daisuke SAKOTA<sup>\*,\*\*</sup> and Setsuo TAKATANI<sup>\*</sup>

We have sought for non-invasive diagnosis of blood during the extracorporeal circulation support. To achieve the goal, we have newly developed a photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) model for optical propagation in the flowing blood. The pciMC actually describes the interaction of photons with 3-dimensional biconcave red blood cells (RBCs). The scattering is solved by micro-scopical RBC boundary condition based on geometric optics. By using pciMC we modeled the RBCs inside the extracorporeal circuit will be oriented by the blood flow. The pciMC model can duplicate the changes in the photon propagation through moving RBCs with various orientations and accurately predicts the hematocrit within 1% error rate. The pciMC can be used to gain an understanding of the optical properties of blood and their dependency on the rheological conditions, and consequently, aid in the development of non-invasive blood monitoring in extracorporeal circulation therapies.

**Key words:** Monte Carlo simulation, blood, optical non-invasive diagnosis

### 1. 背 景

可視および近赤外波長の光は生体にとって無害であることから、生体の非侵襲計測への応用が期待されている。しかしながら、この波長帯の光は生体内で強く散乱するため信号が大きく歪む。生体内の光伝搬の理解は、こうした信号の歪みを補正し、定量的な生体信号の計測やイメージングを実現するために必要不可欠な問題である。われわれは経皮的心肺補助 (percutaneous cardiopulmonary support: PCPS)、体外膜型酸素化 (extracorporeal membrane oxygenation: ECMO)、中・長期的な左心室補助 (left ventricular assistance: LVA)、または血液透析などの循環器系デバイス使用下における血液の非侵襲かつ連続的なモニタリング実現のために、血液内の光伝搬の解明に取り組んできた。血液は生体における代表的な光吸収・散乱体であり、その吸収・散乱はおもに赤血球によって引き起こされる。赤血球は流動しているため、血流中の赤血球の配向や

分布などの変化によって血液の光学特性は変化する。したがって血液内の光伝搬を表現するためには、血球細胞レベルの振る舞いを表現できるモデルが必要となる。生体組織内光伝搬シミュレーションとしてモンテカルロ法 (Monte Carlo method: MC) がしばしば使用されるが、通常の MC は組織全体のマクロな光学特性を入力してシミュレーションする方法であり、生体組織の構成単位である細胞レベルの振る舞いを表現することは困難であった。この問題を解決するため、実際に赤血球をモデル化し、幾何光学に基づいて赤血球境界における相互作用によって光子の散乱を解く、光子細胞相互作用型のモンテカルロシミュレーション、photon-cell interactive Monte Carlo (pciMC) シミュレーションを開発した<sup>1-3)</sup>。本研究では、pciMC を用いて実際に ECMO 循環回路における管内を流れる赤血球の光伝搬モデルを開発したので、その内容について報告する。

\*東京医科歯科大学生体材料工学研究所生体システム分野 (〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10)

\*\*現所属：(独)産業技術総合研究所ヒューマンライフテクノロジー研究部門 (〒305-8564 つくば市並木 1-2-1 東事業所)

E-mail: sakota.ao@aist.go.jp

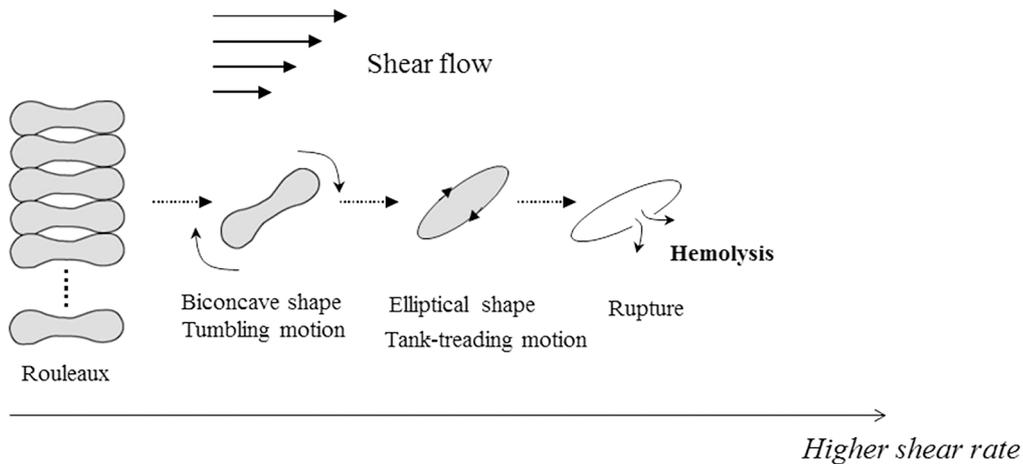


図1 セン断と赤血球の振る舞いの関係。

## 2. 方 法

### 2.1 *in vitro* ECMO 回路における光計測実験

血液の光学特性は血液のレオロジーと密接に関連しているため、血流光伝搬モデルの開発は赤血球がどのように流動しているのかを解くことでもある。したがって、まず赤血球の流場における振る舞いを把握し、それに基づいて光伝搬モデルを設計していくことが非常に重要である。本研究では ECMO 回路における管内血流の光伝搬モデルの開発にあたり、実際に *in vitro* において ECMO 回路を構成して血液を環流させ、光計測を行った。ここではその内容を血液の流動学 (レオロジー) に関する基礎的知見を交えながら説明する。

#### 2.1.1 セン断流場における赤血球の振る舞い

図1に、せん断流場における赤血球の振る舞いを示す。これらはおもに単純せん断流場において得られた知見であり、複雑な流場においては一概には当てはまらないことに留意していただきたい。Friebelら<sup>4)</sup>は矩形断面流路で、せん断速度0~1000 1/sの範囲における、せん断と血液光学特性の関係を調査した。その結果に基づいて説明する。Friebelらは0~200 1/sの低せん断域で、最も血液光学特性と関連が深いのは赤血球の凝集反応であると報告している。特に無せん断では、強い凝集を示し、顕微鏡下で赤血球を観察すると連銭 (rouleaux) とよばれる赤血球が連なる凝集も観察される。赤血球凝集反応は、全血では赤血球外の血漿たんぱくが必要であり、例えば生理食塩水中では凝集反応は示さない。血液を流動させ、せん断速度が増加していくと凝集していた赤血球群は流体力によってばらばらになり、200 1/s以上のせん断速度では、ほぼ凝集による力は働かないとされる。赤血球は低せん断下では流れ方向に転がりながら流動する (tumbling motion)<sup>5)</sup>。1000 1/s以上では、せん断応力により赤血球膜が伸展し、変形す

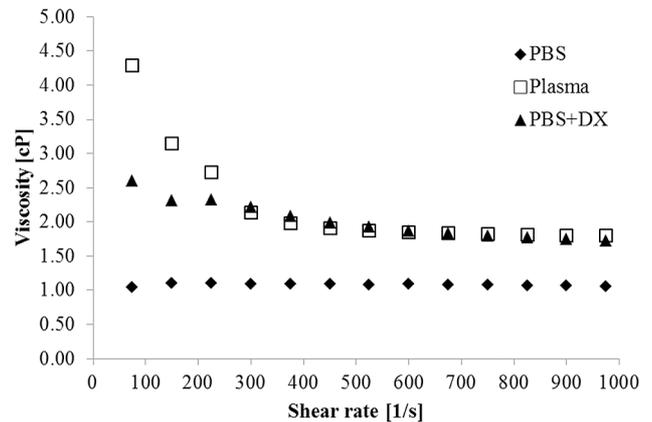


図2 赤血球外液の粘性。

る。また、このような高せん断下において、かつ赤血球外液の粘性が高いとき、赤血球膜のみが回転する現象 (tank-treading motion) がしばしば観察される<sup>6)</sup>。

循環器系デバイス使用下における血液の光診断の応用を目指すことを考慮し、本研究では0~800 1/sの範囲における実験を行うこととした。したがって、このせん断範囲では凝集と tumbling motion について考える必要がある。そのための血液サンプル作成方法や実験方法について説明する。

#### 2.1.2 血液サンプルの作成方法

血液は食肉処理場より仕入れた新鮮ブタ血液を用いた。抗凝固のため、採血後ただちに血液 1000 cc に対して 4% クエン酸ナトリウム溶液を 100 cc 添加した。血流中の赤血球の振る舞いを決定させる要素は、血漿たんぱくによる凝集能と血球外の粘性の2つが考えられるため、3種の血液サンプル「RBC\_Plasma」「RBC\_PBS」「RBC\_PBS + DX」を作成した。まず血液を遠心分離し、血漿のみを抽出し、白血球および血小板は除去した。RBC\_Plasma は、残った赤血球層を血漿で懸濁することで作成された。RBC-PBS は、

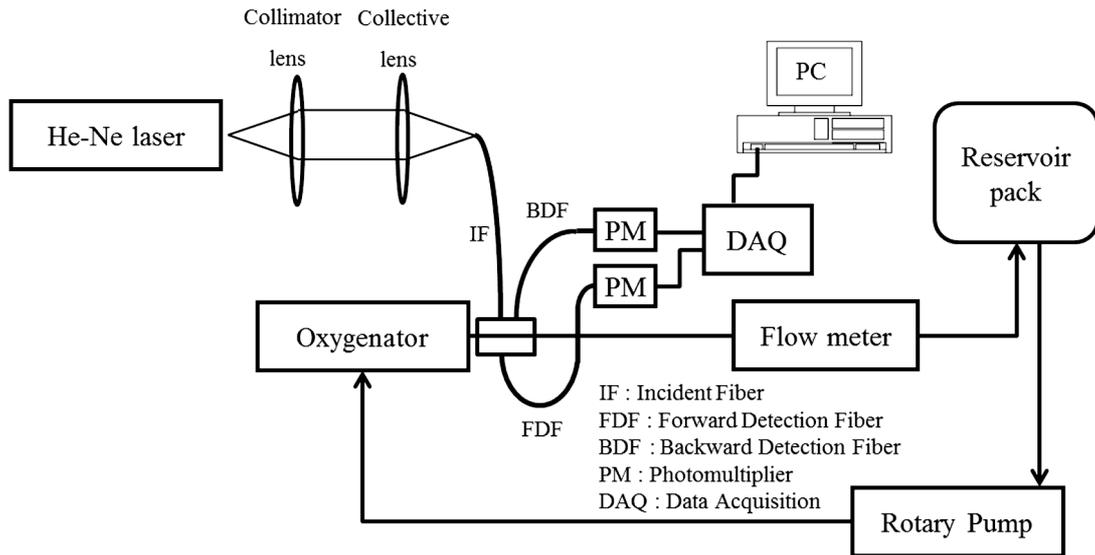


図3 *in vitro* ECMO 回路における光計測概略図.

赤血球層にリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH=7.4, 300 mosmol/L) を懸濁することで作成された。ここで、血漿と PBS の粘性は異なるため、分子量 60000 のデキストランを PBS335 cc に対して 5 g 添加し、赤血球外粘性をできるだけ血漿に近づけたものを赤血球層に懸濁した RBC\_PBS+DX を作成した。図 2 に、それぞれの赤血球外液の粘性を示す。また、各赤血球外液の屈折率の違いを考慮するため、アッペ屈折率計 (DR-M2, (株)アタゴ) により波長 656 nm における屈折率を測定した。結果、Plasma は 1.3461, PBS は 1.3323, PBS+DX は 1.3348 であった。粘性と屈折率の計測、および以後の実験は 20°C で行った。各サンプルの凝集能を光学顕微鏡にて観察したところ、RBC\_Plasma は明らかな凝集反応を示した。RBC\_PBS は全く凝集反応を示さず、赤血球は一様に分散した。RBC\_PBS+DX は 3 分間ほどの観察で、わずかではあるが凝集が認められた。これはデキストランに凝集作用があるためである<sup>7)</sup>。

### 2.1.3 光計測の実験方法

実験の概要を図 3 に示す。回路には 500 cc の血液サンプルを充填した。連続流ポンプ (HPM-15, 泉工医科工業 (株)) にて血液を駆動し、人工肺 (Baby-RX, テルモ (株)) にて酸素飽和度を 100% とした。回路チューブには 1/4 インチ (6.35 mm) のタイゴンチューブ (サンゴバン (株)) を使用した。人工肺流出口から 70 mm の距離において、設計した光学プローブを取り付けた。プローブ部の構造を図 4 に示す。このプローブは円形のタイゴンチューブの上面および下面を圧迫することで、矩形な流路形状をつくりだしている。He-Ne レーザー (波長 632.8 nm) を光ファイ

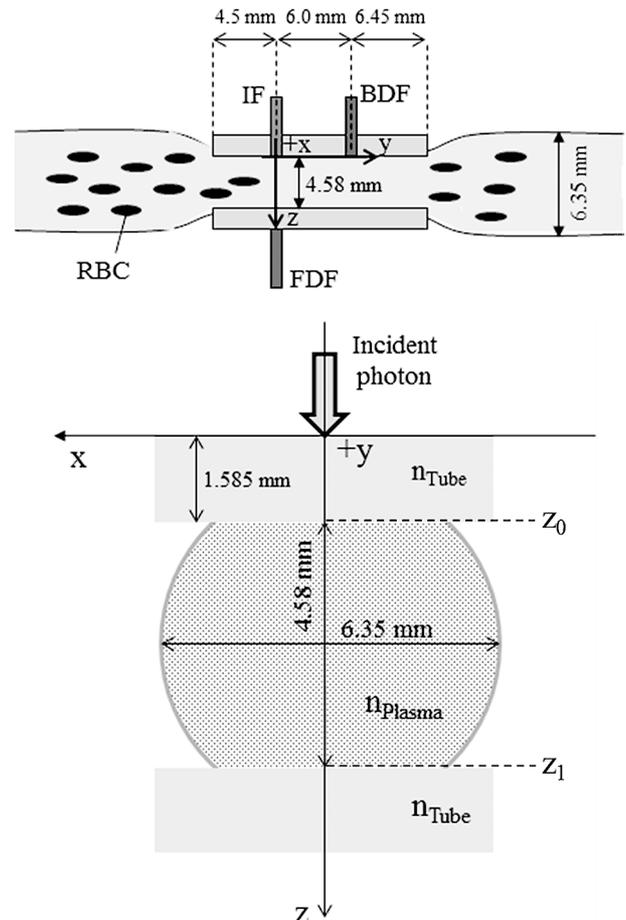


図4 光学プローブ部の構造.

バー (コア径 200  $\mu\text{m}$ , 外形 2.4 mm, 広がり角 20°) に導き、チューブ上面部に対して垂直に照射した。透過散乱光および側方反射光をそれぞれコア径 50  $\mu\text{m}$  のファイバーにて受光し、光電子増倍管 (H9305-03, 浜松ホトニクス

(株)に導いた。光電子増倍管の信号をデータ集録 (Labview DAQ system (NI UBS-6008), 日本ナショナルインスツルメンツ(株)) にてリアルタイムに集録, 処理した。ポンプ流量は約 0~2 L/min の範囲で変動させた。ある流量時のせん断速度  $\gamma$  は以下の式を用いて計算された<sup>8)</sup>。

$$\gamma = \frac{3Q}{e^2l} \quad (1)$$

ここで,  $Q$  は流量 [L/min],  $e$  [mm] は矩形流路厚さで  $e = 4.58$  mm,  $l$  [mm] は矩形流路幅で  $l = 6.35$  mm である。式 (1) より, この実験では 0~800 1/s のせん断速度となった。

赤血球凝集は血液ポンプを停止すると急速に進行する。今回の実験では, 赤血球の凝集状態をコントロールするため, まず流量 2 L/min で十分に環流した後, 突然ポンプを停止させた。流量が 0 L/min になったのを確認してただちに連続流ポンプを駆動させ, せん断速度 800 1/s に達するまで徐々に回転数を増加させていき, 計測を行った。

## 2.2 pciMC の概要

pciMC の基本については文献<sup>1-3)</sup> に詳細が記載されている。ここではその概要について述べる。pciMC においては, 実際に赤血球が溶媒 (全血においては血漿) 中に分布していると考慮する。このとき, 光子が血球外を飛行して赤血球に衝突するまでの距離であるステップサイズは, 次の式であらわされる。

$$\begin{aligned} S &= \text{Rund}(0,1) \frac{1}{\mu_c} \\ \mu_c &= \frac{HCT}{MCV} \sigma_c \\ \sigma_c &= \frac{2 \int_0^\pi r(\xi) d\theta + \pi \left[ r\left(\frac{\pi}{2}\right) \right]^2}{2} \\ r(\xi) &= 3 \sin^4 \xi + 0.75 \end{aligned} \quad (2)$$

ここで,  $\text{Rund}(0,1)$  は 0 から 1 までの乱数をあらわす。 $\mu_c$  [1/cm] は従来の MC という散乱係数に相当するが, pciMC は幾何光学に基づくため,  $\sigma_c$  [cm<sup>2</sup>] は赤血球の平均幾何断面積としている。HCT はヘマトクリット ( $0 \leq \text{HCT} \leq 1$ ), MCV は平均赤血球体積 [cm<sup>3</sup>] である。 $r(\xi)$  は赤血球の biconcave 形状をあらわす表面関数である<sup>9)</sup>。赤血球は図 5 に示されるような完全軸対称形状となっている。光子ステップを経て散乱イベントが発生すると, pciMC プログラムは赤血球散乱処理のための pciMC table list を開く。table list の内容を図 5 に示す。まず光子が赤血球に対してどのように入射されたのか, その入射位置と入射ベクトル ( $P_n, \bar{\chi}_m$ ) を決定する。pciMC は ( $P_n, \bar{\chi}_m$ ) に対応する散乱後の位置, ベクトル, およびその位置に至るまでの赤血球内

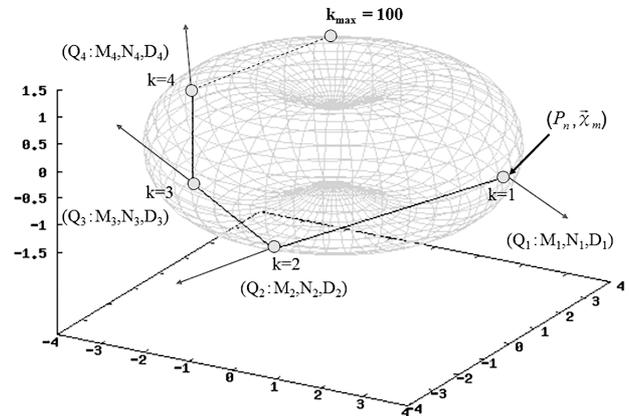


図 5 pciMC における散乱イベント処理概略図。

光路長 ( $M_k, N_k, D_k$ ) が記述された list を開く。ここで,  $k$  は光子が赤血球境界に衝突した回数を表している。光子が何回の境界衝突で赤血球を脱出するかは, それぞれの脱出確率  $Q_k(P_n, \bar{\chi}_m)$  に基づいて決定される。この確率や反射および透過ベクトルなどはすべて幾何光学理論によって計算された。pciMC table list とは, 全入射位置およびベクトルに対する散乱の全事象が格納された list である。この list は別途独立なプログラムであらかじめ作成されているため, pciMC 上では散乱後のデータを取り出すだけとなっている。ここで, 当然 list のデータ容量は有限に収めなければならないため, 各入射に対して 99.999% 以上の事象を網羅しているか, または  $k \leq 100$  までの制限が設けられている。もし list 外の余事象を満たした場合, 光子は赤血球を脱出できなかったとして, 赤血球内ヘモグロビンにより完全に吸収されたとし, その場で抹消され, 次の光子が再び血液に再入射される。散乱後の光子の位置およびベクトルが決まった後, 赤血球内光路長  $D_k$  を用いてランベルト・ベールの法則に基づいて吸収イベント処理を行い, 光子-赤血球相互作用イベントが終了し, 再びステップサイズの決定に戻る。ランベルト・ベールの式は以下を用いた。

$$\frac{P_s}{P_i} = \exp(-2.303 \times e(\lambda) \times (10 \times \text{MCHC}) / \text{mHb} \times D_k) \quad (3)$$

ここで,  $P_i$  と  $P_s$  はそれぞれ散乱イベント前後の光子の重み (シミュレーションスタート時を 1 とする) である。 $e(\lambda)$  は波長  $\lambda$  における吸収 [cm<sup>-1</sup>/mol/L] をあらわし,  $e(632.8\text{nm}) = 536.8$  [cm<sup>-1</sup>/mol/L] とした<sup>10)</sup>。MCHC は平均赤血球内ヘモグロビン濃度 [g/dL], mHb はヘモグロビンの分子量で, mHb = 64500 [g/mol] とした。

## 2.3 赤血球配向モデル

今回の実験では, 強い凝集は避けられた。したがって式 (2) は一定とし, 溶媒中を一様に分布していると仮定し

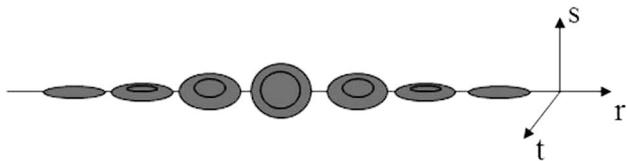


図6 pciMCにおける赤血球配向.

た、さらに、最大せん断速度が800 1/sとしたことから、赤血球の変形は無視した。この状況において、血液が流動することによる血液光学特性の変化は、Tumbling motionによる赤血球の配向であると考えた。pciMCにおける赤血球の配向表現を図6に示す。配向赤血球は、赤血球長軸が常に特定方向を向き、長軸を中心としてランダムに配向しているものと定義した。無せん断時では、血中のすべての赤血球がランダムに配向しているとし、血液が流れ始めると図6の配向赤血球が生じるとした。循環回路内における赤血球の配向パターンを考えると、流路形状は管中心に対して対称構造であるため、重力を無視すれば赤血球の配向パターンもまた管中心に対して対称となるべきである。これを満たす配向パターンは図7に示す3種類となる。Model-1は赤血球の配向方向が流れ方向となっている。Model-2では、赤血球は管中心方向へ配向している。Model-3はModel-2の配向方向を90°回転させたものである。

## 2.4 解析条件

図4の構造をpciMCプログラム内で構築した。光子数は $10^6$ 個とした。入射光は実験条件と同じ光束径200  $\mu\text{m}$ 、広がり角20°のガウシアンビームとした。回路チューブの屈折率 $n_{\text{tube}} = 1.54$ とした。赤血球外の屈折率は、実測した各サンプルの屈折率を入力した。赤血球の屈折率は、 $n_{\text{RBC}} = 1.333 + \beta \times \text{MCHC}$ で求められた。ここで、 $\beta = 0.001960$ と

した<sup>11)</sup>。チューブ境界における反射は、幾何光学に基づいて計算された。チューブの曲面部分まで到達した光子は消去された。透過散乱光の受光ポイント(0, 0, 9.52) [mm]、側方散乱反射光の受光ポイント $(x, y, z) = (0, 6.0, 0)$  [mm]とした。シミュレーションをスタートし、光子がステップして散乱イベントが発生すると、その光子がランダム配向の赤血球に衝突したのか、配向赤血球に衝突したのかを確率的に決定し、それぞれの赤血球に適合するようにイベント処理を行う。この配向赤血球に対する散乱イベント処理の発動確率を配向率OR[%]と定義する。配向率は回路内で一定とした。無せん断時では、血中すべての赤血球がランダムに配向しているため、OR=0%である。ここで、RBC\_PBSにおいて無せん断時では赤血球は一様に血中を分布し、かつすべての赤血球がランダムに配向していることが実験上でも保証することができるため<sup>4)</sup>、このときの実験結果とシミュレーション結果が一致するように、pciMCの受光領域を調整するキャリブレーションを行った。pciMCでは赤血球パラメーター(MCV, MCHC, HCT)が入力パラメーターとなっており、これらは自動血球分析装置(Celltac  $\alpha$ MEK-6358, 日本光電工業(株))にて実測した値を入力した。

## 3. 結果および考察

### 3.1 実験結果

実験で得た透過光および反射光の光学密度(optical density: OD)の相対変化を図8に示す。このときMCVは58.4 fL, MCHCは31.7 g/dL, HCTは27%であった。図8の縦軸はOD\_rel (shear rate [1/s]) = OD (shear rate [1/s]) / OD (0 [1/s])で計算された。透過光計測において、RBC\_PBSはせん断速度に対してODの変化はほとんど

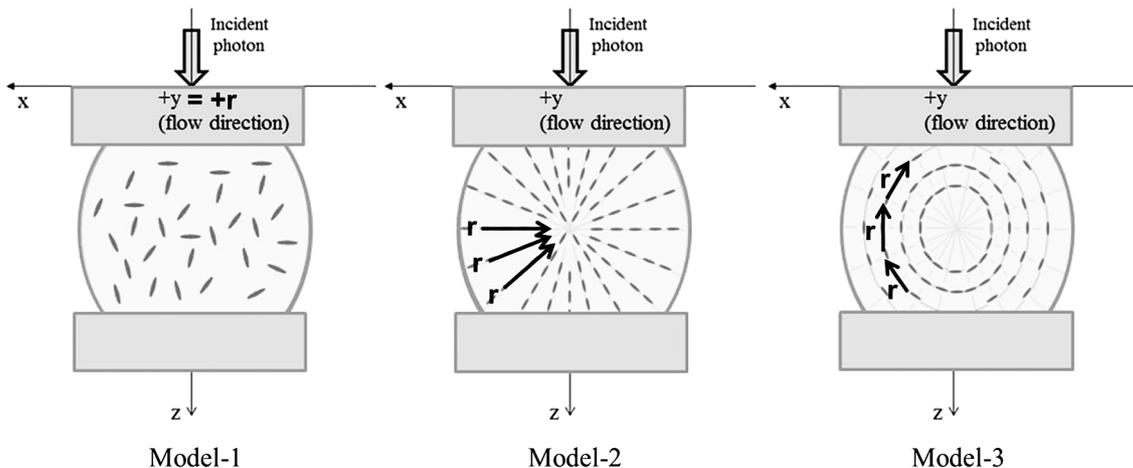


図7 赤血球配向パターン (ベクトル $\mathbf{r}$ は図6に示す配向方向).

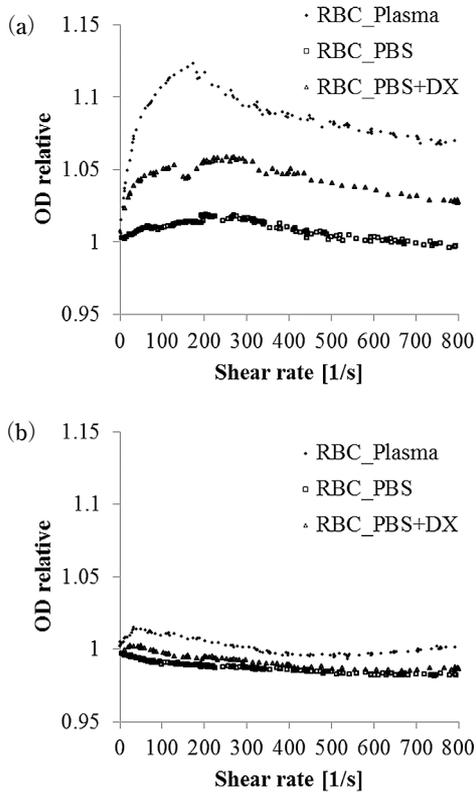


図8 透過および反射型計測結果. (a) 透過型計測, (b) 反射型計測.

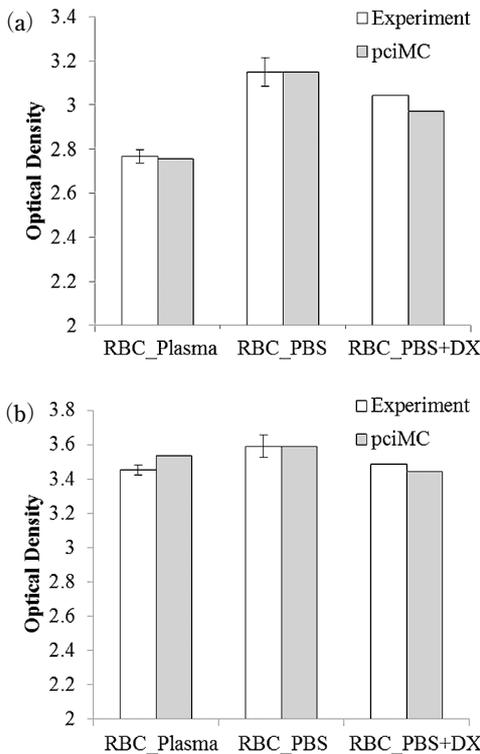


図9 無せん断時における光学密度の実験値と pciMC シミュレーション値の比較. (a) 透過型計測, (b) 反射型計測.

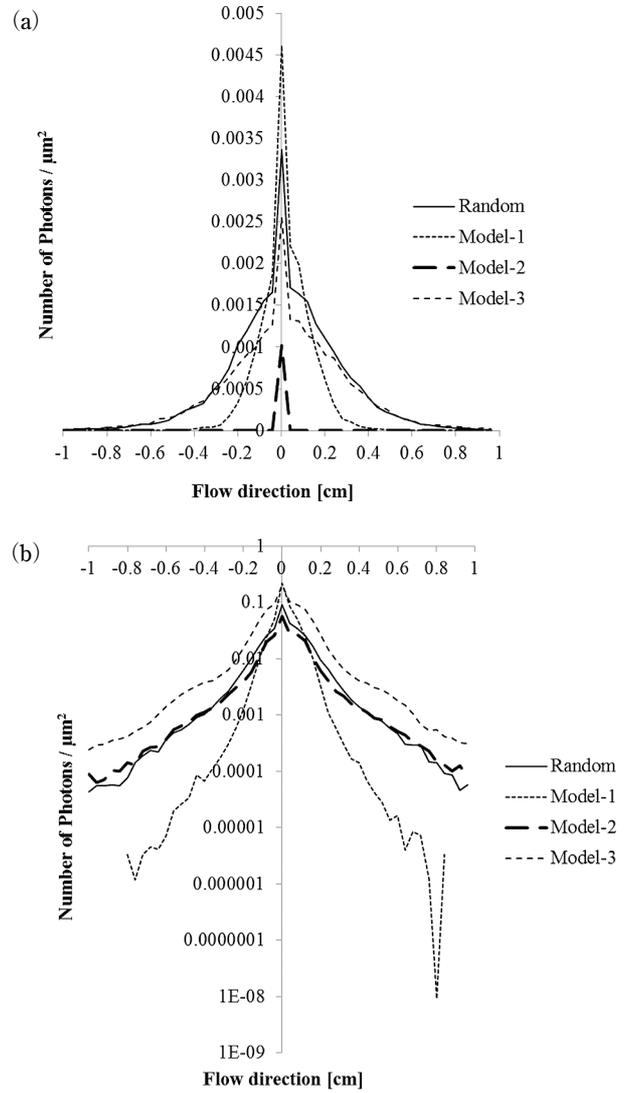


図10 各赤血球配向モデルにおける光子分布. (a) 前方散乱分布, (b) 後方散乱分布.

ど認められなかった. それに対し, RBC\_Plasma および RBC\_PBS+DX は, せん断速度 200 1/s あたりをピークに OD が増加し, その後なだらかに減少していく傾向が認められた. 反射光強度は各サンプルにおいてほとんど変化がなかった.

### 3.2 無せん断における pciMC の妥当性評価

図9に無せん断時の実験結果および pciMC シミュレーション結果の比較を示す. pciMC では赤血球の分布は一様で, このとき OR は 0 [%] としたが, 実験結果と非常によい一致を示した. したがって, 無せん断時の各サンプル OD の違いは, おもに赤血球外の屈折率の違いによって引き起こされたものであり, RBC\_Plasma を用いた実験においても, 非常に強い凝集が避けられたことが確認された.

### 3.3 シミュレーション結果

図10に各モデルにおける光子の分布を示す. 図10にお

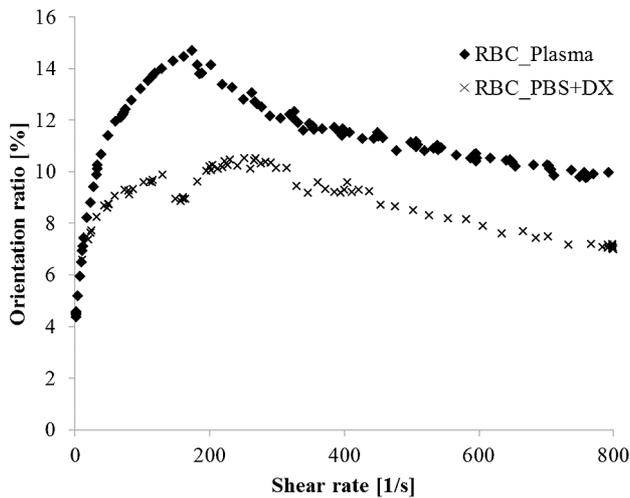


図 11 セン断速度と赤血球配向率の関係。

ける配向率は  $OR = 100\%$  としている。図 10 (a) は透過光の光子分布であり、横軸は流れ方向 (=チューブ方向) である。透過光の位置は図 10 (a) の中心であるが、ランダム配向のモデルに対し、Model-1 は強度が増加していることがわかる。ところが実験結果では透過光 OD は増加傾向であり、受光強度としては減少しているため、ここでまず Model-1 では実験結果を再現することが不可能であることがわかる。それに対し、Model-2 および Model-3 はともに減少傾向にあるが、Model-3 の減少傾向は小さいことがわかる。図 10 (b) は反射光強度分布を表している。受光部は 0.6 cm の位置にあるが、実験結果では OD はほとんど変化がなかったため、Model-2 が最も妥当であることがわかる。以上をまとめると、血液が流動すると Model-2 のような配向をする赤血球が増加していくと考えれば、実験結果と適合する光伝搬モデルを開発できると示唆された。

### 3.4 赤血球配向率の逆問題解析

各せん断速度において、実験結果とシミュレーション結果が一致するときの赤血球配向率を探索する逆問題解析を行った。解析は Model-2 を使用した。その結果を図 11 に示す。RBC\_PBS ではほぼ配向率に変化はなかった。RBC\_Plasma および RBC\_PBS+DX は、それぞれせん断速度 200 1/s 付近をピークに最も配向率が高くなり、その後次第に減少していった。図 2 に示す、赤血球外液の粘性も 200 1/s 付近まで Plasma と PBS+DX に違いが認められる。加えて Friebel の報告<sup>4)</sup> によると、200 1/s まで血漿たんぱくの影響が認められることから、この配向率の違いは血漿たんぱくによる凝集能と赤血球外液粘性の両方によって引き起こされていることが示唆された。低せん断速度では、赤血球は周囲の赤血球と互いに衝突し合いながら流動していると考えられる。このとき、連鎖で代表されるよう

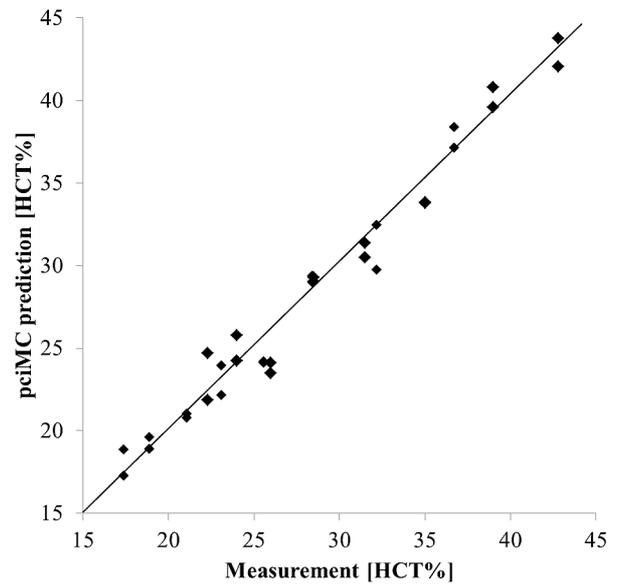


図 12 pciMC シミュレーションによるヘマトクリットの非侵襲予測結果。

に、ある配向した赤血球に別の赤血球が衝突した際に血漿たんぱくの影響を受け、衝突した赤血球も同様の向きに配向することが考えられる。すなわち、血漿たんぱくは赤血球の配向を補助する効果があるため、RBC\_Plasma はより配向率が高くなったと考えられる。200 1/s 以上のせん断速度で配向率が低下するのは、流体力が強くなり、血漿たんぱくによる影響が低減されるためであると考えられる。

図 11 の関係がヘマトクリットを変更しても通用するかどうか検討するため、図 11 を利用して、pciMC を用いてヘマトクリットの予測を試みた。その結果を図 12 に示す。せん断速度は 0~200 1/s の範囲で行った。pciMC は 20~40% のヘマトクリットの範囲で、実測値との誤差が約 1% の精度で予測することができた。この結果から、せん断速度と赤血球配向率の関係は、このヘマトクリット範囲に対してそれほど依存性がなく、図 11 だけの関係を用いて臨床上十分な精度でヘマトクリットを非侵襲的に計測できることが示唆された。

### 3.5 pciMC の新規性と今後の展望

本研究によって、血液が流動することによる光学特性の変化を再現できる光伝搬モデルが開発され、同時に管内で赤血球がどのように振る舞うかも光学的に予測された。pciMC は血液内の光伝搬を解くだけでなく、血液レオロジーの解明にも大きく貢献できるシミュレーションであることが期待できる。血液の光学特性は血流によって大きく変化することがわかったが、pciMC はその散乱変化を補正し、任意の循環流量で血液の診断を可能にする。血液透析や小児 ECMO では 0.5 L/min 以下の循環流量から、成人

左心室補助では約 5 L/min までと、補助循環治療における循環流量範囲は非常に幅広いが、本モデルを応用することで、あらゆる循環器系デバイス下での血液の非侵襲かつ連続的な診断が可能となることが示唆された。また、MCV や MCHC にも個体差があるが、pciMC はこれらが入力パラメーターであり、その散乱変化も補正することができ<sup>1-3)</sup>、従来のキャリブレーション問題を解決し、絶対計測の実現が期待される。今後の展望は赤血球の空間分布における改良を行い、また生理的な拍動流下における血液の光伝搬モデルを実現することである。

#### 4. 結 論

pciMC を用いて、体外補助循環血流路における血液内光伝搬モデルを開発した。pciMC は血流中の赤血球の振る舞いを予測し、かつ高精度に血液ヘマトクリットを予測できる、血液の光診断技術発展と血液レオロジーの解明双方に貢献できる光伝搬シミュレーションである。

#### 文 献

- 1) D. Sakota and S. Takatani: "Photon cell interactive Monte Carlo (*pciMC*) model to describe both intracellular and extracellular optical pathways of biconcave red blood cells: Phase function and Albedo," *Proc. SPIE*, **7573** (2010) 757316.
- 2) D. Sakota and S. Takatani: "Photon-cell interactive Monte Carlo model based on the geometrical optics theory for photon migra-

- tion in blood by incorporating both extra- and intra-cellular pathways," *J. Biomed. Opt.*, **15** (2011) 065001.
- 3) 迫田大輔, 高谷節雄: "Photon-cell interactive Monte Carlo シミュレーション", *日本レーザー医学会誌*, **32** (2012) 411-420.
- 4) M. Friebel, J. Helfmann, G. Muller and M. Meinke: "Influence of shear rate on the optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm," *J. Biomed. Opt.*, **12** (2007) 054005.
- 5) J. M. Skotheim and T. W. Secomb: "Red blood cells and other non-spherical capsules in shear flow: Oscillatory dynamics and the tank-treading-to-tumbling transition," *Phys. Rev. Lett.*, **98** (2007) 078301.
- 6) M. Abkarian, M. Faivre and A. Viallat: "Swinging of red blood cells under shear flow," *Phys. Rev. Lett.*, **98** (2007) 188302.
- 7) L. D. Shvartsman and I. Fine: "Optical transmission of blood: Effect of erythrocyte aggregation," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **50** (2003) 1026-1033.
- 8) M. Bitbo: "Red blood cell orientation in orbit  $C=0$ ," *Biophys. J.*, **49** (1986) 1055-1068.
- 9) M. Hammer, D. Schweitzer, B. Michel, E. Thamm and A. Kolb: "Single scattering by red blood cells," *Appl. Opt.*, **37** (1998) 7410-7418.
- 10) B. L. Horecker: "The absorption spectra of hemoglobin and its derivatives in the visible and near infrared regions," *J. Bio. Chem.*, **48** (1943) 173-183.
- 11) M. Friebel and M. Meinke: "Model function to calculate the refractive index of native hemoglobin in the wavelength range of 250-1100 nm dependent on concentration," *Appl. Opt.*, **45** (2006) 2838-2842.

(2012年3月12日受理)