

# 肺の毛細血管における血漿流動と好中球変形の連成問題

Interaction between Plasma Flow and Neutrophil Deformation  
in Pulmonary Capillaries

白井 敦\*

\*東北大学流体科学研究所

Atsushi Shirai\*

\*Inst. Fluid Sci., Tohoku Univ.

E-mail:shirai@ifs.tohoku.ac.jp

## 1 はじめに

白血球には種々のタイプがありそれぞれが固有の役割を担っているが、主に外敵から人体を守る免疫機能を担っており、炎症や病原菌に凝集するという性質がある。また、白血球は一般に赤血球と比較して大きく、変形能が低い上に血管壁に付着しやすいという性質を持つため、毛細血管内において、炎症等がない場合でも白血球が停滞し、血流を阻害、または遮断することがある[1,2]。そのため、病気などに起因する白血球数の急激な上昇によってこのような血流の遮断が大量に発生し、その下流で虚血が起こるといった報告もある[3,4](逆に、白血球数が10倍になっても影響がないという報告もある[5])。さらに、肺の毛細血管網は体循環のそれと比較して目が細かく、ある一本の毛細血管で白血球が詰まっても血液が周囲の血管を通して流れるために白血球前後の圧力降下があまり大きくならない。そのため、肺における白血球の通過時間は非常に長くなり、健常時でも白血球の濃度が大血管の40から80倍にもなることが知られている[6]。

肺の主たる機能は、血液に酸素を供給するとともに二酸化炭素を排出することであり、150mlの血液が肺胞内の細かい血管に広がり、そのガス交換面積は成人で70m<sup>2</sup>にも及ぶ[1]。ここに、血液と外気を隔てている隔膜は厚さが1μm以下であり、酸素や二酸化炭素が通過するだけでなく、外気からの細菌などの病原体の侵入経路にもなりうる。そのため、外敵が侵入した際に白血球が素早く機能するよう、肺は白血球のリザーバとしても機能していると考えられる。よって、肺における免疫機構を解明するためには白血球の流動を明らかにしなければならず、そのためには、肺の毛細血管のネットワーク構造と、個々の毛細血管内における白血球の変形・流動特性を知る必要がある。

近年、解剖学的に妥当な肺の毛細血管ネットワークのモデルが提案され、白血球の中で最も多数を占める好中球による毛細血管の閉塞がネットワークの圧力やヘマトクリット(全血中における赤血球の体積割合)の分布に与える影響や、好中球の通過時間を数値的に明らかにした[7]。しかし、ここで用いられた好中球の流動モデルは、後述する、マイクロピペットによる吸引実験に基づいていた。毛細血管における好中球の流動に関する詳細な研究はほとん

ど知見せず、ピペットと実際の毛細血管とでは入口形状等が大きく異なるため、各毛細血管における好中球の通過時間に差が出ることが考えられる。そこで著者は、肺の毛細血管ネットワークにおける好中球の通過時間を精度良く見積もることを目的とし、好中球を薄い弾性膜に包まれた Maxwell 流体と模擬してその変形・流動特性を数値的に解析してきた。ここでは、その概略を紹介する。

## 2. 好中球のモデル

好中球の機械的特性を調べるために生体の内外で数多くの実験が行われており、生体外における実験では、マイクロピペットによる吸引実験が主に行われてきた。この吸引実験は、血球径よりも細いピペットで好中球の一部または全体を吸引し、また、放出することによって、血球の変形量または初期形状への復元時間からその特性を調べるものである。これに基づき、今までにいくつかのモデルが考案されてきた。

初期のモデルは、好中球のごく一部を吸引して微小変形させる実験から得たもので、粘弾性体の球と近似した[8,9]。しかし、このモデルでは、比較的大口径のピペットに完全に吸引された形状からの復元時間が実際よりも短く、また、好中球自身が固体よりもむしろ流体に近い挙動を示すことから、初期張力を持った薄い弾性膜に包まれた Newton 流体とするモデルが考案された[10,11]。ここに、膜の曲げ強さを無視する限り、膜張力は液滴の表面張力と考えることができる。この Newton 液滴モデルは好中球の大変形にも適用可能であり、変形形状からの復元過程も良く再現できるので、現在も多くの研究で用いられている。ただし、好中球が流体のような振る舞いをすることは広く受け入れられているものの、その詳細な特性は未だに明らかになっておらず、見積もられた流体の粘度は実験条件等によって大きく異なっている。

その後の研究で、好中球は、ステップ状にかけられた吸引圧力に対して瞬間的に弾性変形するものの、その後は粘弾性体のようなクリープ曲線を描きながらゆっくりと非線形な変形をすることが明らかになった。実際の細胞内においても、核やその他の内容物が存在するため、単純な Newton 液滴モデルでは十分にその挙動を記述できないことは明らかである。そこで、新たに Maxwell 液滴モデルが考案された[12]。これは、初期張力を持った薄い弾性膜で Maxwell 流体を包んだモデルであり、本報ではこのモデルを使用して好中球の流動を解析する。なお、この他に、Power-law モデル[13]や、近年では細胞の核の存在を考慮した三層モデル[14]も考案されているが、全てを包括的に取り扱うモデルは未だに存在しない。

## 3. 計算手法

本解析で用いるモデルの模式図および主な記号を Fig. 1 に示す。本解析では系を軸対称と仮定し、座標原点は管中心軸上で狭窄部中央とした。白血球は其中で最も数の多い好中球とし、初期張力 $\sigma=31\text{pN}/\mu\text{m}$ のかかった弾性薄膜に包まれた Maxwell 流体で、直径 $2R_{\text{cell}}=8\mu\text{m}$ の球とした[12,15]。このモデルは、細胞質、微小管や核等の存在する細胞を巨視的に見たモデルであり、Maxwell 物体の応力 $\tau$ と歪 $\gamma$ の関係は以下の式で表される。

$$\tau + \frac{\mu_{\text{cell}}}{G_{\text{cell}}} \dot{\tau} = 2\mu_{\text{cell}} \dot{\gamma} \quad (1)$$

ここに、 $G_{\text{cell}}$  および  $\mu_{\text{cell}}$  はそれぞれ Maxwell 物体の弾性率と粘度を表す．好中球の物性とその流動に与える影響を調べるため、これらの値は、任意の濃度の fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenyl-alanine) に曝された好中球の物性値測定実験のデータ[15]と一致するように定めた．fMLP は好中球の走化因子として知られているが、好中球は fMLP 溶液に曝されると、その濃度に応じて硬くなる．Table 1 に、各 fMLP 濃度に対する好中球の弾性率と粘度の値を示す．体積変化に関しては、ほぼ非圧縮としてポアソン比を 0.499 とした．また、細胞膜の曲げ強さの影響が現れるのは半径  $1\mu\text{m}$  以下の隙間を通るときなので [16]ここではその影響を考慮しない．

毛細血管は長さ  $150\mu\text{m}$ 、半径  $6\mu\text{m}$  とし、上流から  $50\mu\text{m}$  の位置に狭窄部の中心を設定した．狭窄部形状は、肺の毛細血管網の顕微鏡写真[1]や sheet flow モデル[17]における 2 枚の膜を支える円柱を勘案し、円弧とした．ただし、血管内皮細胞表面における糖タンパク層[18]の存在を模擬して、仮想の血管壁を狭窄部の内側  $\delta=0.1\mu\text{m}$  に設置した．そして、これを非常に高い浸透性を持つ剛体とみなし、血漿は抵抗なく通過するが、好中球は仮想壁に沿って変形し狭窄部を通過するとした．ここに、 $\delta$ は  $0.05\mu\text{m}$  から  $0.2\mu\text{m}$  の範囲において好中球の狭窄部通過時間に影響を与えないことを確認した．狭窄部(実際には仮想壁であるが、以下では単に狭窄部と呼ぶ)中央における血管の最小半径  $R_{\text{min}}$  は  $2.75\mu\text{m}$  とし、狭窄部の曲率半径  $R_{\text{cont}}=27.63\mu\text{m}$  とした．

血漿は非圧縮 Newton 流体で、粘度  $\mu=1.2 \times 10^{-3} \text{pN} \cdot \text{s}/\mu\text{m}^2 (=1.2 \times 10^{-3} \text{Pa} \cdot \text{s})$ 、密度  $\rho=1.03 \times 10^{-9} \text{pN} \cdot \text{s}^2/\mu\text{m}^4 (=1.03 \times 10^3 \text{kg}/\text{m}^3)$  とした[19]．流体の境界条件として、管上流端を  $0\text{Pa}$  とし、時刻  $t=0\text{s}$  で管両端に圧力差  $\Delta P=40\text{Pa}$  をステップ状にかけた．また、血管壁面および好中球の表面で滑りなしとした．なお、狭窄部と好中球との剪断摩擦および付着の影響はここでは考慮しない．

計算には、商用有限要素ソルバ ADINA (Automatic Dynamic Incremental Nonlinear Analysis) Version7.4 を用いた．構造解析に Lagrange 法を、流体解析に ALE (Arbitrary Lagrangian-Eulerian)法を用いる本ソルバは、構造の大変形を含む構造 流体の連成問題の

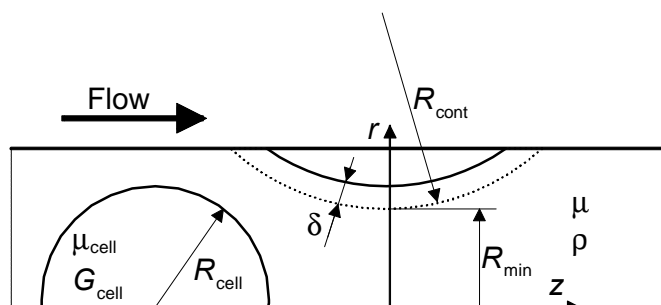


Fig. 1 Schematic diagram of computational model.

Table 1 Shear modulus and viscosity of neutrophil.

Case	fMLP level [M]	Shear modulus $G_{\text{cell}}$ [Pa]	Viscosity $\mu_{\text{cell}}$ [Pa s]
1	0	186	31
2	$10^{-9}$	625	104
3	$10^{-6}$	1350	225

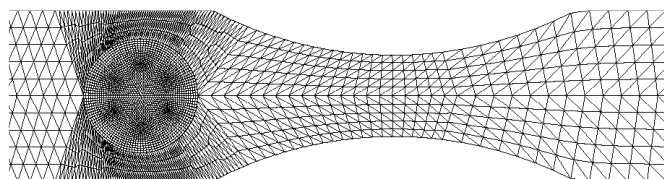


Fig. 2 Finite element grid.

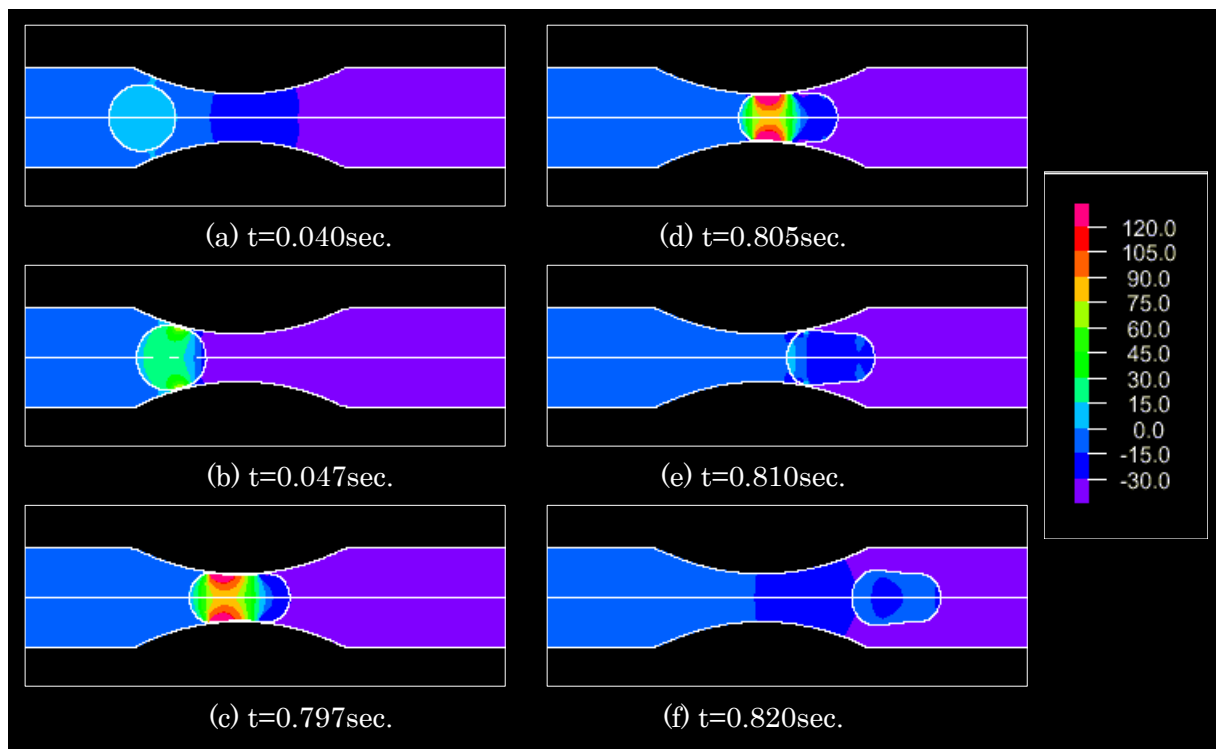


Fig. 3 Successive profiles and pressure band plot of Case 1 neutrophil passing through the constriction.  $\Delta P=40\text{Pa}$ .

解析が可能である．詳細については以下の文献を参考にされたい[20]．

#### 4．計算結果

本解析で用いた格子の例を Fig. 2 に示す．好中球の部分には 4 接点軸対称四角形要素を，血漿部分には 3 接点軸対称三角形要素を用いた．そして，好中球の変形解析において 4 接点要素と 9 接点要素を比較して十分な要素数が確保されていることを確認するとともに，流体解析においても要素数の影響がないことを確認した．なお，本解析では軸対称を仮定しており，実際には Fig. 2 の格子の上半分を使用した．

Fig. 3 に Case 1 好中球の変形の時間変化および圧力分布を示す．好中球は初期形状に近いほぼ球形状で狭窄部に進み，狭窄部に沿って変形をして通過する．そして，狭窄部を通過後もすぐには初期形状に復帰しない．そのため，好中球の流動速度は，狭窄部進入以前よりも速くなることを確認した．また，図に示された時刻から明らかなように，狭窄部後半(拡大

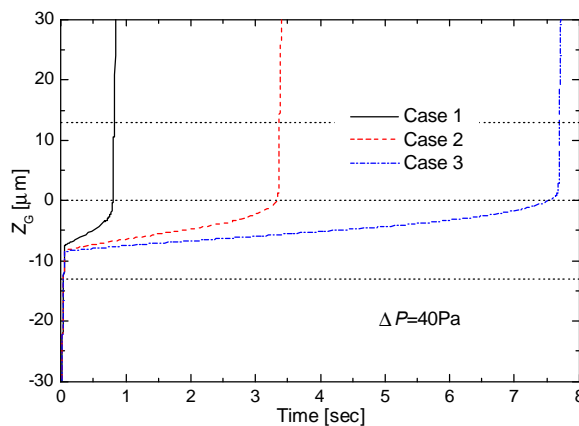


Fig. 4 Time variation of axial position of mass center of neutrophils.

部)を通過する時間((c)から(e)で 0.013s)と比較して,前半(縮小部)を通過する時間((b)から(c)で 0.750s)が非常に長いことがわかる.そのため,好中球の狭窄部通過時間は縮小部における変形速度に大きく依存すると考えられる.

Fig. 4 に, 3 種類の好中球における重心位置  $Z_G$  の時間に伴う移動を示す.ここに,狭窄部位置は  $-13\mu\text{m} \leq Z_G \leq 13\mu\text{m}$  に相当する.図より, 3 種類すべての好中球において  $Z_G > 0$  でほぼ一定で等しい傾きになっていることが見て取れる.また,縮小部( $Z_G < 0$ )における線の傾き,すなわち,重心移動速度は好中球の物性値に依存すると推察される.このメカニズムを以下に定性的に説明する.

式(1)において  $\tau$  が好中球を駆動する圧力差に相当し,  $\tau_0$  で一定であるとする.式(1)を積分して  $t$  について纏めると,

$$t = \mu_{\text{cell}} \left( \frac{2\gamma}{\tau_0} - \frac{1}{G_{\text{cell}}} \right) \quad (2)$$

となる.ここに  $\gamma = (R_{\text{cell}} - R_{\text{min}})/R_{\text{cell}}$  で一定,  $1/G_{\text{cell}}$  が  $2\gamma/\tau_0$  と比較して十分に小さいとすると,好中球の狭窄部通過時間は  $\mu_{\text{cell}}$  に比例することがわかる. Case 2 の  $\mu_{\text{cell}}$  は Case 1 の 3.35 倍, Case 3 は 7.26 倍であり,狭窄の縮小部の通過に要する時間もほぼこれに比例している.

## 5. おわりに

本報では,肺の毛細血管を模擬した円弧状狭窄部を持つ毛細血管内における,好中球の変形を伴う流動を数値的に解析し,好中球の物性値が毛細血管狭窄部の通過時間に与える影響を示した.紙面の関係で省略したが,狭窄の縮小部形状,すなわち,狭窄部の曲率もその流動に大きな影響を与え,端面が直角であるマイクロピペットの場合と比較して通過時間が非常に短くなることが明らかになった.今後は,血管壁への好中球の付着や伸長した初期形状が狭窄部通過時間に与える影響を解析する予定である.

## 謝辞

本研究を行うにあたり,米国 MIT の Roger D. Kamm 教授, Mark Bathe 氏に多大なる協力と有益な助言をいただいた.ここに謝意を表する.

## 参考文献

1. Fung, Y. C., Biomechanics: Circulation 2<sup>nd</sup> ed., Springer, (1996), 316-324, 333-335.
2. Downey, G. P. and Worthen, G. S., "Neutrophil retention in model capillaries: deformability, geometry, and hydrodynamic forces", J. Appl. Physiol., Vol. 65, No. 4, (1988), 1861-1871.
3. Braide, M., Amundson, B., Chien, S. and Bagge, U., "Quantitative studies on the influence of the leukocytes on the vascular resistance in a skeletal muscle preparation", Microvasc. Res., Vol. 27, (1984), 331-352.
4. Blixt, A. and Bagge, U., "The effect of hypoperfusion on the capillary distribution of

- leukocyte in cross-striated muscle”, *Microc. Endo. Lymph.*, Vol. 3, (1984), 331-352.
5. 岡, “第3章 血液の粘度, 降伏値, 粘弾性”, *レオロジー*, 裳華房, (1974), 158-185.
  6. Doerschuk, C. M., “Neutrophil rheology and transit through capillaries and sinusoids”, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, Vol. 159, (1999), 97-114.
  7. Huang, Y., Doerschuk, C. M. and Kamm, R. D., “Computational modeling of RBC and neutrophil transit through the pulmonary capillaries”, *J. Appl. Physiol.*, Vol. 90, (2001), 545-564.
  8. Schmid-Schonbein, G. W., Sung, K.-L. P., Tozeren, H., Skalak, R. and Chien, S., “Passive mechanical properties of human leukocytes”, *Biophys. J.*, Vol. 36, (1981), 243-256.
  9. Sung, K.-L. P., Dong, C., Schmid-Schonbein, G. W., Chien, S. and Skalak, R., “Leukocyte relaxation properties”, *Biophys. J.*, Vol. 54, (1988), 331-336.
  10. Evans, E. and Yeung, A., “Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration”, *Biophys. J.*, Vol. 56, (1989), 151-160.
  11. Tran-Son-Tay, R., Needham, D., Yeung, A. and Hochmuth, R. M., “Time-dependent recovery of passive neutrophils after large deformation”, *Biophys. J.*, Vol. 60, (1991), 856-866.
  12. Dong, C., Skalak, R., Sung, K.-L. P., Schmid-Schonbein, G. W. and Chien, S., “Passive deformation analysis of human leukocytes”, *Trans. ASME, J. Biomech. Eng.*, Vol. 110, (1988), 27-36.
  13. Tsai, M. S., Frank, R. S. and Waugh, R. E., “Passive mechanical behaviour of human neutrophils: Power-law fluid”, *Biophys. J.*, Vol. 65, (1993), 2078-2088.
  14. Tran-Son-Tay, R., Kan, H.-C., Udaykumar, H. S., Damay, E. and Shyy, W., “Rheological modeling of leukocytes”, *Med. Biol. Eng. Comp.*, Vol. 36, (1998), 246-250.
  15. Worthen, G. S., Schwab, B. III, Elson, E. L. and Downey, G. P., “Mechanics of stimulated neutrophils: Cell stiffening induces retention in capillaries”, *Science*, (1989), 183-245.
  16. Zhelev, D. V., Needham, D. and Hochmuth, R. M., “Role of the membrane cortex in neutrophil deformation in small pipets”, *Biophys. J.*, Vol. 67, (1994), 696-705.
  17. Fung, Y. C., “Theory of sheet flow in lung alveoli”, *J. Appl. Physiol.*, Vol. 26, (1969), 472-488.
  18. Secomb, T. W., Hsu, R. and Pries, A. R., “A model for red blood cell motion in glycocalyx-lined capillaries”, *Am. J. Physiol.*, Vol. 274, (1988), H1016-H1022
  19. 白井・川野・橋本・仁田, “毛細血管内における赤血球周囲の流動場と物質伝達特性の数値解析”, *医用電子と生体工学*, Vol. 34, No. 2, (1996), 151-160.
  20. Bathe, K. J., *Finite Element Procedure*, Prentice Hall, (1996).