

課題名 (タイトル) :

## 細胞運動の生体力学シミュレーション

利用者氏名 : 坪田 健一

所属 : 和光研究所 基幹研究所 連携研究部門 理研-HYU 連携研究センター 超精密加工技術開発チーム

## 1. 背景と目的

細胞の受動的な変形運動を理解するためには、周囲の力学環境に対する細胞の変形運動挙動を明らかにする必要がある。この受動的な細胞運動の1つとして、これまで、せん断流れにおける単一赤血球の変形運動シミュレーションが行われてきた。ここでは、赤血球膜の弾性変形と、赤血球内外の粘性流れとの連成解析が必要となる。本年度は、境界要素法を用いて、弾性細胞膜と粘性流れとの連成解析手法を開発した。これを用いて、せん断流中の赤血球のタンブリング(T)ータンクトレディング(TT)運動遷移について、赤血球膜の弾性変形の役割を検討した。

## 2. 赤血球の釣合形状の力学シミュレーション

血液や等張液の静止流体中で、正常な赤血球は両凹円盤形を、異常な赤血球は球形、カップ形や突起を有した形状を、それぞれ示す。この形は、赤血球内外の浸透圧差に応じた細胞膜の弾性変形の結果と見なすことが出来る。本章では、赤血球の運動シミュレーションへの準備として、両凹円盤形状の赤血球を力学的にモデル化する。

細胞膜は、三角形要素を用いて離散的に表現し、面内のせん断弾性と面積弾性、および面外の曲げ弾性を考慮した<sup>(1)</sup>。面内の変形は、Skalak et al.<sup>(2)</sup>にしたがい、

$$T_1 = G \frac{\lambda_1}{\lambda_2} [(\lambda_1^2 - 1) + C \lambda_2^2 (\lambda_1^2 \lambda_2^2 - 1)]. \quad (1)$$

ここで、 $T_1$  [N/m]は主合応力、 $\lambda_1$ および $\lambda_2$  ( $\lambda_1 \geq \lambda_2$ )は主ストレッチ、 $G$  [N/m]はせん断弾性係数、 $C$ は面積弾性を決定する定数であり、 $T_2$ は右辺で下付の添字1と2を入れ替えた式によって表される。面外の曲げ変形は、ばねモデル<sup>(3)(4)</sup>を採用して、全エネルギーを

$$W_B = k_B N_i \sum_{i=1}^{N_i} w_i [1 - \cos(\theta_i - \theta_{0i})],$$

where weighting  $w_i = \frac{L_i}{\sum_{i=1}^{N_i} L_i}$  (2)

と記述した。ここで、 $\theta_i$ は辺 $l$ を挟んで隣り合う2つの三角形要素の外向き法線がなす角度、 $\theta_{0i}$ は自然角度、 $L_i$ は辺 $l$ の長さ、 $N_i$ は辺の総数、 $k_B$ はばね定数である。ばね定数 $k_B$ は、等方曲げモデル<sup>(5)</sup>における曲げ剛性 $B$  [N·m]に換算できる<sup>(6)</sup>。実測値にしたがい、赤血球の膜面積を $A_0 = 94.1 \mu\text{m}^2$ 、体積を $V_0 = 134.1 \mu\text{m}^3$ とした<sup>(1)</sup>。膜の自然状態は、形状の不均一性を示すパラメータ $\alpha$  ( $0 \leq \alpha \leq 1$ )を用いて以下のように決定した<sup>(3)</sup>。

$$r_i^0 = r_i^{\text{Sphere}} + \alpha(r_i^{\text{BD}} - r_i^{\text{Sphere}}) \quad (3)$$

ここで、 $r_i^0$ 、 $r_i^{\text{Sphere}}$  および  $r_i^{\text{BD}}$  [m]は膜上の計算点 $i$ の位置ベクトルであり、上付きの0は自然状態、 $\text{Sphere}$ は表面積 $A_0$ を持つ球形、および $\text{BD}$ は体積 $V_0$ および表面積 $A_0$ の両凹円盤形を示す。 $\alpha$ を変化させることで、球形( $\alpha = 0$ )と両凹円盤形( $\alpha = 1$ )の間の形を連続的に表現した。

本研究では、式(3)の自然状態を、式(1)に示す面内せん断変形に対してのみ考慮することとし、式(2)の曲げ変形については、平面の自然状態を仮定して $\theta_{0i} = 0$  [rad]とした。また、膜の強い非圧縮性を表現するために式(1)において $C = 100$ とした。膜面積 $A_0$ と体積 $V_0$ の制約条件の下で、 $G$ 、 $B$ 、 $\alpha$ を与えて細胞膜の弾性変形問題を解いて釣合形状を求めた<sup>(3)(4)</sup>。また、複数の釣合形状が得られた場合は、弾性エネルギーがより小さい方の形状を釣合形状と定義した。 $G$ と $B$ の比がシミュレーション結果を決定するため<sup>(4)</sup>、以下では、 $G^* = G l^2 / B$  ( $l = 1 \mu\text{m}$  : 膜形状の特徴曲率半径)を用いて結果を整理した。また、弾性定数の実験値 $G = 2.5 \times 10^{-6}$  N/m ( $= G_0$ ) および  $B = 2.0 \times 10^{-19}$  N·m ( $= B_0$ )に対する $G^* = 12.5$ を $G_0^*$ と記述する。

シミュレーションの結果、Fig. 1に示すように、 $\alpha$ および $G^*$ が大きい時に両凹円盤(BD)形が、 $\alpha$ および $G^*$ が小さい時にカップ形が、それぞれ釣合形状として得られた。 $\alpha = 0$ でBD形を得るためには、 $G^* < 4.5$  ( $B = B_0$ )

であれば  $G < 0.9 \times 10^{-6} \text{ N/m}$ , すなわち,  $G^*$ が

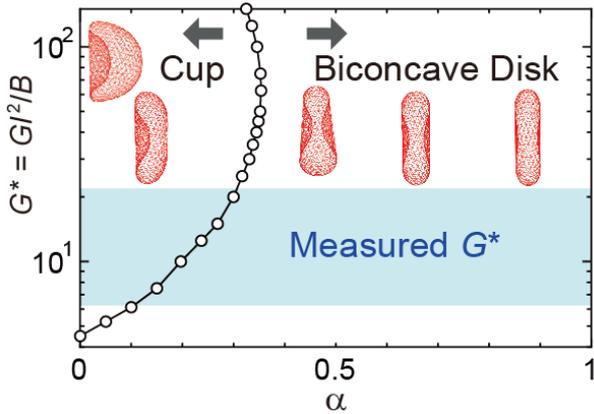


Fig. 1 Phase diagram of equilibrium shape of red blood cell as functions of  $\alpha$  and  $G^*$

$G_0^*$ より小さい必要があった。これは、既報<sup>(3)(4)(7)</sup>にあるように、自然状態が球形であることと、実験値 $G_0$ および $B_0$ との間の矛盾を示している。 $G^* = G_0^*$ の時に BD 形を得る条件は $\alpha > 0.23$ であった。BD 形は、 $G^*$ が大きい程、また $\alpha$ が小さい程、非対称性<sup>(8)</sup>が顕著となった。

### 3. せん断流中の T-TT 運動遷移シミュレーション

せん断流中の赤血球は、赤血球全体が剛体のように回転するタンブリング(T)運動、および全体が一定の形を保ちながら膜面がキャタピラのように回転するタンクトレディング(TT)運動を示す。また、TT 運動は赤血球全体の回転振動(S)を伴う。せん断応力 $\mu\dot{\gamma}$ が小さい時に T 運動が、大きい時に TT 運動が、それぞれ生じ、2 つの運動が遷移するのは $\mu\dot{\gamma} = \sim 0.1 \text{ Pa}$ の時である<sup>(9)</sup>。本章では、 $\alpha$ および $G$ に応じた T 運動およびS運動を伴う TT 運動と、両者の遷移挙動を示す。

$G^* = 0.27G_0^* = 3.8$ とし、BD 形の赤血球モデルを  $0 \leq \alpha \leq 1$ の異なる $\alpha$  値に対して作製した。この赤血球を、せん断速度 $\dot{\gamma}$ のせん断流場に配置した。ここで、体積 $V_0$ の球の半径 $2.8 \mu\text{m}$ を特徴長さ $\alpha$ とした。赤血球内外の流体の粘度比は $0.2$ とした。ストークス流れを仮定し、膜の弾性変形と非圧縮粘性流れとの連成解析は境界要素法<sup>(10)</sup>を用いて行った。シミュレーション結果を決定するキャピラリー数 $Ca = \mu\alpha\dot{\gamma}/G$ の値は、 $G$ を変化させることで調整した。この際、 $G$ を単独で変化させるのではなく、赤血球膜モデルの全ての弾性定数を同じ倍率だけ変化させることで、赤血球が両凹円盤形を保つように配慮した。赤血球の運動は、せん断断面内で流れ方向と赤血球の長軸とがなす角度

$\varphi_{LA} (-0.5\pi < \varphi_{LA} \leq 0.5\pi)$ , および細胞膜上の物質点と赤血球の重心

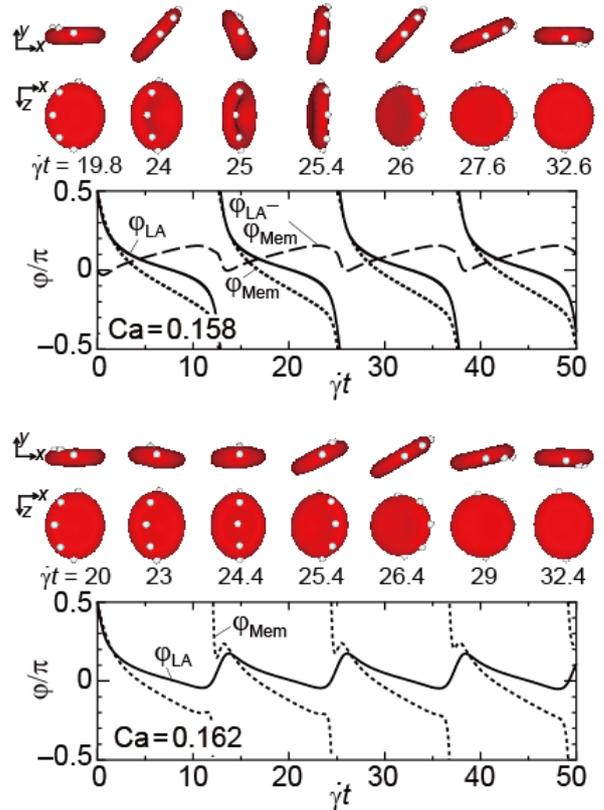


Fig. 2 Tumbling and tank-treading motions under shear flow around critical  $Ca$

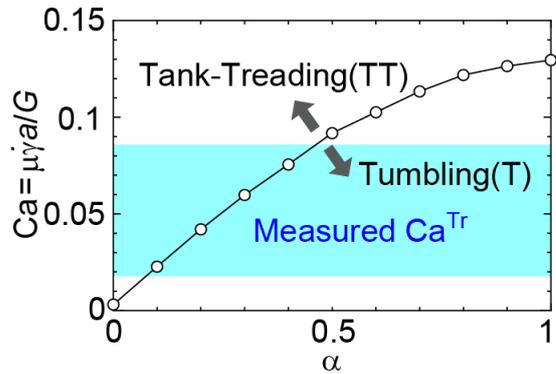


Fig. 3 Phase diagram of motion transition under shear flow as functions of cell as functions of

and  $Ca$

とを結んだ線とがなす角度

$\varphi_{Mem} (-0.5\pi < \varphi_{Mem} \leq 0.5\pi)$ によって定量化した。

シミュレーションの結果、 $\alpha$ と $Ca$ に応じた T 運動および TT 運動が得られた。 $\alpha = 0$ の時、赤血球は TT 運動のみを示し、TT 運動中に S 運動は示さなかった。 $\alpha = 1$ の時、Fig. 2 に示すように、赤血球は $Ca$ が小さい時に T 運

動を、大きい時に TT 運動を、それぞれ示し、運動が遷移する  $Ca$  値は 0.16 であった。この値は、 $G = G_0$  とすると  $\mu\dot{\gamma} = 0.14 \text{ Pa}$  に相当し、実験<sup>(9)</sup>で得られる  $\mu\dot{\gamma} = 0.015 - 0.075 \text{ Pa}$  (すなわち  $Ca = 0.017 - 0.085$ ) の上限値と比較して 2 倍近く大きい。遷移時の  $Ca$  値は、Fig. 3 に示すように、 $\alpha$  に応じて単調に増加し、上述の  $Ca = 0.017 - 0.085$  で運動が遷移するために必要な条件は  $\alpha = 0.07 - 0.47$  であった。なお、T 運動において、 $\varphi_{LA} - \varphi_{Mem}$  は、 $Ca$  が大きいほど周期的な増減が顕著となった。これは、 $Ca$  が大きいほど T 運動中の赤血球膜の回転変形が大きいことを反映している。また、TT 運動では S 運動が伴っており、その振動 ( $\varphi_{LA}$  の振幅) は  $Ca$  が大きいほど小さくなった。

#### 4. まとめ

境界要素法を用いて、せん断流中の T-TT 運動遷移の力学シミュレーションを行った。その結果、粘性流体中の赤血球の変形運動は、膜の弾性変形特性によって決定されることが示された。得られた結果は、近年のシミュレーション結果とも良く対応しており、血球の変形運動問題における粒子法シミュレーションの有用性を示していると考えられる。

#### 5. 利用研究成果が無かった場合の理由

現時点でフルペーパー 1 編が投稿中となっており、次年度での採択を見込んでいる。

#### 6. 今後の計画・展望

弾性変形に応じた赤血球運動を理解するためには、Figs. 1 および 3 に示すように、粘弾性定数や自然状態に対する運動の相図が必要となる。今後は、計算の高効率化を行いながら、赤血球の釣合形状と変形運動の力学パラメタ依存性を詳細に調べていく。

#### 7. 参考文献

- (1)例えば Evans, E. A. and Skalak, R., *Mechanics and Thermodynamics of Membrane*, (1980), CRC Press, Florida.
- (2)Skalak, R. et al., *Biophys. J.*, Vol. 13 (1973), pp. 245-264.
- (3)Tsubota, K. and Wada, S., *Int. J. Mech. Sci.*, Vol. 52 (2010), pp. 356-364.

- (4)和田成生・小林亮, *機論 A*, Vol. 69 (2003), pp.14-21.
- (5)Helfrich, W., *Z Naturforsch C* Vol. 28 (1973), pp. 693-703
- (6)Boal, D. H. and Rao, M., *Phys. Rev. A*, Vol. 46 (1992), pp. 3037-3045
- (7)Zarda, P. R. et al., *J. Biomech.*, Vol. 10 (1977), pp. 211-221.
- (8)Lim, H. W. G., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, Vol. 99 (2002), pp. 16766-16769.
- (9)Abkarian, M., et al., *Phys. Rev. Lett.*, Vol. 98 (2007), 188302.
- (10)Pozrikidis, C. *J. Fluid Mech.*, Vol. 440 (2001), pp.269-291.