

細胞スケールから解き明かす生物流れ

東北大学大学院工学研究科 石川 拓司

Takuji Ishikawa
Department of Bioengineering and Robotics, Graduate School of Engineering
Tohoku University

1. はじめに

細胞が織り成す生物流れは我々の周りに広く見られ、健康問題や環境問題などと密接に関わっている。例えば、海洋では微生物が高密度で集まるホットスポットがしばしば現れ、海洋生態系に大きな影響を及ぼし、時には赤潮となって漁業に悪影響を及ぼすこともある。最近の研究では、こうしたホットスポットが形成されるメカニズムとして、個々の微生物の遊泳と流れの相互作用が重要な役割を果たすことが明らかになってきた[1]。我々の体の中に目を向けると、血液循環器系では血液が、呼吸器系では空気が、消化器系では消化物が流れている。血液中には赤血球が体積率にしておよそ 45% の高濃度で存在しており、赤血球の相互作用による細胞スケールの流れの乱れによって、物質拡散が促進されることが知られている[2]。腸内細菌である大腸菌の場合には、数密度が高くなると互いに同じ方向を向いて協調遊泳するようになり、まるで乱流のようなメゾスケールの流動構造が現れる[3]。これにより分子量の大きな物質の物質拡散係数はブラウン運動による拡散の数千倍から数万倍にも促進され、大腸菌の生存圏を広げる効果があると考えられる。このように、細胞の相互干渉がさまざまな生物流れを作り出しているのである。

本稿では、我々がこれまで研究してきた赤血球の挙動と血流、バクテリアの遊泳と特異流動、微細藻類の多体干渉と懸濁液の特性、繊毛の運動と繊毛流れについて解説する。こうした生物流れのマクロスケール挙動は、細胞懸濁液の連続体としての特性(粘度や拡散特性など)の影響を受ける。一方、細胞懸濁液の特性は、多数の細胞が作り出すメゾスケールの流動構造によって変化する。メゾスケールの流動構造は細胞の相互干渉によって引き起こされ、その基本となるのは細胞の 2 体干渉である。よって、生物流れを理解する際に、細胞スケールからメゾスケール、マクロスケールへとボトムアップするアプローチは非常に有効である。本稿では、さまざまな生物流れを、細胞スケールからのボトムアップして解説する。

2. 血液の流れ

血液は赤血球が体積率 45% を占める濃厚な細胞懸濁液である。単一赤血球のせん断流れ中の運動挙動は古くから調べられているが、近年の可視化技術の進歩によって新しい運動モードが発見されている[4]。我々はまず始めに単一赤血球の数値モデルを構築し、細胞内外の流れを境界要素法で、細胞膜を有限要素法で解くことにより、細胞の運動挙動を調べた[5]。赤血球の膜上に生成された計算格子を Fig.1 に示す。シミュレーションの結果、せん断流れが弱い場合(キャピラリー数が低い場合)には、初期の姿勢にかかわらず、最終的に赤血球の対称軸がせん断面で回転する運動に収束することが分かった。この運動は、最もエネルギー散逸が小さくなる挙動として Jeffery[6]が予測したものであり、実験[4]とも良い一致を示している。一方、せん断流れが強い場合(キャピラリー数が高い場合)には、初期の姿勢にかかわらず、最終的に赤血球の対称軸が渦度方向に収束することが分かった。この傾向は実験[4]でも確認されており、この配向する向きの違いから、Tank-Treading 運動や Swinging 運動、Tumbling 運動などの赤血球の運動が現れると考えられる。

次に、せん断流れ中の赤血球の 2 体干渉を調べた。赤血球は変形能があるため、剛体粒子と異なり、2 体干渉の前後で重心の位置が変化する(Fig.2)。この移動量の統計平均を取ることで、準希薄懸濁液内の赤血球の自己拡散係数を算出することができる[7]。その結果、自己拡散係数は $D \propto a^2 \dot{\gamma} \phi$ でスケールでき

ることが明らかとなった。ここで a は赤血球の半径、 $\dot{\gamma}$ はずり速度、 ϕ は赤血球の体積率（ヘマトクリット）である。分子量の大きな物質では、赤血球の相互干渉による攪拌効果がブラウン運動の効果を上回るため、従来考えられてきたペクレ数よりも実際の血流中のペクレ数の値は小さくなると考えられる。こうした知見は、血流中の薬剤の広がりや、動脈硬化を引き起こす低比重リポタンパクの輸送等を議論する上で重要である。

赤血球の多体干渉については、我々は共焦点マイクロ PIV を用いた実験的手法で調べてきた。この手法の利点は、計測の時間・空間分解能が高く、流路内のある断面の速度分布を高精度で計測できる点である。赤血球の自己拡散[8]およびトレーサ粒子の拡散[2]を調べた結果、どちらの拡散係数も、ヘマトクリットが小さい領域では $D \propto a^2 \dot{\gamma} \phi$ のスケール則を満たすことが明らかとなった。一方、ヘマトクリットが高くなると準希薄を仮定できないためスケール則は成り立たず、ヘマトクリット 30% 程度以上では赤血球の自己拡散はスケール則よりも小さな値となった。

我々は赤血球のみならず、血流中のがん細胞挙動にも着目してきた。赤血球は高い変形能を有するため、管内流れでは軸集中することが知られている。一方、がん細胞は赤血球に比べて硬いため、血流中では壁側に押し出される。また、がん細胞は赤血球に比べサイズが大きいいため、速い流れでは慣性の影響が赤血球よりも先に現れる。粒子に働く微小な慣性は、粒子を流路内のある特定の位置に集中させる傾向があるため、これらの性質を利用することで、我々は Fig.3 に示す血液からがん細胞を分離するマイクロ流体デバイスを開発した[9]。末梢血中を流れるがん細胞（循環がん細胞）を同定し、細胞数を数えることで、がん

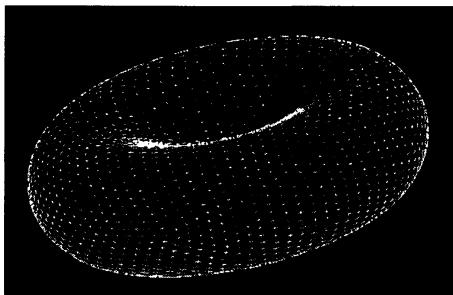


Fig.1 Computational mesh of a red blood cell

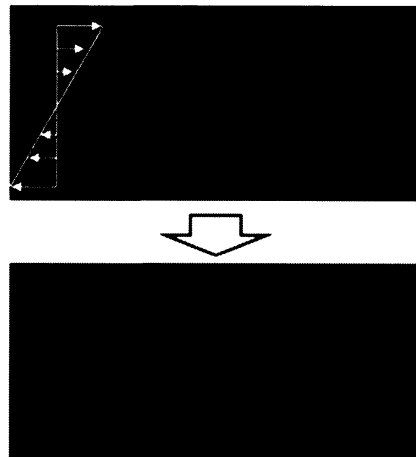
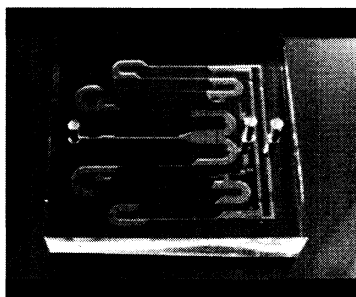
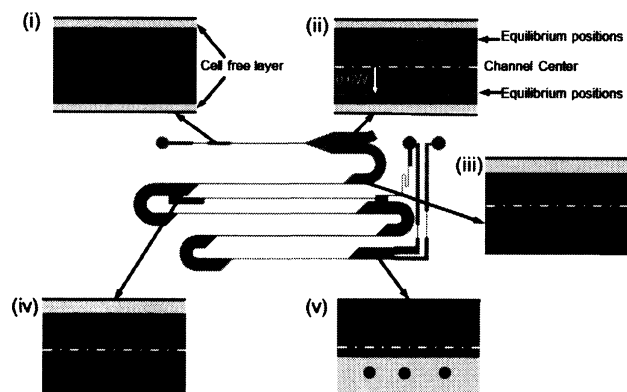


Fig.2 Two-body interaction of red blood cells in shear flow [7]



(a) Outlook of the device



(b) Mechanism of the cell separation

Fig.3 PDMS micro-channel for separating cancer cells from red blood cells [9]

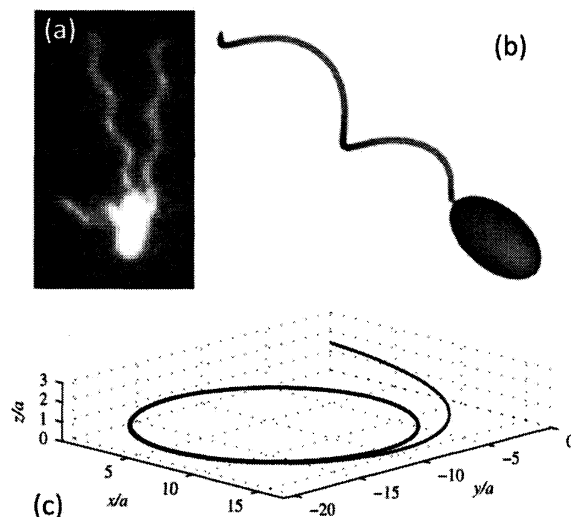
患者の状態を診断する検査方法は CTC 検査と呼ばれ、近年乳がんの転移や再発などを早期に発見できる検査方法として注目されている。通常は磁気ビーズや蛍光試薬を利用してがん細胞を分離するため大きな装置が必要となるが、我々のデバイスは小型化が可能でサンプル処理能力が他の分離法に比べ高い点の特徴である。この装置のがん細胞の濃縮率は約 100 倍であり、がん細胞の回収率は約 85%であった。今後はこうしたマイクロ流体デバイスが医療の現場で活躍することが期待されている。

3. 大腸菌懸濁液の流れ

バクテリアは固体壁近傍に凝集し、円形の遊泳軌道を描くことが知られている[10,11]。こうしたバクテリアが壁面に付着し、増殖することで、バイオフィームが形成される。バイオフィームは工業製品の腐食や虫歯など、工学や医学でたびたび問題となるため、我々は大腸菌をモデルバクテリアとして、壁面近傍の遊泳挙動を流体力学的観点から研究している。Fig.4(a)は実験で使用した大腸菌の蛍光像である。およそ $2\mu\text{m}$ の菌体から数本の鞭毛が出ており、遊泳時にはこれらの鞭毛を束ねて 1 本の大きな鞭毛として遊泳する。我々はこうした大腸菌に対し、Fig.4(b)に示す境界要素法の解析モデルを構築した。数値シミュレーションの結果、大腸菌は流体力学的に壁に向かって泳ぐ性質を有しており、壁のごく近傍を安定した円形軌道で遊泳することが確かめられた[12]。大腸菌の形状による円軌道の変化を詳細に調べることで、軌道形状から菌体形状を予測出来ることを示した。

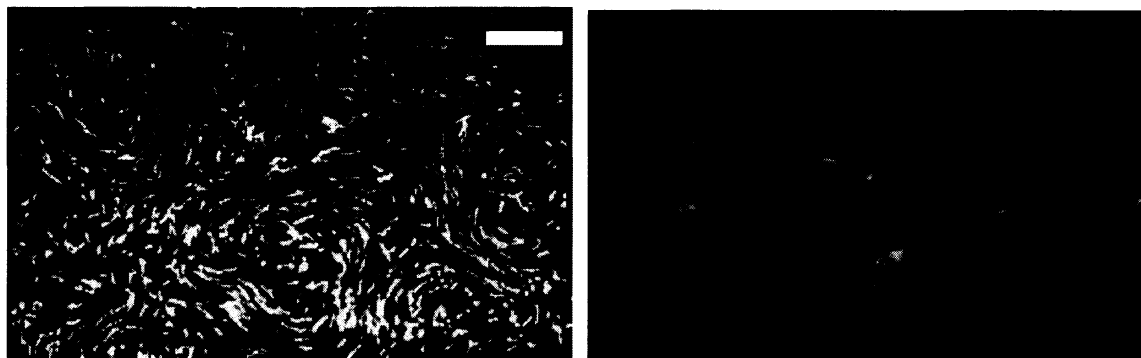
では、大腸菌が多数集まると、どのように泳ぐのだろうか？大腸菌の高濃度懸濁液を観察すると、驚くことに Fig.5(a)に示すような大規模渦構造が形成されている[3,13]。この渦構造は 3 次元的であり(Fig.5(b))、まるで乱流のように時間的にめまぐるしく変化する。こうしたメソスケールの流れの形成に費やすバクテリアのエネルギーは微々たるものであるが[13]、懸濁液中の有効物質拡散係数は飛躍的に高まることが明らかになった。こうした特異流動は栄養素を遠くまで運ぶことができるため、大腸菌の生存圏の拡大にも重要と考えられる。

我々はさらに大きなスケールの問題として、腸内フローラの数理モデル化にも取り組んでいる。近年、腸内フローラが肥満や大腸がんなどさまざまな疾患と関係していることが明らかとなり、その全体像を明らかにしようという取り組みが盛んに行われている[14]。我々は腸内の流れ、酸素の輸送、栄養素の輸送、好気性・嫌気性バクテリアの輸送現象を連立偏微分方程式の形でモデル化し、腸内細菌の分布を予測する基礎モデルを開発した[15]。今後は実験との比較検証を積み上げることで、さらなる予測精度の向上が期待されている。



(a) Fluorescent image of *E. coli* bacteria, (b) Computational mesh for a boundary element analysis, (c) Circular trajectory near a solid surface

Fig.4 Swimming motion of bacteria near a solid surface [12]



(a) Trajectories of fluorescent tracers,
(scale bar = 50 μ m)

(b) Three dimensional vortex structures in the
suspension

Fig.5 Meso-scale flow structure in a suspension of *E. coli* bacteria [13]

4. 微細藻類懸濁液の流れ

微細藻類は食物連鎖の底辺に位置し、海洋生態系に大きな影響を与えるだけでなく、二酸化炭素の吸収による地球温暖化への影響など、環境問題に密接に関わっている。また、工学の分野では微細藻類を利用したバイオ燃料が注目されており、バイオリクターに利用されている。我々は細胞レベルから再構成する微生物サスペンション力学を構築し、こうした微細藻類の分布予測モデルの革新に取り組んでいる。

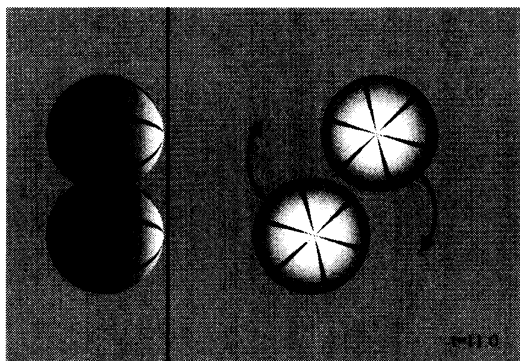


Fig.6 Numerical simulation of dancing *Volvox*. Left side is the side view, and the right side is the top view.

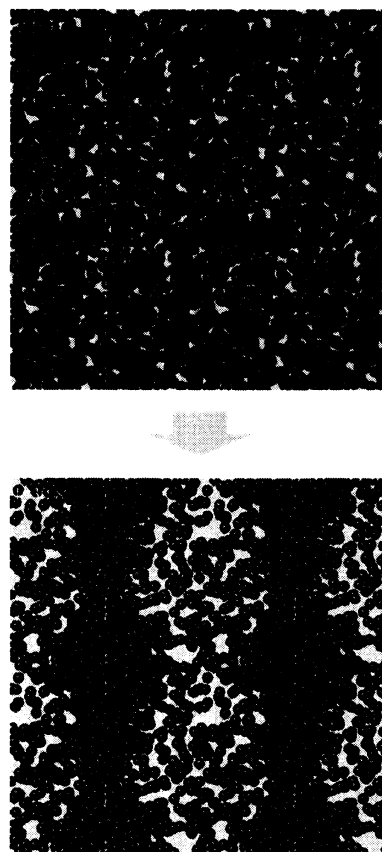


Fig.7 Bioconvection generated by bottom-heavy algae cells. The top figure is the initial condition, and the bottom figure is the equilibrium condition.

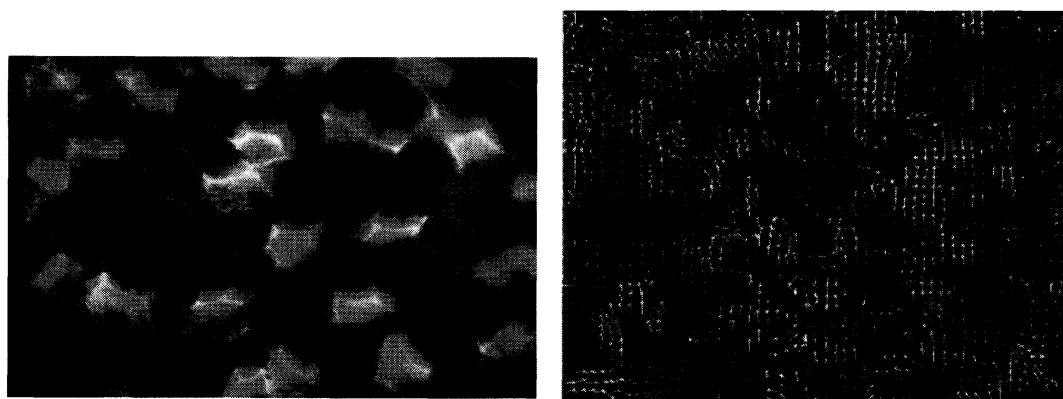
微細藻類の一種である *Volvox* は、水中で互を呼び合うように凝集し、ダンスを踊ることが発見された[16]。こうした藻類の 2 体干渉は力学的に説明できるのか、それとも生物学的な説明が必要なのかは興味深い論点である。我々は *Volvox* を squirmer [17,18,19] と呼ばれる接線方向に速度を持つ剛体球でモデル化し、境界要素法を用いた数値シミュレーションを行った。その結果、Fig.6 に示すように *Volvox* のダンスをシミュレーションで再現することに成功し、2 体運動の発生メカニズムが力学的に説明できることが明らかになった。

こうした 2 体干渉解析を発展させることで、多数の微細藻類が作り出すメソスケール流動構造を予測することができる。Fig.7 上図は 900 体の微細藻類モデルの初期配置であり、比重 1.1 の球形 squirmer がランダムな位置に配置されている。これだけ多数の遊泳挙動を解析する際には、境界要素法は計算負荷が高くなりすぎるため、ここではストークス動力学法[20,21]を用いている。ストークス動力学法は、粒子形状が球形の場合に特に有効であり、高速で高精度な多体干渉の計算が可能となる。計算に使用した藻類モデルは走地性を示すため、基本的に重力に逆らって上方に泳ぐが、比重が水より重い細胞が多いところは下に沈み込む。この沈み込む流れが作り出す渦度によって周囲の細胞が次々と下降ブルームに取り込まれ、最終的に Fig.7 下図のような大きな下降ブルームを形成する。こうした流れは生物対流と呼ばれ、古くから調べられてきた[22]。こうした対流構造が現れると、懸濁液の物質輸送は大きく促進されることになる。

さらに大きなスケールの現象として、海洋に現れる微生物のホットスポットが挙げられる。自然界においては、こうしたホットスポットは水平方向にはキロメートルのオーダーで広がっているものの、水深方向には数メートルにしか存在しない。こうした微生物の凝集は、海流の向きと海面での風向きが反対の場合に現れやすいことを Durham ら[1]は示した。我々もマクロスケールの微生物懸濁液の流れの支配方程式を立て、微生物数の保存則におけるドリフト速度と拡散係数の値をメソスケールの数値シミュレーション結果から外挿することで、同様の結果を再現できることを示した[23]。このように、細胞スケールからメソスケール、マクロスケールとボトムアップしてモデルを接続させることで、微細藻類の分布を高精度・高解像度で予測できると考えられる。

5. 気道内の繊毛流れ

繊毛や鞭毛は細胞小器官の一つであり、細胞の遊泳に必要な推進力を生み出したり、水流を作り出す役割を担っている。繊毛や鞭毛は我々の体内にも多数存在している。例えば気管繊毛は気管や気管支内腔に存在する細胞小器官で、この繊毛が肺から咽頭に向かって波打って運動することで気管の粘液の流れを作り出す。通常、我々は呼吸によって絶えず空気中のウイルスやホコリを体内に取り込んでいるが、この粘液の流れにより体内に侵入した有害なウイルスやホコリは捕らえられ、食道の方へと輸送される。したがって、繊毛運動やそれによって生じる粘液の流れに問題があると、喘息や肺炎など様々な疾患の原因となる[24]。我々は、こうした繊毛が作り出す流れの生物学的な機能を、流体力学の観点から研究している。



(a) Distribution of cilia labeled by pink [25] (b) Velocity field calculated by PIV analysis [27]

Fig.8 Ciliary flow on the surface of the tracheal lumen of a mouse

マウスの気道内には、Fig.8(a)に示すように繊毛細胞が分布している[25]。それぞれの繊毛が有効打と回復打を打つことにより、繊毛は方向性のある流れを作り出すことができる[26]。この図を見てわかるように、繊毛はマウスの気道上皮全面を覆っている訳ではなく、不均一に存在しており、繊毛の方向も完全に一致していない。こうした不均一性は繊毛流れに大きな乱れを引き起こし、Fig.8(b)に示すような時空間的に変動した流れとなる[27]。こうした乱れの強い流れにおいても、粒子の輸送を効率的に行えるのか調べるため、我々は繊毛流れの共焦点マイクロ PIV 計測を行った。その結果、拡散に対する移流の強さを表すペクレ数は、大きな分子では約 8 となることが明らかとなった[25]。こうした知見は、気道のクリアランス機能を理解する上で重要である。

6. おわりに

我々はボトムアップの手法を用い、細胞スケールの現象からメゾスケール、マクロスケールとスケールアップすることで、血液の流れ、大腸菌懸濁液の流れ、微細藻類懸濁液の流れ、繊毛流れを明らかにした。特筆すべき成果は、種々の現象の数理モデル化に成功した点であり、これにより現象の定量的な予測が可能になったことである。本研究により、従来は経験則に基づいて議論されることが多かった生物流れの分野に、シミュレーションによる予測という新しいツールを提供できると考えられる。

参考文献

- [1] Durham, W. M., Kessler, J. O. & Stocker, R., *Science*, **323**, pp.1067-1070, (2009)
- [2] Saadatmand, M., et al., *J. Biomech.*, **44**, pp.170-175 (2011)
- [3] Dombrowski, C., et al., *Phys. Rev. Lett.*, **93**, 098103 (2004)
- [4] Dupire, J., M. Socol, M. & Viallat, A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **109**, pp.20808-13, (2012)
- [5] Omori, T., Imai, Y., Yamaguchi, T. & Ishikawa, T., *Phys. Rev. Lett.*, **108**, pp.138102, (2012)
- [6] Jeffery, G., *Proc. R. Soc. A*, **102**, pp.161-179, (1922)
- [7] Omori, T., Ishikawa, T., Imai Y. & Yamaguchi, T., *J. Fluid Mech.*, **724**, pp.154-174 (2013)
- [8] Lima, R., *J. Biomech.*, **41**, pp.2188-2196, (2008)
- [9] Tanaka, T., et al., *Lab on a Chip*, **12**, pp.4336-4343, (2012)
- [10] Vigeant, M. A. S., Ford, R. M., Wagner, M. & Tamm, L. K., *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, pp.2794-2801, (2002)
- [11] Lauga, E., DiLuzio, W. R., Whitesides, G. M. & Stone, H., *Biophys. J.*, **90**, pp.400-412, (2006)
- [12] Giacche, D., Ishikawa, T. & Yamaguchi, T., *Phys. Rev. E*, **82**, 056309, (2010)
- [13] Ishikawa, T., et al., *Phys. Rev. Lett.*, **107**, 028102, (2011)
- [14] Costello, E. K., et al., *Science*, **326**, pp.1694-1697, (2009)
- [15] Ishikawa, T., Sato, T., Mohit, G., Imai, Y. & Yamaguchi, T., *J. Theor. Biol.*, **279**, pp.63-73, (2011)
- [16] Drescher, K. et al., *Phys. Rev. Lett.*, **102**, 168101, (2009)
- [17] Lighthill, M. J., *Comm. Pure Appl. Math.*, **5**, pp.109-118, (1952)
- [18] Blake, J. R., *J. Fluid Mech.*, **46**, pp.199-208, (1971)
- [19] Ishikawa, T., Simmonds, M. P. & Pedley, T. J., *J. Fluid Mech.*, **568**, pp.119-160, (2006)
- [20] Brady, J. F. & Bossis, G., *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **20**, p.111-157, (1988)
- [21] Ishikawa, T., Locsei J. T. & Pedley, T. J., *J. Fluid Mech.*, **615**, pp.401-431, (2008)
- [22] Pedley, T. J. & Kessler, J. O., *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **24**, pp.313-358 (1992)
- [23] Ishikawa, T., *J. Fluid Mech.*, **705**, pp.98-119, (2012)
- [24] Afzelius, B. A., *Science*, **193**, pp.317-319, (1976)
- [25] Kiyota, K., et al., *Amer. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.*, in press (2013)
- [26] Brennen, C. & Winet, H., *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **9**, pp.339-398, (1977)
- [27] Ueno, H., et al., *Nanomedicine: Nanotech. Biol. Med.*, **8**, pp.1081-1087, (2012)