Japan Society of Fluid Mechanics

日本流体力学会年会2004講演論文集
B 123

血管壁表面の糖鎖層が物質透過性に及ぼす影響

Effect of the Endothelial Surface Glycocalyx on the Microvascular Permeability

○関　眞佐子（関大工）

Masako SUGIHARA-SEKI
Faculty of Engineering, Kansai University, Suita, Osaka 564-8680, Japan

The luminal surface of vascular endothelial cells is lined with the glycocalyx. In order to examine its effects on the microvascular permeability, we numerically evaluated the hydraulic conductivity, diffusive permeability and reflection coefficient, by using a simple model based on the glycocalyx detailed structure. The results suggest significant role of the glycocalyx as a molecular sieve.

1．はじめに

生体内の様々な細胞の表面に糖鎖が存在し、それらは細胞の認識、増殖・分化、免疫など種々の機能、およびその調節・制御に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。血管壁の最も内側にあって血液と直接接している内皮細胞の表面も糖鎖で覆われており、特に glycocalyx と呼ばれている。内皮細胞は、血液流れから受ける種々の刺激に応答して多様な機能を発現させ、血管径の調節による血流分配の制御や免疫機能など、重要な生理的役割を担っているので、その細胞表面に存在する glycocalyx が内皮細胞の機能にどのような寄与をしているかについて大きな関心が集まり、活発な研究が行われているところである。

血管内皮細胞表面の glycocalyx の役割として様々な仮説が提唱されているが、本研究では、血液と血管外組織間の物質輸送に着目し、媒質や溶質の移動に glycocalyx がどのような影響を与えるかについて流体力学的観点から調べた。最近明らかになった血管内腔側の glycocalyx の微細構造をもとに、媒質と溶質の輸送係数（ろ過係数、透過係数、反射係数）を数値解析により評価し、glycocalyx のフィルターとしての役割を検討した。

2．解析

詳細な構造解析の結果、血管内皮細胞表面の glycocalyx は規則的な構造をしていることが分かり、図 1 のような模式図が描かれた [1,2]。図 1 では、細胞表面から直径 10～12 nm の core protein が 150～400 nm の高さで bush 状に伸びており、それらは細胞表面上で一辺の長さ 20 nm 程度の 6 角形の頂点に位置している。本解析では、この構造に基づいて溶液（媒質と溶質）の移動を力学的観点から考える。簡単のため、core protein を円柱形状と仮定し、直径 $2r_f$=10～12 nm の円柱が一辺の長さ L=20 nm の正 6 角形の頂点の位置に平行に並んでいるものを glycocalyx のモデルとした(図 2)。円柱の長さは直径に比べ十分に長いとしている。

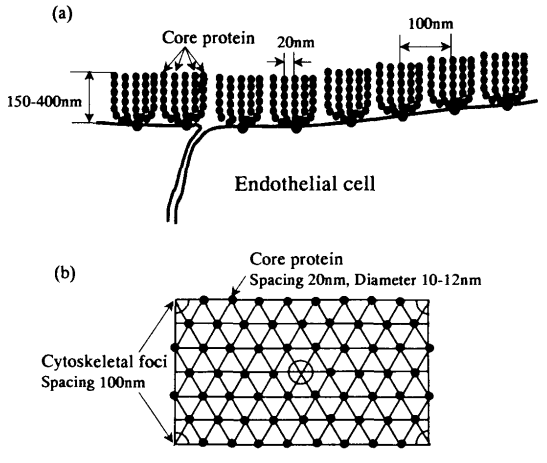

Fig. 1　(a) Sketch of the glycocalyx bush structure showing core protein arrangement and anchoring foci, (b) *En face* view of idealized model for core protein clusters and cluster foci (modified from 2)) [1].

円柱群の上方を血管内腔側、下方を内皮細胞表面側とし、円柱群の間隙に満たされた溶液が、円柱群の上方と下方の間の圧力差と溶質の濃度差によって円柱軸に沿って移動する流れを解析する。この移動量に glycocalyx が与える影響を評価する。ここで、溶質は半径 a の球形粒子と仮定し、溶液は十分希薄で、溶質間の相互作用は無視できるものとした。

glycocalyx 内の流れの Reynolds 数は極めて小さく、媒質の運動および溶質の運動に慣性は影響しない。まず、媒質として Newton 流体を仮定すると、流体の運動は Stokes 方程式と連続の式に従う。境界条件は、円柱表面および溶質の表面ですべりなし条件を課した。また、後に媒質を Brinkman 流体（(6)式参照）と仮定した場合も考察するが、境界条件は同様とした。

円柱の上方・下方間に圧力差Δp、溶質の濃度差Δc が存在するとき、一定の温度 T における溶質と媒質の単位面積当たりの流束 J_s, J_v は、近似的にΔp とΔc のそれぞれに比例する項の和として表すことができて、

$$J_s = \omega RT\Delta c + (1-\sigma)c^* J_v ,$$
$$J_v = L_p(\Delta p - \sigma RT\Delta c) , \qquad (1), (2)$$

となる（Kedem-Katchalsky 方程式）。ここで、R は気体定数、

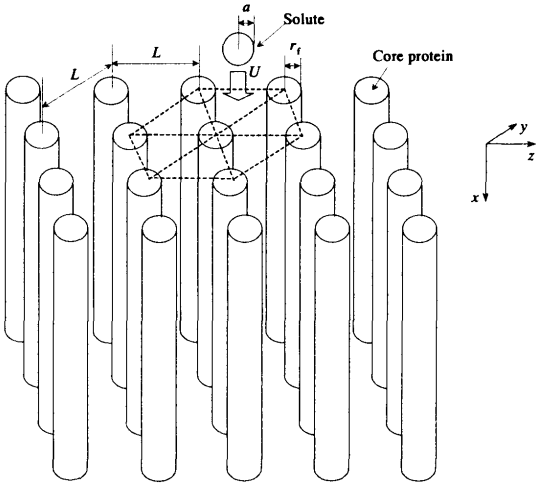

Fig. 2　Configuration for a solute transport through the hexagonal arrangement of cylinders. We consider the case of a =2 – 4 nm for r_f=5-6 nm, L =20nm.

NII-Electronic Library Service

c^*は溶質の平均濃度である。各項の係数であるωは透過係数(permeability coefficient)、L_pはろ過係数(filtration coefficient, hydraulic conductivity)、σは反射係数(reflection coefficient)と呼ばれており、物質輸送の程度を表す。本解析では、有限要素法による数値解析によってこれらの値を求めた。

3．結果と考察

3．1　ろ過係数（L_p）

(2)式から、L_pの値は、次式で評価できる。

$$L_p = J_v / \Delta p \,|_{\Delta c=0}. \tag{3}$$

溶質の濃度差がない場合を考えればよいから、最も簡単な、溶質が存在しない場合についてこの値を求めた。円柱軸に沿った圧力勾配によって媒質（粘性率μのNewoton流体）のみが図2の円柱間隙を流れている場合の流量と圧力差の関係から、無次元化したろ過係数の値は、

$$L_p \times (\mu l / L^2) = \begin{cases} 0.0284 & (r_f / L = 0.25), \\ 0.0152 & (r_f / L = 0.30), \end{cases} \tag{4}$$

となった。ここで、lは円柱の長さ（glycocalyxの厚さ）である。媒質が水であり、l=150 nmの場合には、r_f=5 nmと6 nmに対してそれぞれ、

$$L_p = \begin{cases} 7.57\times10^{-8}\,\mathrm{m/Pa.s} = 7.42\times10^{-4}\,\mathrm{cm.s^{-1}/cmH_2O}, \\ 4.06\times10^{-8}\,\mathrm{m/Pa.s} = 3.98\times10^{-4}\,\mathrm{cm.s^{-1}/cmH_2O}, \end{cases} \tag{5}$$

が得られる。

これを実際の生体を用いた計測値（L_p～10^{-7}cm.s^{-1}/cm H_2O）と比較すると、3桁以上の差があることが分かる。この差異の原因としてさまざまな可能性があるが、最も大きな要因は、糖鎖内がゲル状になっているため媒質が通常の水とは異なることが挙げられる。この影響を取り入れるために、媒質のモデルとして、(a)高粘度のNewton流体とする、あるいは(b)多孔質内流れをよく近似するDarcyの法則に従って、流体には流速に比例する抵抗が働くと仮定する、という2つの場合を考えた。

(a)の仮定で実測値を説明するためには、(4)式から明らかなように、粘性率を10^3～10^4倍にする必要がある。一方、(b)の仮定を用いると、流体の運動は、流速$\boldsymbol{u}$に比例する抵抗$-K\boldsymbol{u}$（但し、Kは定数）をStokes方程式に加えた式（Brinkman方程式）：

$$-\nabla p + \mu \nabla^2 \boldsymbol{u} - K\boldsymbol{u} = 0 \tag{6}$$

に従うことになる。様々なKの値に対して、この式を用いて図2の円柱間隙の流れを解析した結果、r_f=6 nmとして計測値を説明するためには、$L\sqrt{K/\mu}$～10^2とする必要があることが分かった。$\sqrt{\mu/K}$がBrinkman流体の速度変動の空間スケールを表すことに注意すると、この結果は、円柱間隙の流れは円柱表面のごく近傍で急激に速度が変化し、その他の領域ではほぼ一定の速度分布になっていることを示している。

3．2　透過係数（ω）

力学的および熱力学的平衡を仮定すれば、溶質の透過係数は、溶質が静止流体中を円柱の軸と平行に並進運動するときの抗力係数F_t(=抗力/$6\pi\mu a U$、U:並進速度)を用いて近似的に、

$$\frac{\omega}{\omega_0} \approx \frac{1}{A}\int_{A^*} \frac{1}{F_t} dA \tag{7}$$

と表される[3]。ここで、ω_0は無限流体中における透過係数で、Aは6角形断面の1/6に相当する3角形の面積($=\sqrt{3}L^2/4$)であり、積分はその3角形内で溶質の中心がとりうる部分の面積A^*($=\sqrt{3}L^2/4 - \pi(a+r_f)^2/2$)について行う。(7)式を導くために、溶質の並進運動のトルク係数、回転運動の抗力係数はF_tに比較して小さいことを用いている。媒質をNewton流体として、溶質が3角形断面内の様々な位置にあるときに抗力係数F_tを数値解析によって求め、(7)式の積分を溶質半径a=2～4 nmの場合に行なった。その結果を図3に示す。r_f=5 nm, 6 nmの場合、aがそれぞれ6.55 nm, 5.55 nmを越えると溶質の通過は幾何学的に不可能となるが、溶質サイズを小さな値から次第に大きしていくと、この極限値よりかなり小さなaの値で既に透過率は急激に減少することが分かる。これは従来の解析に比べ、glycocalyxの分子フィルターとしての役割を強く示す結果である。

3．3　反射係数（σ）

透過係数と同様、反射係数は近似的に、

$$1 - \sigma \approx \frac{1}{A}\int_{A^*} \frac{F_0}{F_t} dA \tag{8}$$

と表すことができる[3]。ここで、F_0は、円柱間隙内で静止している溶質に、円柱軸に沿って圧力差で生じた流れがあたるときの抗力係数である。媒質がNewton流体である場合に、この抗力係数を数値解析で求め、上式の積分を実行した。その結果、r_f=6nmの場合にσ=0.86(a=4 nm)、σ=0.68(a=3.5 nm)となり、従来の値(σ= 0.67, 0.52)に比べ、計測値（アルブミンに対してσ > 0.8）に近い値を与えた。

4．おわりに

最近明らかになった血管内皮細胞表面のglycocalyxの微細構造をもとに、これを通過する媒質と溶質のろ過係数、透過係数、反射係数の評価を行なった。媒質をNewton流体とし、その粘性率として通常の水の値を用いると、ろ過係数は計測値と大きくずれた。これは、糖鎖内の流体がゲル状になっているためと考えられる。その取り扱いについては今後の課題である。溶質の透過係数は比較的実測値に近い値となった。糖鎖の表面に存在する電荷の影響を考慮すれば、さらによい値となることが期待される。反射係数は、従来の研究よりも計測値をよく説明する結果になった。これらは、血管壁表面のglycocalyxが分子フィルターとしての役割を果たしていることを示している。

引用文献

1) Squire, J.M. et al., *J. Struct. Biol.*, 136 (2001) 239-255.
2) Weinbaum, S. et al., *PNAS*, 100 (2003) 7988-7995.
3) Sugihara-Seki, M., *Fluid Dyn. Res.*, 34 (2004) 59-76.

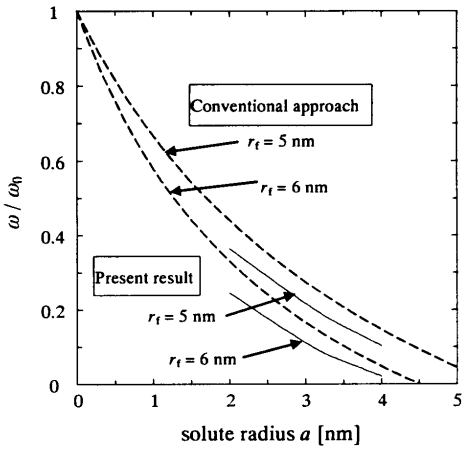

Fig. 3　The diffusive permeability normalized by the unrestricted permeability. The dashed curves represent the results of the conventional approach based on effective medium approximation.

NII-Electronic Library Service