

赤血球変形能

—未だに良く理解できていない赤血球の力学的特性と流れ—

菊池 佑二*

1. はじめに

微小循環系を顕微鏡で観察すると、赤血球が周囲の状況に応じて様々な変形を繰り返しながら流れ、また、自己の直径より細い毛細血管を変形した状態で円滑に通過していく様子が見られる。in vitro の測定系においても、赤血球は均一で安定な形状を示す一方、僅かな力を受けても容易に変形し、力を取り除くとまた元の形状に速やかに復帰することが観察される。

このような赤血球の特徴的な力学特性（変形能と呼ばれる）はいうまでもなく血液レオロジーを左右する最も重要な因子である。特に、毛細血管への分流においては必須の条件であり、それによって組織への酸素輸送は保証されることになる。

赤血球変形能とその役割に関して行われたこれまでの研究の数は膨大なものになろう。また、優れた解説も与えられている¹⁻⁵⁾。筆者自身も解説を試みている⁶⁾。しかしながら、われわれの理解は本当に深まったのであろうか。結果の不一致や理解の相違など混乱が大きくなっているようにも思われる。さらに、環境条件によってこの赤血球変形能は変化するのか、すなわち、実際問題として健康と疾患にどの程度関わりえる因子なのかについても、明確になったとはいえない。これらはまた信頼性・定量性の高い計測法が確立していないこととも関係していよう。このような状況の中で、現在、研究者、臨床家の間で赤血球変形能に対する関心が後退しているのも事実である。

本稿ではこれまでの一般的な理解とは異なる視

点で赤血球変形能を論じてみたい。読者にはその方が興味を持っていただけるものと思う。また半導体技術を導入した最新の計測法についても紹介したい。

2. 赤血球変形能を規定する基本因子

良く知られているように哺乳類の赤血球は両凹円盤状で細胞質はヘモグロビン溶液のみと見なせる単純な構造をしている。球状であれば変形の際に表面積を増やすことが必要であり、それは膜の破壊を招くことになる。それに対して表面積が内容積に対して過剰な両凹円盤状であればどのような形状にも表面積を増やすことなく変形できる。また内部に核やミトコンドリアなどの構造物があれば変形を妨げることになろう。このように赤血球の構造は変形するのに極めて都合良くできており、変形能はその構造から極めて分かりやすく理解しえるように思われる。現在、このような考察のもとに、

- (1) 表面積一体積比
- (2) 内部粘度
- (3) 膜の粘弾性

の3点を赤血球変形能を規定する基本因子とする考えが広く認められている。

しかし、筆者は（恐らく筆者一人だけであろうが）このコンセンサスこそその後の研究の混乱を招くおおもとであったと見ている。

まず変形能には変形限界と変形速度の2側面があることを明確にしておくことが必要であろう。例えば変形限界の大小で比較するならば赤血球は白血球と比べて変形能が高いとはいえなくなる。なぜなら赤血球が通過しえない内皮細胞の間隙を

*農林水産省食品総合研究所計測工学研究室

変形限界 赤血球 < 白血球



変形速度 赤血球 >>> 白血球

図 1

白血球は変形して通過しえるからである。両者で大きく異なっているのは変形速度の方である。

表面積一積比は明らかに赤血球全体の变形限界を規定するものであり、变形速度にもまたマイクロピペット法で測られる膜の部分的な变形限界にも関係しないであろう。内部粘度は確かに变形速度に影響するものであるが、実際に問題になるかどうかは数値的な検討が必要である。現実には鎌状赤血球症などの特殊な例を除いて無視できる寄与しか与えないことが示されている。

变形限界と变形速度のどちらがより重要であるかは個々の循環の条件によって異なってくるが、前者が問題になる状況は骨髄からの脱出や脾洞間隙の通過など比較的限られていよう。

この变形限界と变形速度が区別されないまま上記3因子が広く受け入れられたため、变形速度の違いに対して(1)の差を論じたり、また逆に变形限界の違いに対して(2)の差を論じるような誤りと混乱が生じる結果になった。

極端な变形条件を除けば、(3)の膜の粘弾性特性のみが赤血球变形能を規定する基本因子であるといつてよい。

3. 有核赤血球の变形能

哺乳類以外の下等脊椎動物の赤血球は扁平な楕円体状であり、さらに有核である。上記の3因子からはその变形能は哺乳類の赤血球と比べて低いと考えられよう。この点が進化論的にも受け入れられ易く、上記のような考察がコンセンサスとなる一因であったと思われる。しかし、実際そうであろうか。

筆者らは、改良したニュークリポアフィルター法を用いて赤血球の平均ポア通過時間を求める測定を行い、赤血球径とポア径の比がほぼ同じであれば哺乳類と魚類の赤血球の通過時間に大きな差

が無いことを示した⁶⁾。

この結果は上記の(1)、(2)の因子が極端な变形条件を除いて重要でなく、(3)のみが重要であれば十分理解できるものである。

さらに、この結果は両者の運動能力を比較しても納得が行くものと思われる。鳥類や魚類では驚嘆すべき運動能力を示すものが少なくない。そのような動物で赤血球变形能が高くないことがもし真実であれば、赤血球变形能は微小循環に重要でないということになる。さらに興味深い知見は寒流魚の赤血球变形能が低温でも十分保たれることである⁶⁾。動物の環境適応において赤血球变形能にも適応的变化が認められることはそれだけこの指標が重要な役割を持つことを裏付けるものであろう。

4. 赤血球の進化の解釈

哺乳類と下等脊椎動物の間で赤血球变形能に大きな差が無いとすれば、赤血球の形態に生じた変化をどう解釈するかが問い返されよう。それに対して次のような見方が可能であろう。

赤血球变形能は印象深い特徴であるため、变形能は赤血球にのみ固有な性質と考えられがちである。しかし、植物細胞や酵母のプロトプラストなどが赤血球に比べて变形しにくいということはない。膨圧によって張っているものを除いて極めて变形しやすく、むしろ細胞膜はより柔らかいのではないかとさえ感じられよう。顕著な差があるのは变形能ではなく膜の丈夫さについてである。

飛躍することになるが、組織への酸素輸送のために赤血球を創り出し循環させるに当たって求められたことは、第一に膜の安定性の方であったと思われる。膜の柔軟性はすでに十分高かったはずである。一般に柔軟性 (flexibility) と安定性ないし丈夫さ (stiffness) は相反する関係にある。膜の柔軟性を犠牲にする形で丈夫さを高める工夫が行われ膜の骨格蛋白質が創り出されてきたと考えたい。

赤血球膜の骨格構造に関しては近年極めて活発な生化学的・分子生物学的研究が行われ、多くの知見が蓄積してきている^{7,8)}。最近、この赤血球膜の骨格蛋白質に類似の蛋白質が組織 (甲状腺など) 細胞においても見出しされ同様に骨格を形成していることが明らかになり話題となっている⁹⁾。細胞

が組織を作る時にも細胞膜の高すぎる柔軟性はむしろ障害になったはずであり、膜を丈夫にする工夫がとられたはずである。共に膜の丈夫さを増すことが目的であるとすれば骨格蛋白質の共通性は理解しやすい。

しかし、多くの研究者はこれまで赤血球膜の骨格構造に変形能を与える機構を読み取る努力をしてきた。その立場からは変形能を必要としない組織細胞での類似蛋白質の存在は大きな謎となつてこよう。

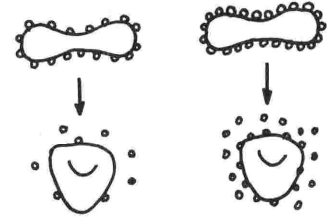
下等脊椎動物の赤血球においても膜の安定性はすでに十分達成されていたと考えられよう。それによって細胞内の小器官やそれによる修復機構が無くても十分な赤血球（膜）の寿命が得られるようになり、さらに哺乳類に至ってそれらの不要になった細胞内小器官が成熟細胞から除かれることになったのであろう。

5. 環境因子の赤血球変形能に及ぼす影響

血漿蛋白質（主に血漿アルブミンと考えられる）の吸着により赤血球膜の安定性が高まることは良く知られている。この血漿蛋白質の吸着が一方で膜の粘性項の増加すなわち変形能（変形速度）の低下をもたらすことが示された⁶⁾。これは変形する際に一時的な吸着蛋白質の変位ないし離脱が起きることによるエネルギー損失が加わるためと考えられる。喩えていえば服を着ると動きにくくなることと同様である。ここでも膜の安定性と柔軟性の間の一般に相反する関係を見ることができる。

この赤血球表面と血漿蛋白質の間の相互作用は赤血球変形能が環境因子によって変化する機序を与えうる。血漿蛋白質濃度自身の変化が第一に重要であるが、他の血漿因子例えば血漿のイオン強度は相互作用を変化させる。一般的にはイオン強度の増加は両者間の電気的斥力を弱め、吸着を増す方向に作用する。しかしイオンの種類によっては相互作用を弱める効果も予想される。ビタミンEやペントキシフィリンなどの膜近傍に集積しやすい物質も大きな修飾作用を持ちえよう。糖尿病で生じる両者の糖加は恐らく相互作用を強め変形能の低下の原因になると考えられる。

遺伝的に膜の骨格構造に欠陥がある場合は形状の異常を伴う大きな変化が見られる。それらの先天性疾患の多くが溶血性の症状を示すことは膜蛋



吸着血漿蛋白質量

小

大

変形能（変形速度）

大

小

図 2

白質の第一の役割が膜の安定性にあるという解釈を支持するものと考えられよう。それらの疾患で変形能の異常（低下）を伴うかどうかは明らかではない。これまでの議論からは逆に変形能が高いことも予想しえよう。

膜蛋白質のコピー数が増加する疾患は報告されていないが、もし存在すれば膜の粘弾性の増加すなわち変形能の低下が予想される。

6. 赤血球変形能の測定法

マイクロピペット法、フィルター法およびずり応力変形法（エクササイトメトリー）が赤血球変形能の測定法として一般的であるが、それぞれに短所があり、いずれも標準法になりえていない。

先端径 1-2 μm のガラスマイクロピペットを用いて一定引圧で赤血球の一部を吸引し、吸引量を計測する、あるいは吸引を止めた後変形が元に戻る時間を計測するマイクロピペット法は、赤血球膜の基礎的な物性を研究する上で最も有力であり、厳密な解析により膜の粘弾性係数が求められている。しかし、手技の難しさのため、多数の細胞について計測することが困難であり、細胞間のバラツキ、時間変化等に対処することが難しいのが欠点である。

赤血球浮遊液を一定圧力差で 5 μm 径の小孔を持つニュークリポアフィルター膜に流し、通過速度を測定する、あるいは一定流量で流した時に生じる圧力差を測定するフィルター法は簡便であり、多くの研究者が行なっている。ここでは主に赤血球の変形速度が測定されることになる。しかし、2-3 μm 径の小孔を用いて赤血球の通過能を調べる方法ではいまでもなく赤血球の変形限界の測定になる。得られる指標は多数の細胞につい

て平均的なものとなる。また、フィルター間の孔密度、孔径のパラッキと気泡、凝集塊による孔の閉塞などが問題になる。

周囲の液体の流れによるずり応力で赤血球を伸長させ、変形量を顕微鏡で直接求めるか、レーザー光の干渉現象を利用して求めるずり応力変形法は、マイクロピペット法とフィルター法の中間の特徴を持っている。装置には高い加工精度が求められるが、測定自身は簡便であり、また一定のずり応力をかけることが利点となっている。欠点と思われることは、赤血球を高粘度の人工溶液に暴露しなければならないこと、さらに、赤血球の存在自体がずり応力を乱し、そのため安定な伸張の条件には赤血球膜の粘弾性以外に形状、外液、内液の粘度が関与し、得られる指標（伸長度：長径－短径比）は単純であるが、その意味は明瞭とはいえないことである。

マイクロピペット法、フィルター法に共通する問題は、ポア径のわずかな違いが結果に比較的大きな影響を及ぼすことである。それに対して、筆者らは、半導体加工技術を用いて加工したシリコン単結晶基板の微細な溝を用いる新手法を考案した^{10,11)}。フォトリソグラフィにより種々の目的に合ったデザインの流れ（網）を基板上に展開できることと、異方性エッチングの技法を用いることでサブミクロンの加工精度が得られることが大きな利点となっている。1例の写真を示すが、この方法により、赤血球の凝集塊が極めて速やか

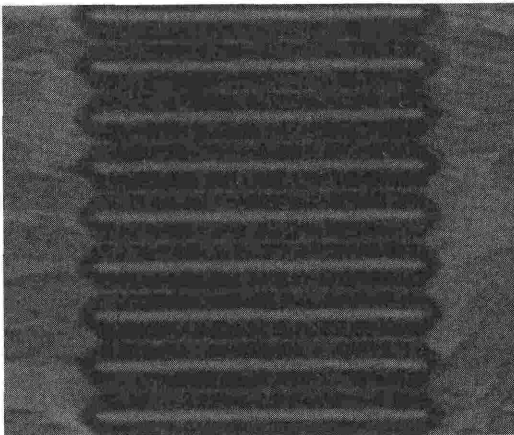


図3 シリコン単結晶基板上に加工した微細な流路（幅6 μm 、長さ100 μm ）と圧力差3 cm 水柱の下で速やかに通過する赤血球の凝集塊。

に流路を通過しえること、正確には凝集が流路通過抵抗の増加をもたらさないという予想外の結果が得られている。これはこれまでの常識に反することであり、赤血球の変形能と流れについて我々はまだまだ良く理解していないということであろう。

7. おわりに

筆者はもともと物理出身で、物を作るのが好きである。理想的な素材や設計・加工は望むべくもなく、ありあわせのものをつぎはぎして、さらに設計や加工の失敗をごまかしながら、最後には何とか動けばそれで良しとなるのが常である。

生物においては隅々まで合目的性が貫徹していると多くの生物学者は信じていよう。しかし、環境への適応という差し迫った時間の中で、理想的な素材・設計・加工を持ちえたのであろうか。

赤血球変形能について研究を進める中で筆者は全てに合目的性と機能を見る生物学者の考えにはなかなかついていけなかった。それにしても核の抜けた後の窪みにまで合目的性を見るのはどうであろうか。

変形能と同様に、膜の流動性を重要な機能と考えない研究者はいないであろう。それに対して、水の中を仕切るには流動性の高い油脂を用いざるをえなかったと考えれば、その後求められたことは膜の流動性を高めることではなく反対に抑さえる工夫であったということになる。

膜の安定性と柔軟性は上述したように相反する要請である。膜の安定性に血漿蛋白質まで動員されていることは両者の調和が難しく糊塗せざるをえなかったと見ることもできよう。その結果、赤血球凝集という見苦しい現象が起きてしまったが、さいわい流れの障害にならなかったので放って置かれた——見方を変えらるとつぎはぎだらけにも見えてこよう。

われわれが原稿の締切り前に多用せざるをえないように、環境への適応というまったなしの締切りの前に、創造主もありあわせの素材をもとに欠みと糊を多様せざるをえなかったと考えるのは冒涇が過ぎるであろうか。

そのような作品であるからこそ、われわれが作った機械と同様に、管理の良し悪しが重要になるのではないだろうか。もし完璧なものであればも

とより管理など不要であろう。

本稿の責任は筆者のみにありますが、貴重なご議論を頂いた東京女子医科大学の高桑教授に感謝致します。

参考文献

- 1) Weed, R. I.: The importance of erythrocyte deformability. *Am. J. Med.*, **49**:147-150, 1970.
- 2) 志賀 健: 赤血球のレオロジー, *日本生理学雑誌*, **44**:187-198, 1982.
- 3) 前田信治: 赤血球—その骨格構造とレオロジー, *医学のあゆみ*, **127**:1041-1051, 1983.
- 4) Chien, S.: Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Ann. Rev. Physiol.*, **49**:177-192, 1987.
- 5) 高桑雄一: 赤血球膜骨格の構造と機能, *化学と生物*, **26**:287-294, 1988.
- 6) 菊池佑二: 赤血球変形能の測定と環境因子による変化, *日本バイオレオロジー学会誌*, **6**:2-16, 1992.
- 7) 八幡義人: 先天性溶血性貧血 赤血球膜の構造と機能/異常, *最新内科学大系18* (別冊) 貧血, 多血症, 中山書店, 1992, pp. 202-269.
- 8) Nakao, M.: Function and structure of the red blood cell cytoskeleton. In: *Blood Cell Biochemistry*, J. R. Harris (Ed), Plenum Press, New York, London, 1990, pp. 195-225.
- 9) Shimizu, T., Takakuwa, Y., Koizumi, H., Ishibashi, T., and Ohkawara, A.: Localization of proteins immunologically related to erythrocyte protein 4.1, spectrin and ankyrin in thyroid gland. *Acta histochem. (Jena)*, **93**:441-445, 1992.
- 10) Kikuchi, Y., Sato, K., Ohki, H., and Kaneko, T.: Optically accessible microchannels formed in a single-crystal silicon substrate for studies of blood rheology. *Microvasc. Res.*, **44**:226-240, 1992.
- 11) Kikuchi, Y., Sato, K., and Mizuguchi, Y.: Modified cell-flow microchannels in a single-crystal silicon substrate and flow behavior of blood cells. *Microvasc. Res.*, in press.