仅凭受体丰度会低估戈谢病中的红细胞黏附

柴昭杰[1,*], Pierre A. Buffet[2], Melanie Franco[2,*], 和 George Em Karniadakis[1,*]

[1]布朗大学应用数学系，美国罗得岛州普罗维登斯[2]巴黎西岱大学，法国国家健康与医学研究院 UMR_S 1134、红细胞综合生物学中心及 GR-Ex 卓越实验室，法国巴黎*通讯作者

arXiv:2611.27960v1 [physics.bio-ph] 20 Nov 2026

摘要 戈谢病（GD）患者的红细胞（RBC）会异常黏附于血管壁，并携带更多 Lutheran/基底细胞黏附分子（Lu/BCAM），一种层粘连蛋白受体。受体丰度是否决定这种黏附，尚未经过检验。我们模拟了携带随机 Lu/BCAM–层粘连蛋白键的红细胞，基于对照供体校准了一个群体模型，并根据受体增加 1.3 倍这一情况预测 GD 患者的黏附。在层粘连蛋白和内皮上，实验数据比预测值高出 1.6 至 1.7 倍。要与实验数据吻合，具备结合能力的受体需增加 2.4 倍和 4.6 倍，这与估计的磷酸化受体增加 5.7 倍相符。无论是细胞膜更硬，还是键亲和力更高，都无法弥补高剪切应力下的不足。对于镰状细胞病，在已知活性受体计数的情况下，该模型对羟基脲治疗后黏附下降的预测误差不超过 1.4 倍，而受体总数却有所增加。黏附可能更多取决于受体状态，而非受体丰度。细胞变硬则会使细胞滞留在脾脏裂隙处。

摘要： 更多的 Lu/BCAM 受体只能部分解释戈谢病红细胞的黏附。受体激活可能解释其余部分。

引言

戈谢病（GD）是一种常染色体隐性遗传性溶酶体贮积症，其中葡萄糖脑苷脂酶缺乏导致葡糖基神经酰胺在巨噬细胞及其他细胞类型中蓄积（1）。该病主要累及脾、肝脏和骨骼（2，3），但红细胞也会受到影响，并可能促成其病理改变（4，5）。患者常表现为轻度贫血，其红细胞呈现异常形态；由于脂质组成改变，细胞膜变得更加僵硬，并且在剪切力作用下形成延长的系链（4，6–9）。较低的表面积体积比和更僵硬的细胞膜会阻碍其通过脾脏的内皮细胞间隙（10–13）。

戈谢病红细胞也会出现异常黏附。在流动条件下，与对照红细胞相比，它们更易黏附于人微血管内皮细胞（HMEC-1）和层粘连蛋白 $\alpha 5$ （4）。Lutheran/基底细胞黏附分子（Lu/BCAM）是红细胞唯一的层粘连蛋白受体，在戈谢病红细胞上的表达水平较高，磷酸化程度也更高，而另外四种黏附受体则没有变化（4）。Lu/BCAM与层粘连蛋白的结合 $\alpha 5$ 受其胞质尾的磷酸化调控，主要发生在蛋白激酶A位点（14）。Lu/BCAM也会介导镰状细胞病中的异常红细胞黏附（15）。红细胞黏附于血管壁，可能会促成戈谢病患者脾脏和骨骼中的缺血事件（4、16）。

成熟GD红细胞上的Lu/BCAM表达仅略有升高，中位数约为1.3倍（4），而黏附程度最高可升至2.6倍（结果）；在不同供体中，受体水平与黏附程度的相关性仅为中等（4）。受体数量增加是否足以解释黏附增强，抑或每个受体还必须具有更强的结合能力，无法从黏附数据中直接判断。更多受体以及更能抵抗外力的键，都会使细胞在更高剪切应力下保持附着，并以几乎相同的方式改变脱离曲线（补充材料）。

在此，我们通过一个基于对照供者进行校准、并用于预测戈谢病供者的模型来回答这一问题。我们首先重新分析供者层面的内皮和层粘连蛋白数据 $\alpha 5$。随后，我们利用耗散粒子动力学（DPD）（17、18）模拟剪切流中携带随机Lu/BCAM–层粘连蛋白键的单个红细胞。这得出了细胞的停滞情况，以及其键使细胞减速的程度，二者均为其受体数量和剪切应力的函数。我们将这一响应对根据对照数据校准的受体数量分布进行平均，从而预测在Lu/BCAM表达测得的升高幅度下的戈谢病曲线。预测结果低于数据，而数据所要求的受体数量增幅介于实测的

Lu/BCAM表达增幅和磷酸化受体增幅之间。戈谢病红细胞较硬的细胞膜以及每个键更高的亲和力，都无法消除高剪切应力下的不足。

结果

流动黏附实验模型

我们通过洗脱实验的模拟版本（图 4），检验戈谢病红细胞的 Lu/BCAM 表达量高出 1.3 倍这一现象（由 Franco 等人测得）是否足以解释其更强的黏附能力。1A）。在实验中，供体红细胞在流动室中黏附于层粘连蛋白 $\alpha 5$ 或活化的 HMEC-1 细胞。剪切应力是流动作用于流动室下表面的单位面积力，细胞黏附于该下表面；实验中逐步提高剪切应力，并在每个步骤后计数黏附细胞。在模拟中，携带 Lu/BCAM 受体的红细胞通过随机键与通道下表面的层粘连蛋白 $\alpha 5$位点结合（图 1B、C）。其结合和断裂速率取决于键长，即受体与层粘连蛋白位点之间的距离（图 1D；材料与方法）。细胞膜由 500 个顶点构成网格，每个顶点以概率 f携带一个受体，该概率即受体比例。每次模拟先让细胞在无流动条件下结合，随后施加恒定剪切应力，最长持续 0.24 秒。我们将第二阶段称为加载阶段：流动会牵拉每个黏附细胞，这一载荷就是其键必须承受的力。对于每个细胞，我们计算停滞 $A = 1 - v/v_0$，即键所抵消的非黏附细胞速度的份额： v_0 自由细胞为 0，固定不动的细胞为 1（图 4B、C）。我们在六种剪切应力下进行计算，范围为 0.39 至 3.15 dyn/cm^2, ，涵盖两种实验中从 0.4 dyn/cm^2 起的剪切应力范围（图 1E）。将经过对照供者校准、受体数量各异的细胞群体的停滞程度取平均，即可得到黏附密度，单位为 cells/mm^2,，这就是实验的读数。

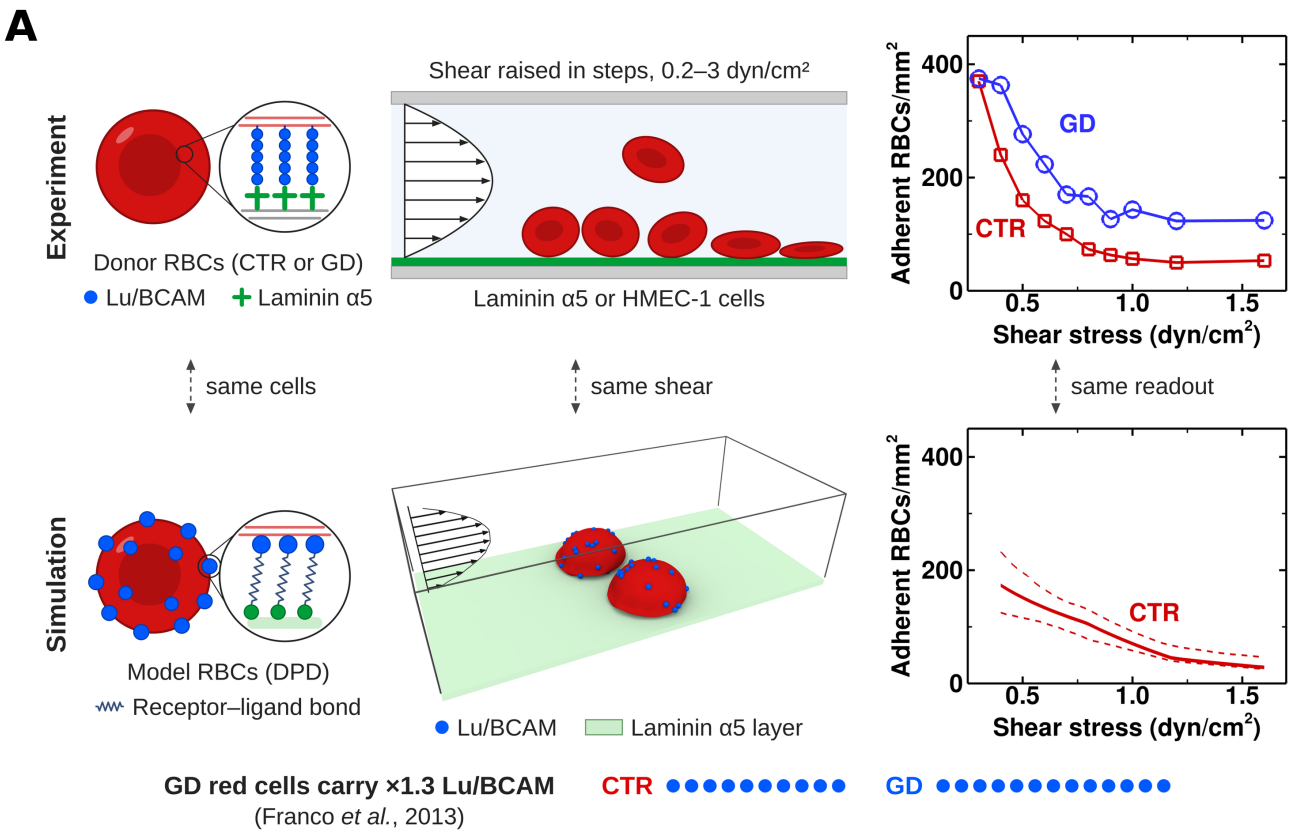
戈谢病红细胞在洗脱过程中保留得更牢固

图 2 报告了原始实验中所用两种基底上黏附红细胞的表面密度（4）：TNFα-激活的HMEC-1内皮细胞单层，以及涂有纯化层粘连蛋白的微型载玻片 $\alpha 5$。两种检测方法使细胞接触基底的方式不同（材料与方法）。在数据分析和模型中，我们通过将每种检测方法仅与其自身的对照组进行比较来考虑这一差异。在每种剪切应力下，我们分析每位供体的一个数值，因此每个数据点代表一位供体。5次层粘连蛋白实验因实验人员对其制备过程存疑而被排除（补充材料）。这些实验中滞留在层粘连蛋白上的单个细胞 $\alpha 5$ 经Lu/BCAM免疫荧光成像后显示于图 2D中。

在两种基底上，戈谢病红细胞均比对照组黏附得更牢固，但在所施加的最低剪切应力下，这一差异并不显著。此处所述的GD/对照比值密度中位数绘于图S1A中。在最低剪切应力下，在内皮上的比值为0.2 dyn/cm^2 （p = 01.43），在层粘连蛋白上的比值为0.3 dyn/cm^2 （p = 01.01）。只有当洗脱剪切应力升高时，两组才会分离。在HMEC-1上，比值在0.5 dyn/cm^2, 时达到1.46，这是两组出现差异的第一个水平（p = 00.026）。在1 dyn/cm^2 时达到峰值2.56，在3 dyn/cm^{2}时仍为2.33。在层粘连蛋白上，比值在0.4 dyn/cm^2（p = 01.51）时达到1.51，在1 dyn/cm^{2}时达到2.53。从这些起始值往上的每个水平，在分别检验各剪切应力时均具有显著性（图 2A、B）。这些检验未针对剪切应力的数量进行校正，但每种基底进行一次检验可得到相同结论。为此，我们将图 2A和B中高于最低值的剪切应力数据取平均，每位供体取一个均值。随后，在层粘连蛋白上，戈谢病供体比对照组保留更多细胞（p = 00.016），在HMEC-1上也是如此（p = 00.026）。因此，GD细胞并不是在首次到达基底时更容易被捕获；而是在剪切应力升高后被更牢固地 удерж住。

在内皮上，GD细胞对洗脱的抵抗也更强：随着剪切应力升高，其黏附下降更慢。按供体将log 密度对 log 剪切应力进行回归，得到的衰减指数为 −1.11 （对照组），以及 −0.70 （GD）（p = 0.009）。在纯化层粘连蛋白上，两个指数并无显著差异， −1.05 和 −0.88 （p = 0.34；图2C）。这两种汇总属于不同的统计量，不必一致：中位数之比是在固定剪切应力下比较各组，而该指数是在每个供体内跨各剪切应力拟合得到的。仅凭更平缓的衰减，并不能判断GD细胞是携带更多受体，还是其键更能抵抗力。在脱离曲线的简化Bell描述中，这两种变化几乎沿同一方向改变曲线的高度和斜率（补充材料）。因此，若没有对受体密度的独立测量，衰减指数并不能构成关于键力学的证据。

这种效应具有配体特异性。在原始实验中，戈谢病红细胞和对照组红细胞均未明显黏附于纤维连接蛋白，而在同一配对比较中，戈谢病红细胞对层粘连蛋白的黏附程度高于对照组 $\alpha 5$ （4）。层粘连蛋白 $\alpha 5$表达



GD red cells carry ×1.3 Lu/BCAM CTR GD
(Franco *et al.*, 2013)

Enough to explain their stronger adhesion?

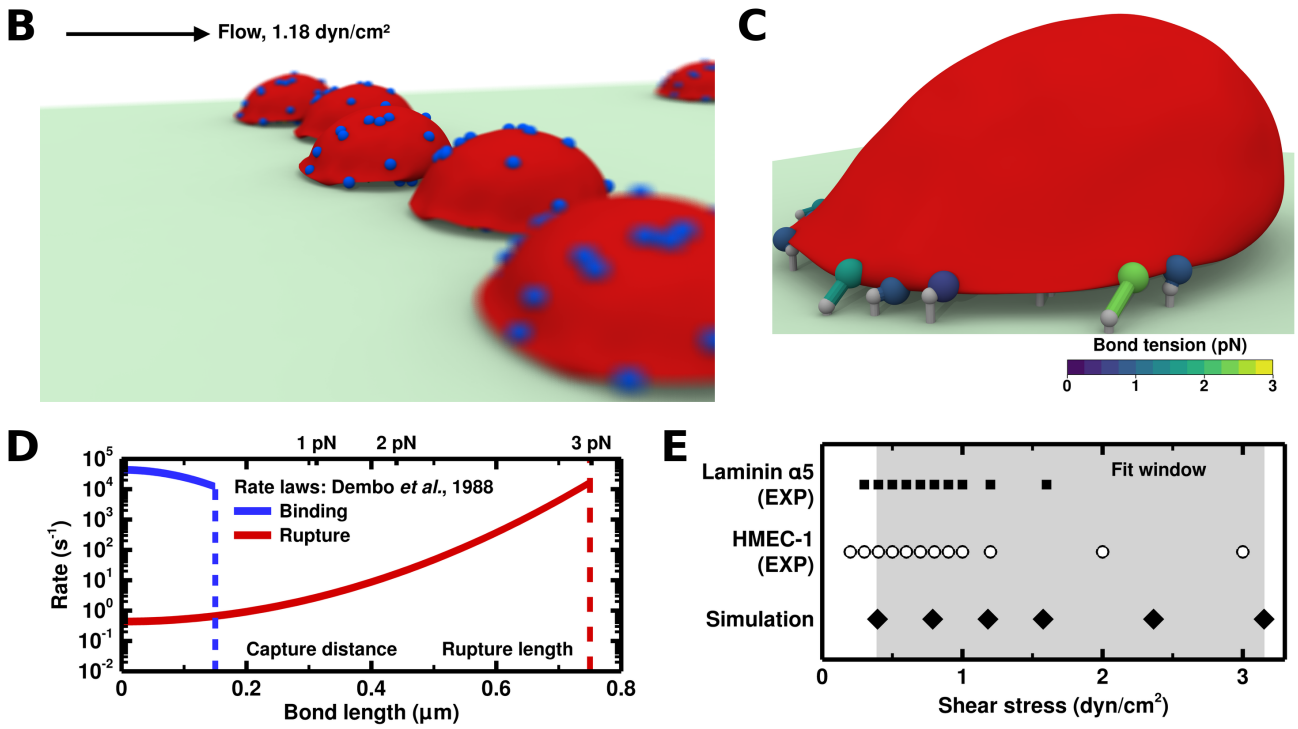


图 1：流动黏附实验的模型。

图1 （续）。（A）实验（示意图）：供体红细胞（对照组、CTR 或戈谢病，GD）黏附于层粘连蛋白 $\alpha 5$ （绿色；插图：Lu/BCAM，蓝色）或流动室中的 HMEC-1 细胞。剪切应力逐步升高，并在每个阶段计数黏附细胞（层粘连蛋白 $\alpha 5$，CTR 供体和 23 位 GD 供体的中位数） $n = 17$。模拟：耗散粒子动力学红细胞，其 Lu/BCAM 受体（蓝色）与层粘连蛋白 $\alpha 5$ 层（浅绿色）上的位点（绿色）形成弹簧状键，并在相近剪切应力下处于通道流中。读数：根据 CTR 供体拟合的模拟群体（实线；虚线表示 68% 自助法带）。戈谢病红细胞携带的 Lu/BCAM 约为 CTR 红细胞的 1.3 倍（ 4 ）。点列仅示意该比例，不代表计数。（ B ）剪切应力为 1.18 dyn/cm^{2}时的模拟流动室：红细胞（红色）及其受体（蓝色）位于细胞膜顶点的 1/16 处，处于层粘连蛋白层（浅绿色）上方。视图将两个模拟细胞周期性重复显示。渲染图将每个细胞膜绘制为穿过其耗散粒子动力学顶点的平滑表面，并将层粘连蛋白层绘制为连续覆盖层；仅显示形成键的结合位点。（C）一个结合细胞的后部（$f = 1$，2.36 dyn/cm^2）：受体-配体键（管状结构）和结合受体（球体）按键张力着色；灰色球体表示结合的层粘连蛋白位点。（D）模型中一个受体-配体键的动力学：结合速率随受体-配体距离的变化（蓝色；仅当距离小于 0.15 μm 时形成键），以及断裂速率随键长的变化（红色；超过 0.75 μm 后直接断裂）（19）。键长是受体与其结合的层粘连蛋白位点之间的距离。受体最容易与距离较近的位点结合；键拉伸得越长，断裂速度越快。上方坐标轴表示 3.94 pN/μm 时的键力。（E）两种洗脱实验和模拟所用的剪切应力。阴影部分表示用于将模型拟合到数据的剪切应力。

在 TNF 表面α激活的 HMEC-1 上，并且已知可促进红细胞黏附于这些细胞（4），因此内皮测量和纯化蛋白实验很可能探测的是同一通路。各组之间 CD36、CD49d、CD29 和 CD242 的表面水平没有差异（4），因此 Lu/BCAM 是水平存在差异的受体。其他受体的状态变化并未被排除。下文用一种随机键来表示黏附。

源数据集的一项局限影响了层粘连蛋白测量。纯化层粘连蛋白并非来自同一批次，而且记录供体批次的信息太少，无法检验是否存在批次效应（补充材料）。不能排除批次间变异是导致供体在层粘连蛋白上的结果差异的因素之一。不过，这无法解释内皮测量结果，因为该测量未使用纯化层粘连蛋白涂层，而且观察到的效应幅度相近。这两种基底的结果在这一点上相互印证。

受体数量决定停滞还是扫移

在给定剪切应力下，受体数量决定细胞是沿通道下表面被扫移，还是被 удерж住（图 3）。在 1.18 dyn/cm^2，下，膜顶点中有 1/16 带有受体的细胞（f = 1/16）在加载阶段滑行了 19.8 μm；而同一细胞在 $f = 1$ 条件下移动了 1.4 μm，并被 удерж住（图 3A）。在这段时间内，无法结合的细胞移动了 29–31 μm，带有 f = 1/16 受体的细胞移动了 20–26 μm，而带有 f = 1/4 受体的细胞移动了约 10 μm（图 3B）。滑行的细胞同时维持的键很少： f = 1/16 时中位数为 2–3 个，f = 1/4 时为 11 个，而在 $f = 1$ 时为 38–51 个（图 3C）。其键的持续时间也很短。在模拟中，当 f 介于 1/32 和 1/4 之间时，受载荷作用的键有一半会在 8–21 ms 内断裂；而在 $f = 1$ 时，超过一半的键会持续整个加载阶段（图 3D）。

剪切应力越高，受体数量越重要

在由八种受体比例和六种剪切应力构成的完整网格中，随着剪切应力升高，停滞值 A （自由细胞为 0，固定不动的细胞为 1）会下降；而细胞被固定的剪切应力范围则随着其受体比例 f 增大而扩大（图 4A–C）。在 1.18 dyn/cm^2,下，具有 f = 1/16 受体比例的细胞以非黏附细胞速度的 80% 随流而行（$A = 0.20$），而具有 $f = 1$ 受体比例的细胞则保持不动（$A = 0.98$）。细胞失去一半自由速度时所对应的剪切应力，随受体数量 $f^{0.59}$ 大致成比例增长：从 f = 1/16 时的 0.80 dyn/cm^2，增至 f = 1/2 时的 2.88 dyn/cm^2 （图 4D）。细胞从更多受体中获益多少，取决于剪切应力。在 0.39 dyn/cm^{2}下， A 在 f = 1/32 时已达 0.46，在 f = 1/4 时达 0.98，接近上限。在 3.15 dyn/cm^2 下，该值在受体比例达到 f = 1/8 之前始终低于 0.15，在 $f = 1$ 时则达到 0.61。从 f = 1/16 起，受体数量每增加相同比例，在高剪切应力下，停滞值的增幅也会相应更大。受体数量增加 1.3 倍时，增益 A（1.3f）/A（f），即新停滞值与原停滞值之比，在涵盖六种受体比例（最高至 f = 1/4）和六种剪切应力的范围内，其几何平均值为 1.26。在 f = 1/16 时，增益在 0.39 dyn/cm^2 下为 1.05，在更高剪切应力下为 1.23–1.58（图 4E）。测得的 GD/对照比值也随剪切应力升高而增大（图 S1A）。受体数量增加 1.3 倍是否足以使该比值增大到相应程度，是下文群体分析要探讨的问题。

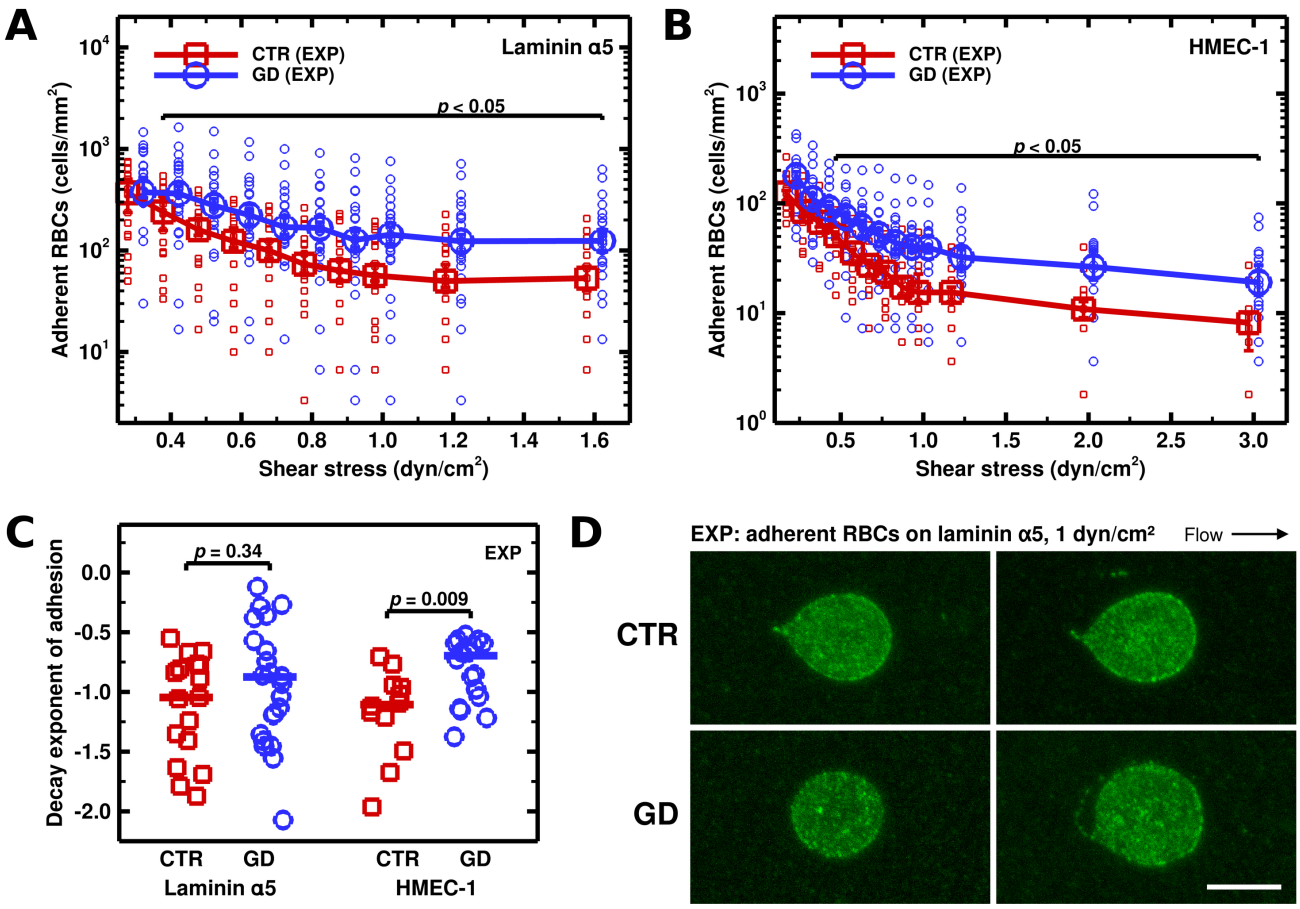


图 2：**洗脱时提高剪切应力后，戈谢病红细胞的黏附程度高于对照红细胞**。（A、B）层粘连蛋白上的红细胞黏附密度 $\alpha 5$ （A）以及 TNFα活化的 HMEC-1 内皮细胞（B）上的黏附密度与洗脱时剪切应力的关系。实验：小符号表示各供体的数据（每位供体一个数值，多次实验取平均；A 中 5 个、B 中 4 个零值无法绘制在对数坐标轴上）；大符号表示 n = 17 对照组及 23 位戈谢病供体（A）和 12 位对照供体及 18 位戈谢病供体（B；剪切应力为 0.2 dyn/cm^{2}时有 17 位戈谢病供体）的中位数；误差线表示供体数据的 68% 自助法区间。对每个剪切应力，分别在其左侧和右侧绘制对照组和戈谢病组。括号表示组间存在差异的剪切应力（在每个剪切应力下进行双侧曼-惠特尼检验，$p < 0.05$，未针对剪切应力的数量进行校正）。（C）各供体黏附随洗脱时剪切应力变化的衰减指数，即黏附密度对数与剪切应力对数之间的斜率；误差线表示中位数；p，双侧曼-惠特尼检验。（D）在层粘连蛋白上黏附的单个红细胞 $\alpha 5$，剪切应力为 1 dyn/cm^2, ，通过 Lu/BCAM 免疫荧光和共聚焦显微镜成像：来自一位对照供体的两个细胞（上）和来自一位戈谢病患者的两个细胞（下），以共聚焦图像堆栈的最大强度投影显示。这些是参考文献（4）所述实验中此前未发表的图像；该文展示了同一系列中的一个对照细胞和一个戈谢病细胞；此处展示的四个细胞均不包括那两个细胞。流动方向为从左至右；四个面板的放大倍数均相同。对照细胞带有球拍形状的尾端尖点，这种形状在对照红细胞中比在戈谢病红细胞中更常见（4）。比例尺： 5 μ米。

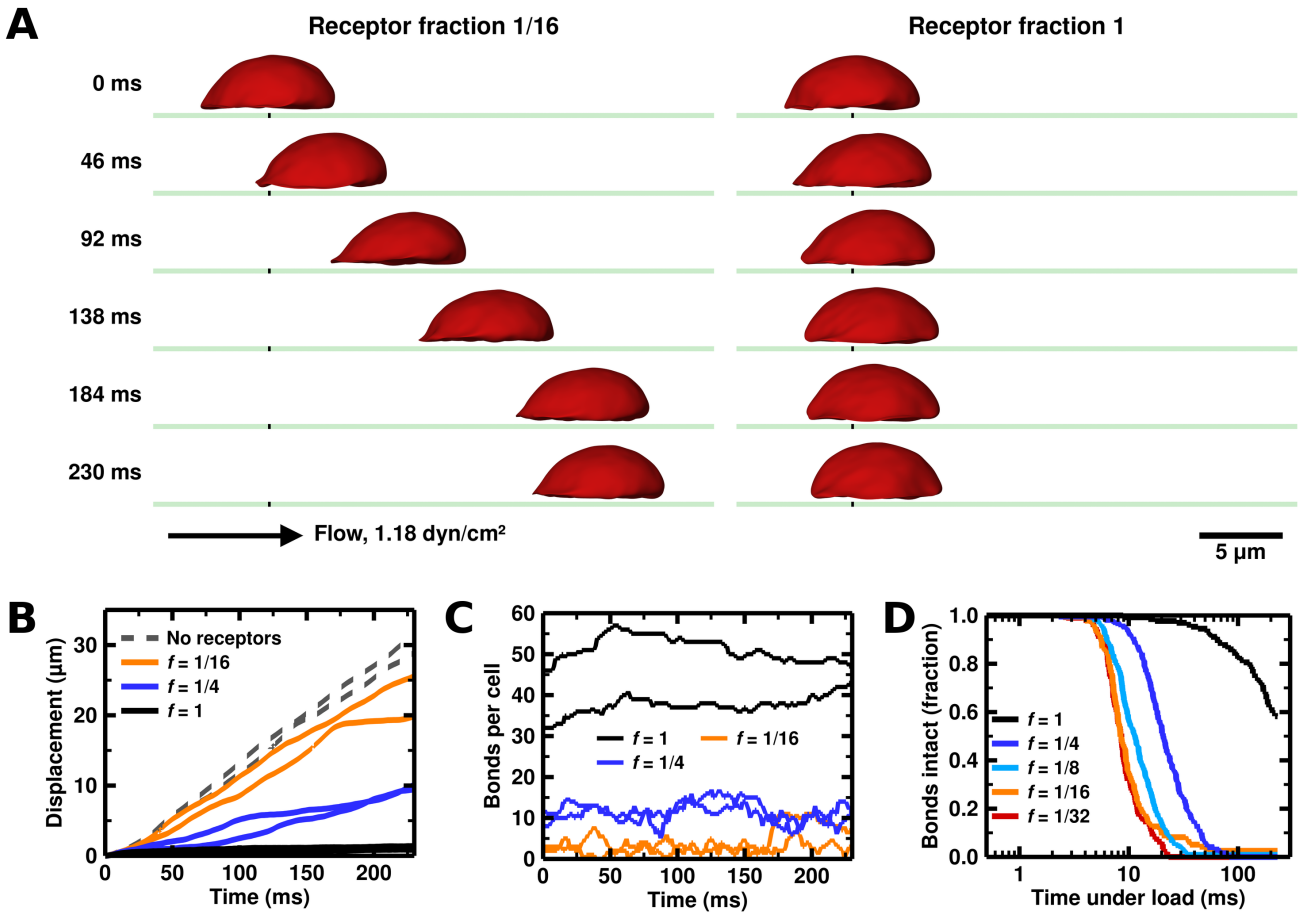


图 3：**受体数量决定细胞是停滞还是扫移。** (A) 流动开启后，每隔 46 ms 拍摄一次同一模拟细胞的侧视图：在 1.18 dyn/cm^2, 条件下，细胞膜顶点的 1/16（f = 1/16，左）和全部（f = 1，右）位置上有受体。刻度表示起始位置；浅绿色表示层粘连蛋白层。(B) 在 1.18 dyn/cm^2 条件下，无法结合的细胞（虚线）以及受体覆盖比例为 f = 1/16、1/4 和 1 的细胞的位移随时间的变化；每个细胞对应一条曲线，每次运行包含两个细胞。(C) 在 1.18 dyn/cm^{2}条件下，每个细胞的受体-配体键数量随时间的变化，受体覆盖比例为 f = 1/16、1/4 和 1。(D) 在 1.18 dyn/cm^2 条件下，仍保持完整的键的比例随载荷作用时间的变化（Kaplan–Meier 估计；合并每次运行中的两个细胞；每个 f有n = 106–253 个键）。

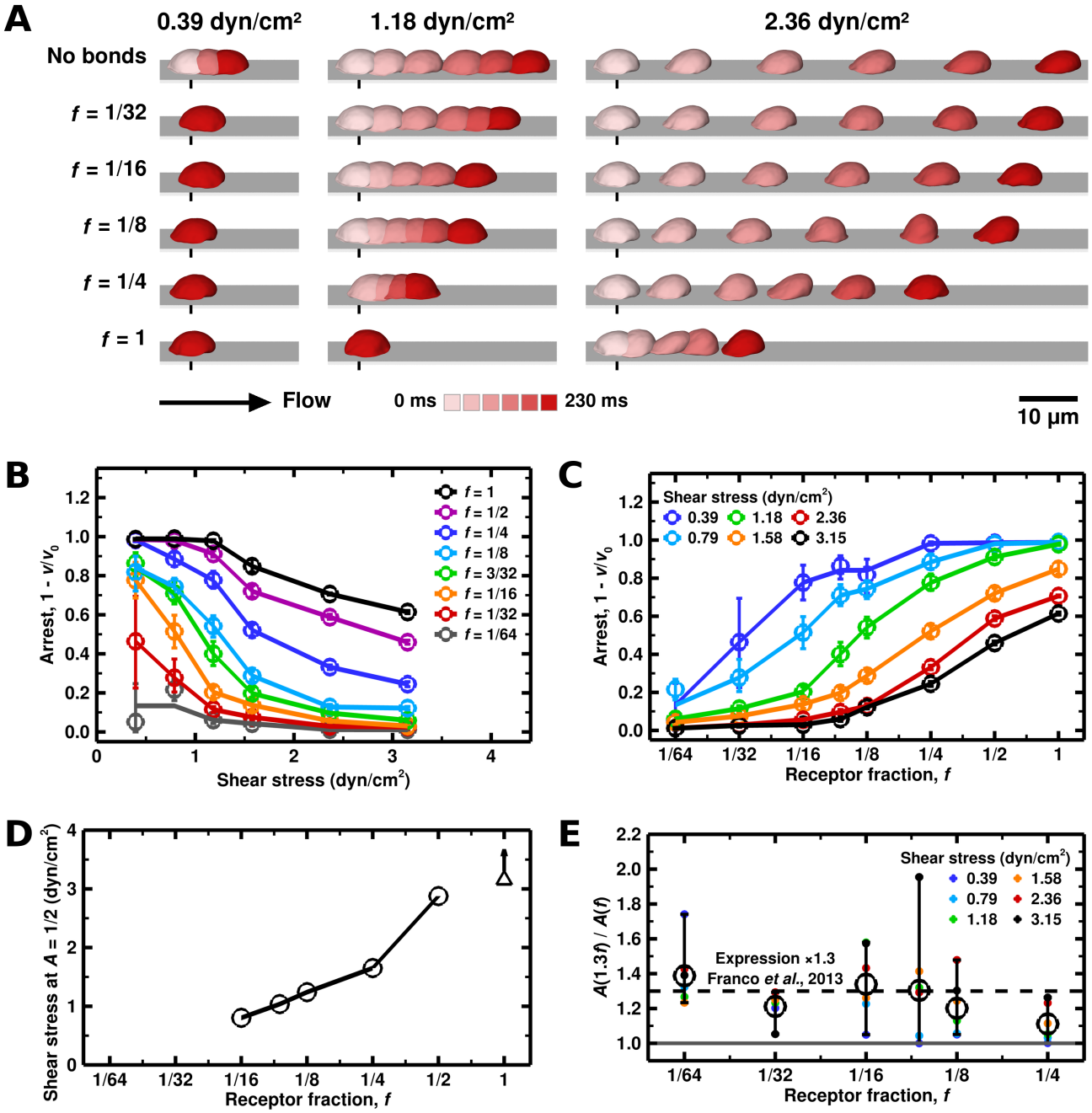


图4：**在更高的剪切应力下，受体数量的影响更大。**（A）在0.39、1.18和2.36 dyn/cm^2（列）下、无键（顶行；非黏附对照）以及B中的五种受体比例 f = 1/32至1（行）的模拟细胞，从正面及略高角度观察。每种条件显示一个模拟细胞，在流动开始后的230 ms内每隔46 ms绘制一次，颜色由浅至红。与下一个绘制位置相距2.5 μm以内的副本不予显示，因此发生停滞的细胞显示为一个红色细胞；细胞的侧向漂移（最多2.9 μm）已去除。黑色刻度线表示其起始位置。（B）八种受体比例 f下，单个细胞停滞 $A = 1 - v/v_0$ 与剪切应力的关系；v_0 为非黏附对照细胞的速度。符号：n = 12 个细胞的均值（6次运行，每次 × 2 个细胞；n = 24 在 f = 1/64时）；误差线：68%的自助法区间。线条：将同一张表调整为随剪切应力增加而不增加、随 f 增加而不减少的形式（材料与方法），供群体模型使用。（C）在六种模拟剪切应力下，相同的停滞与f的关系（符号和误差线同B；线条为单调表）。（D）细胞自由速度降低一半（A = 1/2）时的剪切应力与 f的关系。空心三角形表示下界（A > 1/2，最高至3.15 dyn/cm^2）。（E）受体增加1.3倍所带来的单细胞停滞增益，$A(1.3f)/A$（f），与 f的关系。点表示六种剪切应力；圆表示其几何平均值；误差线表示其范围。虚线为1.3。

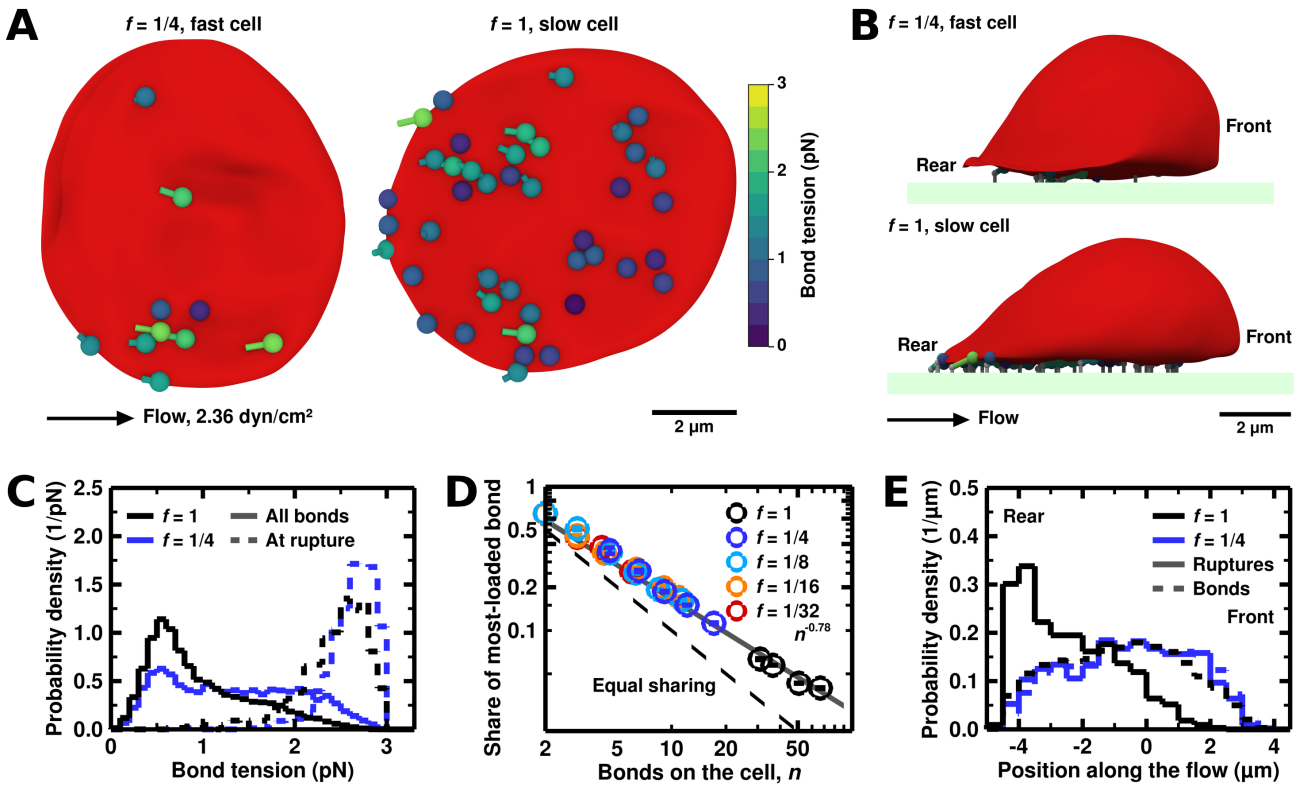


图 5：**力作用于何处，键又在哪里断裂。**(A) 在 2.36 dyn/cm^2 条件下，从下方观察快速细胞（f = 1/4）和慢速细胞（f = 1）的接触区；所示帧中每个细胞的键数量均为其中位数。键和结合受体按键张力着色；未结合受体和配体位点未绘出；流动方向向右。比例尺，2 μm。(B) 从侧面观察相同的细胞和帧（流动方向向右，细胞后部在左）；浅绿色为层粘连蛋白层；灰色为结合的层粘连蛋白位点。(C) 2.36 dyn/cm^2 条件下，所有帧中所有键的键张力分布（实线）以及键断裂时的张力分布（虚线）；f = 1/4：n = 4461个键-帧和 910 次断裂；f = 1：19,194 个键-帧和 657 次断裂。(D) 由载荷最大的键承担的总键张力占比与细胞上键的数量 n 之间的关系（将帧按 n ± 分箱后计算均值标准误；每个分箱至少包含 10 帧）。虚线表示均分（1/n）；灰线表示对所有 f和剪切应力（5489 帧）进行拟合所得的曲线 $n^{-0.78}$。(E) 在 2.36 dyn/cm^{2}条件下，键（虚线）及断裂的键（实线）沿流动方向相对于细胞中心的位置。

力的分布位置与键的失效位置

为了了解键如何维系细胞，我们重新分析了 15 种条件，并记录了每个键（材料与方法），然后比较了快速细胞（f = 1/4）和慢速细胞（f = 1），剪切力为 2.36 dyn/cm^2（图 5A、B）。大多数键位于接触区的后半部。中位键在快速细胞中承受 1.3 pN 的力，在慢速细胞中承受 0.8 pN；键在 2.5–2.7 pN 时断裂，约为前述数值的两到三倍（图 5C）。这些力并非由各键均匀分担。载荷最大的键所承担的份额会随着键数 $n^{-0.78}$ 的增加而下降 n，其情况介于均匀分担（n^{-1}）与剥离之间；在剥离过程中，该份额不会随 n变化（图 5D）。两种细胞在不同位置失去键（图 5E）。慢速细胞有 63% 的键位于后半部，但 93% 的键在该处断裂，其中 31% 的断裂发生在最后方 1 微米范围内。快速细胞失去键的位置大致与键的分布位置一致（后半部有 57% 的键，也有 60% 的断裂发生在那里）。

从单个细胞到供体群体

由于受体数量可能因细胞而异，我们用 f的伽马分布来描述每个供体组的红细胞。我们将黏附密度计算为 A的群体平均值，$N = c\,\mathbb{E}_f[A(\tau_w;\ f)]$,其中尺度 c是与基底接触的细胞密度（式3；材料与方法）。拟合对照组后，该模型遵循对照组中位曲线，在$\log_{10}$ 密度上的均方根偏差在层粘连蛋白上为0.132，在HMEC-1上为0.147（图6C、D）。平均受体比例

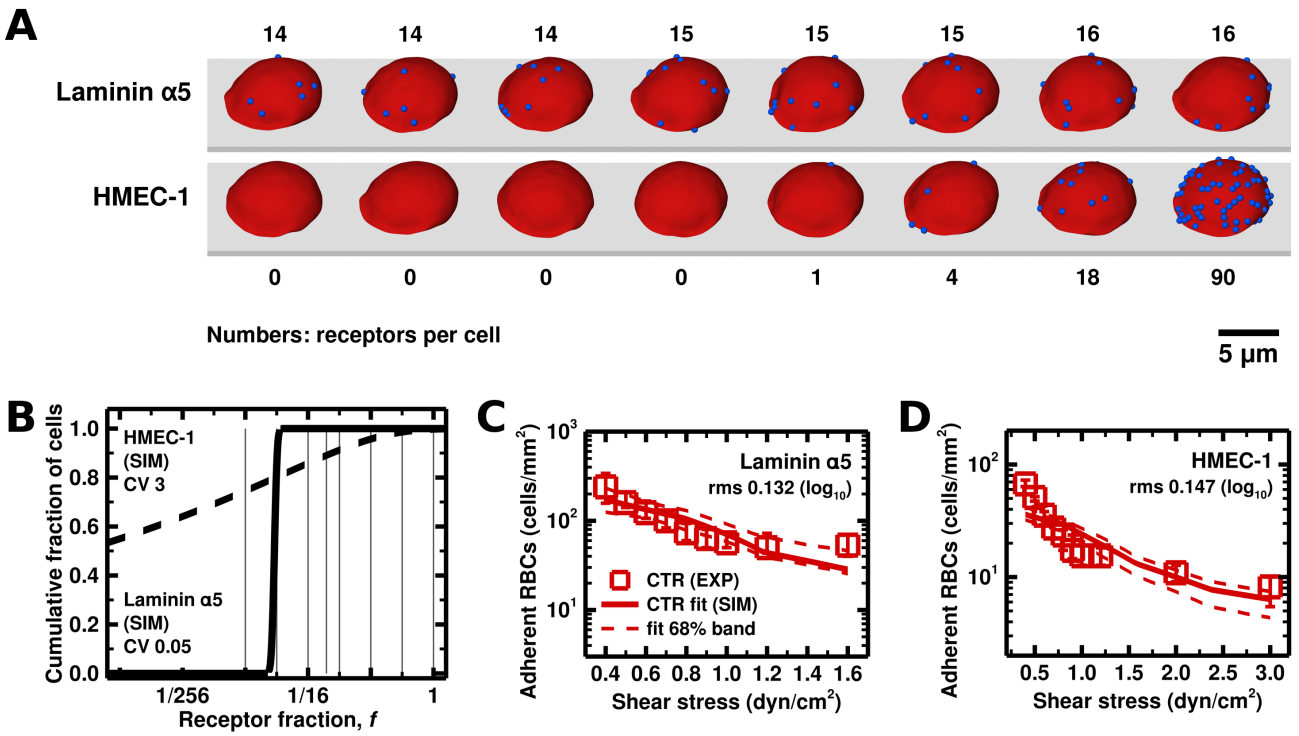


图 6：**从单个细胞到供体群体：对照供体的校准**。(A) 在模型细胞上绘制拟合的对照群体：每种基底上有八个细胞，每个细胞携带 $500f$ 个受体（蓝色），f 位于 B 中分布的八分位数中点；基底为层粘连蛋白 $\alpha5$（上）和 HMEC-1（下）；数字表示每个细胞的受体数。两个分布的宽度是搜索范围的上下限：曲线无法确定这些宽度（图 S2A）。这些形状是在 1 dyn/cm^2，下模型细胞的快照，受体随机分布在顶点上。(B) 拟合的对照细胞中受体比例 f 的分布，以细胞累积比例表示：伽马分布的均值和变异系数（CV）根据每项检测的对照供体拟合（实线，层粘连蛋白 $\alpha5$；虚线，HMEC-1）。灰线标示八个模拟比例。(C、D) 黏附的对照红细胞在层粘连蛋白 $\alpha5$（C；17 名供体）和 HMEC-1（D；12 名供体）上的数量与剪切应力的关系。符号表示供者中位数及其 68% 自助法区间；曲线表示群体模型 $N = c\,\mathbb{E}_f[A(\tau_w;\ f)]$ 及其 68% 自助法带（对供体和模拟细胞进行 500 次重抽样）。

在层粘连蛋白上为0.030（68%区间0.026–0.066），在HMEC-1上为0.038（0.031–0.070），接近1/32，即第二小的模拟比例（图6A、B）。该分布的宽度在两种基底上均无法确定。在层粘连蛋白上，其变异系数（变异系数）落在搜索范围的下界0.05，对应几乎完全相同的细胞群体；将其固定为0.2、0.5或1.0时，均方根偏差的变化至多为0.006。在HMEC-1上，它落在上界3，分布较宽，其中75%的细胞低于 f = 1/64，此处 A 被线性插值至零（材料与方法）。这些细胞在0.39 dyn/cm^2 时贡献预测黏附密度的5%，在更高的模拟剪切应力下贡献2–6%。将变异系数固定为0.2、0.5或1.0时，HMEC-1上的均方根偏差仅升至0.151–0.168（图S2）。

实测 Lu/BCAM 升高幅度低估了戈谢病的黏附

在模型中，实测的 Lu/BCAM 升高只能解释戈谢病红细胞部分黏附。要匹配数据，戈谢病细胞所需的具备结合能力的受体数量应为对照细胞的 2.4 倍（层粘连蛋白）至 4.6 倍（HMEC-1）。这与估算的磷酸化受体升高 5.7 倍相符。

Franco等人发现，成熟GD红细胞上的Lu/BCAM数量比对照红细胞多1.3倍（4）。将每个对照细胞的受体比例乘以1.3，并采用对照组的细胞密度 c，即可预测GD曲线，无需对GD数据进行任何拟合（图7B、C，蓝色虚线）。预测的黏附密度增幅低于1.3倍，因为在这些受体比例下

A 平均增长幅度小于 f的比例。在HMEC-1上，随着剪切应力增加，增长幅度也随之增大，这与单细胞响应所示一致：在0.4 dyn/cm^2 时为1.11倍，在3 dyn/cm^{2}时为1.25倍。在层粘连蛋白上，几乎所有对照细胞都接近 f = 1/32，因此从0.4到1.6 dyn/cm^2，增幅维持在1.24至1.27倍之间。实测GD/对照比值的增长幅度要大得多：在HMEC-1上，从0.4 dyn/cm^2 时的1.34倍增至0.9 dyn/cm^2 及以上时的2.1–2.6倍；在层粘连蛋白上，从0.4 dyn/cm^2 时的1.51倍增至0.8 dyn/cm^{2}及以上时的2.0–2.5倍（图7D）。对拟合所用的剪切应力取几何平均后，GD中位数分别比预测值高出1.70倍（HMEC-1）和1.60倍（层粘连蛋白）。我们将这一比值称为不足。

这些比值的 68% 自助法区间（对供体和完整模拟运行进行 10,000 次重复；材料与方法）在两种基底上均不包含一致值（1.41–2.15 和 1.18–2.15）。在 HMEC-1 上，95% 区间为 1.14–2.69；在层粘连蛋白上为 0.88–3.12（图 S1B）。百分位数自助法在尾部并不可靠，因此我们通过在各组之间重新标记完整的供体曲线来检验不足；在可交换性成立时，此方法是精确的，并且能保留剪切应力之间的相关性（材料与方法）。单侧置换检验 P 在 HMEC-1 上为 0.014，在层粘连蛋白上为 0.046；双侧检验分别为 0.032 和 0.085：两种基底上的不足程度相同，我们认为在 HMEC-1 上这一结果已确立，而在层粘连蛋白上则仅属边缘显著。不足的不确定性主要来自供体间的差异，而非模拟（表 S1）。

预测所依据的两个假设最为关键，补充材料对这两项都进行了检验。首先，没有数据能校准模型对受体数量的响应，而唯一一项相关测量显示这种响应更陡。在拟合的剪切应力范围内，模型预测受体数量增加1.3倍，会使黏附在HMEC-1上增加至原来的1.15倍，在层粘连蛋白上增加至原来的1.26倍。唯一一组逐位患者报告黏附和Lu/BCAM水平的数据来自真性红细胞增多症患者，结果为1.41倍（95%区间为1.32–1.56）（20）。若用这种依赖关系替代模型中的关系，则不足在HMEC-1上为1.39倍，在层粘连蛋白上为1.43倍，两者均无统计学显著性。其次，假定GD细胞的细胞接触密度与对照组相同 c，这会按比例改变整个预测曲线。HMEC-1上的显著性取决于这一选择。当GD细胞密度不超过对照组的1.21倍时，结论仍成立；但在最低剪切应力（低于拟合范围）下，GD中位数是对照组中位数的1.43倍。1.3本身是供者中位数之比；对源图中的供体进行重抽样后，95%区间为1.12–1.52。

GD数据所要求的受体升高，k^*，是为使模型拟合GD曲线而必须将每个对照细胞的受体比例乘以的单一因子。该因子在层粘连蛋白上为2.4（68%区间1.6–9.4），在HMEC-1上为4.6（2.7–10；图7A、E）。数据仅从下方对其加以约束，且在层粘连蛋白上其95%区间包含1.3（补充材料）。磷酸化与总Lu/BCAM之比在戈谢病红细胞中高出4.4倍（4），因此一个戈谢病细胞携带$1.3 \times 4.4 = 5.7$倍于对照细胞的磷酸化受体。该值落在两个68%区间之内，尽管5.7本身并不确定（补充材料）。受体分布宽度的不同并不能替代其均值的升高。若让GD分布的宽度与均值一同变化，则可重现两条戈谢病曲线（图7B、C，蓝色实线），但保持1.3倍均值而仅改变宽度则不能（补充材料）。因此，在该模型中，测得的Lu/BCAM表达升高可能仅能解释戈谢病红细胞更强黏附的一部分。

预测与实验之间的差距依然存在

到目前为止，两组都使用健康红细胞的细胞膜。戈谢病红细胞的可变形性较低（4），而我们先前的中度GD模型给出的膜剪切模量为42。6 μN/m，是健康膜4。73 μN/m的9倍（12）。在这一剪切模量下，同一个细胞（受体、热浴和流动条件均相同）形成的键更少（24个细胞中均如此；中位数比值为0.77；图8A）。其键断裂也更早（在1.18和2.36 dyn/cm^{2}剪切应力下，负载下的中位寿命为原来的0.79倍；图8A）。在网格的48种条件下，较硬的细胞膜使停滞略微降低（平均变化 –0.022；28种条件下更低，14种条件下更高），且平均而言，只有在最低剪切应力下才会使停滞升高（图8B）。因此，采用GD膜得到的1.3倍预测值低于采用健康膜得到的预测值。对于层粘连蛋白和HMEC-1基底，GD数据分别是这一预测值的2.24倍和1.88倍；而在基底上相同的两个位置始终使用健康膜时，这一比值分别为1.67倍和1.68倍（图S3C；材料与方法）。采用GD膜时，GD细胞所需的受体数量分别是对照细胞的3.3倍和4.8倍；采用健康膜时，则分别为3.2倍和3.9倍（图8C）。针对黏附性镰状细胞的模型也发现，在键刚度相同的情况下，剪切模量较高会导致细胞更早脱离（21）。

无论对两组假定何种宽度，也无论采用其他分析方案，统一增加1.3倍仍然不足（补充材料，图S4）。当两组的变异系数均固定为0.2、0.5或1.0时，GD数据在层粘连蛋白上的数值超出预测1.57至1.61倍，在HMEC-1上的数值超出预测1.72至1.74倍；其中5.8–8.0%和0.6–1.0%的重复达到

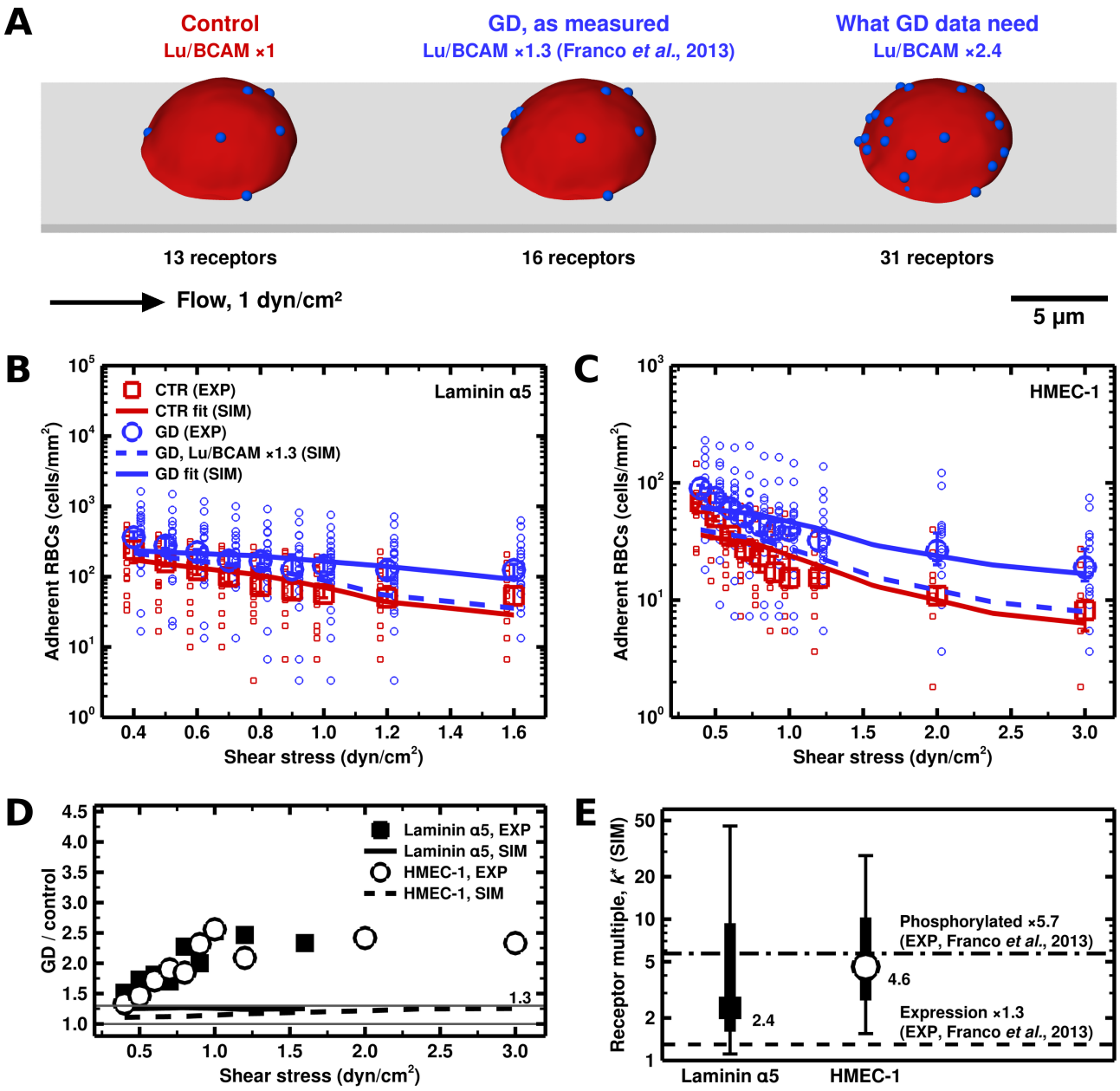


图7：**Lu/BCAM增加1.3倍仍不足以达到模型中戈谢病红细胞的黏附水平**。(A) 流动开始后^2,115 ms时，模型细胞在层粘连蛋白上的对照组拟合平均受体比例为 $\alpha 5$ (f = 0.030；13个受体）。同时显示：将戈谢病红细胞上的Lu/BCAM实测比例提高1.3倍（16个受体），以及提高2.4倍（31个受体）后的情况；后者是 k^* 使模型达到层粘连蛋白上的GD数据 $\alpha 5$ (E)所需的倍数。500个膜顶点各自以 f的概率携带一个受体，因此这些数量是均值分别为15、19和35时的一次抽样。(B、C) 层粘连蛋白上的黏附红细胞密度 $\alpha 5$ (B)和HMEC-1上的黏附红细胞密度(C)。EXP：小符号表示各供体的数据，如图2A-B所示；大符号表示对照组和23位戈谢病供体(B)以及12位和18位供体(C)的中位数；误差线表示供体间68%的自助法区间。SIM：采用伽马分布的群体，其 f拟合于对照组（红线）；将平均值提高 f 1.3倍且不重新拟合来预测戈谢病数据（蓝色虚线）；以及采用自由的平均值和变异系数 f拟合戈谢病数据（蓝色实线）。(D) 黏附密度的GD/对照比值与剪切应力的关系。符号表示戈谢病供体与对照组供者中位数之比；线条表示Lu/BCAM增加1.3倍时预测的比值。灰线表示1.3和无变化。(E) 使模型达到GD数据所需的受体倍数 k^*，并显示供体和模拟运行间68%（粗线）和95%（细线）的自助法区间。虚线表示实测的Lu/BCAM表达增加1.3倍；点划线表示每个细胞的磷酸化Lu/BCAM增加5.7倍，1.3×4.4 (4)。

数据。对数正态分布给出 1.60 倍和 1.70 倍。排除在最低剪切应力下缓慢移动的八个非黏附对照细胞（材料与方法）后，结果为 1.74 倍和 1.73 倍，其中分别有 3.8% 和 0.4% 的重复达到数据值。按模拟的停滞表计算，不足为 1.62 倍和 1.72 倍，其中分别有 6.8% 和 0.6% 的重复达到数据值。

对模型的另外两项修改仍未消除这一不足（图 S3C）。当键的刚度加倍（k_s = 100，7.9 pN/μm）时，GD数据在层粘连蛋白和 HMEC-1 上分别超过 1.3 倍的预测值，达到 1.81 倍和 1.70 倍。当膜顶点上的体力降至三分之一时，分别超过 1.64 倍和 1.65 倍。在这两个位点上运行的全部四个模型中，该比值的 68% 区间均高于 1；在 HMEC-1 上，95% 区间也高于 1（下限为 1.06）。GD 所需的受体增幅仍介于 2.6 和 5.6 之间。模型中 GD红细胞较低的可变形性并未促成其更强的黏附。若有影响，反而是抑制了这种黏附。测试的其他选择均未弥合预测与实验之间的差距。

键亲和力在低剪切应力下起作用，受体数量在高剪切应力下起作用

受体状态的改变反而可能提高键亲和力。我们将无应力解离速率 k_{off}^{0} 降低三倍和十倍，并将结合速率前因子 k_{on}^{0} 提高十倍，覆盖完整网格（图8；材料与方法）。脱离速率降低十倍时，停滞在0.39和0.79 dyn/cm^2, 下平均提高0.09，但在2.36和3.15 dyn/cm^2 下仅提高0.03和0.02（图S3A）。脱离速率降低三倍的效应约为上述的三分之二。它增加的键很少，在全部运行中仅多7.5%，因为结合近乎饱和：一个细胞约有 $50f$ 个活键（图S3B）。在0.39 dyn/cm^2, 时，大多数键在低力下热解离；采用较低脱离速率时，一个细胞在加载阶段失去0.9个键而非3.6个。在2.36和3.15 dyn/cm^2,时，键被拉至接近其断裂长度。在较低脱离速率下，65–73%的断裂发生于此，中位断裂力仅从2.7 pN升至3.0 pN。因此，较高亲和力带来的增益随剪切应力减弱，而戈谢病黏附的超出量则随之增大（图S1A；仅在层粘连蛋白的中心值中，表S2）。

增加 1.3 倍后，脱离速率降低十倍，使模型对层粘连蛋白上的 GD数据 的预测落入 68% 区间内（GD/模型 1.20，0.79–1.84），但对 HMEC-1 则不然（1.41，1.08–1.80；图 8D）。在两种基底上，模型在高剪切应力下都存在不足：在层粘连蛋白上，0.4–0.9 时比值为 0.95–1.20，而在 1.0–1.6 dyn/cm^2, 时则为 1.41–1.84；在 HMEC-1 上，2 和 3 dyn/cm^{2}时分别为 1.7 和 2.2。对力不那么敏感的键（$\sigma_{\mathrm{off}}/4$）在层粘连蛋白上的比值为 0.97（68% 区间 0.68–1.56），在 HMEC-1 上为 1.26（0.97–1.62），但在更高剪切应力下仍然不足。此外，若断裂长度增加三分之一，比值分别为 0.73（0.55–1.26）和 1.07（0.81–1.36）；在 HMEC-1 上，2 和 3 dyn/cm^2 时分别为 1.12 和 1.35（补充材料）。结合速率提高十倍后，在 0.39 dyn/cm^2 时停滞平均增加 0.08，在更高剪切应力下最多增加 0.01。拟合得到的 k^* 在采用图 8C 所示的速率变化时为 2.2–3.5，在采用对力不那么敏感的键时为 1.9 和 2.3；相同位置上使用默认键时则为 3.2 和 3.9（层粘连蛋白上的 68% 区间下限：1.0–1.3、0.8 和 1.5）。若两组均采用各自改变后的键，并重新拟合对照组，则默认情况下的不足再次出现（1.57–1.81 和 1.49–1.74，而对照组为 1.67 和 1.68；表 S3）。因此，较高的亲和力在低剪切应力下发挥作用。在断裂长度固定时，高剪切应力下 GD 黏附的超额水平则需要更多受体。

镰状细胞数据揭示受体状态与受体数量的区别

Lu/BCAM–层粘连蛋白 $\alpha5$ 黏附并非戈谢病所特有；在镰状细胞病（SCD）中，对受体的测量更为全面：单分子力谱能够统计细胞所携带的受体中具备结合能力的受体（22）。我们将针对对照供体拟合、且其他方面均未改变的群体模型，应用于已发表的SCD测量结果（图9；材料与方法）。预测无需重新模拟：我们的剪切应力网格为0.39–3.15 dyn/cm^2,涵盖了这些检测方法中使用的每一种剪切应力。

在正常红细胞上，肾上腺素——这些细胞在循环中会遇到的激动剂——使产生解离事件的表面位点比例从3.31%升至10.27%；该比例可用于衡量具备结合能力的受体。成熟红细胞经孵育30分钟后进行测量（22）。用毛喉素进一步促进cAMP通路后，该比例升至18.19%；用Rp-cAMPS抑制蛋白激酶A后，该比例降至1.17%；两种处理的孵育时间均相同（22）。因此，仅活化一项就能使活性受体数量变化达16倍（图9B）。镰状细胞并未处于饱和状态：毛喉素使其比例从8.89%升至20.56%。未经处理的镰状(SS)红细胞携带的活性受体数量是正常(AA)红细胞的2.69倍（8.89%比3.31%；图9A、B）。然而，SS细胞中的单键与AA细胞中的同样牢固：加载速率为24,000 pN/s时，解离力分别为40.0和38.9 pN（图S5）。在SCD中，测量结果不支持键更强这一观点，而图8 仅通过模拟对此进行了检验。

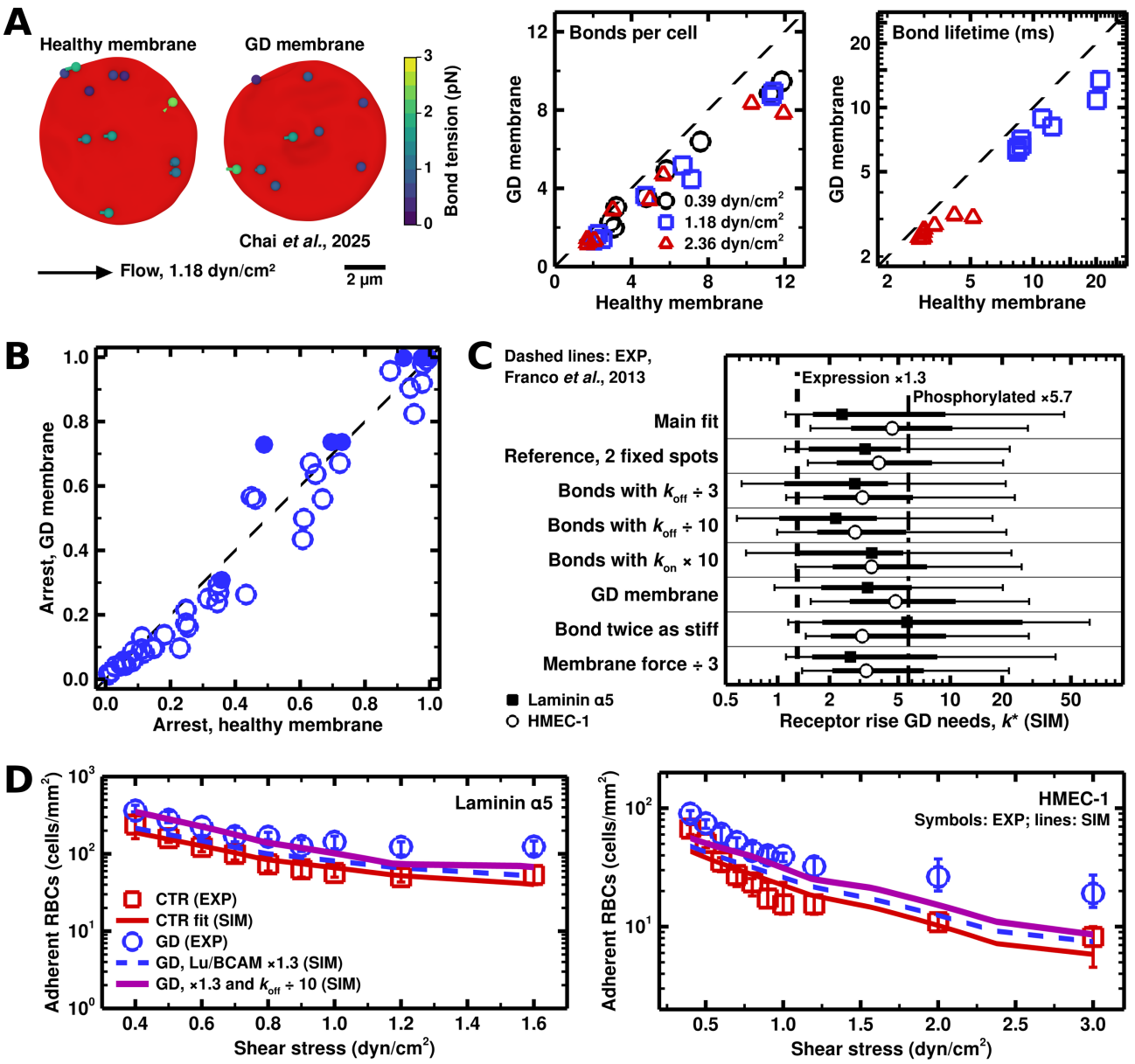


图8：**GD膜和更高的键亲和力都无法弥合预测与实验之间的差距。**(A) 与GD红细胞膜形成的键。左：同一细胞分别与健康膜（剪切模量 4.73 μN/m）和GD膜（42.6 μN/m）接触时的接触区，条件为 f = 1/4和 1.18 dyn/cm^2, , 绘制方式同图 5A；比例尺， 2 μm。中：加载阶段内平均的每个细胞的键数，比较GD膜与健康膜（24个细胞： f = 1/32 至 1/4，三个剪切应力条件下每次运行两个细胞）。右：1.18和2.36 dyn/cm^2 条件下键的Kaplan–Meier中位寿命（16个细胞）。虚线表示数值相等。(B) 在48种模拟条件（8种受体比例× 6 剪切应力）下，比较GD膜与健康膜时的停滞情况；每种条件和细胞膜下有4–8个细胞。虚线表示无变化。实心符号表示0.39 dyn/cm^2。

图 8 （续）。（C） k^* 在层粘连蛋白 $\alpha5$ 和 HMEC-1 上，对图 4 各次运行拟合的模型（主拟合）、两种细胞在每次运行中均沉降于基底上相同两个位置的参考运行，以及在这些位置上运行的模型（材料与方法）：键的数量为$k^0_{\text{off}}/3$，为 $k^0_{\text{off}}/10$ 或为 $10\,k^0_{\text{on}}$，GD膜，刚度加倍的键（7.9 而非 3.9 pN/μm），以及作用于细胞膜的体力减为三分之一。虚线和点划线同图 7E。粗条和细条分别表示 68% 和 95% 自助法区间：主拟合使用供体和运行的 10,000 次重抽样，三种速率变化使用供体和模拟细胞的 500 次重抽样，其他各行使用 5,000 次重抽样；供体同 D。（D）在层粘连蛋白上（左）和 HMEC-1 上（右），黏附红细胞数量随剪切应力的变化。符号表示供者中位数（CTR n = 17 和 12 位供体，GD n = 23 和 18 位；条表示供体的 68% 自助法区间）。红线表示 CTR 拟合（参考运行，C）；GD 预测采用 1.3 倍 Lu/BCAM，分别使用默认键（虚线）和 $k^0_{\text{off}}/10$ （实线）。

将镰状细胞与正常细胞进行比较，并不能对模型作出可靠检验。SS 红细胞在 1 dyn/cm^2 的剪切应力下对层粘连蛋白的黏附程度是 AA 红细胞的 10.2 倍（317 对 31 个红细胞/mm^2）（15），而活性受体增加 2.69 倍，预测的黏附程度仅增加 2.55 倍。但在这种剪切应力下，无论受体数量如何，都无法达到测量值：一旦群体中的所有细胞都停滞，比例便会饱和于 5.8 倍（图9C），而且这项比较涉及两个实验室的数据。

羟基脲提供了一个受体较少、远未达到这一上限的检验条件。它使 SS 红细胞的活性受体计数降低 3.66 倍，从 8.89% 降至 2.43%（22）；在相同治疗条件下，红细胞对层粘连蛋白的黏附在 0.4 dyn/cm^2 剪切应力下下降 3.4 倍（550 降至 160 个红细胞/mm^2），在 2 dyn/cm^2 剪切应力下下降 5.0 倍（200 降至 40）（23）。模型预测黏附分别下降 3.1 倍和 3.5 倍，因此测量值分别比预测值高 1.12 倍和 1.44 倍（图 9D）。三组活性受体计数的标准误各基于 12 至 15 个细胞，由此得出的比例的 68% 区间分别为 0.68 至 1.80 和 1.03 至 1.97。模型在抽样结果中分别有 38% 和 14% 的情况达到测量值（材料与方法）。因此，鉴于能够结合的受体数量，测得的下降幅度并不能在 5% 显著性水平上排除该模型。这些计数的不确定性太大，无法证明这些比例低于 GD 中的 1.60 和 1.70。预测未考虑羟基脲还会使单键的解离力降低 12%（35.1 对 40.0 pN；图 S5）（22）。键减弱只会进一步增加预测的下降幅度。另一家实验室报告称，羟基脲处理后红细胞对层粘连蛋白的黏附下降幅度较小，为 1.53 倍，且没有 AA 对照组（24）。

Bartolucci等人（23）直接区分了受体数量和受体状态。在20名SS患者中，红细胞对层粘连蛋白的黏附程度随Lu/BCAM的磷酸化程度升高而增加（r^2 = 0.496， P < .001；图9E）。无论通过Lu/BCAM阳性红细胞的比例，还是通过其平均荧光强度来测量细胞携带的Lu/BCAM数量，都未发现相关性（23）。在一小时时间尺度内，受体状态也能在受体数量不变的情况下发生变化。双丁酰环磷酸腺苷在一小时内使SS患者红细胞对层粘连蛋白的黏附增加2.5倍，但细胞携带的受体数量没有变化；蛋白激酶A抑制剂则会阻断这种增加（15）。可溶性Lu/BCAM消除了刺激后96%的黏附，因此受到调节的是Lu/BCAM键（15）。随后，羟基脲使受体数量和状态朝相反方向变化（图9F）：一项研究中，细胞中能够结合的受体减少了3.66倍（22）。在Bartolucci等人的患者中，黏附减少，而受体总数增加：按Lu/BCAM阳性细胞比例计算增加了1.16倍，按其平均荧光强度计算增加了2.10倍（未治疗组和治疗组各19人，二者均 P < .001 ）。对5名患者治疗前和治疗期间进行随访发现，羟基脲降低的是磷酸化本身（P = .005）（23）。因此，羟基脲治疗下，细胞携带的Lu/BCAM更多，但能够结合的受体更少，黏附能力也更弱。因此，受体数量和受体状态并不能互换，这正是GD不足所表明的。

刚度使细胞滞留于脾脏裂隙，而黏附则朝相反方向起作用

就黏附而言，GD膜充其量呈中性：更硬的细胞维持的键更少，且更早失去这些键（图8A）。在脾窦的内皮间裂隙处，宽约1.5 μm，同样的变硬则起相反作用（补充材料，图S6，以及视频S1和S2）。仅具有GD膜减小表面积的模拟细胞在裂隙中停留的时间为对照细胞的1.60倍，且在每次运行中仍能穿出。相比之下，仅具有更硬GD膜的细胞在六次时长为1215 ms的运行中从未离开裂隙。部分运行在14.2和18.9 μN/m时未能通过，并且从28.4 μN/m起没有细胞移动，因此阈值位于健康模量的三至六倍。中度GD膜为九倍（12）。在该模型中，同一细胞可以黏附更少，却被滞留更多：黏附取决于能够结合的受体，滞留取决于细胞膜的刚度，二者不能相互替代。

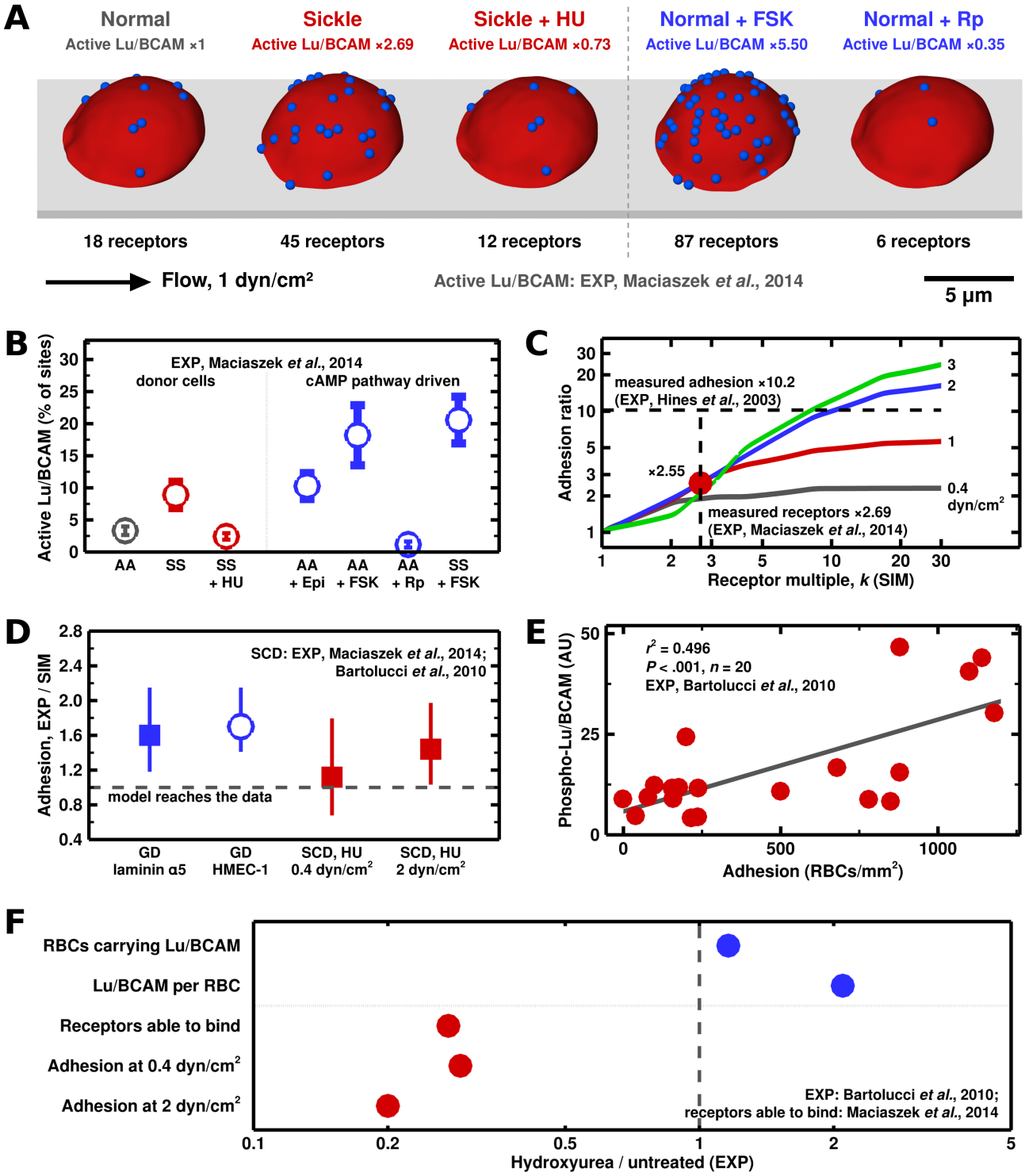


图 9：**镰状细胞数据将受体状态与受体数量区分开来**。不同实验室测得的未经处理的SS红细胞在层粘连蛋白上的密度相差 13 倍（200–2590 个红细胞/mm^2，剪切力为 1–2 dyn/cm^2）（23，24），因此所有数值均为同一项研究中的比值。

图9（续）。(A) 模型细胞与图 7A 中相同，控制组在层粘连蛋白 $\alpha 5$ 上的拟合平均受体比例乘以 B 中七种条件里五种条件下测得的活性受体比值。受体计数：18、45、12、87 和 6（单次抽样）；五次模拟仅在 f 上有所不同。(B) 通过原子力显微镜（AFM）测得，抽样表面位点中发生 Lu/BCAM–层粘连蛋白 $\alpha 5$ 解离事件的比例；这衡量了能够结合的受体（22）。AA，正常型；SS，镰状细胞型；HU，羟基脲；Epi，肾上腺素；FSK，福斯可林；Rp，Rp-cAMPS。左侧为细胞从供体处取出时的状态；右侧为孵育 30 分钟后 cAMP 通路受到激活或阻断的情况。柱形表示来自 3–5 名受试者的 9–15 个细胞的均值标准误。(C) 对于在层粘连蛋白 $\alpha 5$ 上按我们的对照供体拟合的群体（图 6），模型预测的黏附比随受体倍数的变化；数据涵盖四种剪切应力。虚线表示活性受体实测增幅 2.69 倍，以及在 1 dyn/cm^2 下黏附增加 10.2 倍（15，22）；实心符号表示模型在受体实测增幅下的结果。(D) 两种疾病中实测黏附与预测黏附之比。GD：在层粘连蛋白 $\alpha 5$ 上及 HMEC-1 上（本研究；柱形表示供体和模拟运行的 68% 自助法区间）。SCD：羟基脲试验在 0.4 和 2 dyn/cm^2, 下的结果，受体和黏附是在相同治疗期间、但于不同队列中测量的（22，23）。SCD 数据点上的柱形表示仅根据已发表的三个受体计数标准误计算的 68% 区间（材料与方法）。虚线表示比值为 1。(E) 20 名 SS 患者的 Lu/BCAM 磷酸化与黏附的关系，数据取自参考文献（23）的图 4E（材料与方法）；直线为这些数据点的回归线。(F) 羟基脲治疗下各指标的变化：接受治疗患者的数值除以未接受治疗患者的数值。虚线表示无变化。虚线右侧的点表示羟基脲治疗后数值上升，左侧的点表示下降。蓝色表示细胞携带的 Lu/BCAM，其数值上升：携带 Lu/BCAM 的红细胞百分比，以及根据平均荧光强度估算的每个红细胞上的 Lu/BCAM 分子数；两项指标均为治疗组与未治疗组各 19 名患者比较，均 $P < .001$，数据取自参考文献（23）的图 2C 和 2D。红色表示能够结合的受体和黏附，二者均下降：通过 AFM 测得的活性位点（12 对 15 个细胞）（22），以及在 0.4 和 2 dyn/cm^2, 34下测得的黏附密度（28 名患者）（23）。

讨论

GD红细胞对活化内皮和层粘连蛋白的黏附多于对照红细胞 $\alpha 5$，且细胞洗涤时所受剪切应力越大，这一差异也越明显；在内皮上尤为显著。我们探究了GD红细胞较高的Lu/BCAM表达能否解释这一现象。我们建立了单个细胞的DPD模型，其中携带随机Lu/BCAM–层粘连蛋白键，并对根据对照供体校准的受体数量分布取平均，进而预测黏附细胞数量随受体数量的变化。对于成熟GD红细胞中测得的受体数量增幅（1.3倍），模型预测值比GD数据低1.6倍（层粘连蛋白）和1.7倍（HMEC-1）。每组有12至23名供体时，这一差异倍数的95%自助法置信区间排除了HMEC-1上的一致性，而在层粘连蛋白上，只有68%的区间排除了这种一致性。HMEC-1上的结果还假设GD细胞与对照细胞到达基底的数量相同（见下文）。若要与数据吻合，每个细胞的受体数量都必须增加2.4倍（层粘连蛋白）或4.6倍（HMEC-1）。这些是下界，因为数据集未给出上限。GD红细胞较硬的细胞膜会进一步扩大这一差距，而较高的键亲和力则主要在低剪切应力下缩小差距（图8）。我们还将该模型原样应用于镰状细胞病中已发表的测量数据；在这些数据中，可结合的受体被直接计数，且单键强度与正常红细胞中的相同。使用羟基脲治疗时，黏附减少，而细胞携带的受体数量却增加。模型预测的黏附降幅与实测值相差1.1至1.4倍，这一差异可由受体计数的不确定性解释。该研究中的数据同样表明，需要改变的是受体状态（图9）。

这两种估算值均高于受体数量增加1.3倍的幅度，而磷酸化受体数量估计增加5.7倍（4），落在两者各自的68%区间内。Lu/BCAM与层粘连蛋白的结合 $\alpha 5$ 受其胞质尾的磷酸化调控；若阻断蛋白激酶A位点，受体的黏附能力会大幅下降（14）。因此，GD细胞可能携带更多受体，且能够结合的受体比例更高。受体状态的改变也可能提高每个键的亲和力。在简化的Bell描述中，键的力敏感性降低会使脱离曲线发生的偏移几乎与受体数量增加相同（补充材料）；但在完整模型中，亲和力提高产生的作用有所不同（图8）。由于结合几乎达到饱和，脱离速率减慢只能增加少量键。它能防止轻载键在低剪切应力下解离；而在高剪切应力下，大多数键仍会在达到其断裂长度时断裂。因此，随着剪切应力升高，这种增益逐渐减弱，而GD细胞黏附的额外增幅却不断扩大。在层粘连蛋白上，三种速率变化均使模型结果落入数据的68%区间内。然而，即使是效果最强的、脱离速率降低十倍的变化，在层粘连蛋白上1.0–1.6 dyn/cm^2 时仍低1.4至1.8倍，在HMEC-1上2和3 dyn/cm^2 时仍低1.7至2.2倍。采用这三种速率变化中的任意一种，GD细胞所需的受体数量仍为对照细胞的2.2至3.5倍。在模型中，k^* 其余差异因此表现得如同键的数量增加，这与GD细胞携带更高比例的具备结合能力的受体这一预期相符。受体活化仍是最直接的可能因素。在不同供体中，Lu/BCAM水平与对层粘连蛋白的黏附之间仅呈中等相关性（.64）（4），说明还可能存在第二个因素：受体状态。除磷酸化外，这种状态还包括Lu/BCAM的二聚化及其与

血影蛋白的连接。在上皮（MDCK）细胞中，只有当Lu/BCAM形成二聚体并发生磷酸化时，它才会促进细胞在层粘连蛋白521上的迁移（25）。无法再结合血影蛋白的Lu/BCAM会在这些细胞表面停留更久，并增强细胞对层粘连蛋白511/521的黏附和铺展（26）。在镰状细胞病中，Lu/BCAM的磷酸化会触发网织红细胞黏附于层粘连蛋白；而致密红细胞即使没有磷酸化也能牢固黏附（23、27）。在这些致密细胞中，氧化应激会改变Lu/BCAM在细胞表面的分布及其与血型糖蛋白C的相互作用，从而活化其黏附功能（27）。

如果活化能够补足剩余差异，那么，已用于镰状细胞的检测方法应当能够显示出这一点。原子力显微镜（22）应当检测到GD细胞上的活性位点数明显超过对照红细胞的1.3倍；根据我们的中心估计，该数值应为2.4至4.6倍。毛喉素可使正常细胞的活性位点增加5.5倍，使镰状细胞的活性位点增加2.3倍。它应使GD细胞的活性位点增加1.6至3.0倍。若达到正常细胞所达到的比例，受体数量为对照组1.3倍的GD细胞，其活性位点数将达到对照组的7.1倍，高于 k^*的两项估计值。抑制蛋白激酶A可使受刺激的镰状红细胞黏附降至其基础水平以下（15），因此，在0.4 dyn/cm^2 下应至少使GD细胞黏附降低1.5倍；在HMEC-1上，在3 dyn/cm^2, 下应降低2.3倍，从而使其接近接受相同处理的对照细胞，差异约为1.3倍。如果活性位点的比值接近1.3，或在抑制剂作用下仍存在过量，则表明病因位于该通路之外。

该分析还揭示了黏附曲线无法确定的内容：它们无法确定不同细胞间受体数量的变异幅度，对受体数量均值的约束也较弱。不同戈谢病样本中的 Lu/BCAM表达差异很大（4）；而在镰状细胞病中，轻型与致密红细胞的Lu/BCAM活化程度不同（27）。在模型中，这类细胞间差异表现为具备结合能力的受体分布范围不同，但改变戈谢病红细胞中的分布范围并不能弥合差距。当均值为 1.3 倍时，层粘连蛋白上戈谢病分布的最佳宽度与对照组相同。在 HMEC-1 上，均值相同时，较窄的分布能与低剪切应力下的数据吻合，却无法与 2 和 3 dyn/cm^{2}下的数据吻合。受体的位置也无法弥合差距：即使将相同的 16 个受体聚集成斑块，每个斑块最多含 2.2 μm 个受体，在所有测试的剪切应力下，平均停滞率都不会升高，只有细胞间差异增大（补充材料，表 S4）。逐个细胞测量 Lu/BCAM 及其磷酸化形式，即可确定分布宽度并直接检验均值。

有五项简化处理会影响不足的幅度。第一，主要分析中两组都采用健康红细胞的细胞膜，尽管戈谢病红细胞的可变形性较低（4），且在我们较早的模型中剪切模量更高（12，13）。采用中度GD的细胞膜后，不足幅度增大：在层粘连蛋白上从1.67倍增至2.24倍，在HMEC-1上从1.68倍增至1.88倍（图 8A、B；图S3C）。第二，与基底接触的细胞密度取自对照组。在两种基底上，剪切应力最低时两组差异均无统计学显著性，这为此选择提供了依据，但不能证明其正确。在HMEC-1上，若GD细胞密度提高至该处测得的1.43倍，不足将降至1.19倍且不再具有统计学显著性（补充材料）。只有当该处的密度比低于1.21时，不足才仍具有统计学显著性；供体数据将该比值限定在0.97–1.85之间（补充材料）。第三，键动力学沿用较早的模型。键刚度的设定未根据GD数据进行拟合。这一规则只要求模型覆盖测得的密度范围（材料与方法）。在相同位置运行时，将键刚度提高一倍，不足仍分别为层粘连蛋白上的1.81倍和HMEC-1上的1.70倍（图S3C）。所测试的键速率变化并未消除高剪切应力下的不足（见上文）。第四，每次运行中流动作用时间最长为0.24秒（材料与方法），而实验每次洗脱持续三分钟。停滞 A 衡量的是在给定剪切应力下键对细胞的 удерж附强度，公式 3 假设洗脱后仍残留的细胞密度与其成正比。数分钟内逐渐发生的脱离未被解析。对照组的校准和GD预测也采用了相同假设。在延长至十倍、即2.4秒的运行中，停滞约1秒后趋于平稳；在0.79和2.36 dyn/cm^2, 下，受体数量增加至1.3倍时，停滞分别提高1.06倍和1.27倍，而主要运行中的对应数值为1.26倍和1.29倍（表S5）。第五，没有数据可用于校准受体数量对预测响应的影响，而唯一一次相关测量显示的斜率比模型预测的更陡（结果）。只有当黏附对受体数量的响应比任一估计都更陡时，测得的1.3倍增幅才能解释GD数据。要缩小不足的不确定性，需要纳入更多患者（结果）。

戈谢病红细胞可通过两条途径离开循环，而在模型中，这两条途径取决于其不同的性质。通过 Lu/BCAM 介导的黏附取决于能够结合的受体。在脾脏裂隙处的滞留取决于细胞膜的剪切模量，与受体无关。就刚度而言，二者的变化方向相反，因此同一个细胞的黏附性会降低，而滞留性会增强；对其中一项的测量无法估计另一项。我们发现的滞留阈值在 14.2 至 28.4 μN/m 之间，是健康人剪切模量的 3 至 6 倍。该阈值低于中度GD膜的 42.6 μN/m，这使 GD细胞明显处于滞留一侧，而对照细胞可在 227 ms 内通过这一通道。这一区间还区分了两种 GD

细胞膜变化：表面积体积比降低使通过速度减慢 1.6 倍，但从未阻止通过；而仅刚度增加就会阻止通过。因此，判断治疗是否恢复了通过能力，应依据剪切模量，而不是细胞形状。两条途径对治疗的反应也不同。在 15 名接受治疗的患者与 16 名未接受治疗的患者中，酶替代疗法使戈谢病红细胞的可变形性和形态恢复正常，但其对层粘连蛋白的黏附性及 Lu/BCAM 水平仍未改变（28）。该研究认为，黏附性未改变的部分原因是治疗持续时间较短。

红细胞与血管壁的黏附被认为会促成戈谢病的缺血事件（4）。我们的分析表明，戈谢病红细胞的黏附取决于Lu/BCAM的激活状态及其表达水平。因此，磷酸化Lu/BCAM是患者监测及治疗过程中需要追踪的指标，同时还应关注决定脾脏通路的可变形性。该方法利用对照样本，将单细胞键模型校准为群体模型，并依据独立测得的分子变化预测患者样本。该方法也适用于其他存在红细胞黏附异常的疾病，例如真性红细胞增多症（29）和镰状细胞病。在后一种疾病中，研究人员已在缺氧条件下通过微流控通道追踪单个镰状红细胞的黏附（30），并且已有黏附性耗散粒子动力学模型（21，31，32）。

材料与方法

计算方法

我们模拟单个红细胞在流动条件下黏附于配体包被壁面的过程。我们采用耗散粒子动力学（DPD），这是一种广泛用于研究血细胞、软物质和集体运动的粒子方法（17、33–39）。方程和各参数值详见补充材料。使用OVITO（40）渲染快照。

耗散粒子动力学模型

血浆被视为由粗粒化粒子组成的介观流体，采用Hoogerbrugge和Koelman（41）以及Groot和Warren（42）提出的耗散粒子动力学形式。三种成对作用力以大小相等、方向相反的成对形式作用，从而使动量在局部守恒，并使流体具有流体动力学性质（18）；确定温度的涨落耗散关系（42）见补充材料。细胞内部的流体与外部相同，均为耗散粒子动力学流体。耗散粒子动力学参数列于表S6。

通道在流动方向和涡量方向上具有周期性，并由两面平壁界定。均匀体力 f_x 作用于流体和细胞中的每个粒子，驱动流动。没有细胞时，壁面处的剪切应力为 $\tau_w = \rho f_x H/2$，其中 $\rho = 4$ 为流体的数密度， $H = 10$ 为两壁之间的距离。模型量按照我们先前的工作（13）转换为物理单位：长度单位为 1 μ米，应力单位为0.394dyn/cm^2, , 因此 $\tau_w = 7$。$88\ f_x$ dyn/cm^2, ; 时间单位由我们在泊肃叶流中测得的溶剂黏度确定，为 $t_0 = 20.2$ 至2.4毫秒（补充材料）。

红细胞模型

黏附发生在单个细胞的尺度上，因此细胞必须像真正的红细胞一样变形，同时仍能解析其周围的流动。红细胞没有细胞核。它是一个双凹袋状结构，直径约为 $8\ \mu$m，其细胞膜兼具黏性和弹性。这种特性使它能够被挤过小至 $3\ \mu$m 的毛细血管（18，43）。我们用 N_v 个位置为 $X_i\,(i \in 1, \ldots, N_v)$ 的 DPD粒子表示细胞膜，并将它们连接成三角形网络，每条边上都带有一个弹簧。约束力使其面积和所包围的体积保持不变，从而令细胞膜和细胞不可压缩；相邻三角形之间夹角变化所受到的阻力，则赋予细胞膜弯曲刚度。

两组细胞均采用健康红细胞的细胞膜：剪切模量 $\mu_0 = 4$。$73\ \mu$N/m , 弯曲系数为 $k_b = 2$。4×10^{-19} J (17)，面积、体积及其他细胞膜参数见表 S6。模型及其通过光镊拉伸和剪切流中的坦克履带运动进行的验证，已在我们先前的工作中介绍（12、13）。主要分析中，两组均采用健康膜，使比较仅针对受体；此外，我们还将先前模型中中度GD的剪切模量 42.6 μN/m（12）作为一个变体进行测试（见下文）。

细胞黏附模型

黏附由细胞膜上的受体与基底上的配体之间随机形成和断裂的键来表示（18）。

在每个模拟时间步 Δt，捕获距离 d_{on} 范围内的受体会以概率$P_{\text{on}} = 1 - e^{-k_{\text{on}}\Delta t}$与游离配体结合。每个已有键在每个时间步均以概率 $P_{\text{off}} = 1 - e^{-k_{\text{off}}\Delta t}$ 断裂；一旦拉伸超过断裂长度 d_{off}，则必然断裂。这两种速率均取决于键长 l (19)：

$$k_{\text{on}} = k_{\text{on}}^{0} \exp\left(-\frac{\sigma_{\text{on}}(l - l_0)^2}{2k_{\text{B}}T}\right), \tag{1}$$

$$k_{\text{off}} = k_{\text{off}}^{0} \exp\left(\frac{\sigma_{\text{off}}(l - l_0)^2}{2k_{\text{B}}T}\right), \tag{2}$$

其中 l_0 为平衡键长，$k_{\text{B}}T$ 为耗散粒子动力学流体的热能，而 σ_{on} 和 σ_{off} 决定了键伸长对结合的减缓作用以及对断裂的加速作用。键通过谐和力 $F_{\text{adh}}(l) = 2k_s(l - l_0)$将两个粒子拉向彼此，其中 k_s 为键弹簧常数，因此键刚度 $2k_s$ 在μm处为3.94 pN/ $k_s = 50$。我们取 $l_0 = 0$。每个受体和每个配体最多各携带一个键。因此，每个键承受的力最多为2.96 pN。在24,000 pN/s的加载速率下，单个Lu/BCAM–层粘连蛋白 $\alpha5$ 键在力谱学实验中的解离力为39 pN（图S5），且键强度会随加载速率增加而降低（44）。

该黏附模型已通过疟疾（18，45，46）和镰状细胞病（31，32）中红细胞黏附的模拟得到验证。我们将其动力学参数 k_{on}^{0}，k_{off}^{0}，σ_{on}，σ_{off}，d_{on} 和 d_{off} 保留为代码所依据的实现中采用的数值（表 S6）。其中，σ_{on} 和 σ_{off} 经过重新缩放，使得在耗散粒子动力学流体的温度下，$\sigma/k_{\text{B}}T$及所有速率均保持不变。键弹簧常数根据下文给出的标准选取，而通过实验校准的量是各细胞受体数量的分布。

模型设置与参数估计

我们采用多尺度红细胞（MS-RBC）模型（17，32），该模型包含 $N_v = 500$ 个顶点，表面积为 $A_0 = 132$。87 μ米^2，包围体积为 $V_0 = 92$。46 μ米^3。MS-RBC 模型已在正常及病理状况下的血流计算研究中得到验证（10，47–49），研究涵盖疟疾（46）、镰状细胞贫血（32，50）、遗传性球形红细胞增多症（51）和糖尿病（52，53）。

黏附模拟。我们将此模型应用于红细胞膜上的 Lu/BCAM 与基底上的层粘连蛋白结合的情况 $\alpha5$（45，54）。每次模拟均包含两个红细胞，它们采用表 S6 中的健康膜参数，并排位于通道下表面上方。该通道沿流动和涡量方向周期性延伸，尺寸为 40 × 20 μμm（图 1B）。下表面覆盖一层配体粒子。两个细胞相距足够远，任何配体都无法同时触及它们，因此可视为两个样本。每个细胞的 500 个膜顶点各自以 f 的概率携带一个受体。所有顶点还受到基底施加的微弱非特异性吸引，使细胞膜保持在配体可触及的范围内（见补充材料）。一次运行分为两个阶段。第一阶段为无流动的 10^5 个时间步，对应于实验中低剪切应力下的灌流过程：细胞沉降，其键数量达到稳态。随后，在 10^5 个时间步内，体力驱动流动，使剪切应力保持恒定在 τ_w。在加载阶段，膜顶点与基底粒子及其下方壁面粒子之间的耗散力，比其他所有粒子对之间的耗散力弱 100 倍。因此，只有键能够抵抗剪切力（最低剪切应力下的例外情况见下文）。

黏附程度通过键使细胞减速的幅度来判断。每个细胞质心沿流动方向的稳态速度 v，是其位置在加载阶段后半段变化的最小二乘斜率。我们将其与十八个无法形成键的细胞（$k_{\text{on}}^{0} = 0$）在相同 τ_w下的平均速度 v_0进行比较。停滞程度 $A = 1 - v/v_0$ 对于被固定不动的细胞为 1，对于运动方式与非黏附细胞相同的细胞为 0。中间值表示细胞在滑动。我们在八种受体比例下计算 $A(\tau_w; f)$：f = 1/64、1/32、1/16、3/32、1/8、1/4、1/2 和 1；并测试六种剪切应力，范围为 0.39 至 3.15 dyn/cm^2（f_x = 0.05 至 0.40）。这一范围涵盖了拟合中使用的实验剪切应力（见下文）。每个数据点有六次独立运行（十二个细胞），而 f = 1/64 对应十二次运行（二十四个细胞）。对于给定的随机种子，较大 f 下的受体包含所有较小 f 下的受体。每次运行中，配体粒子层都会在壁面平面内按各自的随机偏移进行平移，因此每次运行中的两个细胞都会落在基底上各自的位置。图8中比较的模型运行时未进行这种平移，因此

在它们的所有运行中，两个细胞都会落在相同的两个位置。每个模型都与以相同方式运行的默认模型参考运行进行比较（补充材料）。

键弹簧常数。我们不拟合 k_s。没有细胞的受体数量超过 $f = 1$ 时的数量，因此一个群体在单位面积内最多保留 $c\,A(\tau_w; 1)$ 个黏附细胞，其中 c 是与基底接触的细胞密度（见下文）。只有当这一上限远高于 GD数据时，模型才能表示 GD数据。我们从网格值 25、50、100、200 中选取满足以下两个条件的最小 k_s。(i) 在最高层粘连蛋白剪切应力下，具有 $f = 1$ 的细胞基本保持停滞：$A(1.6\ \mathrm{dyn/cm^2}; 1) \geq 2R$，其中 $R = N_{\mathrm{GD}}(1.6)/N_{\mathrm{CTR}}(0.3) = 0.335$ 表示 1.6 dyn/cm^2 下的 GD 中位密度相对于 0.3 dyn/cm^{2}下的对照组中位密度。由于 $c \geq N_{\mathrm{CTR}}(0.3)$，$R$ 从上限约束 GD 群体在 1.6 dyn/cm^2,下所需的平均停滞值，而该条件确保这一要求低于上限的一半。(ii) 在最低层粘连蛋白剪切应力下，恰好足以 удерж住一个细胞的受体比例须处于模拟范围内。若认为细胞所能承受的剪切应力与其受体数量成正比（后文模拟得出的比例约为 $f^{0.59}$），则该比例为 $f^* \approx 0.3/\tau_{1/2}$，其中 $\tau_{1/2}$ 是使 $A(\tau_w; 1) = 1/2$ 的剪切应力（单位：dyn/cm^2）。我们要求 $f^* \geq 1/32$。这两个条件仅涉及 $f = 1$ 下的响应及数据范围。两个条件都不使用对任一组的拟合。它们选出 $k_s = 50$，此时 $A(1.6\ \mathrm{dyn/cm^2}; 1) = 0.87$，且 $f^* = 0.056$。数值 $k_s = 25$不满足条件 (i)，其 $A = 0.59$（表 S7）。

受体分布。模型中的受体是位于膜顶点上的一个结合位点。它并非单个 Lu/BCAM 分子，且仅比较 f 与测得的受体水平之比。不同细胞的受体数量可能不同，因此我们将一组红细胞描述为一个群体，其受体分数服从均值为 f、变异系数为 CV 的伽马分布。高于 $f = 1$的细胞被赋予 $f = 1$。CV 较小时，群体趋近于由相同细胞构成。我们将黏附密度表示为

$$N(\tau_w) = c\,\mathbb{E}_f[A(\tau_w; f)]\,. \tag{3}$$

细胞在较低剪切应力下或拥有更多受体时，不可能黏附得更不牢固。因此，我们首先将模拟得到的 A 表格替换为最接近的表格：按各点的细胞数加权进行最小二乘拟合，并使其随 τ_w 单调不增、随 f 单调不减（保序回归）。这消除了抽样噪声，并更改了 48 个条目中的 6 个，改变量不超过 0.083（图 4B）。在模拟点之间，A 按 f线性插值，其中 $A(\tau_w;0) = 0$，并按 log τ_w线性插值。期望值随后可用不完全伽马函数表示为闭式。我们通过对数 N 空间中的最小二乘法，将 c、f_0 和 CV_0 拟合至每种基底的对照组中位曲线，其中 c 可写成闭式；拟合所用剪切应力不低于 0.4 dyn/cm^2：层粘连蛋白上有九个点，HMEC-1 上有十个点。较低剪切应力低于模拟范围。补充材料中将这些剪切应力下留出的对照组中位数与拟合结果进行了比较。由于对照曲线无法确定 CV_0（结果），我们将 CV_0 固定为 0.2、0.5 和 1.0，并采用对数正态分布（表 S8），重复分析。另一种变体在计算 v_0 时，排除了八个非黏附细胞；这些细胞在最低剪切应力下爬行，其速度不到同一高度处无细胞流体速度的一半（补充材料，图S4）。

对GD曲线进行分析时，c 保持其对照组数值不变。密度 c 由灌流方案设定，两组采用相同方案；在任一基底上，在最低剪切应力下，两组之间均无显著差异（结果）。随后我们计算（a）在戈谢病红细胞较高的Lu/BCAM表达下预测的曲线，$f = 1$。3 f_0 在变异系数不变的情况下。该预测未对GD黏附数据进行拟合：1.3是图4A中成熟GD红细胞与对照红细胞Lu/BCAM水平中位数之比，数据引自Franco等人（4）。我们还计算（b）受体倍数 k^*，使得 $f = k^* f_0$ 在变异系数不变的情况下拟合GD曲线；（c）在 $f = 1$下进行拟合的变异系数。3 f_0 以及（d）对 f和变异系数进行自由拟合。

黏附模拟使用经过修改的 LAMMPS 版本运行，时间步长为 DPD 单位下的 $\Delta t = 0.001$。运行 2×10^5 步（两个细胞）约需 10 个 CPU 核心小时。加载阶段为 10^5 步或 $100\,t_0$，最长持续 0.24 秒，远短于实验中的三分钟洗脱时间。

模型变体与键分辨运行。为检验模型的假设，我们逐次只改变一项设置，重复覆盖不同受体比例和剪切应力的网格：中度GD的细胞膜，其刚度为42。6 μN/m（12），或将作用于其上的体力减至三分之一、将键刚度加倍，以及对键动力学作五种修改。GD膜和改变键动力学是关于戈谢病红细胞的假设，因此对于这些变体，对照组采用默认模型进行校准，只有戈谢病的预测使用修改后的模型。为追踪单键，我们重新运行15种条件，并使用Kaplan–Meier法估算载荷作用下的键寿命。每种变体及每次重新运行均列于补充材料中。

模型组成部分的验证

模型的每个组成部分在使用前都经过了测试：单独的溶剂在两壁之间形成抛物线速度分布；键核能够重现单个受体–配体对的闭式动力学；无法结合的细胞随流动一起移动；在我们采用的键刚度下，每个膜顶点都带有受体的细胞基本保持停滞。测试详情见补充材料（图S7）。

实验设置

微流控黏附实验：在平板流动室中，使用两种基底对黏附进行定量：涂有纯化层粘连蛋白 $\alpha 5$（内皮下基质的组成部分）的微型载玻片，以及 TNFα 激活的人微血管内皮细胞 (HMEC-1) 融合单层。涂有纤维连接蛋白的微型载玻片用作特异性对照。将戈谢病患者和健康对照组的红细胞重悬至 0.5% 血细胞比容，并以 37°C灌流。在内皮上，以 0.2 dyn/cm^2, 的流速注入细胞，随后停止流动 45 分钟以使其黏附；之后从 0.2 到 3 dyn/cm^{2}逐次进行三分钟冲洗，并在每次冲洗后计数黏附细胞。在层粘连蛋白上，以 0.3 dyn/cm^2 灌流细胞五分钟，在相同剪切应力下冲洗并计数，然后再以 0.4 到 1.6 dyn/cm^{2}进行三分钟冲洗并计数。观察指标为各剪切应力下黏附红细胞的绝对表面密度（cells/mm^2），取每位供体所成像视野的平均值。我们不将每位供体的数据简化为单一脱离阈值，因为根据这些曲线拟合出的半数脱离剪切应力，其区分组别的能力低于其自身的离散程度。

伦理声明：我们使用了 Franco 等人先前实验中的数据（4），该实验经当地伦理委员会批准，符合《赫尔辛基宣言》的原则（个人保护委员会 [个人保护委员会] 协议，法兰西岛第六区医院集团，批准日期为2010年12月16日）。本研究未采集血液。

已发表数据

图9 中使用的两个量见参考文献（23），但未以表格形式列出；我们从已发表图表中提取了这些数据，并根据补充材料进行了核查。此处使用的所有其他已发表数值均为所引文献中给出的汇总统计数据。

图9D 中镰状细胞病数据点的区间，将已发表的三个活性受体计数的标准误（22）通过模型传递，具体方法见补充材料。

Lu/BCAM 增幅为1.3倍以及5.7的区间，来自对从参考文献（4）图4A和图4D中读取的供体数据进行重采样（补充材料）。

统计分析

组间比较采用双侧曼–惠特尼检验。对于任一基底，在某一剪切应力下，单个供体的数值中不足 2.2% 对应零个黏附细胞，因此这些比较并非由测量下限决定。我们通过计算戈谢病供者中位数与模型预测值之比，并在拟合的剪切应力范围内取几何平均，来概括各模型与GD数据的一致程度；比值为1表示平均而言两者一致。置信区间由自助法重复样本计算得出（55），在各组内对供体进行重采样，并在每个网格点对模拟结果进行重采样。每个重复样本的表格均按上述方法调整为单调。对于主要拟合的不足值和 k^*，10,000个重复样本抽取完整实验轮次，并从五个起始点重新拟合对照组。对于对照拟合、图S4的变体以及在两个固定位置运行的模型，500个重复样本对单个细胞进行重采样（图S3C和表S3采用5000个）。重采样供者中位数为零或没有对照拟合的重复样本将被跳过（最多占0.4 %）。比值不大于1的重复样本所占比例，衡量模型在多大程度上能够达到数据水平。采用其他重采样单位得到的区间几乎相同（表S1）。包含五次存疑实验后，层粘连蛋白上的不足值为1.64（表S9）。不足值的显著性并非来自自助法尾部，而是通过对供体进行置换检验来评估。若模型正确，则戈谢病供者曲线除以预测的GD/对照比值后，其分布应与对照曲线相同，因此两组供体曲线可以互换。我们按此对曲线进行除法运算，并在校准后的模型保持不变的情况下，对200,000次随机重新标记重新计算不足值（表S1）。重新标记的是完整曲线，因此剪切应力之间的相关性得以保留。将戈谢病曲线再除以一个因子并重复计算，可得戈谢病与对照组在……时细胞密度之比的最大值

接触处仍保持显著不足的情况。

补充材料

此 PDF 文件包含：补充文本、图 S1 至 S7、表 S1 至 S13、视频图例 S1 和 S2、参考文献(56–59)。本手稿的其他补充材料包括：视频 S1 和 S2。

致谢

模拟在布朗大学计算与可视化中心进行。 **经费：** 本研究获得美国国立卫生研究院国家心脏、肺及血液研究所(NHLBI) 资助，资助编号为 R01HL154150 和 3R01HL154150-06。截至目前，含补充资助 3R01HL154150-06 在内的资助总额为 1,269,793 美元，全部来自联邦资金。本文内容完全由作者负责，不一定代表美国国立卫生研究院的官方观点。我们还感谢法国2030计划通过巴黎西岱大学卓越计划（ANR-18-IDEX-0001，GR-Ex）提供的支持。 **作者贡献：** 概念构思：ZC 、 GEK。经费获取：PAB 、 GEK。研究：ZC （模拟）、 MF （实验）。监督指导：GEK。 **利益冲突：** 作者声明不存在任何利益冲突。 **数据与材料可用性：** 评估结论所需的所有数据均包含在论文和补充材料中：Franco等人原始实验中测得的每位供体的黏附情况 (4)、其中未纳入的实验运行结果、从已发表图表中读取的数据（表 S10 至 S13），以及模型和分析中的所有参数。代码是 LAMMPS 的内部扩展，可向通讯作者索取，用于学术用途。

参考文献

1. Stirnemann, J.、N. Belmatoug、F. Camou、C. Serratrice、R. Froissart、C. Caillaud、T. Levade、L. Astudillo、J. Serratrice、A. Brassier、C. Rose、T. Billette de Villemeur 和 M. G. Berger，2017年。戈谢病病理生理学、临床表现和治疗综述。《国际分子科学杂志》18(2):441。2. Degnan, A. J.、V. M. Ho-Fung、R. C. Ahrens-Nicklas、C. A. Barrera、S. D. Serai、D. J. Wang 和 C. Ficicioglu，2019年。非神经病变型戈谢病的影像学：定量成像和疾病累及情况综合评估的最新进展。《影像学洞见》10:70。3. Hughes, D.、P. Mikosch、N. Belmatoug、F. Carubbi、T. Cox、O. Goker-Alpan、A. Kindmark、P. Mistry、L. Poll、N. Weinreb 等，2019年。骨中的戈谢病：从病理生理学到临床实践。《骨与矿物质研究杂志》34:996–1013。4. Franco, M.、E. Collec、P. Connes、E. van den Akker、T. Billette de Villemeur、N. Belmatoug、M. von Lindern、N. Ameziane、O. Hermine、Y. Colin 等，2013年。红细胞的异常特性提示其在戈谢病病理生理学中可能发挥作用。《血液》121:546–555。5. Dupuis, L.、M. Chauvet、E. Bourdelier、M. Dussiot、N. Belmatoug、C. Le Van Kim、A. Chêne 和 M. Franco，2022年。戈谢病患者的红细胞吞噬作用诱导巨噬细胞发生表型改变，使其向戈谢细胞转化。《国际分子科学杂志》23:7640。6. Bratosin, D.、J.-P. Tissier、H. Lapillonne、O. Hermine、T. B. de Villemeur、C. Cotoraci、J. Montreuil 和 C. Mignot，2011年。对戈谢病红细胞的细胞计量学研究显示，其异常形态可能参与增强的红细胞吞噬作用。《细胞计量学*B*辑：临床细胞计量学》80:28–37。7. Chai, Z.、N. Ahmadi Daryakenari 和 G. E. Karniadakis，2026年。多尺度信号传导-生物物理框架揭示镰状细胞病和戈谢病中巨噬细胞介导的红细胞清除机制。《*PNAS Nexus*》5:pgag348。

8. Dupuis, L.、C. Chipeaux、E. Bourdelier、S. Martino、N. Reihani、N. Belmatoug、T. Billette de Villemeur、B. Hivert、F. Moussa、C. Le Van Kim 等，2020年。鞘脂过载对戈谢病红细胞特性的影响。《细胞与分子医学杂志》24:9726–9736。9. Reihani, N.、J.-B. Arlet、M. Dussiot、T. Billette de Villemeur、N. Belmatoug、C. Rose、Y. Colin-Aronovicz、O. Hermine、C. Le Van Kim 和 M. Franco，2016年。戈谢病中意外发现的非巨噬细胞依赖性红细胞生成异常。《血液学》101:1489–1498。10. Pivkin, I. V.、Z. Peng、G. E. Karniadakis、P. A. Buffet、M. Dao 和 S. Suresh，2016年。人脾脏中的红细胞生物力学及其对生理和疾病的影响。《美国国家科学院院刊》113:7804–7809。11. Asaro, R. J. 和 P. Cabrales，2021年。红细胞：微血管流动中的系留、囊泡形成与疾病。《诊断学》11:971。12. Chai, Z.、G. Li、P. A. Ndour、P. Connes、P. A. Buffet、M. Franco 和 G. E. Karniadakis，2025年。戈谢病中血液和红细胞的计算生物物理学与流变学。《*PLOS*计算生物学》21:e1012705。13. Chai, Z.、M. de Person、P. A. Buffet、M. Franco 和 G. E. Karniadakis，2026年。戈谢病红细胞生物物理特性的定量分析。《生物物理学杂志》（已接收），doi:10.1016/j.bpj.2026.10.021。14. Gauthier, E.、C. Rahuel、M. P. Wautier、W. El Nemer、P. Gane、J. L. Wautier、J. P. Cartron、Y. Colin 和 C. Le Van Kim，2005年。蛋白激酶A依赖性磷酸化调节Lutheran/基底细胞黏附分子糖蛋白与层粘连蛋白的细胞黏附 $\alpha 5$。《生物化学杂志》280:30055–30062。15. Hines, P. C.、Q. Zen、S. N. Burney、D. A. Shea、K. I. Ataga、E. P. Orringer、M. J. Telen 和 L. V. Parise，2003年。新型肾上腺素和环磷酸腺苷介导的BCAM/Lu依赖性镰状细胞型（SS）红细胞黏附活化。《血液》101:3281–3287。16. Lafforgue, P.，2006年。骨缺血性坏死的病理生理学和自然病程。《关节、骨与脊柱》73:500–507。17. Fedosov, D. A.、B. Caswell 和 G. E. Karniadakis，2010年。具有精确力学、流变学和动力学特性的多尺度红细胞模型。《生物物理学杂志》98:2215–2225。18. Fedosov, D. A.、H. Lei、B. Caswell、S. Suresh 和 G. E. Karniadakis，2011年。疟疾中的红细胞力学和血流多尺度建模。《*PLOS*计算生物学》7:e1002270。19. Dembo, M.、D. C. Torney、K. Saxman 和 D. Hammer，1988年。膜-表面黏附与脱离的反应限制动力学。《伦敦皇家学会会刊*B*辑：生物科学》234:55–83。20. Brusson, M.、M. De Grandis、S. Cochet、S. Bigot、M. Marin、M. Leduc、F. Guillonneau、P. Mayeux、T. Peyrard、C. Chomienne、C. Le Van Kim、B. Cassinat、J.-J. Kiladjian 和 W. El Nemer，2018年。羟基脲和干扰素-α 对真性红细胞增多症中红细胞黏附和膜蛋白表达的影响。《血液学》103:972–981。21. Deng, Y.、D. P. Papageorgiou、H.-Y. Chang、S. Z. Abidi、X. Li、M. Dao 和 G. E. Karniadakis，2019年。黏附性镰状红细胞的剪切诱导变形和脱离的定量分析。《生物物理学杂志》116:360–371。22. Maciaszek, J. L.、B. Andemariam、K. Abiraman 和 G. Lykotrafitis，2014年。通过力纳米成像揭示AKAP依赖性调节正常型和镰状细胞病红细胞上的BCAM/Lu黏附。《生物物理学杂志》106:1258–1267。23. Bartolucci, P.、V. Chaar、J. Picot、D. Bachir、A. Habibi、C. Fauroux、F. Galactéros、Y. Colin、C. Le Van Kim 和 W. El Nemer，2010年。羟基脲降低镰状红细胞对层粘连蛋白的黏附与抑制Lu/BCAM蛋白磷酸化有关。《血液》116:2152–2159。

24. Hillery, C. A., M. C. Du, W. C. Wang, and J. P. Scott, 2000年。羟基脲治疗降低了镰状红细胞在体外对血小板反应蛋白和层粘连蛋白的黏附。英国血液学杂志 109:322–327。25. Guadall, A., S. Cochet, O. Renaud, Y. Colin, C. Le Van Kim, A. G. de Brevern, and W. El Nemer, 2019年。Lutheran/基底细胞黏附分子的二聚化和磷酸化对其在层粘连蛋白上介导细胞迁移的功能至关重要。《生物化学杂志》294:14911–14921。26. Collec, E., M.-C. Lecomte, W. El Nemer, Y. Colin, and C. Le Van Kim, 2011年。Lu/BCAM–血影蛋白相互作用在肌动蛋白细胞骨架重组中具有新作用。《生物化学杂志》436:699–708。27. Lizarralde-Iragorri, M. A., S. D. Lefevre, S. Cochet, S. El Hoss, V. Brousse, A. Filipe, M. Dussiot, S. Azouzi, C. Le Van Kim, F. Rodrigues-Lima, O. Français, B. Le Pioufle, T. Klei, R. van Bruggen, and W. El Nemer, 2021年。氧化应激会激活镰状细胞病中的红细胞对层粘连蛋白的黏附。《血液学》106:2478–2488。28. Franco, M., N. Reihani, M. Marin, M. de Person, T. Billette de Villemeur, C. Rose, Y. Colin, F. Moussa, N. Belmatoug, and C. Le Van Kim, 2017年。维拉葡萄糖脑苷脂酶α酶替代疗法对戈谢病患者红细胞特性的影响。《美国血液学杂志》92:E561–E563。29. Wautier, M.-P., W. El Nemer, P. Gane, J.-D. Rain, J.-P. Cartron, Y. Colin, C. Le Van Kim, and J.-L. Wautier, 2007年。真性红细胞增多症患者的红细胞对内皮细胞的黏附增强，由层粘连蛋白 $\alpha 5$链和Lu/BCAM介导。《血液》110:894–901。30. Papageorgiou, D. P., S. Z. Abidi, H.-Y. Chang, X. Li, G. J. Kato, G. E. Karniadakis, S. Suresh, and M. Dao, 2018年。镰状细胞病中缺氧条件下聚合与黏附同步发生。《美国国家科学院院刊》115:9473–9478。31. Lei, H., and G. E. Karniadakis, 2012年。量化镰状细胞贫血的流变学和血流动力学特性。《生物物理学杂志》102:185–194。32. Lei, H., and G. E. Karniadakis, 2013年。通过介观模拟探究镰状细胞贫血中的血管阻塞现象。《美国国家科学院院刊》110:11326–11330。33. Li, H., and G. Lykotrafitis, 2014年。显式描述脂质双层和血影蛋白网络的红细胞膜模型。《生物物理学杂志》107:642–653。34. Deng, Y., D. P. Papageorgiou, X. Li, N. Perakakis, C. S. Mantzoros, M. Dao, and G. E. Karniadakis, 2020年。量化2型糖尿病患者红细胞的纤维蛋白原依赖性聚集。《生物物理学杂志》119:900–912。35. Toscano, J. D., Z. Chai, and G. E. Karniadakis, 2026年。GRAFT-ATHENA：用于自主发现和进化数值算法的自我改进智能体团队。*arXiv*预印本 *arXiv:2605.11117*。36. Chai, Z., J. Zheng, H. Li, M. Dao, and G. E. Karniadakis, 2026年。典型红细胞产生的液泡物质不足，无法通过聚并形成凹陷细胞中的大型液泡。*arXiv*预印本 *arXiv:2610.22646*。37. Chai, Z., S. Gu, and G. Lykotrafitis, 2023年。轴突质膜骨架的动力学。《软物质》19:2514–2528。38. Zhang, Y., Z. Chai, Y. Sun, and G. Lykotrafitis, 2020年。基于确定性策略梯度的深度强化学习模型，用于神经嵴细胞集体迁移。*arXiv*预印本 *arXiv:2007.03190*。39. Zhang, Y., Z. Chai, and G. Lykotrafitis, 2021年。将深度强化学习与粒子动力学环境结合，用于存在障碍物的房间紧急疏散。《物理学*A*辑》571:125845。40. Stukowski, A., 2010年。使用OVITO（开放可视化工具）对原子模拟数据进行可视化与分析。《材料科学与工程中的建模与仿真》18:015012。

41. Hoogerbrugge, P. J., and J. M. V. A. Koelman, 1992年。用耗散粒子动力学模拟微观流体动力学现象。《欧洲物理快报》19:155–160。42. Groot, R. D., and P. B. Warren, 1997年。耗散粒子动力学：连接原子级模拟与介观模拟。《化学物理学杂志》107:4423–4435。43. Diez-Silva, M., M. Dao, J. Han, C.-T. Lim, and S. Suresh, 2010年。健康与疾病状态下人红细胞的形态和生物力学特征。《*MRS*公报》35:382–388。44. Evans, E., and K. Ritchie, 1997年。分子黏附键的动态强度。《生物物理学杂志》72:1541–1555。45. Fedosov, D. A., B. Caswell, and G. E. Karniadakis, 2011年。基于壁面剪切应力的红细胞疟疾黏附动力学模型。《生物物理学杂志》100:2084–2093。46. Fedosov, D. A., B. Caswell, S. Suresh, and G. E. Karniadakis, 2011年。量化微循环中受恶性疟原虫寄生的红细胞的生物物理特征。《美国国家科学院院刊》108:35–39。47. Peng, Z., X. Li, I. V. Pivkin, M. Dao, G. E. Karniadakis, and S. Suresh, 2013年。红细胞中的脂质双层与细胞骨架相互作用。《美国国家科学院院刊》110:13356–13361。48. Chai, Z., J. Zheng, H. Li, M. Dao, and G. E. Karniadakis, 2026年。量化健康与疾病状态下的网织红细胞生物力学。*arXiv*预印本 *arXiv:2607.21810*。49. Chai, Z., J. Zheng, H. Li, M. Dao, and G. E. Karniadakis, 2026年。量化健康与疾病状态下口形红细胞的生物物理特性。《生物物理学杂志》（即将刊出），doi:10.1016/j.bpj.2026.10.007。50. Li, X., E. Du, M. Dao, S. Suresh, and G. E. Karniadakis, 2017年。瞬态缺氧条件下单个镰状细胞行为的患者特异性建模。《*PLOS*计算生物学》13:e1005426。51. Chang, H.-Y., X. Li, H. Li, and G. E. Karniadakis, 2016年。用于预测健康与疾病状态下红细胞形态和应力的MD/DPD多尺度框架。《*PLOS*计算生物学》12:e1005173。52. Chang, H.-Y., X. Li, and G. E. Karniadakis, 2017年。2型糖尿病红细胞生物力学与生物流变学建模。《生物物理学杂志》113:481–490。53. Chang, H.-Y., A. Yazdani, X. Li, K. A. A. Douglas, C. S. Mantzoros, and G. E. Karniadakis, 2018年。量化糖尿病血流中的血小板边集。《生物物理学杂志》115:1371–1382。54. Hammer, D. A., and S. M. Apte, 1992年。剪切流中细胞在表面滚动与黏附的模拟：选择素介导的中性粒细胞黏附的一般结果与分析。《生物物理学杂志》63:35–57。55. Efron, B., 1979年。自助法：重新审视刀切法。《统计年刊》7:1–26。56. Español, P., and P. Warren, 1995年。耗散粒子动力学的统计力学。《欧洲物理快报》30:191–196。57. Lei, H., B. Caswell, and G. E. Karniadakis, 2010年。从微观模拟直接构建介观模型。《物理评论*E*辑》81:026704。58. MacDonald, I. C., D. M. Ragan, E. E. Schmidt, and A. C. Groom, 1987年。通过活体显微镜检查分析大鼠脾脏中红细胞经内皮细胞间隙进入静脉窦的动力学。《微血管研究》33:118–134。59. Chai, Z., A. V. Tzingounis, and G. Lykotrafitis, 2022年。周期性轴突膜骨架形成钠纳米域，但不影响动作电位。《生物物理学杂志》121:3334–3344。