

マイクロチャンネル法による赤血球変形能の評価 (膠原病患者に対する形状回復時定数の測定)

田地川勉*, 山下雄士**, 池本敏行***, 武内徹****

*関西大学 システム理工学部 [〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35]

**関西大学大学院 理工学研究科 システム理工学専攻

***大阪医科大学附属病院 中央検査部

****大阪医科大学 内科学 (I) 教室

1. 緒言

赤血球の変形能が低下すると毛細血管の血流が阻害され各種疾患の原因となるため, その変形能の評価は重要である. 我々は, 個々の赤血球の変形能を定量評価するため, 毛細血管サイズのマイクロチャンネル (MC) を通過した赤血球が形状回復する過程を粘弾性モデルでモデル化し, 形状回復に関する時定数の測定を行ってきた.

末梢循環障害が起きる疾患として膠原病がある. この疾患は, 全身の複数の臓器に炎症が起き, 臓器に機能障害が起きる一連の疾患群の総称である. これまで膠原病による末梢循環障害に対して, 血球側の影響を調べられた例が少ないことから, 本研究では膠原病患者に対して形状回復時定数を測定し, その関連性を調べた.

2. 実験方法

本研究では, 一辺 $5 \mu\text{m}$ の正方断面, 長さ $100 \mu\text{m}$ の MC を 200 本有する PDMS 製チップを使用した. 赤血球サンプルを自重によって流し MC を通過させ, 通過直後の形状回復の様子を, 高速度カメラ (400 fps, $2040 \times 750 \text{ pixel}$) と 50 倍対物レンズ ($\text{N.A.} = 0.55$) を取り付けた反射型倒立顕微鏡で撮影した.

血液サンプルは, 健常者 6 名, 膠原病患者 73 名から全血試験用真空採血管を使って採血した. 採血直後に遠心分離により赤血球のみを取り出し, これを PBS で 3 回洗浄後, PBS で $\text{Hct} = 1\%$ に希釈して使用した. また各サンプルに対し, 血球計数検査 (WBS, RBC, PLT, CPR 等) を行った. なお, 本研究は大阪医科大学倫理委員会の承認の下, 行った.

図 1 に, MC 通過後の赤血球形状回復過程の一例を示す. この様な画像から流路幅方向への赤血球の変形を測定し, 赤血球直径で除して圧縮ひずみ ε_y を求め, その緩和曲線が指数減衰挙動を示すことから, 各血球の圧縮ひずみの時間変動波形から形状回復時定数を求めた. なお, これまでの研究で, 各患者の時定数は対数正規分布になることが分かっていることから, その幾何平均値を各患者の形状回復時定数の代表値とし, また合わせて標準偏差相当値も求めた.

3. 結果と考察

結果の一例として, 各血球サンプルの形状回復時定数の幾何平均値と RBC 値との関係を図 2 に示す. グラフ中では, 健常者を control ●, 膠原病患者を△とプロットしている. この結果から, 膠原病患者群が健常者に比べ形状回復時定数が長くなる傾向にあった.

基本的な粘弾力学モデルである Kelvin モデルでは, 弾性が支配的になると時定数が短く, 粘性が支配的になると時定数が長くなる. 我々のこれまでの研究では, 糖尿病患者では形状回復時定数が短くなっていったことから, 糖尿病では赤血球膜が糖化することで膜硬化し時定数が短縮したと考えられてきた. それらの結果を考慮すると, 膠原病患者では, ①赤血球膜が弾性的性質を失った, もしくは②内包ヘモグロビン溶液が増粘の可能性が考えられる. なお, 膠原病患者群には, 様々な治療の程度の患者が含まれており, その関係性を現在解析中である.

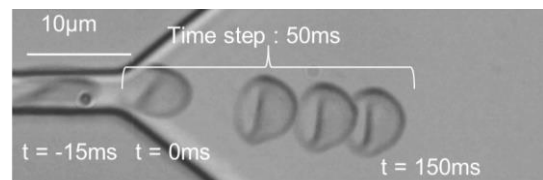


Fig. 1 Shape recovering process of an erythrocyte getting out of a micro-channel.

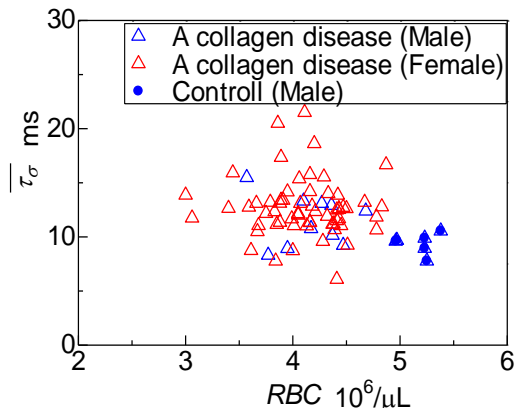


Fig. 2 Time constant distributions.

謝 辞

本研究の一部は, 科研費 (基盤研究(C), 26350521) によって行われた. ここに付記し謝意を表す.