

せん断応力が血液凝固因子の反応速度に及ぼす影響

○丸山 修*, 川上滉貴**, 迫田大輔*, 小阪 亮*, 西田正浩*, 山根隆志***

*産業技術総合研究所[〒305-8564 茨城県つくば市並木 1-2-1],

**東京理科大学大学院理工学研究科[〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641],

***神戸大学大学院工学研究科[〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1]

1. 緒言

重篤な心疾患患者救命の治療法の一つとして、遠心血液ポンプが用いられている。遠心血液ポンプは、血液を駆出するためのインペラと呼ばれる回転子が高速で回転するため、遠心血液ポンプ内には高せん断応力が発生する。高せん断応力は、血球破壊が懸念されるが、一方で血栓形成の抑制に貢献することがわかっている。我々は、これまでにウシ血液およびブタ血液を試験血液として、せん断応力の増加に伴って血栓形成が抑制されることを定量的に明らかにしてきた。しかし、どの程度のせん断応力が、どのようなメカニズムで、またどの程度の血栓を抑制するかを定量的に明らかにできなかった。これは、血液凝固因子活性を計測するための試薬が臨床用の計測キットであり、動物血中の血液凝固因子と十分に反応しないことに基づくものと考えられた。そこで本研究では、臨床用キットで血液凝固因子の活性を正確に測定できるよう、ヒト血液を試験血液として使用した。また二重円筒式のレオメータを使用して血液に一定のせん断応力を負荷することで、どの血液凝固因子が血栓形成にどのように関与しているかを調べた。これにより、せん断応力に関与する血液凝固因子を特定し、せん断応力が、血液凝固反応速度をどの程度抑制するかを定量的に明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

本実験で使用したレオメータ（株式会社エルクエスト製レオロジニア A300）は、ステンレス製の内筒およびガラス製の外筒からなる二重円筒式で、外筒が回転するしくみである。クエン酸ナトリウム最終濃度 0.32%で抗凝固したヒト血液を試験血液とした。外筒の最高回転速に相当する $2,880\text{s}^{-1}$ のせん断速度で 3 時間回転させることで、この試験血液にせん断応力を負荷した。せん断負荷後の血液を遠心分離して血漿を取り出し、この血漿について、外因系凝固反応を反映するプロトロンビン時間 (PT)、および内因系凝固反応を反映する活性化部

分トロンボプラスチン時間 (APTT) を計測した。また、血液凝固第 XII、XI、X、IX、VIII、V および II 因子について、それぞれの血液凝固因子の欠乏に基づく PT および APTT の延長を計測した。

3. 実験結果および考察

$2,880\text{s}^{-1}$ で 3 時間のせん断負荷の前後で、PT は 9.3%、APTT は 12.1% 延長したことから、外因系および内因系凝固反応ともに、本せん断条件によって反応速度が約 10% 抑制されることが明らかとなった。一方、PT を反映する血液凝固第 VII 因子の欠乏による PT の延長、および APTT を反映する血液凝固第 XII、XI、IX、VIII 因子の欠乏による APTT の延長は見られなかった。従って、これらの血液凝固因子は、せん断応力に基づく血栓形成の抑制には関与していないか、あるいは極めて小さいと考えられた。一方、PT および APTT の共通経路を反映する血液凝固第 X、V、II 因子の中で、血液凝固第 V 因子の欠乏が、せん断負荷の前後で PT を 19.9%、同様に APTT を 17.4% 延長させた。これらの延長結果は、血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって、血液凝固反応抑制に大きく関与していることを意味し、結果として PT および APTT を上記の通り約 10% 延長させる要因となっていることがわかった。血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって具体的にどのように血液凝固反応を阻害しているかについては今後の課題となるが、現段階では、分子量 333kDa の糖タンパク質である血液凝固第 V 因子が、せん断応力によって構造変化を来し、他の血液凝固因子との結合ができず、血液凝固促進に必要な複合体を形成できなくなることで、血栓形成が抑制されるものと考えている。

4. 結論

$2,880\text{s}^{-1}$ のせん断速度をヒト血液に 3 時間負荷することで、外因系凝固反応および内因系凝固反応が約 10% 阻害された。そのメカニズムとして、外因系および内因系の共通経路を反映する血液凝固第 V 因子の活性が抑制されることが原因であることがわかった。