

赤血球酵素処理が赤血球集合能に与える影響

岩上祐樹, 須田巧, 中村真彦, 榎靖幸, 土橋敏明, 外山吉治

群馬大学大学院 理工学府 理工学専攻 [〒376-8515 群馬県桐生市天神町 1 丁目 5-1]

1. 緒言

赤血球はフィブリノゲンなどの高分子溶存下で連鎖とよばれる集合体を形成する。連鎖は血液のレオロジー的性質に大きな影響を与え、その異常亢進は時に致命的なものになる。ところが、連鎖の形成メカニズムについては現在、高分子が赤血球間を架橋する「架橋集合」と高分子が赤血球間から排除される「枯渇集合」の競合する二つの説がある。これまでにそれぞれの説を間接的に支持するいくつかの報告はあるが、両者の優位性について議論がなされている。赤血球の集合能は集合因子である高分子の種類やウシやウマなど赤血球の由来によって大きく異なる。また、本来集合能をもたないウシ赤血球もトリプシン処理を施すことにより、集合体を形成することが貝原によって報告されている (M. Kaibara, *Biorheology*, 1983)。本研究の目的は赤血球表面の物理化学的性質や赤血球と集合因子との相互作用を調べ、赤血球集合の形成メカニズムに関する知見を得ることである。今回の発表では、酵素処理による赤血球表面の電気的性質の測定と水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法を用いた赤血球とフィブリノゲンとの相互作用測定について報告する。

2. 実験

赤血球表面の電気的性質：

ウマおよびウシ血液を遠心し、血漿とバフィーコートを除いた後 PBS で赤血球の洗浄を 3 回行った。洗浄した赤血球を PBS で希釈し、目的の Ht の赤血球懸濁液を調製した。ノイラミニダーゼおよびトリプシンを目的の濃度に調製し、赤血球懸濁液と等量混合して 3h 反応させた。遠心処理により上澄みを取り除いた赤血球を PBS で洗浄し、スクロース緩衝液を用いて目的の Ht に調製した。25°C, 60V でゼータ電位の測定を行った。また、酵素処理により遊離されたシアル酸およびグルコースの定量を試みた。

赤血球表面-フィブリノゲン間の相互作用：

9 MHz 水晶振動子の金表面にフィブリノゲンを固定し、ウシおよびウマ赤血球を添加した。添加後の周波数変化から赤血球表面-フィブリノゲン間の相互作用の直接測定を試みた。

3. 結果

ゼータ電位測定：

ノイラミニダーゼ処理後のウマ赤血球表面のゼータ電位は、糖鎖末端のシアル酸が切除されることで未処理赤血球よりも約 20% 負電位が減少した。一方、トリプシン処理後の赤血球表面におけるゼータ電位は未処理赤血球よりも約 27% 負電位が増加した。このことはウマ血液については、トリプシン処理が赤血球間の斥力を減少させるわけではないことを示唆する。同様の測定をウシ赤血球にて行う予定である。

QCM による相互作用測定：

まず始めに、ポジティブコントロール実験として赤血球表面との強い相互作用が知られているコンカンバリン A との相互作用について測定を行った (下図)。赤血球添加により、著しい周波数の低下が観測され赤血球表面との相互作用が確認された。同様の測定を酵素処理を施した赤血球とフィブリノゲンを用いて行う予定である。

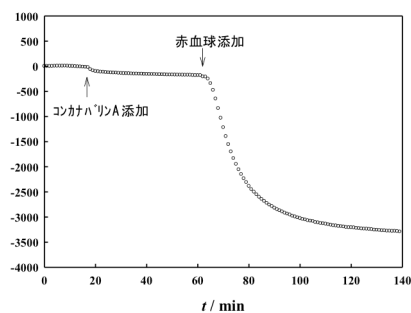


図 ConA-赤血球間の QCM 測定