

循環モデルを用いた全血の凝固・線溶系における静磁場効果

Effects of Magnetic Fields on Coagulation and Fibrinolysis in a Blood Circulation Model

竹内道広・岩坂正和・上野照剛

東京大学大学院医学系研究科医用生体工学講座, 東京都文京区本郷 7-3-1 (☎113-0033)

M. Takeuchi, M. Iwasaka, and S. Ueno

Department of Biomedical Engineering, Graduate School of Medicine, University of Tokyo,
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033

The present study focuses on the effects of magnetic fields on the formation of thrombus under a flow condition. We carried out a blood flow experiment, using a fluidic circuit with plastic tubing passed through the bore of a superconducting magnet. The blood flow in the fluidic circuit passed through a filter-tube in the magnetic fields. The blood coagulation started by the injection of thrombin into the blood suspension. We measured the weight of dried thrombus taken out from the filter-tube. The weight of the thrombus formed in the blood with 5.0 mg/ml of fibrinogen decreased under a magnetic field of 14 T. For the second time, we measured the viscosity of the samples outside of magnetic fields. The change in the viscosity of the blood suspension and fibrinogen solution that passed through magnetic fields of up to 14 T increased and decreased, respectively.

Key words: fibrin, whole blood flow system, static magnetic field, blood coagulation, blood viscosity

1. はじめに

静磁場の生体作用については、10 T オーダの強磁場の実験空間が得られるようになった今日、これまでほとんど考慮されていなかった非磁性物質への磁場効果が観測されるようになり、しだいに明らかにされようとしている。フィブリンは血液凝固の最終段階で重合してポリマとなるが、この過程において磁場に曝すことにより、磁場方向に並行にそろったファイバ状のフィブリンが得られる¹⁾。

我々は、先に配向したフィブリンの溶解について²⁾さらに勾配磁場下における血栓線維素溶解過程について報告した³⁾。凝固したフィブリンはプラスミンにより溶解され、血管内では凝固・線溶系が微妙なバランスでほぼ同時に行われている。したがって、生体を考慮する上で全血を用いた検討が重要である。

血管内では血液凝固と血栓線維素溶解はバランスのとれた天秤のように、凝固と線維素溶解がそれぞれ偏りすぎないように調節されているものと考えられている。

本研究では、この同時進行形の系に及ぼす磁場の影響のメカニズムを明らかにすることを目的とし、生体内の循環系に近い流速のもとで全血を用いた循環モデル系を作製し、流体中の血栓量と粘性について、磁場影響の実験を行った。

2. 実験方法

2.1 循環モデルを用いた全血の凝固・線溶系における静磁場効果

実験装置を Fig. 1 に示す。磁場曝露装置として、最大 14 T までの静磁場を発生する超伝導マグネットを用いた。

循環モデルとして体外循環用の血液回路(材質: 塩化ビニール)を改良し、血栓チューブ部(フィルタ部材質: ポリエステル, オープニングエリア: 210 μ m, 形状: 袋状)の inlet を 14 T に outlet を 7.8 T の磁場中に設置した。

本研究では、全血凝固におけるフィブリンに対する磁場効果を調べるために牛胎児の血液から精製されたフィブリノーゲンを牛血に混入させた実験も行った。フィブリノーゲンは、あらかじめ、TBS buffer (pH 7.4, 0.1 M NaCl, 0.05 M Tris) に溶解させ、各実験においてその都度、適量のフィブリノーゲン溶液を牛血に混ぜた。フィブリノーゲン溶液を添加する前の牛血中のフィブリノーゲン濃度は 4.3 mg/ml であった。牛血の抗凝固処理は、ヘパリン (10,000 units/l) を使用した。

各実験における試薬の調整は、牛血とフィブリノーゲン溶液 (5.35 mg/ml) 1:2 の混合溶液 100 ml にトロンビン (100 units/ml) 1.0 ml と硫酸プロタミン (8 mg/ml) 1.0 ml を混合した。また、牛血とフィブリノーゲン溶液 (5.35 mg/ml) 4:1 の混合溶液 100 ml にトロンビン (50 units/ml) 1.0 ml と硫酸プロタミン (8 mg/ml) 1.0 ml を混合した。さらに、フィブリノーゲン溶液 (5.0 mg/ml) 100 ml に、トロンビン (100 units/ml) 1.0 ml と硫酸プロタミン (8 mg/ml) 1.0 ml を混合した。

循環は磁場外のポンプで、循環量 100 ml/min で 14 分間循環させた。循環 5 分後に硫酸プロタミンを注入し、7 分後にトロンビンを注入し、14 分後に循環を停止させ血栓チューブの血栓を取り出した。取り出した血栓をインキュベート (37°C) し、24 時間後にインキュベータから取り出し、定量測定した。

対照実験の場合は、磁場外に血栓チューブ部を設置し同様の実験を行った。

2.2 循環モデルを用いた全血の凝固時の粘性における静磁場効果

2.1 の実験と同様に、循環モデルとして体外循環用の血液回路を改良し血栓チューブ部の inlet を 14 T に outlet を 7.8 T の磁場中に設置した。

各実験における試薬の調整は、牛血とフィブリノーゲン溶液

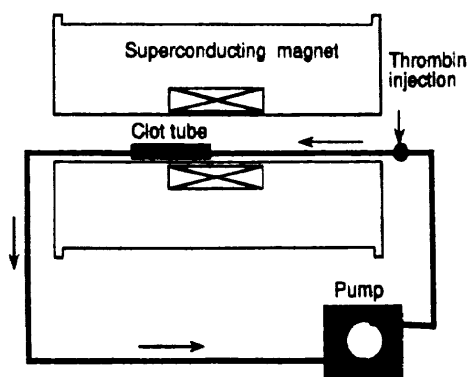


Fig. 1 Experimental set-up for coagulation fibrinolysis in a blood circulation system.

(5.35 mg/ml) 1:2 の混合溶液に、トロンビン (10 units/ml) 1.0 ml と硫酸プロタミン (8 mg/ml) 1.0 ml を混合した。次にフィブリノーゲン溶液 (5.0 mg/ml) 100 ml にトロンビン (10 units/ml) 1.0 ml を混合した。

循環は磁場外のポンプで、循環量 100 ml/min で 14 分間循環させた。循環 5 分後に硫酸プロタミンを注入し、7 分後にトロンビンを注入し、14 分後に循環を停止させた。

粘性は、磁場外の循環血を振動式粘度計 (YAMAICHI, model VM-1A-L) で測定した。対照実験の場合は、磁場外に血栓チューブ部を設置し同様の実験を行った。

3. 実験結果および考察

3.1 循環モデルを用いた血栓重量に対する静磁場効果

循環モデル系の全血の凝固過程を 14 T に曝した場合、血栓チューブ部の凝固量を磁場なしと比較すると、牛血とフィブリノーゲン溶液の混合比が 1:2 で、フィブリノーゲン溶液の最終濃度が 5.0 mg/ml の結果を Fig. 2 に示す。磁場中と磁場外での血栓量の比較では、磁場中が約 40% の減少を示した。この事実は反磁性物質であるフィブリンなどが、その溶解反応時において磁場がフィルタ通過時の方向性に影響を与えた結果であると考えられる。循環モデル系における血栓形成の磁場効果として、おそらく $B \times dB/dZ \sim 1000 \text{ T}^2/\text{m}$ の磁気力が反磁性血流へ影響し、血栓を除去している可能性が考えられる。

次に牛血とフィブリノーゲン溶液の混合比が 4:1、フィブリノーゲン溶液の最終濃度が 4.5 mg/ml の結果を Fig. 3 に示す。磁場中の血栓量は若干減少を示したが、有意差は認めなかった。さらに牛血 100% で、フィブリノーゲンの最終濃度が 4.3 mg/ml の結果を Fig. 4 に示す。Fig. 3 と同様に、磁場中の血栓量は若干減少を示したが、有意差は認めなかった。一方、フィブリノーゲン溶液のみによる循環実験で、フィブリノーゲン溶液の最終濃度が 5.0 mg/ml の実験結果を Fig. 5 に示す。磁場中、磁場外での凝固量の有意差は認められなかった。

以上の実験結果は、循環モデル系における血栓形成において、フィブリン (フィブリノーゲン) 濃度が重要な要因であることを示している。先に述べた磁気力によるフィブリン除去と一つの機構であると思われるが、フィブリノーゲン水溶液の凝固過程において、残存フィブリン・ゲル重量に顕著な磁場効果

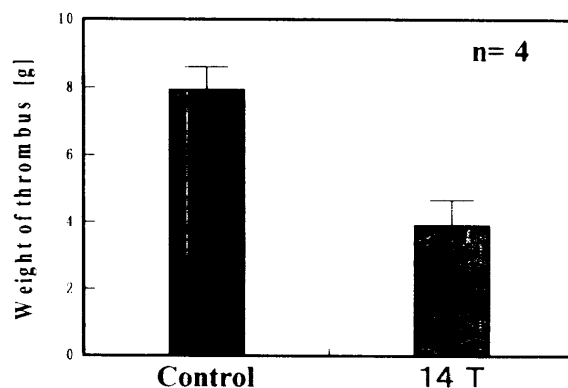


Fig. 2 Effects of a 14 T magnetic field on a blood coagulation process. The concentration of fibrinogen, protamin, and thrombin were 5.0 mg/ml, 0.08 mg/ml, and 1.0 NIH units/ml, respectively.

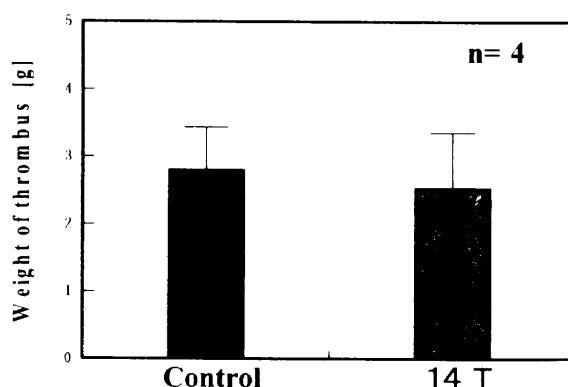


Fig. 3 Effects of a 14 T magnetic field on a blood coagulation process. The concentrations of fibrinogen, protamin, and thrombin were 4.5 mg/ml, 0.08 mg/ml, and 0.5 NIH units/ml, respectively.

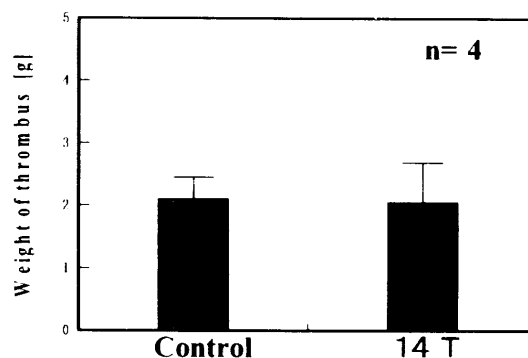


Fig. 4 Effects of a 14 T magnetic field on a blood coagulation process. The concentrations of fibrinogen, protamin, and thrombin were 4.3 mg/ml, 0.2 mg/ml, and 0.1 NIH units/ml, respectively.

が見られなかったことより、フィブリンに対する磁場効果以外に他の血液凝固・溶解系因子も考慮していく必要があるといえる。Fig. 6 に血液凝固のカスケード図を示す。さまざまな因子の存在が血栓形成を調節している。この図には記載されていないが、凝固時の重要な要因として血小板や赤血球の凝集がある。特に赤血球については、赤血球の勾配磁場による牽引⁴⁾と赤血球の磁場配向⁵⁾、そして赤血球の凝集⁶⁾の報告がある。血小板の凝集状態変化に対する磁場の影響、あるいはプラスミン

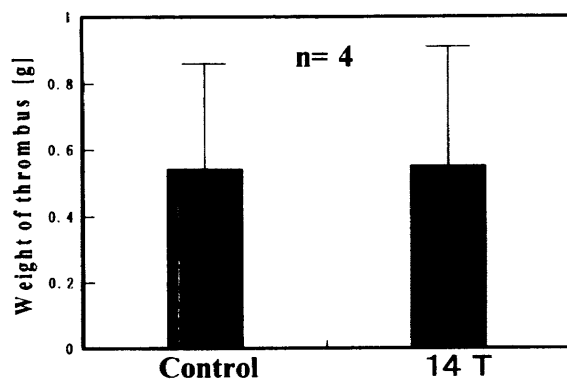


Fig. 5 Effects of a 14 T magnetic field on a blood coagulation process. The concentrations of fibrinogen and thrombin were 5.0 mg/ml and 0.1 NIH units/ml, respectively.

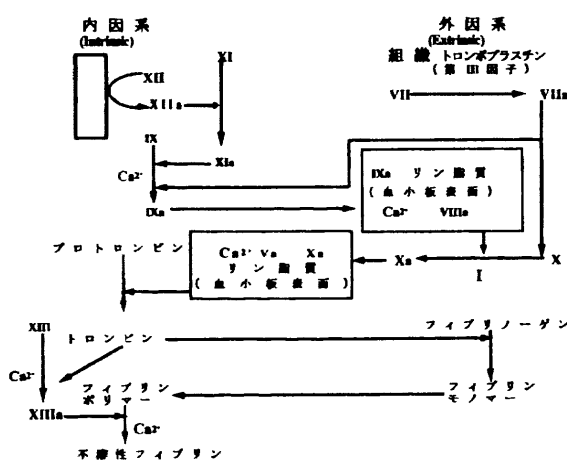


Fig. 6 Cascade of coagulation.

によるフィブリン分解に対する磁場の作用について、今後検討する必要がある。

3.2 循環モデルを用いた全血の凝固時の粘性に対する静磁場効果

牛血中のフィブリノーゲンの最終濃度が 4.3 mg/ml の牛血循環実験の結果を Fig. 7 に示す。磁場外に比べ 14 T 磁場中

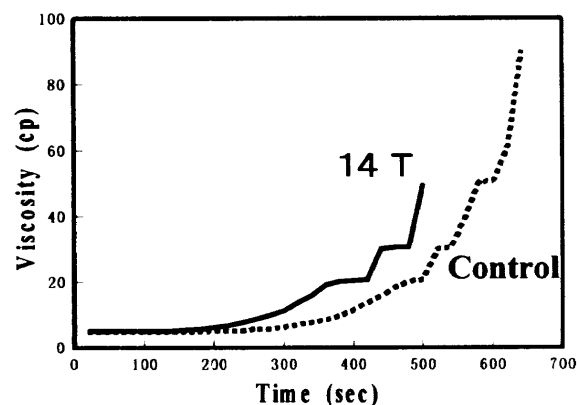


Fig. 7 Effects of a 14 T magnetic field on a blood viscosity parameter. The concentrations of fibrinogen, protamin, and thrombin were 4.3 mg/ml, 0.13 mg/ml, and 0.07 NIH units/ml, respectively.

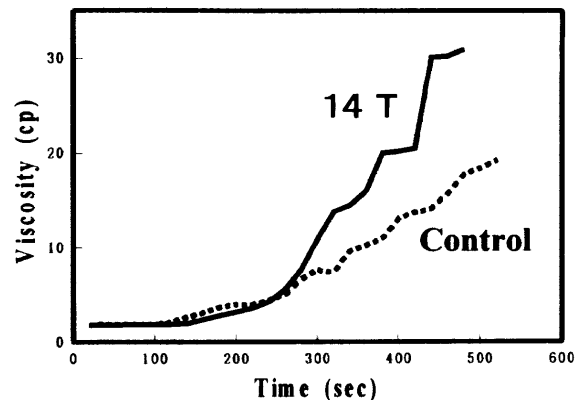


Fig. 8 Effects of a 14 T magnetic field on a blood viscosity parameter. The concentrations of fibrinogen, protamin, and thrombin were 5.0 mg/ml, 0.13 mg/ml, and 0.07 NIH units/ml, respectively.

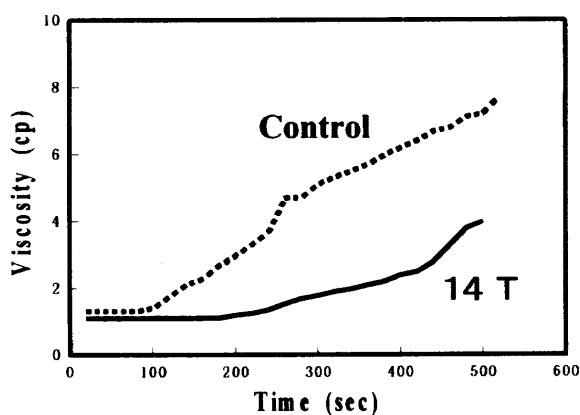


Fig. 9 Effects of a 14 T magnetic field on a blood viscosity parameter. The concentrations of fibrinogen and thrombin were 5.0 mg/ml and 0.07 NIH units/ml, respectively.

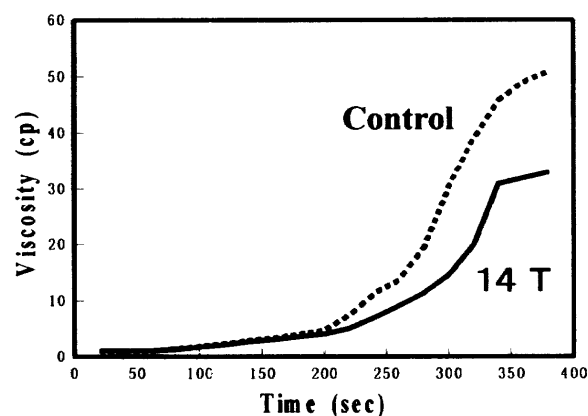


Fig. 10 Effects of a 14 T magnetic field on a blood viscosity parameter. The concentrations of fibrinogen and thrombin were 5.0 mg/ml and 1.8 NIH units/ml, respectively.

において凝固時間の増大がみられ、また、磁場外で循環中の溶液の粘性増大が認められた。牛血とフィブリノーゲン溶液の混合比が 1:2 で、フィブリノーゲン溶液の最終濃度が 5.0 mg/ml の条件の実験結果を Fig. 8 に示す。フィブリノーゲン溶液の濃度が変化しても同じように、磁場外に比べ磁場中において

凝固時間の増大がみられ、また、粘性の増大が認められた。

次に、フィブリノーゲン溶液単独でフィブリノーゲン溶液の最終濃度が 5.0 mg/ml、トロンビンの最終濃度が 0.07 NIH units/ml の条件の実験結果を Fig. 9 に示す。磁場外に比べ 14 T 磁場中において、顕著な凝固時間の減少が見られた。また、粘性の減少が認められた。そして、フィブリノーゲン溶液単独で、フィブリノーゲンの最終濃度が 5.0 mg/ml、トロンビンの最終濃度が 1.8 NIH units/ml の実験結果を Fig. 10 に示す。同じように磁場中が磁場外に比べ、凝固時間の減少が見られ、粘性の減少が認められた。しかし、Fig. 9 の結果のような顕著な変化は見られなかった。

今後、血液凝固・血栓線維素溶解のバランスを調整するさまざまな因子に対する磁場作用に着眼をおき、それぞれの因子の

因果関係を解明していく必要があるといえる。

文 献

- 1) J. Torbet, M. Freyssinet, and G. Hudry-Cleageon: *Nature*, **289**, 91 (1981).
- 2) S. Ueno, M. Iwasaka, and H. Tsuda: *IEEE Trans. Magn.*, **29**, 3352 (1993).
- 3) M. Iwasaka, S. Ueno, and H. Tsuda: *J. Appl. Phys.*, **75**, 7162 (1994).
- 4) A. Seiyama, N. Maeda, and T. Shiga: *Eur. Biophys. J.*, **25**, 1 (1996).
- 5) T. Higashi, A. Yamagishi, T. Takeuchi, and M. Date: *Bioelectrochem. Bioenerget.*, **36**, 101 (1995).
- 6) M. Iino: *Bioelectromagnetics*, **18**, 215 (1997).

1997 年 10 月 27 日受理, 1998 年 2 月 2 日採録