

課題番号 63

血栓形成の予兆検出のための血球損傷度評価に関する研究

〔1〕組織

代表者：矢野 哲也

(弘前大学大学院理工学研究科)

対応者：白石 泰之

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：工藤 光騎

(弘前大学大学院理工学研究科)

研究費：物件費10万円，旅費0千円

〔2〕研究経過

補助人工心臓の開発において血液適合性の向上は極めて重要である。特に、溶血量の低減や血栓形成リスクの低減に向けた取り組みがなされてきた。その結果、近年臨床で使用されている体内埋込型補助人工心臓は、その使用により生じる溶血量はほとんど問題にならないレベルとなっているが、機種によってはvWFの低分子量化が生じ、出血傾向となる場合があることが報告されている(Bartoli, et al., 2024, J Thorac Cardiovasc Surg.)。つまり、せん断負荷によるvWFの切断、断片化は、血球崩壊を伴う溶血よりも、より低強度の負荷によって生じると考えられる。そこで、溶血量のモニタリング指標である血漿遊離ヘモグロビン濃度の代わりに、崩壊を伴わない血球の膜性状(力学特性、チャネル機能)の変化に着目することを考えた。このような経緯から、せん断負荷によるvWFの低分子量化に関する深い知見を有しておられる白石泰之先生に相談し、本共同研究事業に申請し、研究を開始した。本年度は、メールでの打合せを行いながら研究を推進した。

本研究では、我々が開発している、急激な浸透圧ストレスに対する赤血球の形態変化の応答挙動を光学計測により評価する方法(急速低張液暴露法)を用いた(図1)。細胞膜内外の浸透圧差に対する抵抗性は細胞膜の透過性・物質輸送能力の調節によってもたらされる機能であるので、急速低張液暴露後の血球の膨潤、崩壊過程の速度の変化から物理的・化学的・生物学的ストレスによる血球膜機能の変調を検出できると考えられる。また、エクタサイトメトリと呼ばれる手法を用い、せん断流れ場

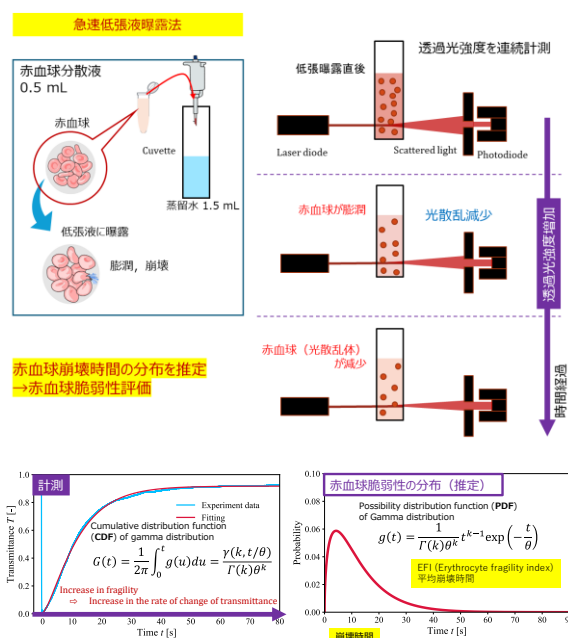


図1 急速低張液暴露法による赤血球脆弱性評価

中の赤血球群に光を入射し、回折光パターンから伸長度EIを算出し、赤血球変形能すなわち膜の力学特性について評価した。

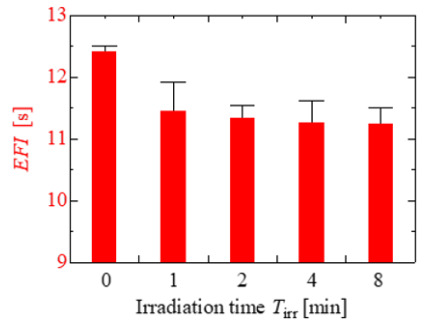
本研究の最終目標は、機械的循環補助における、炎症反応を起点として生じると考えられる急速な血栓形成の予兆検出であり、本年度は、炎症反応で生じる活性酸素による影響を調べるため、赤血球に酸化ストレスを与え、その際の赤血球膜性状の変化を上記の急速低張液暴露法とエクタサイトメトリを用いて調査した。ここでは、作動ガスにヘリウムガスを用いる大気圧低温プラズマを赤血球分散液界面に照射することで液中に活性酸素種を導入した。

〔3〕成果

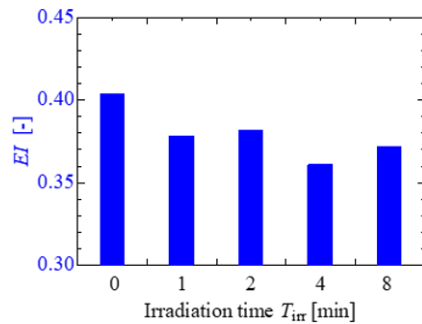
(3-1) 研究成果

本年度は、酸化ストレスによる赤血球膜の力学特性およびチャネル機能の変化を捉える手法として、急速低張液暴露法の有効性を確認した。以下にその詳細を記す。

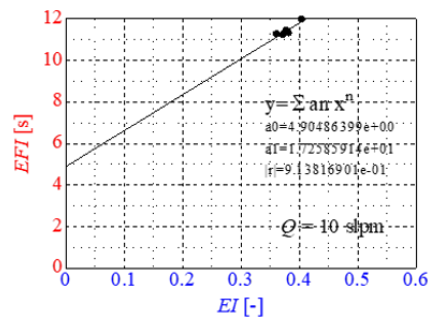
酸化ストレスを与えた赤血球を急速低張液暴露法で透過散乱光強度の時間変化を計測し、その時間変化をガンマ分布の累積分布関数としてフィッティングし、尺度パラメータ k と形状パラメータ θ を算出



(a) EFI



(b) EI



(c) EFI と EI の関係

図2 プラズマ照射時間による EFI, EI の変化 (ガス流量 10 slpm)

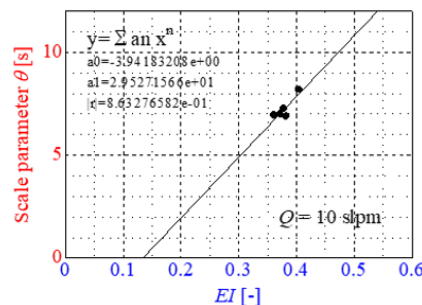


図3 θ と EI の関係 (ガス流量 10 slpm)

し、赤血球平均崩壊時間 $EFI (= k\theta)$ を求めた。また、エクササイトメトリで 30 Pa のせん断応力を同サンプルに負荷し、赤血球伸長度 EI を算出した。プラズマ照射時間による EFI, EI の変化を図 2 に示す。

EFI と EI の間には正の相関が確認された (図 2(c))。 k と EI の間に相関が認められたが、その変化率 dk/dEI のガス流量依存性は認められなかった。 θ と EI の間にも相関が認められ (図 3), ガス流量の増加によりこの変化率 $d\theta/dEI$ が増加することを確認した。本研究において、ガス流量の増加により、液中に導入される活性酸素種の一つである過酸化水素の量が増加することを確認した。また、他の研究グループから、活性酸素種がタンパク質のシステイン残基を酸化し、タンパク質の構造変化を引き起こすこと、システイン残基の構造変化が PIEZO1 チャンネルの機能に影響を与えることが報告されている (Novosolova, N., et al., 2025, Redox Biol.)。これらのことから、ガス流量に依存せず、 EI (赤血球膜の力学特性を直接的に反映する指標) と相関が得られたパラメータ k は、膜の力学特性を反映する指標となりうると考えられる。また、ガス流量の増加によるチャンネル機能の変化をパラメータ θ の変化として検出可能であることが示された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究を遂行した結果、化学系、生物学系の研究者との交流が促進し、今後、基礎研究の発展、新研究領域の開拓・成果の他分野への応用が期待される。

[4] 成果資料

(1) Tetsuya Yano, Koki Kudo, Yasuyuki Shiraishi, Changes Induced by Atmospheric Plasma Irradiation in the Response of Red Blood Cells to Hypotonic Stress, 22nd International Conference on Flow Dynamics 2025, 2025 年 11 月 10 日 (招待講演)。

(2) 工藤光騎, 矢野哲也, エクササイトメトリを用いた酸化ストレスによる赤血球変形能の変化に関する研究, 日本機械学会 第 36 回バイオフィロンティア講演会, 2025 年 12 月 7 日。

(3) 矢野哲也, 大気圧プラズマ照射による赤血球膜性状の変化, 日本機械学会機能性流体工学研究会第 13 回研究会, 2025 年 12 月 10 日。