

新規せん断負荷装置を使用したせん断流れ場における高粘度ウシ血液の溶血特性 Hemolytic Characteristics of Bovine Blood under Shear Filed using a New Shear Stressor

- 正 丸山 修 (産総研), 非 玉置将也 (茨大工) , 正 西田正浩 (産総研),
○ 正 山根隆志 (産総研), 正 松田健一 (茨大工), 非 足立吉敷 (茨大農),
○ 正 増澤 徹 (茨大工)

Abstract: It is important to clarify the relationship between the hemolysis and degree of surface roughness under blood shear fields. From our previous study using a rotational shear stressor, we have obtained that the increasing hemolysis was related to the increasing shear stress due to the surface roughness. However we have not yet measured the increasing shear stress amount with the stressor due to a problem of its torque sensor sensitivity. In this study, we used a new type rheometer with a highly sensitive torque sensor, and 3-time higher viscous test blood, simulating the increasing shear stress generation related to the roughness. As a result, though torque value between native and viscous test blood was the almost same, higher torque was obtained for the viscous test blood, Therefore, we consider that this rheometer can measure the torque value due to the surface roughness, which cause hemolysis under shear fields.

Key Words: Hemolysis, Surface roughness, Shear stress, Bovine blood, Rheometer

1. 緒言

人工心臓をはじめとする遠心血液ポンプの開発において、血球破壊(溶血)特性を調べることは重要である。溶血を引き起こす原因として、高せん断応力、発熱、摺動などが挙げられるが、血液接触面の表面粗さも溶血の要因であることがわかっている。我々は、コーン・シリンダー・コーン型の回転型せん断負荷装置を設計・製作し、層流せん断流れ場において、表面粗さの大きさおよび面積が溶血に及ぼす影響について調べてきた。溶血を引き起こす表面粗さの大きさの閾値や、粗さ面積が溶血に与える影響を解明できれば、遠心血液ポンプを開発する上で、血液接触面加工の有益な目標値を示すことができる。これまでの研究により、層流せん断流れ場においては、表面粗さの大きさが、 $Ra0.6\mu m$ 以上で溶血量が急増し、 $Ra0.1\mu m$ における溶血量と比較すると、約2倍に上昇することがわかっている。この溶血量の増加は、流れの可視化解析結果¹⁾や溶血試験結果²⁾から、表面粗さに基づくせん断応力上昇の可能性が示唆された。回転型せん断負荷装置には、トルクセンサーが装備され、せん断応力が上昇すれば、トルク値上昇が検出できる機能を備えている。しかし、これまで表面粗さ増加に基づくせん断応力の増加は実測できていない。また、数値流体力学解析においても、せん断応力上昇は表面粗さ付近に限定され、さらに $Ra0.1\mu m$ から0.6以上に増加したときの溶血量の2倍増加を引き起こすせん断応力増加は生じてないことがわかっている³⁾。このことから、表面粗さが、どのようなメカニズムで溶血を発生させるのか、またせん断応力増加がどの程度関与するのかを再検証する必要がある。本研究では、せん断流れ場における表面粗さが溶血を引き

起こすメカニズムを明らかにするとともに、表面粗さの大きさ、せん断応力、溶血量の定量的相関を明らかにすることを目標としている。そのためには、まず表面粗さに基づく微小なせん断応力増加でも検出できるせん断負荷装置が必要となる。そこで、粘弾性測定において微小せん断応力を検出できる新規のせん断負荷装置を使用し、せん断流れ場におけるせん断応力の大きさおよび溶血量を定量評価することが重要である。

2. 目的

本報告では、一定のせん断速度において、高粘度ウシ血液および増粘していない血液を使用して、新規せん断負荷装置によるせん断応力と溶血量の相関を定量評価する。

3. 実験方法

3-1 高粘度ウシ血液の調製

デキストラン(分子量425,000~575,000)と生理食塩水の重量比が1:2になるように混合することにより、デキストラン水溶液を調製した。ウシ頸静脈より採血した血液をテルモ CPDA液で抗凝固し、ヘマトクリット値が30%となるように、デキストラン水溶液および自己血漿を添加して、高粘度ウシ血液を調製した。また、デキストランを添加しない血液もHt値が30%となるように自己血漿で希釈し、調製した。それぞれの血液の粘度を新規せん断負荷装置で測定した。

3-2 新規せん断負荷装置による溶血試験

レオメーター(楡エルクエスト, Rheologia, A300)のせん断負荷部の外観・断面図をFig.1に示した。内筒と外筒の二重

円筒からなり、シリンダー下部が円錐型、中央部が円筒部のコーン・シリンダー型となっている。内筒を固定し、外筒を回転させることで、試料にせん断負荷を与える構造である。内筒と外筒の隙間に高粘度ウシ血液またはデキストラン無添加血液を充填し、せん断速度 $2,850\text{s}^{-1}$ (600rpm), 37°C , 32分の条件でせん断負荷をかけ、実験後の溶血量を分光学的に測定した。また、せん断負荷時に生じたトルクを、せん断応力の指標として計測した。



Fig.1 Observation and Cross-section of the shearing portion of a new rheometer

4. 実験結果

4-1 試験血液の粘度

デキストランで増粘した血液の粘度は $10.5\text{mPa}\cdot\text{s}$, 増粘していない血液は $3.0\text{mPa}\cdot\text{s}$ ($2,850\text{s}^{-1}$, 37°C) であった。

4-2 新規せん断負荷装置による溶血試験

高粘度ウシ血液を使用した実験では、せん断負荷前の溶血量が 7.7mg/dL , せん断負荷後では 25.8mg/dL であり、有意に溶血量が増加した (Fig. 2)。無添加ウシ血液でも、せん断負荷前の

溶血量が 3.8mg/dL , せん断負荷後では 27.5mg/dL であり、溶血量の増加傾向が確認された (Fig. 3)。しかしながら、せん断負荷後の溶血量は、デキストランの添加の有無に関係なく、すなわちせん断応力の大きさに関係なくほぼ同様であった (Fig. 4)。一方、高粘度ウシ血液のせん断負荷中の内筒にかかるトルク値は $3.71\text{mN}\cdot\text{m}$, デキストラン無添加血液では $0.96\text{mN}\cdot\text{m}$ であり、それぞれの試験血液の粘度比と一致する結果を示した (Fig. 5)。

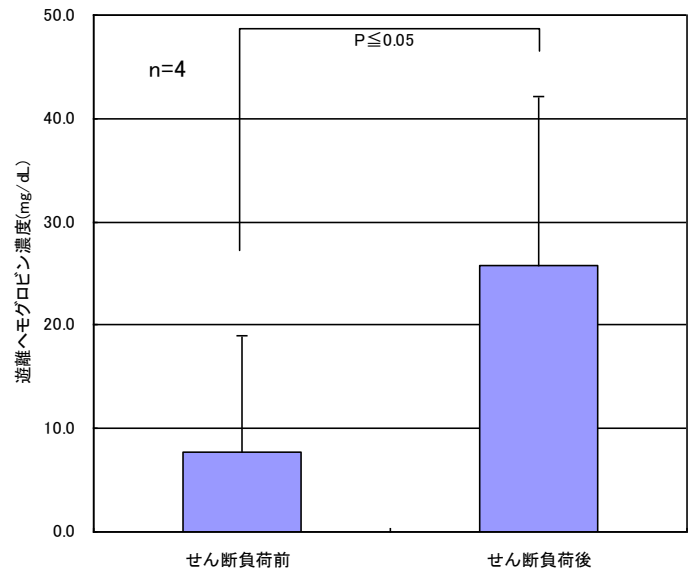


Fig.2 Free hemoglobin concentration before and after shearing with viscous bovine blood. Each test was repeated 4 times.

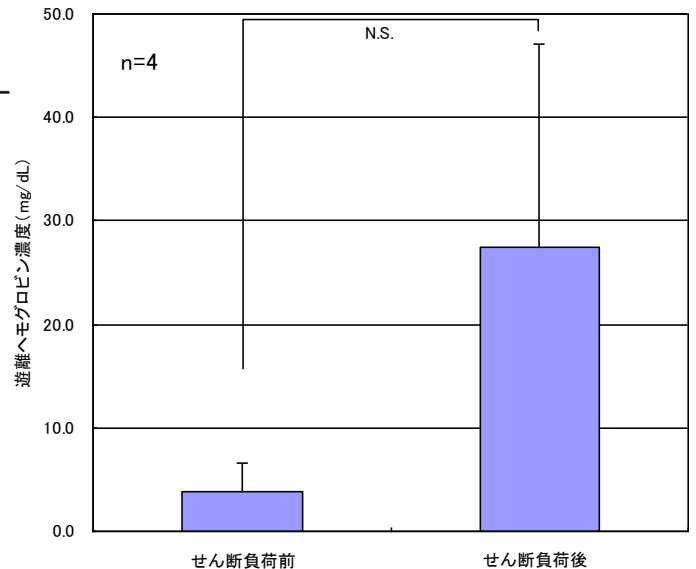


Fig.3 Free hemoglobin concentration before and after shearing with native bovine blood. Each test was repeated 4 times.

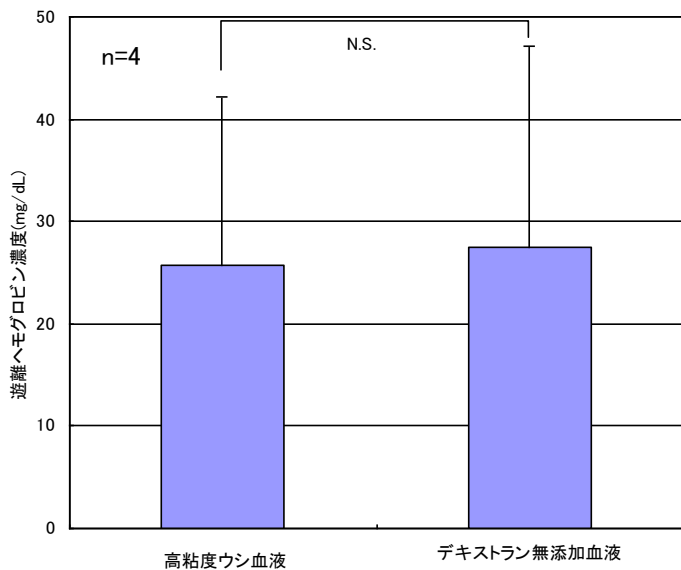


Fig.4 Free hemoglobin concentration after shearing with viscous/native bovine blood. Each test was repeated 4 times.

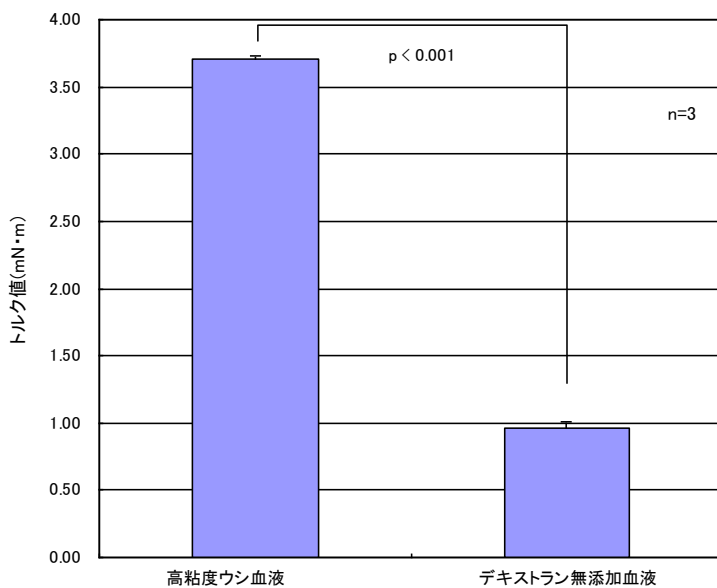


Fig.5 Torque values during shearing with viscous/native bovine blood. Each test was repeated 3 times.

5. 考察

せん断流れ場が層流であると仮定して、デキストランを添加した高粘度ウシ血液では、 $0.0105\text{Pa}\cdot\text{s}\times 2,850\text{s}^{-1}=29.9\text{Pa}$ で、デキストラン無添加血液では、 $0.003\text{Pa}\cdot\text{s}\times 2,850\text{s}^{-1}=8.6\text{Pa}$ でせん断応力を32分間負荷したが、デキストランの添加および無添加に関係なく、Fig. 4の結果よりせん断負荷後の溶血量は前者が25.8mg/dL、後者が27.5dLでほぼ同等であった。粘性の増加に対応してせん断応力は増加するので、溶血量はせん断応力増加分だけ上昇するはずである。Fig.5の結果から、デキストランの添加により、せん断応力増加が確認されている。しかし、結果として両試験血液の溶血量が同等であったことから、試験血液の粘度を増加させることでせん断応力を増加させても、赤血球を変形させる力が増加するだけで、せん断速度が同じであるので変形量には影響を与えないためであると考えている (Fig. 6)。

本研究において、微小せん断応力増加検出のため、およびせん断流れ場で表面粗さに基づく高せん断応力発生をシミュレートするために血液にデキストランを添加した。しかしながら、本せん断負荷装置では、せん断速度が同じである場合、試験血液粘度に基づくせん断応力変化では溶血量に違いが見られなかったことから、今後血液接触部に表面粗さを設けた実験を実施する場合、血液にかかるせん断応力の絶対値だけでなく、表面粗さ近傍の血流挙動を詳細に調べる必要がある。

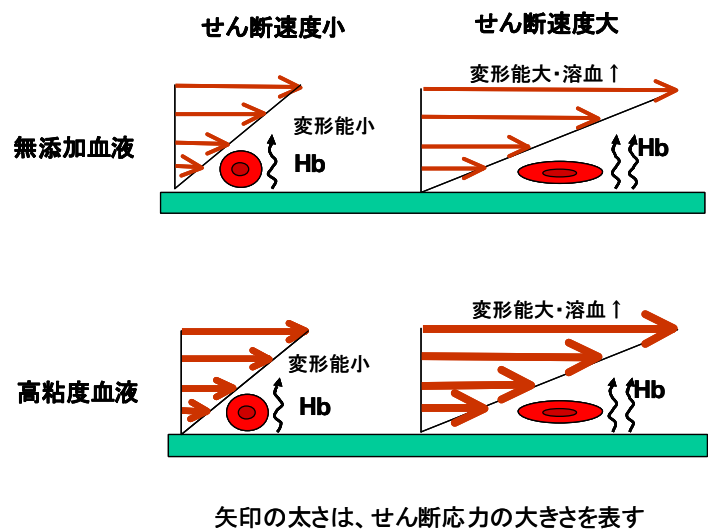


Fig.6 Discussion for the deformation of a red blood cell under the different shear stress but under same shear rate.

6. 結論

粘度の異なるウシ血液に同一のせん断速度でせん断負荷をかけた結果、溶血量はほぼ同じ値を示し、せん断流れ場においては、せん断速度が重要であることがわかった。また、このことから表面粗さに基づく溶血のメカニズムを明らかにするためには、せん断流れ場のせん断応力だけでなく、表面粗さ近傍の血流解析が重要であることが示唆された。

参考文献

1. Maruyama O, et al, *J Artif Organs*, 8; 228-236 (2005)
2. Maruyama O, et al, *Artif Organs*, 30; 365-370 (2006)
3. 西田ら, 茨城講演会論文集, 269-270 (2009)