

## 新しいex vivo微小血管モデルにおける白血球活性化の指標の検討

利用者：<sup>a</sup>獨協医科大学日光医療センター 心臓・血管外科，  
<sup>b</sup>獨協医科大学日光医療センター 心臓・血管・腎臓内科，<sup>c</sup>菊池マイクロテクノロジー研究所，  
<sup>d</sup>獨協医科大学 ハートセンター 心臓・血管外科 清水理葉<sup>a</sup>，安 隆則<sup>b</sup>，菊池祐二<sup>c</sup>，福田宏嗣<sup>d</sup>

研究支援者：産業技術総合研究所 山崎将嗣，赤松雅洋

## 【研究目的】

動脈硬化は慢性炎症が原因で、特に白血球は動脈硬化の様々な要因となっている。従来は白血球の活性化の指標としてMC-FAN(microchannel flow analyzer)を用いて白血球数の接着数をカウントしていたが、時間がかかるため臨床応用はできていない。また、マイクロ流路の加工精度が低く単純な毛細血管のモデルであった。今回は、心筋微細血管を模した構造の新たなシリコンマイクロ流路チップを作製し、より生体に近いモデルを構築することで白血球活性化の指標となりうるパラメーターを開発することを目的とした。

## 【成 果】

シリコンウエハ上に人の血管サイズを模した2種類の深さの流路をi線露光装置及びICPエッチング装置を用いて形成し、マイクロチャンネルアレイチップを作製した(図1)。今まで撮影された動画では不鮮明であった微小循環モデルでの血液流動中の白血球の形態や振る舞いが無染色で観察できるようになった(図2)。

## 実験①

好中球走化性因子であるFMLP(N-Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine)をヘパリン採血管とEDTA-2Na採血管+ヘパリンに注入し、全血を加えてMC-FANの流路に流し、通過する前後の生理食塩水の通過時間、全血通過時間、接着した白血球数を計測した。補正通過時間は次式で算出した。(通過補正時間=全血通過時間×12/通過前生理食塩水時間)ヘパリン採血管では接着した白血球数が増えたが、EDTA-2Na採血管+ヘパリンでは白血球は接着しなかった(図3)。EDTA-2Na採血管+ヘパリンは白血球の活性化が抑制された可能性が示唆された。

## 実験②

正常な健常者92人の全血をヘパリン採血管とEDTA-2Na採血管+ヘパリンに混合した。ヘパリン採血管は白血球が活性化し、接着した白血球数を認めたが、EDTA-2Na+ヘパリンはほとんど接着しなかった(図2)。ヘパリン採血管とEDTA-2Na採血管+ヘパリンの通過補正時間の差は、接着した白血球数と相関があることが確認された(図4)。ヘパリン採血管とEDTA-2Na採血管+ヘパリンの通過補正時間の差は白血球活性化の指標となりうる可能性が示された。

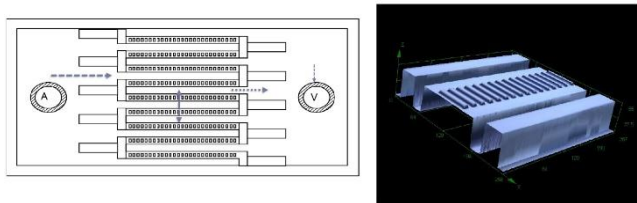


図1 試作したマイクロチャンネルアレイチップ

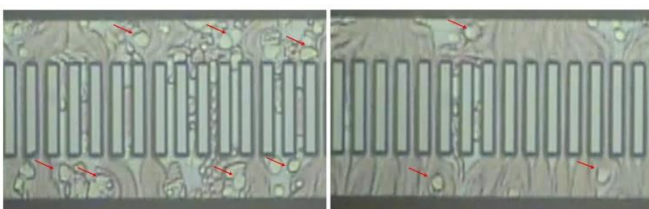


図2 ヘパリン採血管(左)：白血球は接着し流路を塞いでいるものが見える。EDTA-2Na採血管+ヘパリン(右)：接着した白血球はほとんど認められない。

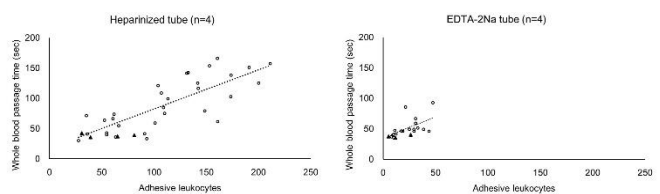


図3 FMLPを注入した全血での接着した白血球数と通過補正時間の関係。ヘパリン採血管(左)では接着した白血球数が増加したが、EDTA-2Na+ヘパリン採血管(右)ではほとんど変化は認められなかった。

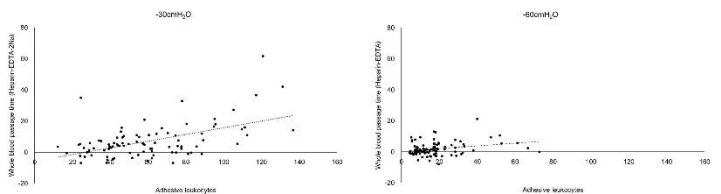


図4 接着した白血球数と通過補正時間の関係。左は-30cmH<sub>2</sub>O，右は-60cmH<sub>2</sub>O。接着した白血球数と通過補正時間は有意に相関を示した。

## 【支援実施機関からのコメント】

チャンネルの深さばらつきを改善するのに苦労しましたが、清水様の博士論文に貢献できたことは光栄に思います。

## 【参考文献等】

- [1] the 10th world congress for microcirculation  
 [2] 23回日本ヘモレオロジー学会