強磁場下での赤血球の酸素結合解離過程について

The Oxidation and Deoxidation of Red Blood Cells under Strong Magnetic Fields

堀 正勝^{*,**}・岩坂正和^{**}・須田隆夫^{***}・上野照剛^{*,**}

^{*}東京大学大学院工学系研究科電子工学専攻, 東京都文京区本郷 7-3-2 (☎113-0033)

^{**}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)

^{***}鹿児島工業高等専門学校, 鹿児島県始良郡隼人町真孝 1460-1 (☎899-5102)

M. Hori,^{*,**} M. Iwasaka,^{**} T. Suda,^{***} and S. Ueno^{*,**}

^{*}Dept. of Biomedical Eng., Graduate School of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033

^{**}Dept. of Electronic Eng., Graduate School of Engineering, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033

^{***}Kagoshima National College of Technology, 1460-1 Shinko, Hayato-cho, Aira-gun, Kagoshima 899-5102

We investigated the possible effects of magnetic fields on the oxidation and deoxidation of hemoglobin in red blood cells. We observed a change in the oxidation rate of a red blood cell solution by measuring the change in the absorbance of red blood cells at 560 nm in both, an equilibrium state and a nonequilibrium state. the change in the absorbance of hemoglobin in an equilibrium state under a 14-T magnetic field was not significant. However, we obtained a minute change in the absorbance of hemoglobin in an equilibrium state during magnetic field exposure. When the red blood cell solution was not in contact with air, the the absorbance did not change. The influence of contact with open air was significant, especially in a nonequilibrium state. We concluded that the oxidation of hemoglobin in a blood cell solution was enhanced by the change in the composition of the atmosphere surrounding the optical cell, and by convection caused by gradient magnetic fields. The possibility of a 14-T magnetic field affecting the oxidation of a blood cell itself was also suggested.

Key words: oxidation, deoxidation, red blood cells, absorbance, equilibrium, nonequilibrium

1. はじめに

近年の科学技術の進展により人体が強磁場に曝される機会が増えたこともあり、磁場が生体に及ぼす影響について、的確な情報を得ることが急がれる。磁場の生体への影響の基礎的理解を深める上でも、人体の主要構成要素である水、あるいは酸素、そしてその延長線上として血液などに及ぼす磁場の影響を研究することが重要である。

我々はこれまで、8 T 磁場中において水溶液中の溶存酸素濃度が再分布するという結果を得た^{1), 2)}。特に水溶液中の溶存酸素濃度を大気圧下における酸素濃度約 12 ml/l よりも高く設定した場合 (約 16~20 ml/l) においては、最大磁場強度付近において約 5% の酸素濃度の上昇が見られた。また実験動物を用いた強磁場への曝露という *in vivo* の実験において、酸素化ヘモグロビンおよび脱酸素化ヘモグロビンの局所的な相対濃度変化に何らかの磁場の影響があるという結果も得た³⁾。

脱酸素化ヘモグロビンも酸素も常磁性という磁気的性質を有するため、これらは互いに磁場中においては磁場の強い方へと

引き寄せられるが、いったんこれらが結合し、酸素化ヘモグロビンとなると反磁性を示すようになるため磁場外へと押しやられることになる。これらは生体においても肺や細胞その他において、磁場がヘモグロビンと酸素の結合・解離過程に対し影響する可能性を示している。

そこで本研究では、赤血球 (ヘモグロビン) の酸素結合解離過程への強磁場の影響を *in vitro* の実験において明らかにすることを目的とし、14 T の超伝導マグネットを用いて、強磁場中の赤血球浮遊液の吸光度変化を測定した。

2. 実験方法

実験に用いた超伝導マグネットを Fig. 1 に示す。超伝導マグネットは水平方向長さが 485 mm、ボアの直径が 50 mm の

Fig. 1 Experimental setup for measuring field effects on the oxidation of red blood cells. (a) shows the shape of the superconducting magnet and the experimental setup. (b) shows the distribution of the 14-T magnetic field.

水平型であり、中心において最大 14 T の磁場を生じ、最大磁場勾配は 125 T/m となる。Fig. 1 に示すように試料を曝露させ、測定を行った。

本研究においては赤血球浮遊液（以下 RBC 浮遊液：Red Blood Cell 浮遊液と呼ぶ）の吸光度変化を分光計にて測定した。スペクトルの測定には日本分光(株)製の V-570 型分光光度計を用いた。試料としては牛血をグットバッファ (TBS; Tris Buffer Solution) で体積比 50 倍に希釈した溶液を使用した。この試料をそれぞれ脱酸素化・酸素化させたものと定常状態のものを用意し、試料表面を外気と接触させた状態での開放系の実験と接触させない状態での密封系の実験を行った。いずれも比較対象として磁場を曝露させない実験を併行して行った。

2.1 開放系

Fig. 2 に示すような実験系にて試料を磁場に曝露させて測定した。光ファイバは磁場の影響を受けない材質にて台に固定し試料の入ったセルを安定に固定した。開放系の実験においては酸素化・脱酸素化・定常状態のヘモグロビンをセルに約 3 ml ずつとり、磁場に曝露させ吸光度変化を測定した。測定中はマグネット内をインキュベータにより 25℃ に保った。測定波長は 500～600 nm まで 2 nm 間隔で測定した。実験においては次のものを検討課題とした。

(1) 酸素化過渡過程における吸光度変化

赤血球中のヘモグロビンの酸素吸収率を大気圧下のそれよりも低くするために（脱酸素化）、あらかじめ約 15 分程度ヘリウムガスを導入させて脱酸素化をはかしておく。後ヘモグロビンの酸素化という過渡過程において磁場を曝露させ吸光度がどのように変化するかを測定した。測定時間は 1 分のサンプリング間隔で 30 分であった。

(2) 脱酸素化過渡過程における吸光度変化

RBC 浮遊液中の溶存酸素濃度を大気圧下のそれよりも高くするために、あらかじめ約 15 分程度酸素ガスを導入させて十分ヘモグロビンを酸素化しておく。後ヘモグロビンが脱酸素化する過程に磁場が影響するか否かを吸光度変化により測定した。測定時間は 1 分のサンプリング間隔で 30 分であった。

(3) 過渡過程最終状態への影響

上記 (1) (2) の実験の結果、最終状態に磁場が影響するか否かを測定した。吸光度が長時間安定した状態を最終状態とみなしたため他の実験に比べて曝露時間・測定時間も長く 10 秒のサンプリング間隔で約 5 時間程度の測定となった。

(4) 定常状態への磁場の影響

大気圧下に放置しておいた状態の RBC 浮遊液をマグネット内に設置し、磁場強度を 0 から 14 T の間で連続的に変化させた場合の吸光度変化を測定した。測定時間は 10 秒のサンプリ

Fig. 2 Optical measurement system under a magnetic field.

ング間隔で約 2 時間 30 分であった。

2.2 密封系

Fig. 2 に示す実験系にて試料を磁場に曝露させて測定した。ただし密封系の実験においては外気の混入がないようにセルを慎重に蓋で密封してある。密封系の実験においては二つの実験系を準備した。

(1) 気液 2 相系

試料とともにガスを満たして液相・気相面の存在する密封空間をつくり、それを磁場に曝露させ吸光度変化を測定した。試料は酸素化・脱酸素化ヘモグロビンの非平衡状態のものと大気圧下に放置しておいた平衡状態のものとを用意した。導入するガスは大気を導入した実験を試みた。

(2) 完全密封系

密封容器内に試料のみを満たし、ガスが混入しないようにしたものを磁場に曝露させ吸光度変化を測定した。試料は脱酸素化させたものを用い非平衡状態への影響を測定した。

3. 結果および考察

Fig. 3 に開放系における脱酸素化ヘモグロビン酸素化過程のスペクトル吸光度変化の測定結果を示す。この結果を見ると磁場に曝露させるか否かに関わらずヘモグロビンが酸素化するに従って 560 nm を中心に吸光度が低下し、その前後の波長において吸光度が上昇するという共通の傾向が見られた。このスペクトル特性を利用しヘモグロビンと酸素の吸着の度合いを示す指標とした。

Fig. 3 より、14 T 磁場に曝露させた方が、酸素化の進行が速いという結果を得た。しかし実験の初期の脱酸素化の度合いにより初期吸光度に差が出るため、以下の実験においては初期の吸光度値からの変化量を初期吸光度値で規格化したものを比較の対象とした。

Fig. 4 に開放系での過渡過程における吸光度変化を示した。脱酸素化過程においては磁場に曝露させたものと曝露させなかったもの（以下コントロールと呼ぶ）では差異が認められず、磁場の影響が見られない。これは酸素分圧約 100 mmHg 以上の状態ではヘモグロビンの酸素吸着はほぼ 100% 飽和に達しているため、通常の大気圧下では酸素がほぼ 100% に達してしまっているものと考えられる。つまり RBC 浮遊液に酸素ガスを導入しても安定状態にあるヘモグロビンは安定状態のままであるため、磁場の影響がほとんど認められなかったものと考えられる。

一方、酸素化過程においては磁場の影響が顕著に見られた。約 30 分の測定の後コントロールに比べて磁場下では約 2 倍の吸光度の低下が認められた。これは磁場下においては酸素化という過渡過程が促進されるということを示唆している。

Fig. 5 はこの過渡過程の最終状態が磁場の影響を受けるか否かを測定した結果である。これをみると Fig. 4 同様、磁場により吸光度の低下が促進されている。最終状態に関しては 0.37% であるが、コントロールに比べ磁場下の方が酸素化が促進されている。これは勾配磁場により気相中の酸素分圧が高まり、RBC 浮遊液試料表面を通しての酸素吸着が促進された可能性を示唆している。

Fig. 3 Time course of the spectral characteristics of a blood cell solution in an open system. (a) Change under a 14-T magnetic field. (b) Change in the atmosphere.

Fig. 4 Relative change in the absorbance of a blood cell solution in an open system. The rate of change shows the relative value compared with the initial absorbance. (a) Change during the course of oxidation in a nonequilibrium state. (b) Change the course of deoxidation in an equilibrium state.

Fig. 5 Influence of magnetic fields on the final state of the course of oxidation in a nonequilibrium state.

Fig. 6 Relative change in the absorbance of a blood cell solution in an open system in an equilibrium state.

Fig. 6 は定常状態にある RBC 浮遊液への磁場の影響を測定したものである。定常状態にある RBC 浮遊液に磁場を曝露させない場合には吸光度は極めて安定していることがわかる。磁場に曝露させた場合にも吸光度変化はほとんど認められない。ただし、0.33% 程度の非常に微小なオーダーで磁場の变化に合わせた吸光度変化が認められた。その結果を Fig. 7 に示す。14 T に達した後吸光度が低下しているのは酸素の溶解が促進されたことによる可能性が挙げられる。

Fig. 8 は密封気液 2 相系におけるヘモグロビン酸素化過程における吸光度変化を測定した結果である。この結果を見るとコントロールにおいても磁場を曝露させた場合においてもほとんど差異が認められない。この結果は外気との接触がある場合において、磁場の影響が大きいことを示唆している。また Fig. 4 でみた開放系で磁場を曝露させた 30 分後で約 1/2 倍程度の吸光度の変化しかないことから上述の可能性が示唆される。先の実験と同様にここでも微小な磁場の影響を密封 2 相系において実験してみた。その結果を Fig. 9 に示す。この結果より、約 0.22% という非常に微小なオーダーで磁場の变化に合わせた吸光度変化が認められた。この結果と Fig. 7 の結果よりミクロなレベルにおいて赤血球反応自体に磁場が影響している可能性が示唆される。

Fig. 10 は完全密封系におけるヘモグロビン酸素化過程への磁場の影響を測定した結果である。これを見るとコントロールと磁場を曝露させた場合どちらも吸光度の変化は見られない。気相とのやり取りのない完全な密封系においては脱酸素化したヘモグロビンも酸素と結合しようがないため、吸光度の変化が見られないものと考えられる。

Fig. 7 Minute relative change in the absorbance of a blood cell solution in an equilibrium state in an open system.

Fig. 8 Relative change in the absorbance of a blood cell solution during the course of oxidation in a closed system containing both gas and liquid phases.

Fig. 9 Minute relative change in the absorbance of a blood cell solution in an equilibrium state caused by changes in magnetic fields in a closed system containing both gas and liquid phases.

以上の実験結果をまとめると以下ようになる。

- (1) 気相面との接触のない完全密封系において酸素化が進行しようがなく吸光度変化はなく安定していた。

Fig. 10 Relative change in the absorbance of a blood cell solution in an equilibrium state in a tightly closed system.

(2) 密封気液 2 相系ではコントロールでも磁場中でもほぼ同じ吸光度変化を示した。またこれは、開放系のコントロール（磁場のない場合）の場合とよく似た変化をした。

(3) 定常状態の開放系では大気圧下においてヘモグロビンが十分に酸素と結合しているため磁場に曝露されてもヘモグロビンの状態は極めて安定であるため、大きな吸光度変化は見られなかった。

(4) 定常状態の開放系においては約 0.33%，密封 2 相系においては約 0.22%，磁場の上下に応じてわずかな吸光度が変化した。

(5) 開放系において酸素化の過渡過程においては特に顕著に磁場の影響が見られ磁場曝露後約 30 分においては吸光度の変化が約 2 倍程度も促進されていた。最終状態においても磁場を曝露した方がコントロールに比べ約 0.33% 吸光度が低下していた。

これらの実験結果をふまえ以下の可能性が考えられる。

I. 赤血球の吸着（解離）反応自体に磁場がわずかに作用しており、結合定数自体への影響も考えられる。しかし、この点に関しては今後さらなる検討が必要であろう。

II. マグネット内の雰囲気ガスの構成、振舞が磁場による影響を受け、赤血球周辺の酸素分子の存在様態が影響を受け、結果的にヘモグロビンの酸素吸着が促進された可能性が挙げられる。

文 献

- 1) S. Ueno, M. Iwasaka, and G. Furukawa: *IEEE Trans. Magn.*, **31**, 4259 (1995).
- 2) S. Ueno and K. Harada: *IEEE Trans. Magn.*, **18**, 1704 (1982).
- 3) 堀 正勝, 岩坂正和, 上野照剛: 第 36 回日本 ME 学会大会論文集, BME 第 35 巻特別号, 551 (1997).

1997 年 10 月 27 日受理, 1998 年 2 月 2 日採録