凝固過程での血液の非ニュートン粘性と動的粘弾性*

深 田 栄 一** 貝 原 真**

Non-Newtonian Viscosity and Dynamic Viscoelasticity of Blood during Coagulation

by

Eiichi FUKADA and Makoto KAIBARA

(The Institute of Physical and Chemical Research, Saitama)

The steady flow viscosity of blood and plasma during the early stage of coagulation was measured by a coaxial cylindrical viscometer in a range of shear rate from 2 to 100 sec⁻¹. The relation between stress and shear rate observed for clotting blood was well represented by Casson's equation. The plastic viscosity and yield value increased as the coagulation proceeded appreciably.

To measure the dynamic viscoelastic moduli, the blood or plasma was poured into a gap between the two coaxial cylinders, which were connected to two strain gauges respectively. The outer cylinder was vertically oscillated at a frequency of 10 c/s and with an amplitude of 60 microns to cause the shear strain to the sample. The alternating stress given to the inner cylinder due to viscoelastic properties of the sample was detected by the strain gauge and dissolved into two components, one with the same phase with strain and the other being 90 degree out of phase with strain. The former gave dynamic elastic modulus E' and the latter dynamic loss modulus E'' .

In a few minutes after adding coagulant to the sample, E'' first began to increase, followed by the rise of E' . The earlier increase of E'' would indicate the onset of polymerization of fibrinogen into fibrin. Rapid increase of both E' and E'' in succession was observed, which suggested the formation of networks of fibrin fibers. The time required for E' and E'' to reach the saturated values was several hours for whole blood and less than 1 hour for plasma. When the plasma was diluted with water, keeping the hematocrit unchanged, the saturated values of E' and E'' decreased. The presence of blood cells largely increased the saturated values of E' and E'' in whole blood.

(Received Dec. 20, 1967)

1 緒 言

血液の凝固は、血液中に含まれるフィブリノーゲンがトロンビンの酵素作用によってフィブリンになり、これが網目構造を形成するために起こる。したがって、血液の凝固過程では粘性や弾性等の変化が生ずる。従来、これらの粘性や弾性の時間的変化の測定には、cone in cone viscometer, thromboelastography, U-tube gelometer 等が使われてきた。

われわれは、血液の凝固に関する問題をレオロジー的立場から考察するために、まず、凝固の初期段階での血液の非ニュートン粘性を、二重円筒回転粘度計を用いて低せん断速度範囲で測定した。また動的粘弾性装置を用いて、凝固過程の全段階の動的弾性率、および損失弾性率を測定した。動的粘弾性装置を用いると、凝固の際の粘性率、弾性率の絶対値の変化を連続的に

測定でき、しかも凝固開始時間をかなり正確に決定できる。

2 実 験

2・1 試料および測定法

抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム水溶液を用いて採血した人の血液を試料として使用した。測定に際して血液を凝固させるために、血液 1 cc に対し 2 % CaCl₂ 水溶液を 0.1 cc 加え、ただちに測定容器に移し測定を始めた。CaCl₂ 水溶液を血液中に滴下した瞬間を測定開始時間とした。測定はすべて室温で行なった。

2・2 実験装置

2・2・1 二重円筒回転粘度計 試料を入れる二重円筒はステンレス製で、外筒を回転させ内筒に加わるトルクを測定した。せん断速度 2~100 sec⁻¹ の範囲で測定を行なった。

2・2・2 動的粘弾性装置 動的粘弾性装置の原理を Fig. 1 に示す。約 0.7 cc の試料を二重円筒の間に入

* 原稿受理 昭和42年12月20日

** 理化学研究所 埼玉県北足立郡大和町

Fig. 1. The schematic diagram of a dynamic viscoelastic apparatus.

れ、外筒を加振器により上下に一定の振幅で振動させ、試料にせん断変形を起こさせる。せん断変形による応力は内筒の上部にあるストレインゲージで検出され増幅、位相検波される。応力の電気出力の中からひずみの電気出力と同位相のもの E' (動的弾性率) と 90° 位相の異なるもの E'' (損失弾性率) をそれぞれ検出する。測定は振動数 10 c/s 、振幅 60μ (最大せん断速度 4 sec^{-1}) で行なった。 E' 、 E'' の絶対値を定めるための標準液には、粘性率 12.7 centipoise のシリコンオイルを使用した。

3 結果および考察

3・1 二重円筒回転粘度計による測定

Fig. 2 は人の全血の凝固の初期段階の非ニュートン粘性を二重円筒回転粘度計で測定した結果を示す。図中の数字は CaCl_2 水溶液添加後の時間を示す。Fig. 3 は Fig. 2 の結果を Casson の式 $\sigma^{1/2} = \sigma_y^{1/2} + \eta^{1/2} \cdot \dot{\gamma}^{1/2}$ にあてはめたものである (σ ; せん断応力, σ_y ; 降伏値, η ; 塑性粘性率, $\dot{\gamma}$; せん断速度)。凝固の初期段階では応力とせん断速度の関係は Casson の式によく従っており、凝固が起こりはじめると η と σ_y が急に増加しはじめる。Fig. 4 は凝固に伴う血しょうの粘性の時間変化を

Fig. 2. Relations between viscosity and rate of shear during the early stage of coagulation for human whole blood, measured by a coaxial cylindrical viscometer.

示す。 CaCl_2 水溶液添加後この程度の時間内では、血しょうはニュートン粘性である。回転粘度計を用いた測定では、凝固があまり進んで試料のスリップが起こ

Fig. 3. Casson's plot for the results in Fig. 2.

Fig. 4. Relation between viscosity and time during the early stage of coagulation for human plasma.

Fig. 5. Coagulation curves for human whole blood measured by a dynamic viscoelastic apparatus.

ようになると測定が不可能になった。

3・2 全血および血しょうの凝固曲線

Fig. 5に動的粘弾性装置を用いて測定した人の全血の凝固曲線を示す。最初に E'' の増加があり、少し遅れて E' が増加しはじめる。最初に E' が増加しはじめるのは、フィブリノーゲンが重合を開始するために粘性が増すためであると思われる。その後 E' , E'' が急速に増加するのは、フィブリンの網目構造の形成に伴う弾性の増加である。この E' が急に増加しはじめるところから凝固開始時間が求められる。なお、全血の場合には、約3時間で E' , E'' ともにその値が飽和値に達した。

Fig. 6に血しょうの凝固曲線を示す。 E_p'' は10分ぐらいで飽和し、 E_p' は1時間程度で飽和してしまう。全血の場合と比較すると、赤血球の存在が凝固の際の粘性や弾性の変化に非常に影響していることがわかる。

Fig. 6. Coagulation curves for human plasma [measured by a dynamic viscoelastic apparatus].

Figs. 7. (a), (b) Effect of plasma content on coagulation curves of E' and E'' for human blood at constant hematocrit 45%. Plasma was diluted with water.

3・3 全血および血しょうの凝固に及ぼす血しょうの体積分率の影響

ヘマトクリット（血液中における血球の体積分率を%で表わしたもの）を一定(45%)に保ち、血しょうを水で希釈した場合の E' , E'' の長時間にわたる凝固曲線をFig. 7(a), (b)に示す。またFig. 7で飽和したときの E' , E'' の値(E_s' , E_s'')を血しょうの濃度に対してplotした結果をFig. 8に実線で示す。血しょうだけを水で希釈して凝固させたときの E' , E'' の飽和値(E_{ps}' , E_{ps}'')を血しょうの濃度に対してplotしたものを、Fig. 8に点線で示した。 E_{ps}' , E_{ps}'' の値はともに血しょうの濃度に対し直線的に増加するが、血球が存在する場合の E_s' , E_s'' は、その値がずっと大きく、また血しょう濃度とともに増加する割合も大きくなる。

3・4 血しょうの凝固の際の振幅依存性

Fig. 8. Relations between dynamic elastic modulus E' and dynamic loss modulus E'' and plasma content. Solid lines show the saturated values in Fig. 7. Dotted lines show the saturated values of only plasma.

上述の結果はすべて周波数10 c/s, 振幅60 μ で測定したものである。振動数を一定(10 c/s)にして振幅を60~320 μ の範囲で変えて測定した。振幅が大きくなるほど粘性率および弾性率の飽和値が小さくなった。せん断変形が大きいと、フィブリンの網目構造形成が妨げられるためと考えられる。

(昭和42年8月29日 第16回レオロジー討論会にて講演)

参 考 文 献

- 1) Dintenfass, L., in A.L. Copley(Ed.), "Symposium on Biorheology", p. 593 (1963) Interscience.
- 2) Hartert, H., in A.L. Copley, and G. Stainsby (Ed.), "Flow Properties of Blood and other Biological Systems", p. 186(1960) Pergamon Press.
- 3) Scott Blair, G.W., *ibid.*, 172 (1960).
- 4) 伊達宗宏, 金属物理, **11**, 233 (1965).