HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	虚血性脳血管障害における血液粘度測定に関する研究
Author(s)	古川, 浩司
Description	配架番号：1698
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第7064号
Issue Date	2018-12-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7064
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/72408
Type	doctoral thesis
File Information	Koji_Furukawa.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文

虚血性脳血管障害における血液粘度測定に関する研究

(Studies on measurement of human blood viscosity in ischemic cerebrovascular disease)

2018 年 12 月

北　海　道　大　学

古　川　浩　司

学　位　論　文

虚血性脳血管障害における血液粘度測定に関する研究

(Studies on measurement of human blood viscosity in ischemic cerebrovascular disease)

2018 年 12 月

北　海　道　大　学

古　川　浩　司

目　　次

Ⅰ　発表論文目録および学会発表目録 ・・・・・・・・・ 1頁

Ⅱ　要旨 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2頁

Ⅲ　略語表 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5頁

Ⅳ　緒言 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6頁

Ⅴ　方法 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7頁

Ⅵ　結果 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14頁

Ⅶ　考察 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 25頁

Ⅷ　結論 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 31頁

Ⅸ　謝辞 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 32頁

Ⅹ　利益相反 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 32頁

Ⅺ　引用文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33頁

Ⅰ　発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

１．古川浩司[1]、鐙谷武雄[1]、酒井啓司[2]、平野美希[2]、長内俊也[1]、七戸秀夫[1]、中山若樹[1]、数又　研[1]、会田敏光[3]、寶金清博[1]

[1] 北海道大学大学院医学研究院脳神経外科、[2] 東京大学生産技術研究所、[3] 北海道脳神経外科記念病院、

Measurement of human blood viscosity by an electromagnetic spinning sphere viscometer.

J Med Eng Technol 2016;40:285-292.

２．古川浩司[3]、鐙谷武雄[1]、酒井啓司[2]、平野美希[2]、長内俊也[1]、七戸秀夫[1]、中山若樹[1]、数又　研[1]、飛騨一利[3]、寶金清博[1]

[1] 北海道大学大学院医学研究院脳神経外科、[2] 東京大学生産技術研究所、[3] 札幌麻生脳神経外科病院、

Increased Blood Viscosity in Ischemic Stroke Patients with Small Artery Occlusion Measured by an Electromagnetic Spinning Sphere Viscometer

J Stroke and Cerebrovascular Disease 2016:2762-2769.

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1.　鐙谷 武雄[1], 古川 浩司[3], 酒井 啓司[2], 平野 美希[2],長内 俊也[1], 七戸 秀夫[1], 中山若樹[1],数又 研[1], 寶金 清博[1]

[1]北海道大学脳神経外科, [2]東京大学生産技術研究所, [3]札幌麻生脳神経外科病院

血液粘度測定の臨床応用の新展開　-新規開発された電磁回転式 EMS 粘度計を用いて-

日本脳神経外科学会第 74 回学術総会　2015.10.14

2.　古川 浩司[1],鐙谷 武雄[2], 酒井 啓司[3], 平野 美希[3], 寶金 清博[2]

[1]札幌麻生脳神経外科病院, [2]北海道大学脳神経外科, [3]東京大学生産技術研究所

急性期脳梗塞症例の血液粘度測定

STROKE2016　2016.4.14-16

Ⅱ　要旨

【背景】　血液粘度は、血液レオロジーの状態、すなわち血液の流れやすさに影響を与え、血液粘度の増大が脳梗塞の危険因子になることが知られている。しかしながら血液粘度を実測して評価した研究は多くない。従来用いられてきた円錐平板型粘度計はサンプル量を多く必要とする点や測定毎に装置の洗浄を要する点など、臨床での汎用性に問題があり、多くの症例を集めることが困難であったためと思われた。

近年、新しい測定原理に基づき、使い捨て容器を用いて非接触状態で少量のサンプル量（0.3 ㎖）の試料を測定することを可能にした、電磁回転球（Electromagnetic spinning sphere（EMS））粘度計（京都電子工業株式会社）が開発された。この EMS 粘度計による測定は、従来より簡便になったため、解析に必要な十分な数の症例のもとで血液粘度に関与する因子と、病型による血液粘度の比較検討を行うことが可能となった。

血液粘度は、相関関係が強いヘマトクリット値を代入する近似式を利用して得られる計算値で代用されることが多かった。しかし、血球成分には赤血球以外に白血球や血小板もあり、また、赤血球の数値特性としてヘマトクリット値と血球数があるが、これらの血液粘度への影響は明らかにされていない。さらに、血液粘度の剪断速度（shear rate）依存性についても個人差があるのかはよく分かっていない。これらの問題は疾患検討の前に確認しておくことが必要と考えられた。

臨床的には血液粘度の高値は、血流の停滞とそれに続いて起こる病的な血栓症の原因となり、虚血性脳卒中の発症に関与するとされている。真性多血症などでは、血液粘度の増大を来し、循環障害を引き起こして血栓形成、すなわち脳梗塞発症につながることが知られている。また、脱水症でも血液粘度は増大して同様のメカニズムで脳梗塞発症につながると考えられている。しかし虚血性脳卒中の中でも、異なる病態に基づく病型（心原性脳塞栓症、アテローム血栓症、小動脈閉塞＝ラクナ梗塞）の違いによって、血液粘度の関与に差があるかどうかはよく分かっていない。もし、病型間で血液粘度の関与に差があるとすると、鑑別診断や病型別の発症予防や治療において血液粘度の数値を利用でき、個々の測定に意義があるものと思われる。

【目的】　安定期外来通院患者の血液粘度を、EMS 粘度計を用いて測定し、臨床検査項目との関連を検討し、血液粘度に影響を与える因子（ヘマトクリット値以外の血球細胞数や血小板などの影響）について検討した。また、血液粘度の剪断速度依存性を表すために、乳剤や懸濁液のレオロジー分析研究で用いられる「べき乗則」のモデル式を提示し、血液粘度の数値分布の特性を明らかにすることを試みた。

また、虚血性脳卒中のなかでも、異なる病的状態に基づく病型間において、血液粘度の関与が異なる可能性があると仮説を立て、これを検証するために急性期虚血性脳

卒中患者の発症時の血液粘度を測定し、検討を加えた。さらに治療経過中の血液粘度の変化についても併せて検討した。

【対象と方法】　連続する 100 名の安定期外来通院患者を、対照群として登録した。男性 58 名、女性 42 名で、平均年齢 65.5±14.8 歳、基礎疾患は、虚血性脳卒中(n=43)、出血性脳卒中（n=10)、脳卒中未発症の脳血管障害（n=8)、脊髄疾患（n=10)、変性疾患（n=10)、その他（n=19）を含んでいた。

急性期虚血性脳卒中群として、2014 年 6 月から 1 年 3 か月間に急性期虚血性脳卒中と診断された 20 歳以上の患者で、2 週間以上入院したものを対象に前向き研究を実施した。病型の内訳は、心原性脳塞栓症（CE)：25 名、アテローム血栓症（LAA)：42 名、小動脈閉塞（SAO＝ラクナ梗塞)：25 名であった。

血液の採取は、定期的な採血から EDTA 抗凝固処理した残余血を使用した。急性期虚血性脳卒中患者の測定は、入院日、数日後、1 週間後、2 週間後の 4 回実施した。同時にその他のパラメータを得て、血液粘度とともに対照群と虚血性脳卒中の各病型群とを比較し、病型別の特徴と、発症に関与する病態について検討した。

EMS 粘度計の測定手順は、1 回の測定で、駆動磁界を 6 種の異なる回転速度(1000、800、640、500、400、300rpm）で回転させて、血液粘度を測定するようにプログラムした。これを 1 サイクルとして、30 秒の間隔を置いて 5 サイクル繰り返し、インターバルごとにサンプルを粘度計から取り出して振盪し、測定中の血液沈降を回避した。20mPa·s 以上の外れ値を除外した後、5 回の測定の平均値を計算し、各回転速度の代表値を得た。モデル式から剪断速度 100 s^{-1} での血液粘度を得て、比較およびデータ分析の値として用いた。

【結果と考察】　まず、100例の安定期外来通院患者（対照群）の血液粘度の平均は4.66±0.72 mPa·sであった。血液粘度と血液パラメータの相関関係を見ると、ヘマトクリット値よりも、血球数（赤血球数と血小板数の総和)の方で相関係数が大きくなった。また、相関曲線は線形近似よりも、指数近似によりフィットした。この血液粘度と血液パラメータとの相関は、高い剪断速度では比較的強かったが、低い剪断速度では相対的に相関は弱くなった。

次いで血液粘度の剪断速度依存性を、［$\eta_i(\gamma) = A_i\gamma^{-pi} + \eta_0$］で表されるモデル式に基づいて検討した。適切な Ai と pi 値をこの近似式に代入して得られる血液粘度は、1.5%の標準偏差でほぼ正確に実際の血液の流体的挙動を再現した。Ai と pi 値の分布は広かったが、これは剪断速度に対する粘度依存性のパターンが個人差に応じて変化することを示唆している。EMS 粘度計を用いて得られた今回の結果から、血液粘度の数値は個人個人で特異的なものであり、実際に測定をすることがレオロジーの状態を理解するために重要であることが示唆された。

次に、92 例の急性期脳梗塞発症例の血液粘度は、CE 群 4.85±1.09 mPa·s、LAA 群 4.95±1.04 mPa·s、SAO 群 5.36±1.03 mPa·s であり、虚血性脳卒中の病型別および対照群との間の比較により、入院時の血液粘度は対照群（4.66±72 mPa·s）よりも SAO 群において有意に高かった（P <0.01）。また、点滴治療の終了した 2 週間後にはすべての病型で血液粘度の低下を示したが、特に SAO 群では 2 週目の血液粘度の値（4.64 ±0.80 mPa·s）が入院時よりも有意に低値（p＜0.05）で、対照群と同程度であった。これは SAO 患者が発症時に最も血液粘度が高く、濃縮した血液を有することを示し、2 週間後には点滴治療が終了して、ほぼ正常な含水状態に戻っていたことから、SAO 群で脱水の関与が示唆された。虚血性脳卒中の各病型すべてで同様に血液粘度が上昇しているわけではなく、SAO 群でのみ有意に上昇しており、SAO 群で脱水による粘度上昇が発症機転に強く関わっていると考えられ、SAO の病因において、脱水の重要性がより強調される必要があると思われた。

【結論】　本研究では、EMS 粘度計を初めて臨床応用した。血液粘度は血球数と剪断速度に依存し、剪断速度依存性は個体差があるため血液粘度の評価には実測することが重要であった。虚血性脳卒中の SAO 群で入院時の血液粘度が有意に高く、その発症の原因に脱水の関与が示唆され、ラクナ梗塞の病因において脱水の重要性が強調されるべきと思われた。EMS 粘度計による血液粘度測定は、少量サンプルで可能であり、簡便かつ迅速に実施することができ、血管障害性疾患における血行動態に関連する病因を理解するために有用である。のみならず、日常の外来診療においても容易に実施することができ、リアルタイムに血液粘度を測定して、虚血性脳卒中の予防に寄与する可能性があり、将来的に有望な検査となりうると期待する。

KEYWORDS： Blood viscosity; blood cells; shear rate; rheology; ischemic stroke; small artery occlusion; pathogenesis; dehydration

Ⅲ　略語表

BUN / Cr, BUN to Creatinine ratio, BUN クレアチニン比
BV, blood viscosity, 血液粘度
CE, cardioembolism, 心原性脳塞栓症
DOA, day of admission, 入院日
EDTA, ethylenediamine tetraacetic acid, エチレンジアミン四酢酸
EMS, electromagnetic spinning sphere, 電磁回転球（式粘度計）
GCG, Glasgow coma scale, グラスゴー・コーマ・スケール
Ht, haematocrit, ヘマトクリット値
LAA, large artery atherosclerosis, 大動脈アテローム硬化症＝アテローム血栓症
Plt, platelet, 血小板
RBC, red blood cell, 赤血球
SAO, small artery occlusion, 小動脈閉塞 ＝ラクナ梗塞
1W, 1 week after admission, 入院後 1 週間
2-3D, 2-3 days after admission、入院後 2〜3 日
2W, 2 weeks after admission, 入院後 2 週間

Ⅳ　緒言

血液粘度は、流体のひずみに対する抵抗力をもたらし、流体力学的状態を調節する重要な特性である。血液粘度は、血液成分によって決定され、非ニュートン流体として、流体の剪断速度（shear rate）によって粘度は変化する（Pop GA et al. , 2002；Cho YI et al. , 2014)。血液粘度の決定要因には、血液細胞の濃度と、赤血球の変形性および凝集性、血漿成分の濃度があげられる。血液細胞および血漿成分の濃度が上昇すると血液粘度が上昇し、変形能が低くなり赤血球の凝集が大きくなると血液粘度が上昇する。これらの因子の中でも、血液細胞の濃度が血液粘度の決定に最も寄与している（Linderkamp O et al. , 1992；Eckmann DM et al. , 2000；Vázquez BY, 2012)。血液の粘度と血液細胞の濃度との間に強い相関関係が示されている（Vázquez BY, 2012)。剪断速度は、非ニュートン特性を有する循環系において血液粘度を調節する重要な因子である。血液粘度は、剪断速度の低下に伴って指数関数的に増加するが、剪断速度の上昇とともに一定の値に低下、収束し、これはずり減粘(shear thinning)の挙動を示す（Chhabra RP, 2010)。血液粘度の重要なレオロジー的機能は、長さと半径といった血管の特性と協働して血流抵抗を制御することである（Goldstein LJ et al. , 1991)。

生理的な血流状態を理解するために（Grotta J et al. , 1982；Brown MM et al. , 1985)、また、病態生理学的に血栓形成を理解するために（Eisenberg S, 1964；Keatinge WR et al. , 1986；Lowe GD et al. , 1997；Ott EO et al. , 1974；Fisher M et al. , 1991；Tsuda Y et al. , 1997)、血液粘度が重要であることが認識されている。

このため、血液粘度の測定は、1960 年代以降、血栓性疾患で実施されており、これまでの研究では、血液粘度の上昇が心血管イベントに関連していることが示されている（Eisenberg S, 1964；Bhatnagar SK et al. , 1985；Lowe GD et al. , 1997)。血液粘度の上昇は、他の血栓性疾患と同様に、虚血性脳卒中の急性期に確認されている（Ott EO et al. , 1974；Fisher M et al. , 1991；Tsuda Y et al. , 1997：Smith FB et al. , 1998；Kowal P et al. ,　2007)。さらに、血液粘度と、高血圧症や脂質異常症、喫煙、肥満といった心血管系の危険因子との間に関連があることが報告されている（Devereux RB et al. , 2000；Rim SJ et al. , 2001；Os I et al. , 2003；de Simone G et al. , 1990)。

血液粘度が血栓性疾患において重要であることが認識されているにもかかわらず、いくつかの理由のために、実際の血液の粘度の測定はあまり行われていない。その理由の一つは、従来の粘度計による測定は、毎回の試料測定後に器機の洗浄過程が必要なことにより時間がかかるということがあり、また他の理由として、血液粘度を実測する代わりにヘマトクリット値を近似式に代入して得られる計算値がしばしば血液粘度の評価に用いられてきたことがある（de Simone et al. , 1990;81；Jeong SK et al. , 2013)。

血液粘度の測定には、現在有用な粘度計のタイプのうち回転粘度計が主に用いられてきた。比較的少量のサンプルで一定の剪断速度範囲内の粘度を測定することができるからである（Rosencranz R et al. , 2006）が、それでも前述のように手間と時間がかかり、多くの症例を測定することが容易ではなかった。

最近、電磁回転球（EMS）法を用いた新しいタイプの粘度計が開発された（Sakai K et al. , 2010：Fukunaga K et al. , 2013）。EMS 法での粘度測定は、回転する金属球の回転速度が、磁場の強さと回転速度に依存するだけでなく、金属球の周囲の検体の粘度にも依存するという原理に基づいている。EMS（電磁回転球）粘度計は、非接触でかつ使い捨ての器具を用いて、各サンプル測定後に時間のかかる洗浄過程を省いて、少量のサンプルを迅速かつ連続的に測定することができる（Sakai K et al. , 2010；Fukunaga K et al. , 2013）。

本研究では、まずは EMS 粘度計による最初のヒト血液への試験適用のため、100 名の安定期外来通院患者で血液粘度を測定し、血液粘度を規定する因子につき検討した。EMS 粘度計を用いて得られた結果を示し、血液粘度が、血球数パラメータと剪断速度に依存するかどうかについて考察した。また血液粘度を実測することの重要性について検討した。

前述のように血液粘度の上昇は、他の血栓性疾患と同様に、虚血性脳卒中の急性期に確認されている。しかしながら、虚血性脳卒中のすべての病型において血液粘度が等しく増加し、それは想定内であり臨床的価値が低いという、ありがちな思い込みのために、実際の血液粘度の測定は行われてこなかった。しかし、血液粘度の測定が、鑑別診断や治療、脳卒中の予防に関する有用な情報をもたらすことができるため、血液粘度をもっと広範に測定する必要があると思われる。虚血性脳卒中は、異なる病因をもつ、いくつかの病型（心原性脳塞栓症、アテローム血栓症、小動脈閉塞（ラクナ梗塞））からなっており、したがって、虚血性脳卒中のなかで、異なる病的状態に起因するそれぞれの病型の間で、血液粘度の関与が異なっているだろうと考えた。本研究では、さらに急性期虚血性脳卒中患者の血液粘度を病型別に測定し、虚血性脳卒中の鑑別診断と治療・予防の観点から、血液粘度測定の重要性について検討した。

Ⅴ　方法

1. 対象患者および血液サンプリング

北海道脳神経外科記念病院に通院する患者の中で、連続する 100 名の安定期外来通院患者を、対照群として本研究に登録した。すべての患者は、登録に先立って、病院倫理委員会によって承認されたインフォームドコンセントをうけ同意書に署名をした。その内、男性 58 名、女性 42 名で、平均年齢 65.5±14.8 歳。虚血性脳卒中（n=43）、

出血性脳卒中（n=10)、脳卒中未発症の脳血管障害（n=8)、脊髄疾患（n=10)、変性疾患（n=10)、その他（n=19）を含んでいた。

急性期虚血性脳卒中群として、2014 年 6 月から 2015 年 8 月の期間に、札幌麻生脳神経外科病院で急性期虚血性脳卒中と診断された 20 歳以上の患者で、2 週間以上入院したものを対象に前向き研究を実施した。92 名の急性期虚血性脳卒中患者を登録した。すべての患者は、登録に先立って、病院倫理委員会によって承認されたインフォームドコンセントをうけ同意書に署名をした。その内、男性 58.7%、女性 41.3%、平均年齢は 74.4±11.5 歳であった。病型の内訳は、心原性脳塞栓症（CE）25 名、アテローム血栓症（LAA）42 名、小動脈閉塞（SAO）25 名であった。虚血性脳卒中の病型は、磁気共鳴画像法(MRI)またはコンピューター断層撮影法(CT scan)の所見により、Trial of Org 10172 in acute stroke treatment (TOAST)の分類に従って決定した。血液粘度の測定は入院中に 4 回行い、入院日、数日後、1 週間後、2 週間後に実施した。同時にその他の採血パラメータを得て、血液粘度とともに対照群と虚血性脳卒中の各病型群とを比較した。

血液の採取は、定期的な臨床検査として血球および生化学値を測定するために採血したものから、血球数の測定後に、EDTA（エチレンジアミン四酢酸）抗凝固処理した血液の残余血をこの研究に使用した。



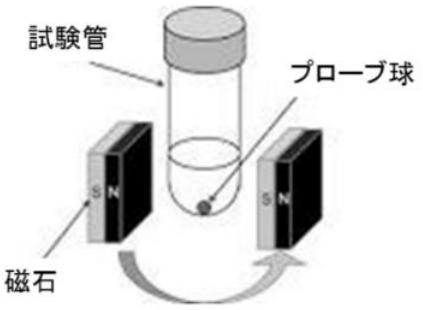
図 1．EMS 粘度計の外観

2. EMS 粘度計による血液粘度測定

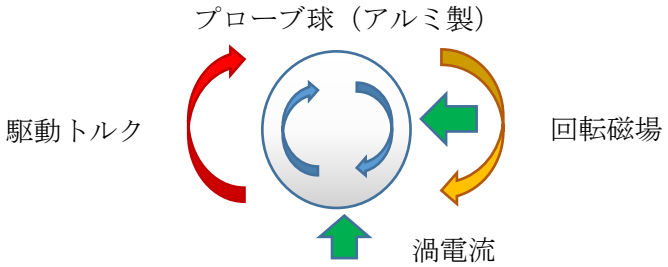
血液粘度は、新規開発された EMS 粘度計を用いて測定した（Sakai K et al. , 2010；Fukunaga K et al. , 2013）（図 1)。試料の粘度は、試料管の底におかれた球型ローターを使用して測定される。試料管内に置いた磁性金属製の球形プローブの周囲を一対の永久磁石が回転し（図 2 A)、回転磁場がプローブに渦電流を引き起こし磁場と電流の間のローレンツ力が試料液中でプローブに駆動トルクをかけ回転させる。プローブ球が周囲の液体から粘性抵抗を受け、抵抗トルクとしてプローブ球の回転は磁場の回

転速度より低下する。プローブ球の回転数ΩS は上記のトルクのバランスにより決定されるためΩS を求めることで粘度が計測できる。粘度は、磁場の角速度（回転速度）ΩB とプローブの角速度（回転速度）ΩS の差に比例する。これに機械定数 α をかけて試料の粘度が得られる。$\eta = \alpha$（ΩB－ΩS）/ΩS（図２B）。ΩS を求めることで粘度が計測できる。一方、剪断速度はΩS に比例する。

A



B



回転磁場でトルクを印加（ローレンツ力）

粘度 ∝（磁場回転数ΩB－プローブ球回転数ΩS）/ΩS

図２．EMS 粘度計の仕組みと測定原理

A：使い捨て試験管内に、直径２㎜のアルミ製プローブ球と試料（血液）が入る。

B：EMS 粘度計の測定原理。磁場回転数ΩB を与えた時の、プローブ球の回転数ΩS を求めることで粘度が計測できる。

さらに、ヒト血液を含む医療サンプルの粘度測定に EMS を使用する利点は、以下のようである。EMS 法の最も重要な特徴は、サンプルがガラス製試験管に密閉され、測定装置に接触しないことで、血液による汚染を防止しやすい。

また、試料中で電磁力によって回転する金属球は直径２㎜と小さく、透明な試験管内の試料中に完全に浸かる。ヒト血液は、スクリューキャップ付きの試験管に入れられて血液汚染を防止でき、粘度測定に必要な血液の量はたったの 0.3 ㎖と少量で、臨

床検査のために採取した残余血液から得ることができ、サンプリングされる患者に新たな負担がほとんどない。

これらに加えて、EMS 粘度計には、粘度測定中に血液を容易に均一な状態に維持することができるという利点がある。測定中に起こる最も困難な課題の一つは、血液の成分が簡単に分離するという機械的な特性である。血液が沈殿する過程で、赤血球は周囲の血清よりも密度が大きいため、重力によって沈み、血液が血清に富む層と血球に富む層に分離してしまう。血液の典型的な沈降係数からの大まかな推定では、沈降する赤血球の速度は、分速 1 ㎜程度と推定される。従来型の平板型粘度計で血液粘度を測定した場合、典型的な試料の厚みは 1 ㎜であり、粘度測定は、試料のセッティングや温度の調整を含んで 1 分以内に終了する必要がある。もしも血液が血清と赤血球が凝縮した2層に分離されれば､均質な全血粘度の正確な値を得ることができない。後述するように、血液粘度は血球の特性に強く依存しており、平板型粘度計の場合には抵抗トルクが血清で希釈された層の粘度にのみ支配されることになる。逆に EMS 粘度計では、プローブは試料の底に位置するため、見かけ上の血液粘度の上昇が予想される。

EMS 法を用いて粘度測定をする際の、血液の沈降による影響を調べるために、実際にいくつかの時間で見かけ上の血液粘度を測定し、(図３) に示した。見かけ上の血液粘度は血液の沈降により、20 分後以降に急速に上昇した。しかしながら、血液沈降による問題点は EMS 法による粘度測定においては容易に克服することができる。というのも、試料が入った試験管は、いつでも EMS 装置から取り出して振盪・攪拌することができるからである。こうして、血液粘度測定のために次のようなプロトコールを確立した。

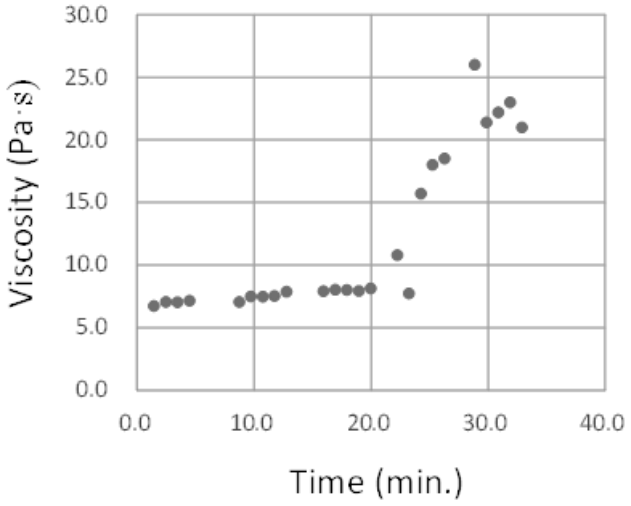


図 3． 全血サンプルを均質化せずに測定した場合のヒト血液粘度の経時変化

37℃に温めておいたEDTA添加抗凝固血液サンプルから0.3 mℓを取り、2 ㎜のアルミ球とともに使い捨てガラス管に入れてEMS粘度計にセットし、その血液粘度を次のような測定手順に従って37℃で測定した。測定手順は、1回の測定で、駆動磁界を6種の異なる回転速度（1000、800、640、500、400、300rpm）で回転させて、血液粘度を測定するようにプログラムした。これは球形プローブに0.3から2.0nN·mの範囲のトルクをかけるのに相当する。そしてこれを1サイクルとして、30秒の間隔を置いて5サイクル繰り返すように設定した。留意点は、1サイクルの測定に要する時間は30秒で、5回測定する毎回のインターバル（30秒）にサンプルを粘度計から取り出して振盪したことである。このEMS粘度計の利点は、試料の状態をこのインターバルの間に直接評価できることで、これにより、血液が十分に振盪され測定中に血液沈降が発生していないことを確認できた。血液の剪断速度はこの実験条件の下で通常30～110 s^{-1}の範囲で、血液粘度は10 mPa·s以下にある。機械のエラーによると思われる血液粘度が20 mPa·s以上となった外れ値を除外した後、5回の測定の平均値を計算し、各回転速度の剪断速度と血液粘度の代表値を得た（図4A,B）。後述の計算式で得られた100 s^{-1}での血液粘度（理論値）を、比較およびデータ分析の値として用いた（図4C）。

A

せん断速度

表中のせん断速度の単位は1/s

モータ回転数	1000 rpm	800 rpm	640 rpm	500 rpm	400 rpm	300 rpm
1回目	110.6	88.0	69.1	53.2	41.8	30.3
2回目	110.3	86.9	69.3	53.4	41.8	NG
3回目	111.2	88.0	69.1	53.7	41.9	30.8
4回目	110.4	87.0	68.3	52.0	40.5	29.5
5回目	111.1	88.1	69.4	52.8	40.4	28.7
平均値	110.7	87.6	69.1	53.0	41.3	29.8
標準偏差	0.4	0.6	0.4	0.7	0.8	0.9
RSD	0.4%	0.7%	0.6%	1.3%	1.9%	3.0%

B

粘度

表中の粘度の単位はmPa·s

モータ回転数	1000 rpm	800 rpm	640 rpm	500 rpm	400 rpm	300 rpm
1回目	4.81	4.96	5.34	5.61	5.94	6.50
2回目	4.84	5.20	5.29	5.56	5.92	NG
3回目	4.70	4.97	5.33	5.46	5.83	6.21
4回目	4.84	5.15	5.51	6.04	6.47	7.04
5回目	4.73	4.96	5.26	5.79	6.53	7.45
平均値	4.78	5.05	5.35	5.69	6.14	6.80
標準偏差	0.07	0.12	0.10	0.23	0.33	0.55
RSD	1.4%	2.3%	1.8%	4.0%	5.4%	8.1%

C

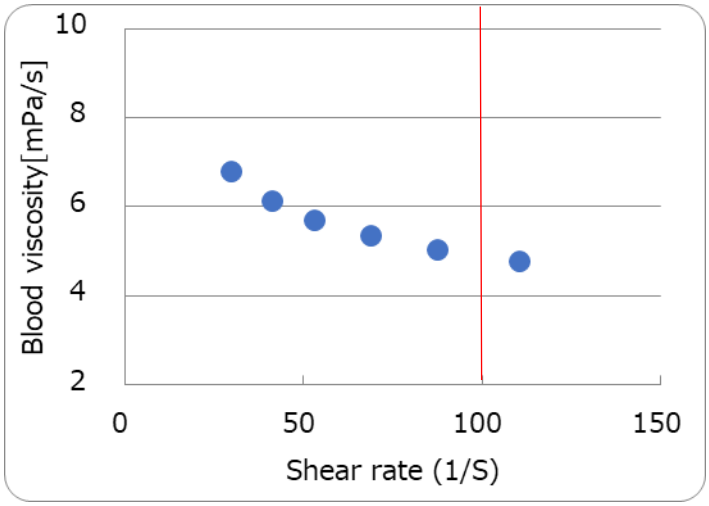


図４．測定方法

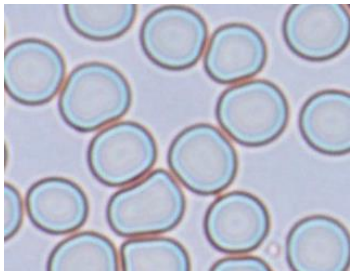
6 段階の駆動回転数（1000～300rpm）に応じて、ずり速度と血液粘度についてそれぞれ 5 回測定を行った（A,B)。その平均値をグラフ化した。各データの比較は、剪断速度 100 s^{-1} の粘度の値で行った（C)。

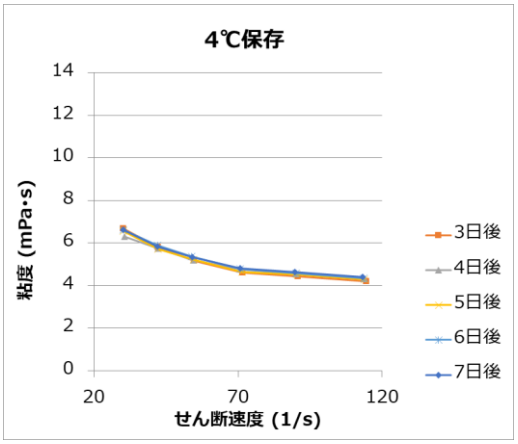
3. サンプルの保存と経時変化

パイロットスタディーとして、血液の保存状態による経時変化の有無を測定した。4℃保存では経日的な粘度の増大はほとんど見られないが（図５A,B,C)、室温保存では赤血球の構造変化が生じ、粘度増大につながることがわかった（図５D,E,F)。血液サンプルは、採取後速やかに 4℃保存とし、可能な限り早期に測定した。

A　　B　　C







D　　E　　F

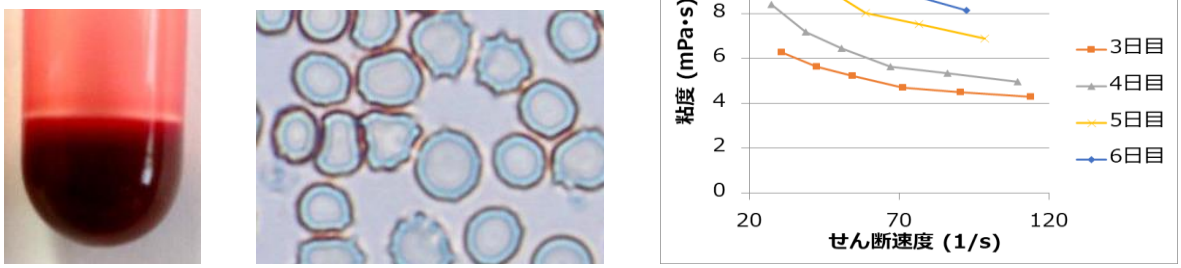


図５．　4℃保存では経日的な粘度の増大はほとんど見られない（A,B,C）が、室温保存では RBC の構造変化が生じ、粘度増大につながる（D,E,F）。

4. 血液粘度の剪断速度依存性を表す、単純なモデル式の提示

我々は、複雑な流体におけるレオロジー分析の枠組みに基づいた簡単な式を用いて、実験的に得られた血液粘度のせん断速度依存性を表すことを試みた。すなわち構造粘性を表現する Ostwald 粘度式を改変し、ずり速度 γ より血液粘度 η_i を求める近似式を作った。

せん断速度に関連する乳剤や懸濁液の粘度は、以下のような「べき乗則」の式として表される。

$$\eta_i(\gamma) = A_i \gamma^{-pi} \qquad (1)$$

ここで γ:ずり速度、η_i :血液粘度、A_i:剪断速度 1 s^{-1} の時の血液粘度の基礎値、p_i:ずり減粘（shear thinning）を示す曲線の傾きの指標で、したがって Ai は、1s^{-1} のせん断速度における i 番目のサンプルの粘度の基本的な大きさを表し、pi は粘度のずり減粘の情報を与えるパラメータを表している（Chhabra RP , 2010）。この式は機械的緩和の存在を示すとともに、pi の値が緩和時間分布の広がりを表す。しかしながら、血液の場合には、式（1）にいくらかの修正が必要である。というのも血液粘度の大きさは通常の乳液での予想されるのと同じ程度高かっただけでなく、純水の粘度より数倍大きかっただけだからである。今回の場合、周囲の溶媒、すなわち血漿の関与を考慮した。血漿タンパクの病的な上昇がない条件下で、本実験の剪断速度領域では、血漿の粘度は比較的一定であった。したがって、剪断速度依存性は、血漿の粘度に相当する η_0 を基本値として加えて、以下の式で表される（図６）。

$$\eta_i(\gamma) = A_i \gamma^{-pi} + \eta_0 \qquad (2)$$

ここでは、血漿の実験的に得られた血漿の粘度として η_0 の値に 1.5 mPa·s を代入した。

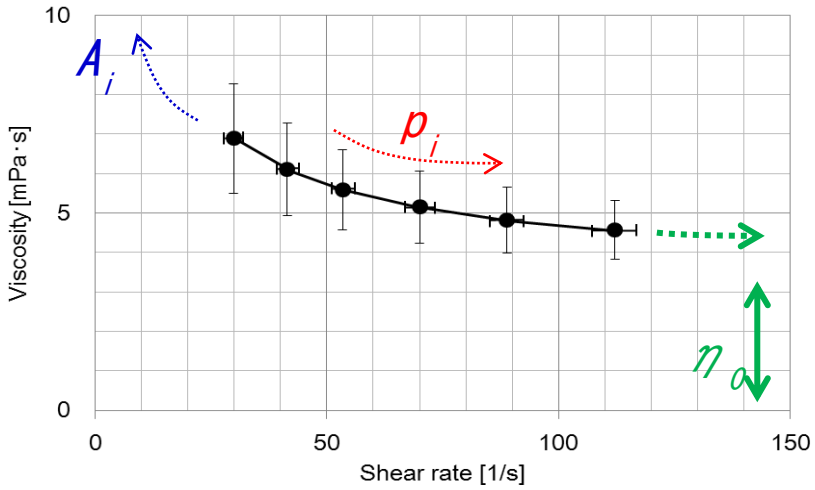


図 6． 血液粘度の剪断速度依存性を表す近似式

Ostwald 粘度式を改変し、剪断速度 γ より血液粘度 η_i を求める近似式を作った。

γ:剪断速度、 η_i :血液粘度、A_i :剪断速度 1 s^{-1} の時の血液粘度の基礎値、p_i :ずり減粘（shear thinning）を示す曲線の傾きの指標、η_0:血漿の非ニュートン流体としての粘度。 $\eta_i(\gamma) = A_i \gamma^{-pi} + \eta_0$

5 統計分析

データは平均値±標準偏差として示した。統計分析は、市販ソフト「エクセル統計 2008」および「エクセル統計 2012」（株式会社社会情報サービス、東京都、日本）を用いて行った。マン・ホイットニーU 検定を用いて不対データを比較した。クラスカル - ウォリス検定と Steel の多重比較検定を使用して、複数のデータセットを比較した。P <0.05 を有意とした。

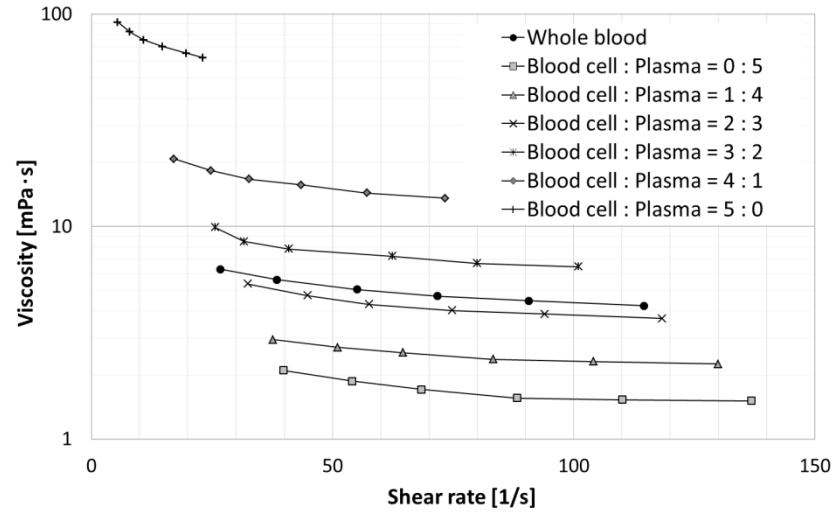
VI　結果

1. 健常ヒト血液の血液粘度と血液中の血球数との関係

健常なヒト血液（赤血球数 461x10^4/$\mu\ell$、ヘモグロビン 14.0g/dℓ、ヘマトクリット 43.5%）の血液粘度を前述の 6 種類の異なる回転速度で測定した。血液採取にあたって正常ボランティアは病院倫理委員会によって承認されたインフォームドコンセントをうけ同意書に署名をした。正常ヒト血液の血液粘度と血球数との関係を調べるために、遠心分離によって分離された血球数と血漿の両者を異なる比率で混合し、その混合物の血液粘度を測定した。血液粘度は、血球数の増加に従い上昇した（図 7A）。

血球細胞比率（≒Ht）の上昇に伴う血液粘度の指数関数的上昇が、1000rpm の粘性値の半対数グラフで容易に認められた（図 7B)。

A



B

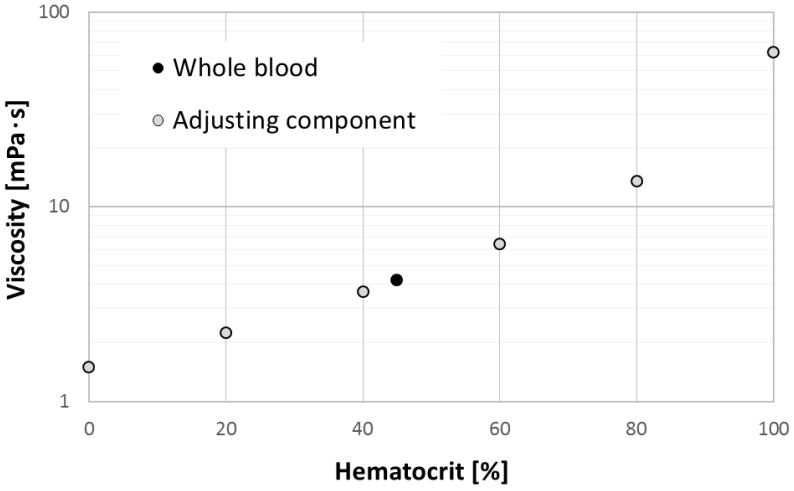


図 7 正常成人ボランティアからの血液サンプルで測定した血液粘度。
A 遠心分離によって分離された血球と血漿を異なる比率で混合した混合物の粘度。B 血液粘度の急激な増加は、1000rpm での粘度値を有する、半対数グラフ上でヘマトクリット値の増加を観察した。黒丸は元の血液の結果を示し、白丸は異なる比率で混合した血球と血漿の混合物の結果を示す。

2. 安定期外来通院患者 100 例の血液粘度

対照群として 100 例の安定期外来通院患者の血液粘度を測定した。血液粘度と 6 種類の回転速度の、血液粘度と剪断速度の平均値は、それぞれ 1000rpm で 4.57 SD 0.76

mPa·s と 112.3 SD 4.9 s^{-1}、800rpm で 4.82 SD 0.83 mPa·s と 88.9 SD 4.2 s^{-1}、640rpm で 5.15 SD 0.91 mPa·s と 70.0 SD 3.6 s^{-1}、500rpm で 5.59 SD 1.02 mPa·s と 53.5 SD 3.0 s^{-1}、400rpm で 6.10 SD 1.17 mPa·s と 41.6 SD 2.6 s^{-1}、そして 300rpm で 6.89 SD 1.39 mPa·s と 29.9 SD 2.1 s^{-1}だった（図 8）。 100 s^{-1}と 10 s^{-1}のせん断速度での血液粘度の平均値は、それぞれ 4.66 SD 0.72 mPa·s および 9.91 SD1.96 mPa·s であった。

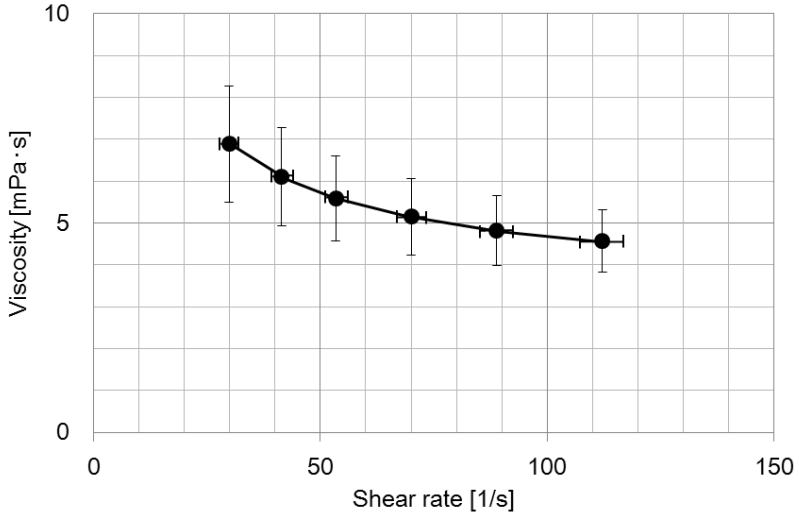


図 8　安定期外来通院患者 100 例の血液粘度
6 段階の回転速度での、血液粘度の平均値と剪断速度の平均値をグラフにプロットした。ずり速度に依存して血液粘度は変化した。ずり減粘（shear thinning）を認め、非ニュートン流体の特性を示す。

3. 血液粘度と血液学的パラメータとの関係

血液粘度と血液学的パラメータ（ヘマトクリット、RBC 数、RBC と血小板の総数）との関係をせん断速度 100 s^{-1}と 10 s^{-1}で分析した（図 9A～F）。すべてのケースで、近似指数曲線が近似直線より良い相関を示した。血液粘度および各血球のパラメータの間の相関は、せん断速度が 10s^{-1}よりも 100s^{-1}で有意に強かった（$P<0.05$）。剪断速度や近似曲線が異なる条件下であっても、血液粘度は、ヘマトクリット値よりも赤血球数と血小板数の総数に常に強い相関を示した。相関係数（R^2）は、せん断速度 100 s^{-1}、赤血球と血小板の総数、指数係数の条件の下で最も高かった($R^2=0.6885$)（図 9 A-F)。

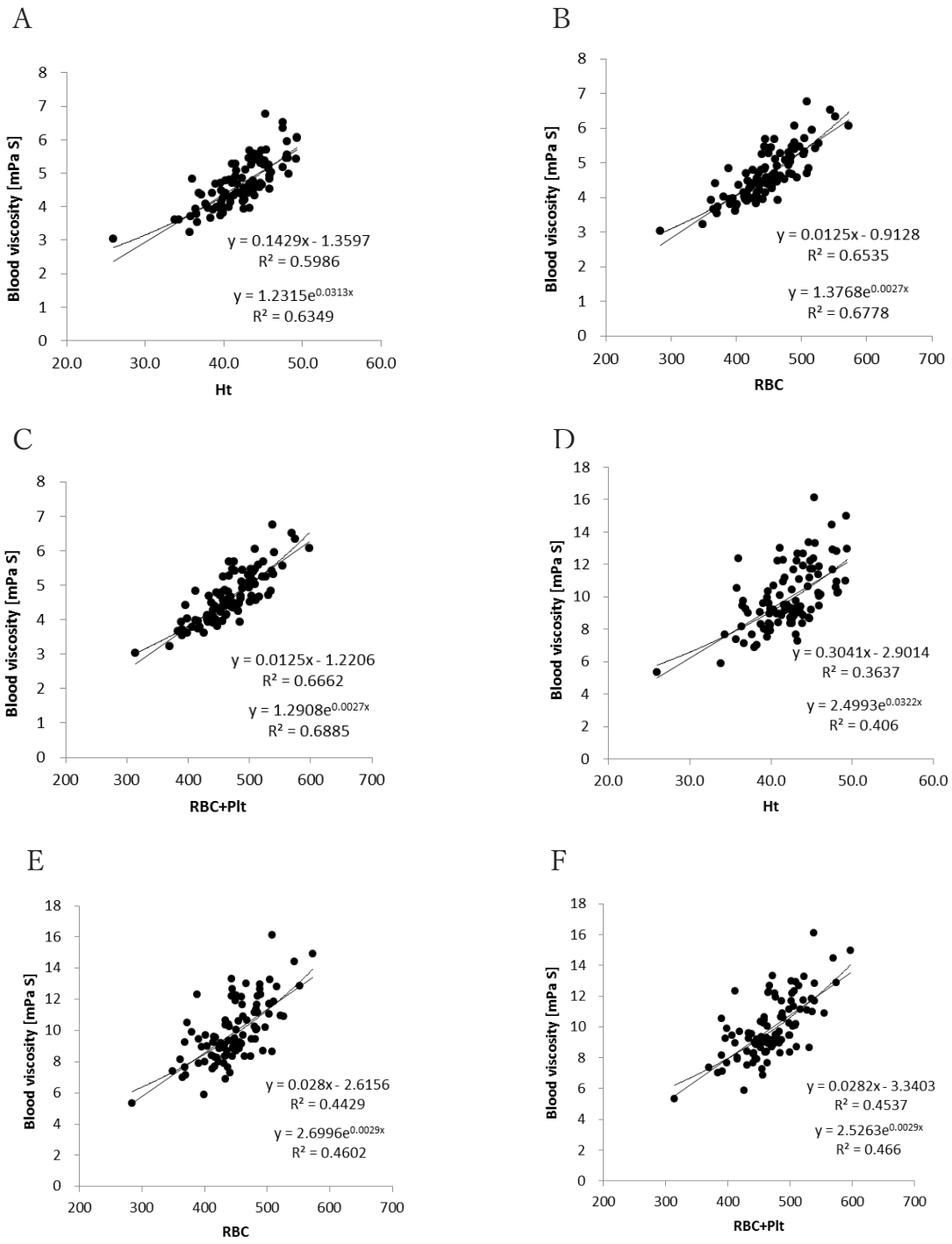


図 9 血液粘度および血液細胞パラメータの相関

グラフは、剪断速度 100 s^{-1} における、ヘマトクリット値（A)、赤血球数（B)、赤血球と血小板の総数（C）との相関を、また 10s^{-1} における、ヘマトクリット値（D)、赤血球数（E)、赤血球と血小板の総数（F）との相関を示す。

4. 血液粘度における性別や年齢の影響

血液粘度における性別と年齢の影響を、剪断速度 $100s^{-1}$ で調べた。血液粘度は、男性（n=58）で女性（n=42）よりも有意に高かった（p <0.001；図 10A)。赤血球と血小板の総数で男女差を比較すると、同様に女性よりも男性において有意に大きかった（p<0.001；図 10B)。散布図は、血液粘度と年齢との間に軽度の負の相関を示した（図 10C)。散布図はまた、赤血球と血小板の総数と年齢との間に軽度の負の相関を示した（図 10D)。

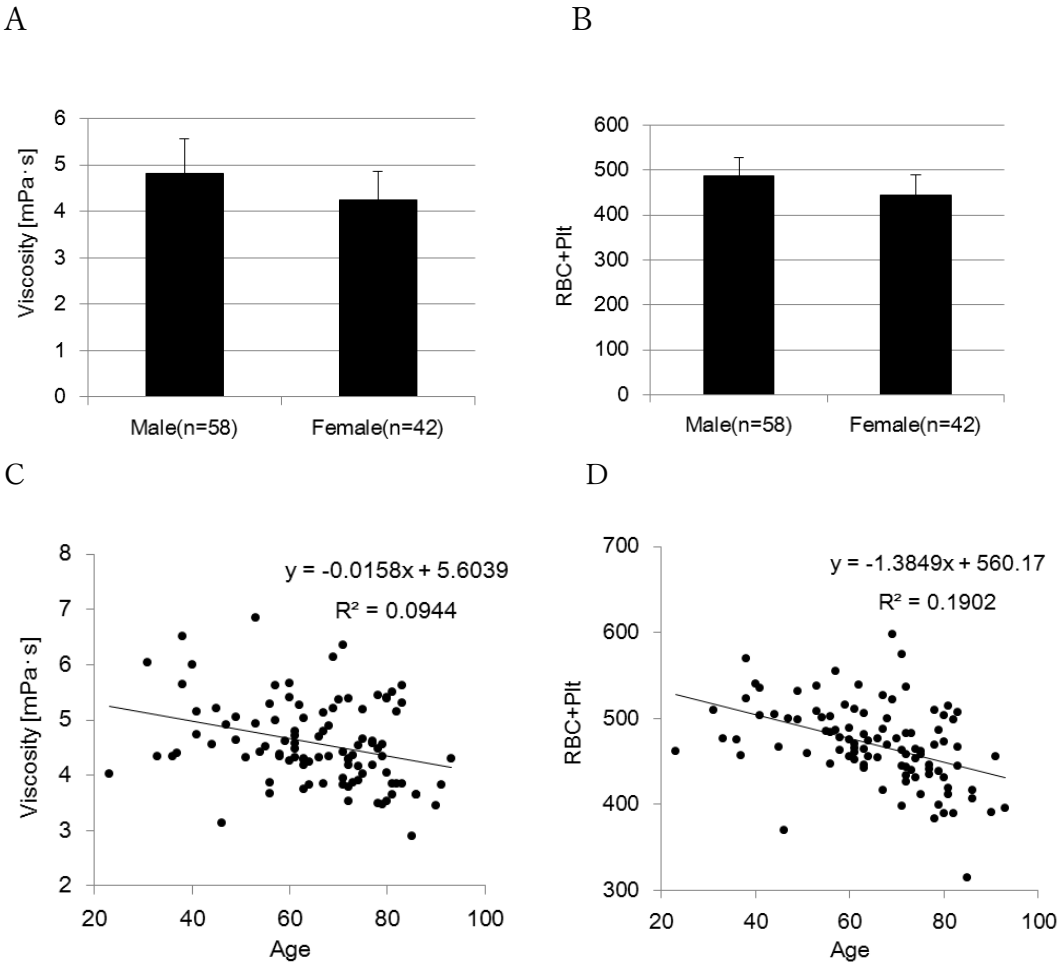


図 10 血液粘度における性別や年齢の影響

血液粘度（A）と、赤血球と血小板の総数（B）を、男女間で比較した。男性の値が A（P<0.001）でも、B（P<0.001）ともに女性の値よりも有意に大きかった。年齢と血液粘度の関係（C)、および年齢と赤血球と血小板の総数の関係（D）を散布図のグラフに示した。負の相関が C（P<0.001）でも、D（P<0.001）でも両方で観察された。

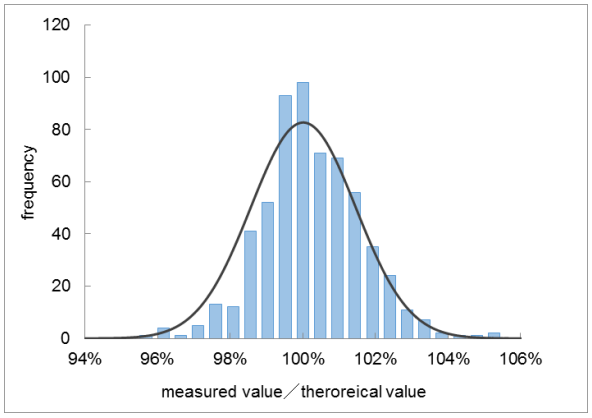
5. 血液粘度の剪断速度依存性を説明する簡単なモデル式の適用

我々は、100 例の安定期外来通院患者の血液サンプルから得られた血液粘度の実測値と、個々のサンプルに固有なパラメータである *Ai* と *pi* を用いて、

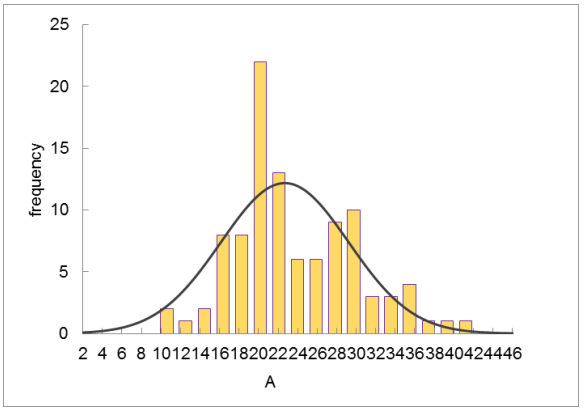
式（2）：$\eta_i(\gamma) = A_i \gamma^{-pi} + \eta_0$

で計算された血液粘度の理論値との一致度を調べた。最大誤差は、剪断変形率の測定範囲全体を通して、すべてのサンプルで 5%未満であることがわかった。血液粘度の測定値と理論値との比の分布は正規分布となり、標準偏差 δ =1.5%以下の結果であった（図 11A)。図 11 の B、C は、それぞれ、100 個のサンプルから個々に得られたパラメータ *Ai* と *pi* の分布を示している。粘度の大きさのパラメータである *Ai* は大きく異なっており、その標準偏差は約 15 mPa·s であった（図 11B)。緩和パラメータである *pi* はその平均値 0.42 の前後で比較的狭い分布を示したが、その分布幅は δp= 0.04 であった（図 11C)。

A



B



C

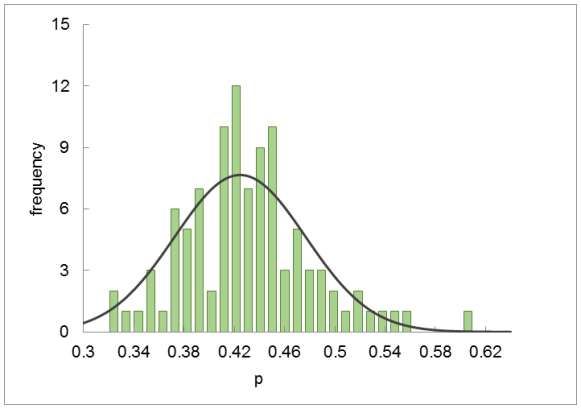


図 11 血液粘度の剪断速度依存性を説明する簡単なモデル式の適用

（A）血液粘度の測定値と式で計算された理論値との比は、正規分布となった。（B）計算式上の *"A"* 値の分布はほぼ正規分布を示した。（C）計算式上の *"p"* 値の分布はほぼ正規分布を示した。

6. 急性期虚血性脳卒中の各病型別の特徴

この研究では、92 名の急性期虚血性脳卒中患者（男性 58.7%、平均年齢 74.4±11.5 歳）を登録した。その中に CE 患者 25 名、LAA 患者 42 名、および SAO 患者 25 名を含んでいる。 総患者群と対照群（58.0%男性）の男女比に有意差は認められなかったが、全患者群の平均年齢（74.4±11.5）は対照群の平均年齢（65.5±14.8 歳）と比較して有意に高かった（P <0.01)。 CE 群（男性 44.0%、平均年齢 77.2±10.2 歳）と、LAA 群（男性 66.7%、平均 73.5±12.7 歳)、SAO 群（男性 60.0%、平均年齢 73.3±10.6 歳）の男女比または平均年齢に有意差は認められなかったが、女性および高齢患者の割合は CE 群でわずかに高かった。 CE 群で GCS（グラスゴー・コーマ・スケール）スコアが比較的低くなる傾向があったが、危険因子および神経学的重症度を含む他の統計的特徴にも有意差は認められなかった（表 1)。

表 1 全例および虚血性脳卒中病型別の統計的特徴

		Total	CE	LAA	SAO
N of patients		92	25	42	25
Age	year	74.4±11.5	77.2±10.2	73.5±12.7	73.3±10.6
Gender, male	N (%)	54(58.7)	11(44.0)	28(66.7)	15(60.0)
Hypertension	N (%)	85(92.4)	21(84)	40(95.2)	24(96)
Dyslipidemia	N (%)	53(57.6)	13(28.5)	24(57.4)	16(64)
Diabetes	N (%)	32(34.8)	9(36)	13(31)	10(40)
Smoking	N (%)	25(27.2)	5(20)	14(33.3)	6(24)
Alcohol	N (%)	28(30.4)	8(32)	14(33.3)	6(24)
GCS	score	14.36±1.63	13.72±2.37	14.43±1.45	14.88±0.33

略語：CE、心原性脳塞栓症；LAA、アテローム性動脈硬化症； SAO、小動脈閉塞；GCS、グラスゴー・コーマ・スケール

7. 急性期虚血性脳卒中の各病型別の血液粘度の比較と治療後の変化

虚血性脳卒中サブグループと対照群との間の血液粘度の比較(剪断速度：100 s^{-1})により、入院時の血液粘度は対照群（4.66±72 mPa·s）よりも SAO 群（5.37±1.11 mPa·s）において有意に高かった（P <0.01）（図 12)。 CE 群（4.85±1.09 mPa·s）および LAA 群(4.95±1.04 mPa·s)では、対照群と比較して血液粘度はわずかに高かったが、有意差はなかった（図 12)。 入院後、すべての群で血液粘度は点滴の静脈内注入による補液のために 1 週間後まで低下し、静脈内注入が終了した 2 週間後に上昇した（図 13ABC)。 SAO 群単独では、2 週間後（4.64±80 mPa·s）よりも、入院時（5.36±1.02 mPa·s）に有意に高い血液粘度を示した（図 13A)。 この結果は、入院時に異常に上昇した血液粘度が 2 週間後に正常レベルに戻ったことを示している。

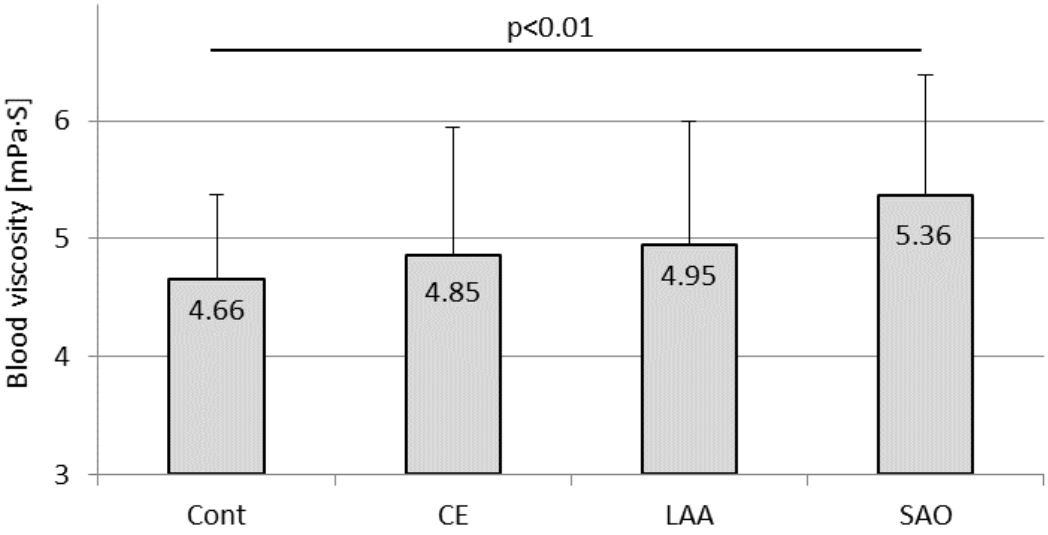
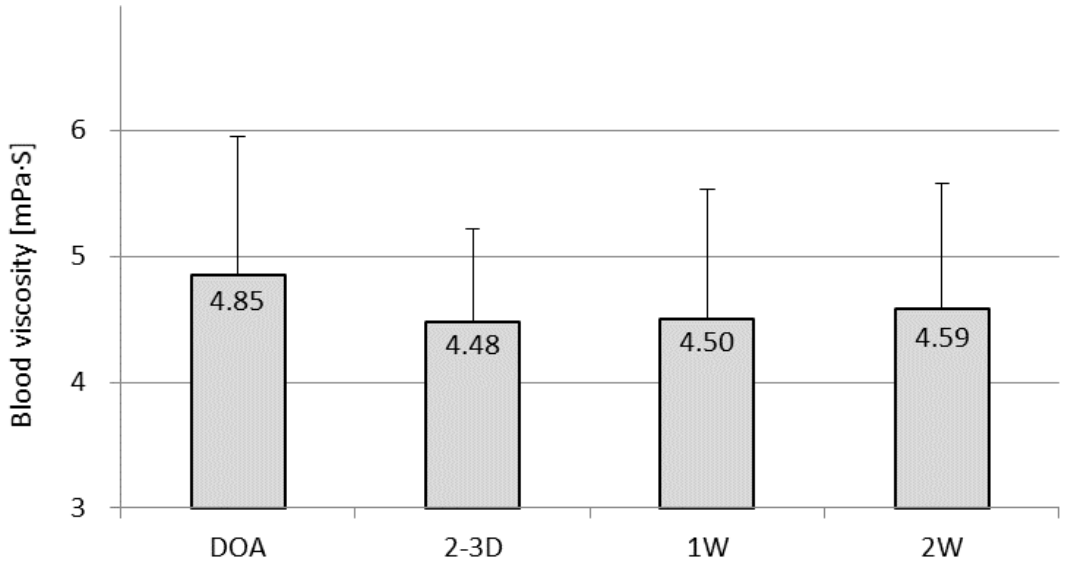


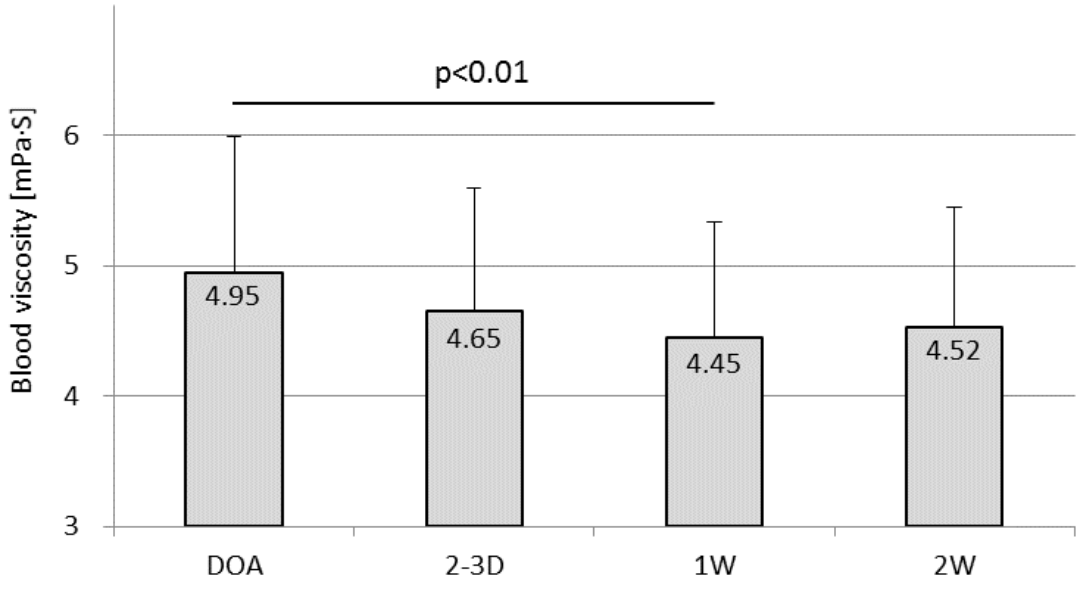
図 12　入院時の虚血性脳卒中サブグループと対照群との間の血液粘度の比較。
略語：Cont、コントロール； CE、心原性脳塞栓症； LAA、アテローム性動脈硬化症； SAO、小動脈閉塞

A



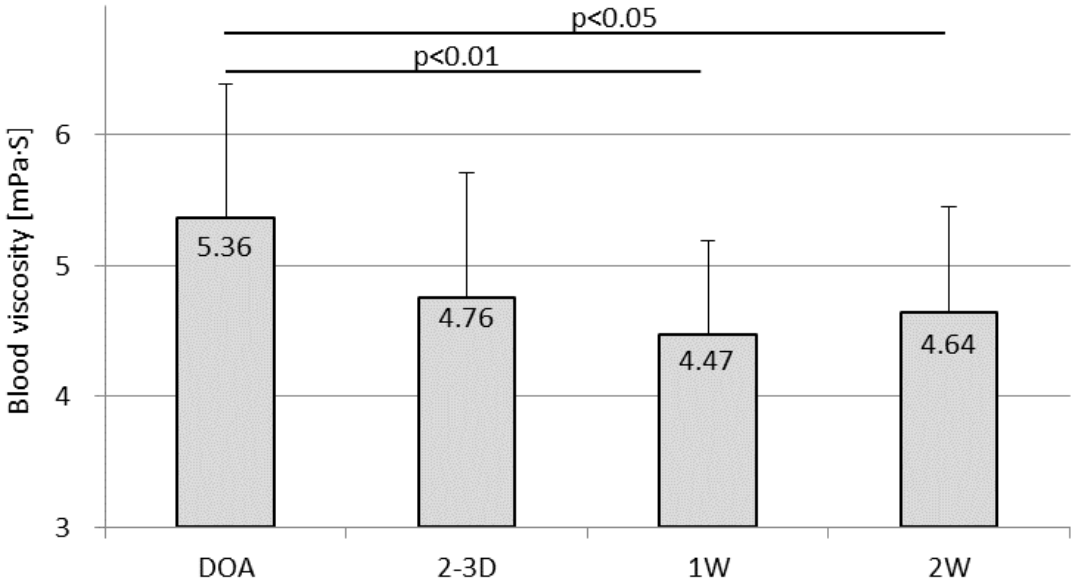
心原性脳塞栓症（CE）

B



アテローム性動脈硬化症（LAA）

C

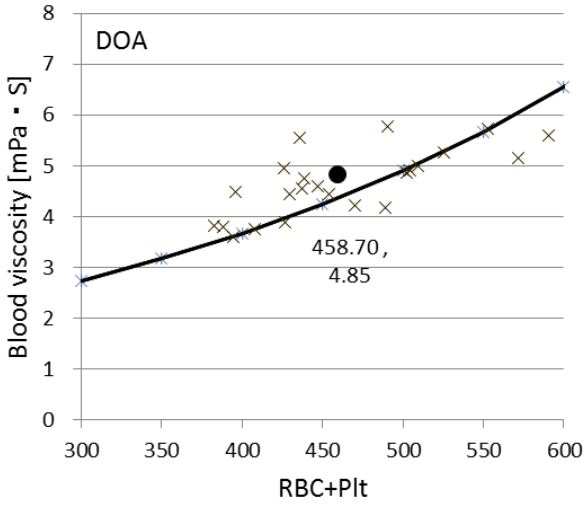


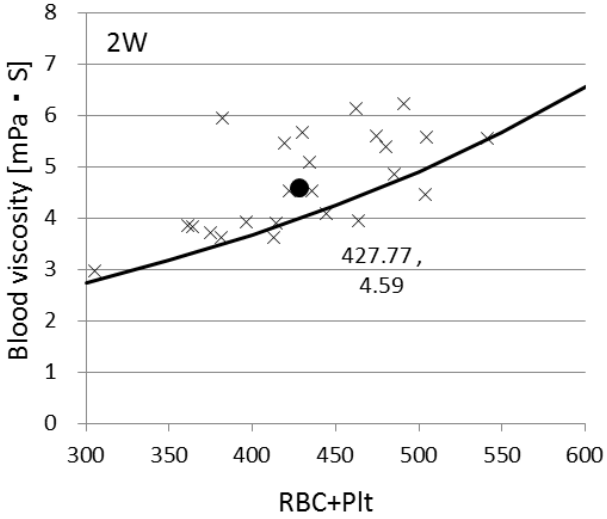
小動脈閉塞（SAO）

図 13　急性期虚血性脳卒中各病型における入院中の血液粘度の変化。
A 心原性脳塞栓症（CE）、B アテローム性動脈硬化症（LAA）、C 小動脈閉塞（SAO）
略語：DOA、入院日；2-3D、入院後 2〜3 日; 1W、入院後 1 週間； 2W、入院後 2 週間

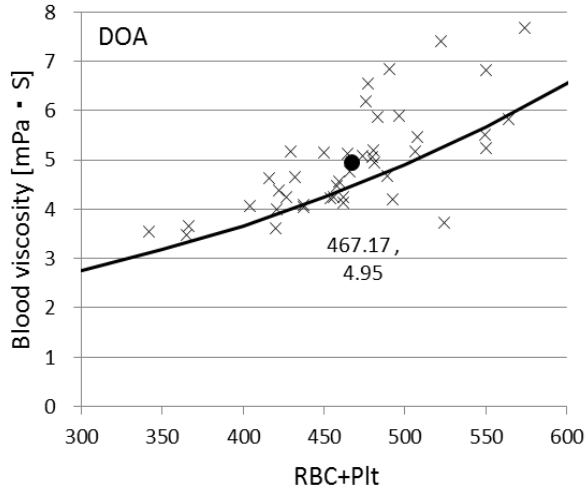
対照群では、前述のように、血液粘度は剪断速度 $100s^{-1}$ において、血球数（赤血球と血小板の総数）と指数関数近似式に従ってよく相関が認められた（Furukawa K et al. , 2016a）（図 9C）。そこで、脳卒中各病型群と対照群の、血液粘度と血球数の関係を調べた。入院時および 2 週間後の各脳卒中病型群からの個々の患者の血液粘度および血球数の値を、図 9C の指数近似曲線を伴うグラフ上にプロットすると、大部分のプロットは近似曲線よりも高く位置していた（図 14）。この結果は、患者の血液がより濃縮され、またはより多くの非細胞性物質を含み、血液粘度を上昇させたことを示す。さらに入院時および 2 週間後の脳卒中各病型群の血液粘度および血球数の平均値の変化をプロットすると、入院治療後のこれらの値の変化が明確に観察された（図 15）。すべての病型群で、治療後に血液粘度および血球数の低下・減少を示したが、入院時に最も高い血液粘度および血球数を有する SAO 群のものの低下が最も大きかった。

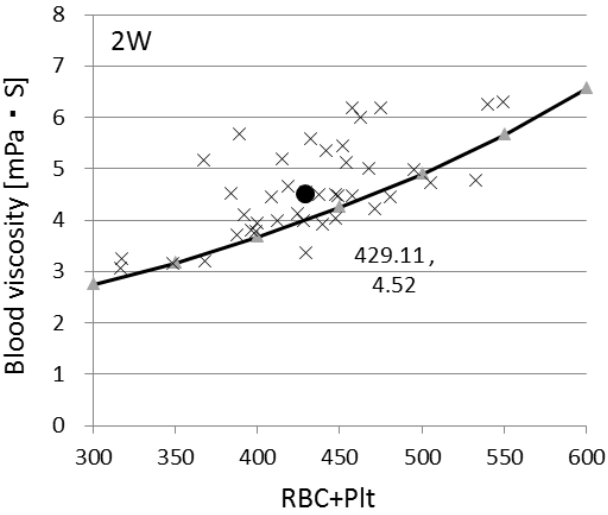
A CE



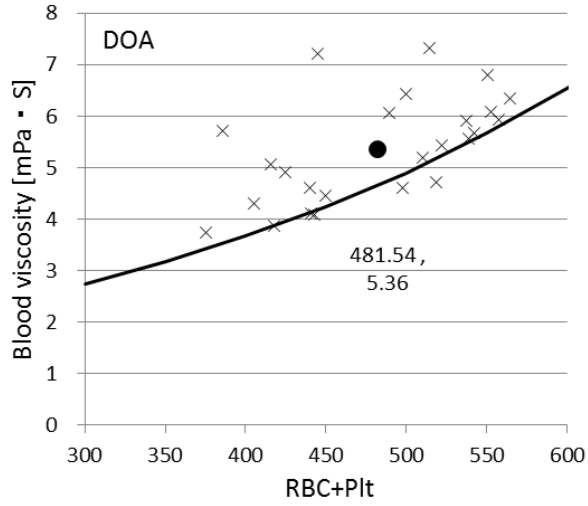


B LAA





C SAO



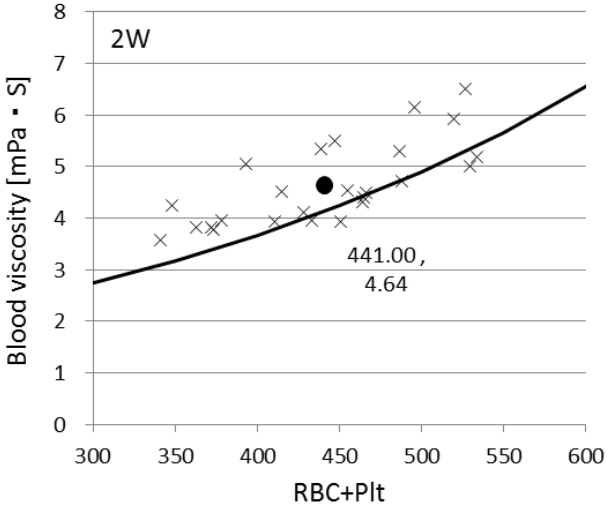


図 14 入院時および入院後 2 週間の急性期虚血性脳卒中各群の、剪断速度 $100s^{-1}$ において対照群と比較した血液粘度と血球数の関係
A 心原性脳塞栓症 (CE)、B アテローム性動脈硬化症 (LAA)、C 小動脈閉塞 (SAO)。×字は個々の患者を示し、黒丸と数字はすべての患者の平均値を示す。曲線は対照群の指数近似曲線を示す。
略語：DOA、入院日； 2W、入院後 2 週間； RBC + Plt、赤血球と血小板の総数

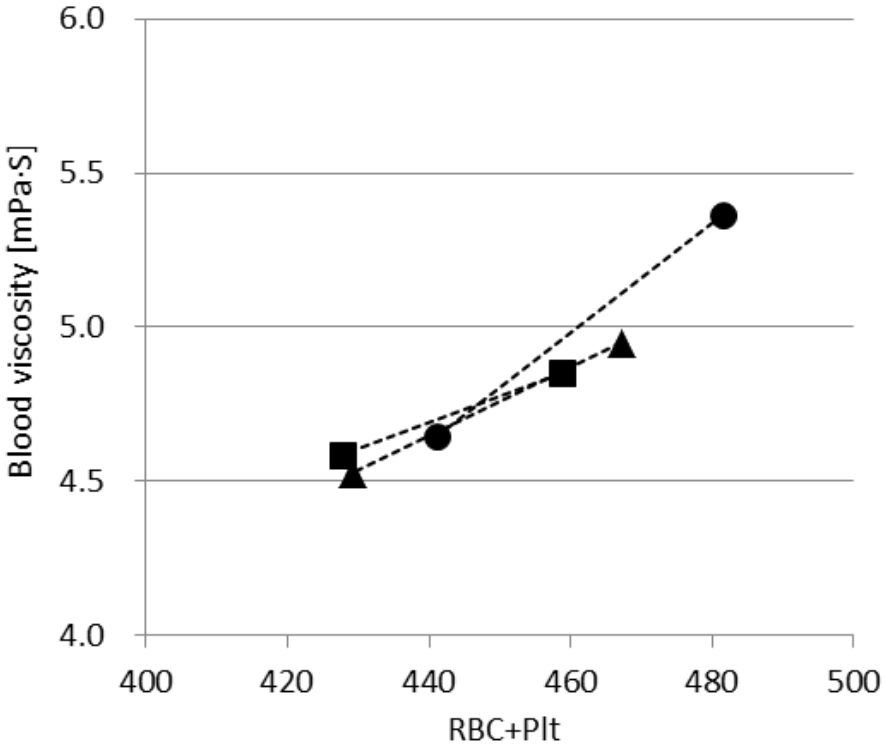


図 15 入院日から 2 週間後までの虚血性脳卒中の各病型群の血液粘度および血球数の平均値の変化。正方形、三角形および円形は、それぞれ■心原性脳塞栓症（CE)、▲アテローム性動脈硬化症（LAA)、●小動脈閉塞（SAO）を示す。
略語：RBC + Plt、赤血球と血小板の総数

Ⅶ　考察

１．剪断速度依存性における個人差

安定期外来通院患者 100 例の血液粘度の測定で得られたこれらの結果で、血液粘度が血球パラメータと剪断速度に依存することが明らかになった。

血液粘度は検査で得られた血球パラメータのなかで、赤血球と血小板の総数と最も強い相関を示した。この結果のとおり、赤血球と血小板の総数が小さい女性や高齢者の血液粘度は、より低い値であった。

注目すべきは、血液粘度の血液細胞パラメータへの依存性が、高い剪断速度で比較的高かったが、剪断速度が低くなると、この依存性が低下したことである。このため、モデル式（2）：$\eta_i(\gamma) = A_i\gamma^{-pi} + \eta_0$ を用いて、血液粘度の剪断速度への依存性を評価した。血液粘度の測定値と理論値の一致度は良好で、その差の標準偏差は 1.5%であった。Ai 値の分布は広く、また pi 値の分布も広い傾向があり、これらのことは血液粘度の剪断速度依存性における個人差が大きいことを示唆した。

２．血液パラメータとの関係、Ht 値より、血球数がより重要な血液粘度の予測因子

ヘマトクリット値は、血液粘度の値を決定する主な要因と考えられてきた。これまでの研究では、ヘマトクリット値と血液粘度との間に強い関係が報告されている（Linderkamp O et al.，　1978；Vazquez BY, 2012）。ヘマトクリット値から血液粘度値を予測する式が複数提唱された（de Simone et al. , 1990;81；Jeong SK et al. , 2013）。本研究でもヘマトクリット値と血液粘度との間に強い指数関数的な相関関係を証明した。しかしながら、赤血球と血小板の総数のほうが、ヘマトクリット値より血液粘度と強く相関した。この結果は、血液粘度が血球体積より血球粒子の数によって、より影響を受けやすいことを示している。この比較は、これまでヒトの臨床研究では検討されていないが、これまでに見られた動物実験では、血球数がヘマトクリット値より血液粘度に強く影響を与えることを証明していた（Nemeth N et al. , 2009）。この研究は、ラットとイヌとの間で、血液学的および流体力学的パラメータの比較を行っている。ヘマトクリット値ではラットとイヌとの間で有意差を認めなかった（44.46±2.98%と 45.91±4.57%；p=0.377）が、血液粘度および赤血球数は、ラットでイヌよりも有意に大きかった（血液粘度：4.68±0.70 mPa·s および 3.70±0.52 mPa·s、P <0.001；赤血球数：8.21±0.65x$10^6/\mu\ell$および 6.60±0.64 x$10^6/\mu\ell$、P <0.001）（Nemeth N et al. , 2009）。この知見は、ヘマトクリット値より、血球数がより重要な血液粘度の予測因子であることを示唆した。このため、従来のヘマトクリット値から算出した予測血液粘度については、信頼性に懸念がある。

3. 年齢の影響

年齢および性別は、血液粘度に影響を与えることが知られている。これまでの血液粘度に対する性別の影響を評価する研究では、男性が女性よりも有意に高い血液粘度値を有したことを明らかにしていて（de Simone et al. , 1990；Fowkes FG et al. , 1994；Rosenson RS et al. , 1996；Kameneva MV et al. , 1999)、これは本研究の結果と一致している。ヘマトクリットが男性で有意に高かったことと、血液粘度の有意な男女差がヘマトクリット値を 45%に正常化すると消失した（Rosenson RS et al. , 1996）ことから、血液粘度の男女差は、血液細胞パラメータの違いに依存すると思われる。血液粘度に対する年齢の影響に関しては、これまでの知見は一致していない。ある研究では、52±12 歳の正常成人で年齢と血液粘度との間に弱い正の相関を示した（de Simone et al. , 1990）のに対し、別の研究では、49.9±21.5 歳の健常ボランティアで、血液粘度が加齢と負の相関をしていることを示した（Coppola L et al. , 2000)。本研究では、65.5±14.8 歳の高齢の患者が登録されており、血液粘度と年齢との間に負の相関を示した。年齢の範囲を考慮すると、高齢者を含むグループは、貧血の有病率が高く高齢者で赤血球数が低下する（したがって赤血球と血小板の総数も低下する）ために、加齢と共に血液粘度が低くなると思われた。

4. 血液粘度は実測することが重要

単純な式：$\eta_i(\gamma) = A_i \gamma^{-pi} + \eta_0$ を用いた血液粘度の剪断速度依存性は、剪断速度を代入することで乳剤や懸濁剤の粘度を算出する、べき乗則に基づいていると考える。血液は、その中の様々な機械的な運動が剪断流と結びついた非ニュートン流体である。例えば赤血球のひずみや凝集が血流動態に影響を与えることが知られている。これらの働きは緩和時間と呼ばれ、ずり減粘（shear thinning）を示す曲線の傾きを決める。剪断速度による粘度の変化は、緩和時間の逆数によって決まる。緩和メカニズムの多様性は、緩和時間の分布を広げる。言い換えれば、*pi* は、粘度の流量依存性を示さないニュートン流体ではゼロであり、ただ一つの典型的なメカニズムが緩和を支配しているとすれば、*pi* は 1 に近くなる。より多くの緩和メカニズムが関与すると *pi* は減少し、様々な機械的自由度を持った血液のような複合流体では典型的には約 0.5 程度である。

血液粘度の実測値と理論値との比は 1.5%の標準偏差を有する正規分布を示した。1.5%の精度は、血行動態の数値解析のために十分であり、得られた結果は、個々の血液サンプルの流動曲線はたった 2 つだけの特有のパラメータである *Ai* と *pi* を用いて再現可能であることが立証された意味で意義深い。

Ai の値の分布を分析する場合、その標準偏差は約 15 mPa·s であった。これは、$\gamma = 1 s^{-1}$ の典型的な剪断変形率では、血液粘度が強く個々のサンプルに依存することを

示し、血液粘度の個々の値は、個々の血流の数値解析を考慮する必要があることを示唆した。*pi* の値の分布は、0.42 の平均値と 0.04 の標準偏差と比較的狭かった。ただし、*pi* は、血液粘度の剪断速度依存性を決定する上で重要な役割を果たし、その値は数値解析で実際の血流を正確に再現するために重要である。前述したように、*pi* は、液体の流れと結びついたメカニズムであるため、血液中のさまざまな機械的自由度を示している。 0.42 という平均値は、血液が広く分布した緩和時間を有することを示す。さらなる究明には、血液の剪断希釈プロセスのより詳細な分析が必要である。*Ai* と *pi* に個人差が大きいことから、血液粘度の値を得るには実測することが重要であると言えるだろう。

5. 急性期虚血性脳卒中患者の血液粘度

5.1. SAO 群の発症時の高血液粘度は治療後低下

我々は急性期虚血性脳卒中患者の血液粘度の測定に EMS 粘度計を初めて適用した。得られた結果は、SAO 群で入院時の血液粘度が対照群よりも有意に高かったことを示した。患者群では年齢が対照群よりも有意に高かったので、SAO 群で観察された有意に高い血液粘度においても年齢が一因となっているようにもみえる。しかし、対照群では前述のように、高齢者は加齢性の貧血により血液粘度がわずかに低下していることを報告した（Furukawa K et al. , 2016a）。したがって、SAO 群の高血液粘度は、SAO 自体の病態生理学的な状態に依存する可能性が高く、年齢によるものではない。すべての病型群で 2 週間後の血液粘度の低下を示すなかで、特に SAO 群は最も顕著な低下を示し、SAO 患者が発症時に最も血液が濃縮していることを示した。点滴治療が終了した 2 週間後には、経口または栄養チューブでの水分摂取により、患者に正常な含水状態が回復した。従って、入院日と 2 週間後との間で見られた血液粘度の差異は、治療による血液希釈によってではなく、発症時の脱水によって認められたものであると考えられた。

5.2. 病型により発症時の血液粘度に差がある

本研究の結果は、血液粘度は虚血性脳卒中の発症に対し、病型によって関与の仕方が異なることを示唆している。発症時の脱水による血液粘度の上昇によって SAO が最も影響を受けると思われたが、その一方で CE では影響が少なかった。これは、血栓形成の病因の相違に関連する可能性がある。血流抵抗は血液粘度と血管長に比例し、血管径の 4 乗に反比例する（Goldstein LJ et al. , 1991）。したがって、血液組成と濃度の変化により血液粘度が上昇すると、例えば狭窄した穿通枝動脈のような狭い血管では血流抵抗が著明に上昇する。このレオロジー的異常が、SAO における血栓形成に関連している可能性がある。他方、CE における血栓形成は、心房の動きの異常によ

る血液のうっ滞による影響が、血液粘度の上昇による影響よりもより大きい可能性がある。

これまでにも、虚血性脳卒中の急性期に血液粘度が増加することが示されていた（Ott EO et al. , 1974；Fisher M et al. , 1991；Tsuda Y et al. , 1997：Smith FB et al. , 1998；Kowal P et al. , 2007)。以前の研究ではほとんど、虚血性脳卒中のすべての病型を含んだ群の血液粘度を分析していた。1 件の研究でのみ、虚血性脳卒中の病型間の血液粘度を比較し、本研究の結果とは対照的に、検査した病型の中で CE 患者の血液粘度が最も高いことが示された（Fisher M et al. , 1991)。この食い違いを明確に説明することはできないが、その研究と今回の研究との間の患者の状態に相違があった可能性がある。1 つの可能性として、CE 患者の場合には神経学的症状が重度になることが少なくないため、それにより脳卒中発症後の水分摂取が十分でなかったことが、前述の研究で CE 患者の血液粘度の上昇に寄与したのかもしれない。

5.3. SAO 群で脱水の関与がより大きい

脱水は、一般に、虚血性脳卒中を予防するために避けるべき条件の 1 つと考えられている。しかしながら、脳卒中の発症時に脱水の関与の証拠を示した研究はほとんどない。この理由の 1 つは、脱水の判定に有用な明確な血液検査や診断基準がないということがあるかもしれない。 BUN クレアチニン比、ヘマトクリット値、電解質および血漿タンパク質レベルは脱水を評価するために使用されるが、脱水と同程度に他の要因の影響を受けやすい。これらの血液検査の中で、BUN クレアチニン比は、急性期虚血性脳卒中患者の予後の不良や進行性脳卒中に関連している（Lin LC et al. , 2011：Schrock JW et al. , 2012；Rowat A et al. , 2012)。ただし BUN-クレアチニン比は脱水だけでなく心不全によっても増加する。BUN クレアチニン比がより高いことが、心不全患者において、うっ血状態の重篤度や、入院リスク、死亡率に関連している（Lin HJ et al. , 2009；Parrinello G et al. , 2015)。そのために、心不全を伴う重度の CE は、高 BUN クレアチニン比と（急性虚血性脳卒中患者の）予後の不良や進行性脳卒中との関係に寄与すると、これまでの研究で報告されたのかもしれない。BUN クレアチニン比は脳卒中の重篤度を検出するのに有用かもしれないが、脱水を検出する理想的なツールではないのかもしれない。

既定の研究における上記の血液検査の値を調べ評価するために、我々もまた、ヘマトクリット値および BUN クレアチニン比を用い、3 つの脳卒中サブグループ間の値を比較した。表 2 は、入院日および 2 週間後の値を示す。 CE 群の BUN クレアチニン比を除いて、3 つの病型において 2 週間後にヘマトクリット値および BUN クレアチニン比の両方が有意に低下した。これらの値が低下した変化は、脱水による血液粘度および血球数の低下した変化（図 16）と同様の現象であると考えられる。ヘマトクリット値と BUN クレアチニン比の値は、SAO 群で最も高かった（表 2)。これは、

SAO 群が最も重度の脱水を有する可能性があることを示唆している。 CE 群の BUN クレアチニン比は、逆に 2 週間後に増加し、標準偏差も高くなった（表 2)。この変化はおそらく、心不全の進行のために BUN クレアチニン比が 30 を超えるような非常に高値の患者が数人存在したことが原因であろう。この BUN クレアチニン比の上昇は、ヘマトクリット値がこれらの患者で減少していたため、脱水に依存しないものと思われる（表 2)。

表 2　入院時および 2 週間後の、全急性期虚血性脳卒中および各 3 病型におけるヘマトクリット値および BUN / Cr の値

		Total	CE	LAA	SAO
No. of patients		92	25	42	25
Ht(DOA)	Value	40.6±4.5	39.7±5.4	40.3±4.1	41.8±4.0
Ht(2W)	Value	37.0±4.7*	36.6±5.4*	36.8±4.6*	37.9±4.3*
BUN/Cr(DOA)	Value	19.0±5.4	19.1±5.7	18.5±5.4	19.7±5.3
BUN/Cr(2W)	Value	18.1±7.7	22.3±11.3	16.3±5.6*	16.9±4.4*

略語：DOA、入院日； 2W、2 週間； Ht、ヘマトクリット値； BUN / Cr、BUN-クレアチニン比； CE、心原性脳塞栓症； LAA、アテローム性動脈硬化症； SAO、小動脈閉塞； ＊、入院日の値と比較して P <0.01

本研究は、血液粘度の上昇により、SAO の発症に対する脱水の寄与を初めて示した。前述のように、脱水には現時点で有効な臨床検査がないため、我々が行ったように、脳卒中発症時と、点滴治療が終了時との血液粘度を比較することも、脱水の一つの有効な評価として考慮してよいかもしれない。我々の知る限りでは、虚血性脳卒中の病型の間で脱水と SAO の発症との間の関係を立証した他の研究はこれまでにない。しかしながら、脳卒中の発生率における季節的な差異の研究が、脱水症が SAO の発症に寄与することを支持する可能性がある。日本からのサンプルサイズが大きい（10,000 を超える）2 つの研究では、それぞれに SAO が夏期に頻度が高く、CE が冬期に頻度が高いという同じ結果を示した（Ogata T et al. , 2004；Takizawa S et al. , 2013)。日本の夏は非常に高温で、脱水や熱中症を招きやすい（Ng CF et al. , 2014）ため、多くの人々に広く脱水が起こり得る。そのなかで穿通枝動脈に狭窄病変を有する者は SAO を発症しやすい。最近のレビューでは、小血管疾患において脱水に起因する血液粘性の上昇の重要性が強調されている（Østergaard L et al. , 2016)。これま

での知見や本研究の結果をまとめてみると、SAO の病因について脱水が重要であることを示しているが、CE の病因についてはそれほどではないと言える。

5.4. 本研究の限界

本研究では、得られた結果を解釈する際に考慮するべき限界がいくつかある。我々は少数の日本人患者を調べただけで、これが一般的に言えるかどうかという懸念がある。さらに対照群は患者群と年齢を一致させていない。しかしながら、このミスマッチは既に述べた理由から、今回得られた結果に影響を与えないと考える。さらに限界について言及すると、血液粘度の測定を開始する入院時に脱水を診断することができない。脱水を診断するためには、発症時と点滴治療が終了した後日の血液粘度の比較を待たなければならない。このため、入院時の血液粘度の上昇は、脱水症に由来することもあれば、血球増多症やマクログロブリン血症といった別の原因に由来する可能性もありうるのである。

Ⅷ　結論

本研究では以下のような知見が得られた。

① EMS 粘度計を初めて臨床応用した。

② 血液粘度は血球パラメータの特に血球数と剪断速度に依存し、その剪断速度依存性は個体差があるため血液粘度の評価には実測することが重要である。

③ 虚血性脳卒中の SAO 群で入院時の血液粘度が有意に高い。

④ SAO の発症の原因に脱水の関与が示唆され、病因において脱水の重要性が強調されるべきである。

⑤ EMS 粘度計を用いる血液粘度の測定は、0.3 ㎖の少量サンプルで可能であり、非常に簡便であることから、血管障害性疾患における血行動態に関連する病因を理解するために有望である。

本研究では、初めて EMS 粘度計を臨床応用し、血液粘度を測定した。安定期外来通院患者 100 例に対して、血液粘度が血球パラメータの特に血球数と剪断速度に依存するという重要な見識をもたらした。この研究の結果は、血球パラメータへの依存性が剪断速度にあわせて変化することを明らかにした。そして、その剪断速度への依存性は個体差があることがわかり、血液粘度の評価のためには実際にその個体で測定することが重要であることを示唆する。

この必要性において、EMS 粘度計は、血液汚染がより少ないこと、血液沈降が少ないこと、たった 0.3 ㎖の最小限のサンプル量しか必要としないこと等、その有利な測定特性のために有用性が高い。したがって、EMS 粘度計を用いる血液粘度の測定は、血管障害性疾患における血行動態に関連する病因を理解するために有望であると思われた。

急性期虚血性脳卒中では、SAO 群で入院時の血液粘度が対照群よりも有意に高く、また同じ群の 2 週間後と比較しても有意に高いことを証明した。入院時の血液粘度の上昇は、患者が 2 週間後に正常な含水状態に戻ったことから、脱水によってもたらされたと思われた。SAO の病因において、脱水の重要性がより強調される必要がある。一方、CE の病因についてはそれほどではないと言える。

虚血性脳卒中の病因を正しく理解していれば、その治療や予防に効果的なアプローチを行うことができる。EMS 粘度計の臨床応用は、虚血性脳卒中の病因を理解し、鑑別するために有用であると思われた。

本研究では、得られた結果を解釈する際に考慮するべき限界がいくつかある。その一つが少数の日本人患者を調べただけで、これが一般的に言えるかどうかという懸念である。今後症例が増えていけば、さらに制度が高い結果が得られ、一般的な知見となる可能性がある。

EMS 粘度計による血液粘度測定は、簡便かつ迅速に実施することができ、日常の外来診療においても容易に実施することができる。現在 SAO 群のような血栓症の二次予防には抗血小板薬が用いられているが、血小板凝集能が適切に抑制されている症例であっても虚血性脳卒中を再発することが少なくなく、それには脱水の関与が示唆されている。日常診療でリアルタイムに血液粘度を測定して、それを二次予防の指導に生かすことができれば、虚血性脳卒中の予防に寄与し、一石を投じることが可能かもしれない。将来的に、EMS 粘度計などの機器による簡便な血液濃度の測定が、虚血性脳卒中の予防に役立つ、有望な検査となりうると期待する。

IX　謝辞

本研究をご指導くださった、北海道大学大学院医学研究院脳神経外科分野 寶金清博教授に感謝を申し上げます。そして、指導教官である北海道大学病院客員臨床准教授鐙谷武雄先生に感謝をいたします。貴重な時間を割いて丁寧にご指導をくださったことはどんなに感謝してもしつくせません。EMS 粘度計についてデータ解析にご指導をくださった東京大学生産技術研究所 酒井啓司先生、サンプル収集の機会を与えてくださった北海道脳神経外科記念病院 会田敏光院長、札幌麻生脳神経外科 飛騨一利院長、さらには私の研究にご理解とご協力をいただきましたすべての関係者の方に、深くお礼を申し上げます。　古川浩司

X　利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

XI　引用文献

・Bhatnagar SK, Hudak A, Al-Yusuf AR. (1985). Left ventricular thrombosis, wall motion abnormalities, and blood viscosity changes after first transmural anterior myocardial infarction. Chest. 88:40-44.

・Brown MM, Marshall J. (1985). Regulation of cerebral blood flow in response to changes in blood viscosity. Lancet. 1:604–609.

・Chhabra RP. (2010). Non-Newtonian fluids: an introduction. In: Deshpande AP, Krishnan JM, Kumar S, editors. Rheology of complex fluids. New York: Springer-Verlag. 3-34.

・Cho YI, Cho DJ, Rosenson RS. (2014). Endothelial shear stress and blood viscosity in peripheral arterial disease. Curr Atheroscler Rep. 16:404. doi: 10.1007/s11883-0140404-6.

・Coppola L, Caserta F, De Lucia D, Guastafierro S, Grassia A, Coppola A, Marfella R, Varricchio M. (2000). Blood viscosity and aging. Arch Gerontol Geriatr. 31:35–42.

・de Simone G, Devereux RB, Chien S, Alderman MH, Atlas SA, Laragh JH. (1990). Relation of blood viscosity to demographic and physiologic variables and to cardiovascular risk factors in apparently normal adults. Circulation. 81:107–117.

・Devereux RB, Case DB, Alderman MH, Pickering TG, Chien S, Laragh JH. (2000). Possible role of increased blood viscosity in the hemodynamics of systemic hypertension. Am J Cardiol.　85:1265-1268.

・Eckmann DM, Bowers S, Stecker M, Cheung AT. (2000). Hematocrit, volume expander, temperature, and shear rate effects on blood viscosity. Anesth Analg. 91:539-545.

・Eisenberg S. (1964). Changes in blood viscosity, hematocrit value, and fibrinogen concentration in subjects with congestive heart failure. Circulation. 30:686–693.

・Fisher M, Meiselman HJ. (1991). Hemorheological factors in cerebral ischemia. Stroke. 22:1164–1169.

・Fowkes FG, Pell JP, Donnan PT, Housley E, Lowe GD, Riemersma RA, Prescott RJ. (1994). Sex differences in susceptibility to etiologic factors for peripheral atherosclerosis. Importance of plasma fibrinogen and blood viscosity. Arterioscler Thromb. 14:862–868.

・Fukunaga K, Onuki M, Ohtsuka Y, Hirano T, Sakai K, Ohgoe Y, Katoh A, Yaguchi T, Funakubo A, Fukui Y. (2013). Blood viscometer applying electromagnetically spinning method. J Artif Organs. 16:359–367.

・Furukawa K, Abumiya T, Sakai K, Hirano M, Osanai T, Shichinohe H, Nakayama N, Kazumata K, Aida T, Houkin K. (2016a). Measurement of human blood viscosity by an electromagnetic spinning sphere viscometer. J Med Eng Technol. 40:285-292.

・Furukawa K, Abumiya T, Sakai K, Hirano M, Osanai T, Shichinohe H, Nakayama N, Kazumata K, Hida K, Houkin K. (2016b). Increased Blood Viscosity in Ischemic Stroke Patients with Small Artery Occlusion Measured by an Electromagnetic Spinning Sphere Viscometer. J Stroke Cerebrovasc Dis. Nov;25(11):2762-2769.

・Goldstein LJ, Rypins EB. (1991). Blood vessel modeling. Int J Biomed Comput. 29:23-29.

・Grotta J, Ackerman R, Correia J, Fallick G, Chang J. (1982). Whole blood viscosity parameters and cerebral blood flow. Stroke. 13:296–301.

・Jeong SK, Rosenson RS. (2013). Shear rate specific blood viscosity and shear stress of carotid artery duplex ultrasonography in patients with lacunar infarction. BMC Neurol. 13:36.

・Kameneva MV, Watach MJ, Borovetz HS. (1999). Gender difference in rheologic properties of blood and risk of cardiovascular diseases. Clin Hemorheol Microcirc. 21:357–363.

・Keatinge WR, Coleshaw SR, Easton JC, et al. (1986). Increased platelet and red cell counts, blood viscosity, and plasma cholesterol levels during heat stress, and mortality from coronary and cerebral thrombosis. Am J Med. 81:795–800.

・Kowal P, Marcinkowska-Gapińska A. (2007). Hemorheological changes dependent on the time from the onset of ischemic stroke. J Neurol Sci. 258:132-136.

・Linderkamp O, Strohhacker I, Versmold HT, Klose H, Riegel KP, Betke K. (1978). Peripheral circulation in the newborn: interaction of peripheral blood flow, blood pressure, blood volume, and blood viscosity. Eur J Pediatr. 129:73–81.

・Linderkamp O, Stadler AA, Zilow EP. (1992). Blood viscosity and optimal hematocrit in preterm and full-term neonates in 50- to 500-micrometer tubes. Pediatr Res. 32:97-102.

・Lin HJ, Chao CL, Chien KL, Ho YL, Lee CM, Lin YH, Wu YW, Hsu RB, Chou NK, Wang SS, et al. (2009). Elevated blood urea nitrogen-to-creatinine ratio increased the risk of hospitalization and all-cause death in patients with chronic heart failure. Clin Res Cardiol. 98:487-492.

・Lin LC, Fann WC, Chou MH, Chen HW, Su YC, Chen JC. (2011). Urine specific gravity as a predictor of early neurological deterioration in acute ischemic stroke. Med Hypotheses. 77:11-14.

・Lowe GD, Lee AJ, Rumley A, Price JF, Fowkes FG. (1997). Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. Br J Haematol. 96:168–173.

・Nemeth N, Alexy T, Furka A, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Miko I. (2009). Inter-species differences in hematocrit to blood viscosity ratio. Biorheology. 46:155–165.

・Ng CF, Ueda K, Ono M, Nitta H, Takami A. (2014). Characterizing the effect of summer temperature on heatstroke-related emergency ambulance dispatches in the Kanto area of Japan. Int J Biometeorol. 58:941-948.

・Ogata T, Kimura K, Minematsu K, Kazui S, Yamaguchi T; Japan Multicenter Stroke Investigators' Collaboration. (2004). Variation in ischemic stroke frequency in Japan by season and by other variables. J Neurol Sci. 225:85-89.

・Os I, Høieggen A, Larsen A, Sandset PM, Djurovic S, Berg K, Os A, Birkeland K, Westheim A. (2003). Smoking and relation to other risk factors in postmenopausal women with coronary artery disease, with particular reference to whole blood viscosity and beta-cell function. J Intern Med. 253:232-239.

・Østergaard L, Engedal TS, Moreton F, Hansen MB, Wardlaw JM, Dalkara T, Markus HS, Muir KW. (2016). Cerebral small vessel disease: capillary pathways to stroke and cognitive decline. J Cereb Blood Flow Metab. 36:302-325.

・Ott EO, Lechner H, Aranibar A. (1974). High blood viscosity syndrome in cerebral infarction. Stroke. 5:330–333.

・Parrinello G, Torres D, Testani JM, Almasio PL, Bellanca M, Pizzo G, Cuttitta F, Pinto A, Butler J, Paterna S. (2015). Blood urea nitrogen to creatinine ratio is associated with congestion and mortality in heart failure patients with renal dysfunction. Intern Emerg Med. 10:965-972.

・Pop GA, Duncker DJ, Gardien M, Vranckx P, Versluis S, Hasan D, Slager CJ. (2002). The clinical significance of whole blood viscosity in (cardio)vascular medicine. Neth Heart J. 10:512–516.

・Rim SJ, Leong-Poi H, Lindner JR, Wei K, Fisher NG, Kaul S. (2001). Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity. Circulation. 104:2704-2709.

・Rosencranz R, Bogen SA. (2006). Clinical laboratory measurement of serum, plasma, and blood viscosity. Am J Clin Pathol. 125:S78–S86.

・Rosenson RS, McCormick A, Uretz EF. (1996). Distribution of blood viscosity values and biochemical correlates in healthy adults. Clin Chem. 42:1189–1195.

・Rowat A, Graham C, Dennis M. (2012). Dehydration in hospitaladmitted stroke patients: detection, frequency, and association. Stroke. 43:857-859.

・Sakai K, Hirano T, Hosoda M. (2010). Electromagnetically spinning sphere viscometer. Appl Phys Express. 3:016602.

・Schrock JW, Glasenapp M, Drogell K. (2012). Elevated blood urea nitrogen/creatinine ratio is associated with poor outcome in patients with ischemic stroke. Clin Neurol Neurosurg. 114:881-884.

・Smith FB, Rumley A, Lee AJ, Leng GC, Fowkes FG, Lowe GD. (1998). Haemostatic factors and prediction of ischaemic heart disease and stroke in claudicants. Br J Haematol. 100:758-763.

・Takizawa S, Shibata T, Takagi S, Kobayashi S; Japan Standard Stroke Registry Study Group. (2013). Seasonal variation of stroke incidence in Japan for 35631 stroke patients in the Japanese Standard Stroke Registry, 1998-2007. J Stroke Cerebrovasc Dis. 22:36-41.

・Tsuda Y, Satoh K, Kitadai M, Takahashi T. (1997). Hemorheologic profiles of plasma fibrinogen and blood viscosity from silent to acute and chronic cerebral infarctions. J Neurol Sci. 147:49–54.

・Vazquez BY. (2012). Blood pressure and blood viscosity are not correlated in normal healthy subjects. Vasc Health Risk Manag. 8:1–6.