The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	フィブリンを磁場内で重合させると配向する
Author(s)	東, 照正; 佐川, 節子; 河口, 直正 他
Citation	大阪大学低温センターだより. 1988, 62, p. 7-10
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/9790
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

フィブリンを磁場内で重合させると配向する

医療技術短期大学部　東　照正　佐川節子　河口直正　大西俊造

はじめに

人は古来、磁場が生体になんらかの影響を与えるに違いないと考えてきた。医療面でも民間療法を中心に、種々の応用がなされている。しかし、その効果を科学的に定量化し、さらに、作用機構を知る試みは少なかった。一方、科学技術の急速な進歩によって、NMRによる画像診断や、リニヤモーターカーなど、生体が強い磁場に暴露される機会が増加している。このため、生体に及ぼす磁場の影響を系統的に解明していく必要が生じ、近年は多数の優れた研究が発表されるようになった。

磁場の影響について研究を進める場合、(1)磁場が変動磁場か、定常磁場か、(2)定常磁場なら、磁場勾配があるか否か，(3)磁場の強さ、(4)磁場の作用時間、(5)生体の反応特性などを考慮して実験条件を設定する必要がある。幸い、低温センターには、長時間にわたって８Ｔの定常磁場を発生し、しかも、生物試料を入れるのに十分なスペースを有する、超伝導マグネットが設置されている。そこで、この装置を利用して、低温センター・極限物質研究センター・理学部・医療技術短期大学部・医学部の研究者が、強い定常磁場の生体影響について学際的共同研究を行っている。その一環として最近、磁場内での生体高分子の挙動を調べるために、フィブリン重合反応を取り上げ、光学的測定や電子顕微鏡による形態学的観察によって、フィブリン分子の磁場内配向や分子間相互作用の磁場強度依存性などについて検討しているので、ここに紹介する。

材料と方法

血液凝固第１因子のフィブリノーゲンは分子量340,000、長軸：短軸＝450Å：90Åの棒状タンパク質であり、セリンプロテアーゼのトロンビンで限定分解されてフィブリンになる。このとき、フィブリンはその分子表面荷電分布が変わるため、長軸方向に半分ずつずれてイオン結合していき、また、それが束ねられて太いフィブリンファイバーに成長していく。これは互いにネット状に絡まりあい、その溶液全体をゲル状に変える（図１）。[1]

実験では、1.5−2.2×10^{-5}Mの牛フィブリノーゲン溶液（0.05M Tris・Cl、0.03M NaCl、pH7.4)にトロンビン（終濃度0.01u/mℓ)を加えて30分から２時間のゆっくりした重合反応を起こさせた。このとき、磁場を印加し、サンプルの光透過率や偏光率の変化を調べた。

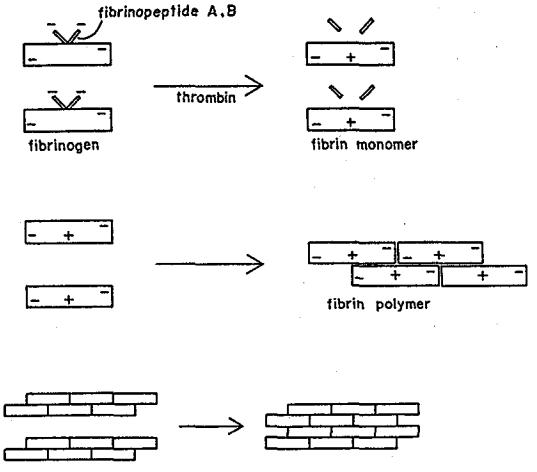

図１　フィブリノーゲン—フィブリン変換反応とフィブリン重合反応の模式図

低温センターの超伝導マグネットは、８Ｔの室温空間がφ６cm×10cmの広さで確保できるた

め、生物実験系の設定にはきわめて有用である。まず、生物試料の強磁場内での振舞いを調べるのに、種々の光学的測定装置を製作して、透過率・偏光率などを測定できるようにした。このとき、その測定系自体への強磁場の影響を避けるため、サンプルセルへのレーザー光の導入・導出は光ファイバーを利用し、光検出装置などをマグネットから離して設置した。サンプルセルの温度は恒温装置からの循環水で制御できる構造にした。これらの装置をφ5㎝×6㎝の円柱状にまとめた。また、同様の装置をコントロール用としてマグネット外に設置した（図2）。

結　果

重合反応の進行にともなって、溶液は濁度を増し、透過率はS字状に減少していく。このとき、透過率の約20%最大変化率のあたりから偏光が始まり、反応の進行につれて大きくなった（図3）。また、その約50%最大変化率を越えると、サンプルをマグネットの外に出しても、偏光率は減少しなかった。

透過率の減少は、太いフィブリンファイバーの形成による光散乱のためであるが、偏光率の増大は、フィブリンファイバーが磁場内で一定の方向に配向した結果である。フィブリンファイバーが配向したまま、ある程度成長すると、そのまま互いに絡まり合って動かなくなるため、反応が約50%以上進行した後で磁場がなくなっても、偏光率が減少しないものと考えられる。

配向したフィブリンゲルは全体に柔らかく、配向方向に直角方向への張力に弱いなど、磁場を印加しなかったゲルに比べると、明らかに脆弱であった。反応終了後、サンプルをグルタルアルデヒドで固定し、アルコール脱水

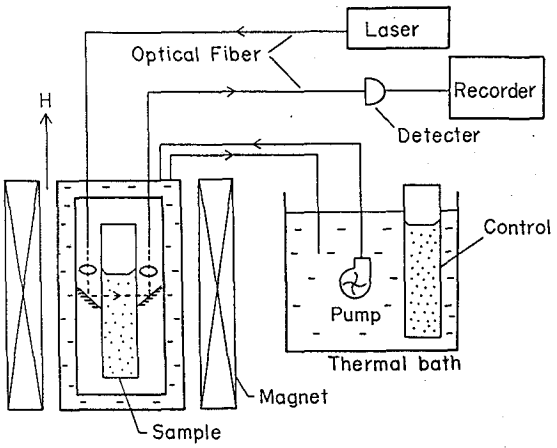

図2　超伝導マグネットにおける透過光強度測定装置

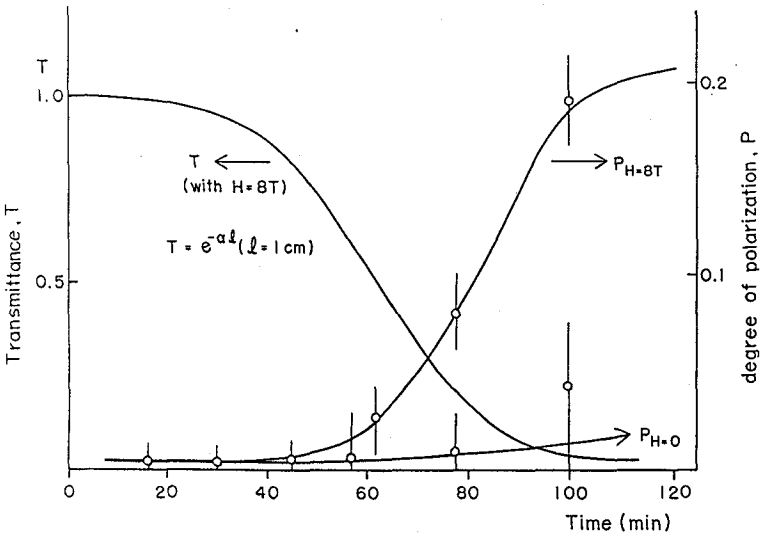

図3　フィブリン重合反応における分光学的指標の経時変化、
T：透光度，$P_{H=8T}$　：磁場内の反応での偏光率
$P_{H=0}$　：コントロールの偏光率

の後、走査型電子顕微鏡の試料を作成した。フィブリンファイバーは磁場方向に整然と配向していた。リファレンスでは、ファイバーが完全にランダムに絡まり合っていた（図4）。

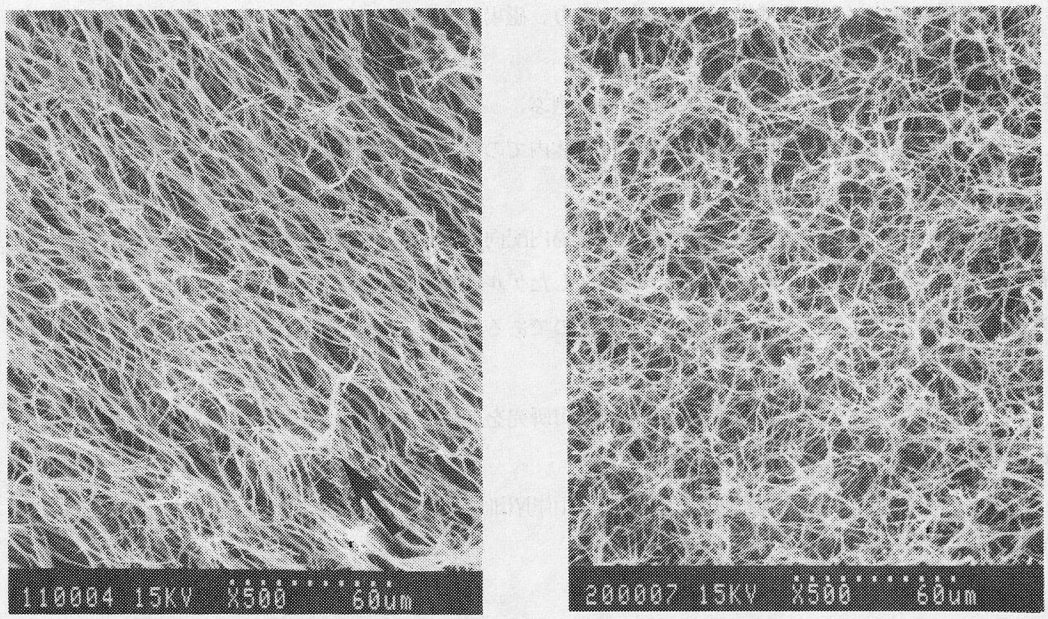

図4　走査型電子顕微鏡によるフィブリンファイバー像

a．磁場内で重合反応を起こした場合
（ファイバーは磁場方向に配向している。
図中右下に磁場方向を黒矢印で示す。）

b．コントロール
（ファイバーはランダムに絡み合っている）

考　察

フィブリン分子が磁気異方性を有し、強い定常磁場内でゲル化反応を起こすと、長軸に平行に配向することは、よく知られている。[2] われわれは実験条件を工夫することで、従来より弱い磁場強度での配向を観察しえた。ここで、フィブリン配向における磁場の作用機構について考察してみよう。

フィブリノーゲン（MW：3.4×10^5）は約33％のα－ヘリックスを含有している。アミノ酸の平均分子量を 150とすると、α－ ヘリックス中のペプチド基は約 750個である。これは三次構造上、フィブリノーゲンの長軸に直角に並んでいる。ペプチド基の反磁性磁化率の異方性ΔK_Mを 5.4×10^{-6}と見積もり、[3] 磁化率の加成性を考慮すると、フィブリノーゲンのタンパク分子主軸に対するモル磁化率の異方性$\Delta\chi$は 2.0×10^{-3}となる。従って、仮に$H=8$ Tの磁場を考えると、フィブリノーゲンへの磁気エネルギーは$\Delta E=H^2\Delta\chi/2=6.4\times10^6$erg となり、これは、室温での分子の熱運動エネルギー$N_A kT=2.5\times10^{10}$erg の約4000分の1である。走査電子顕微鏡写真で見たフィブリンファイバーの直径は約2000Å程度であるから、直径90Å×長軸長 450Åのフィブリンが約 400本、束ねられていることになり、フィブリンが数 100本つながってファイバー長が数10μmになると、磁気エネルギーの方が十分大きくなり、分子の動きを制御しうるものと考えられる。均一磁場内では、磁場方向と分子軸のなす角度に応じて磁気モーメントが生じ、分子は回転して磁場方向に配向することになる。

磁場の生体影響を系統的に解明し、その科学的知見に基づく安全規準を設定することが、時代の急務となっている。この時、留意することが望ましい点は、

1) 磁場の生体への作用機構が解明されており、磁場強度－生体反応の相関が明確になっている現象を用いる、

2) 測定方法が簡単で、定量性のあるものを選ぶ、

3) 生体物質や反応系への影響が、実際に人体内での生理作用に影響を及ぼすものを対象にする、

などである。

今回レポートしたフィブリンファイバーの磁場内配向は、1)作用機構が明確である点、2)分光学的に複屈折や偏光をモニターすればよい点、3)配向したゲルは脆弱であり、止血作用・血栓症の発症・治療など、実際の生理作用に大きな影響を与えるものである点で、これらの条件にかなっていると考えられる。

以上のことから、このテーマについて更に応用研究を進めることで、安全基準の設定の一助となるものと考えている。

なお、この研究は、極限物質研究センター　山岸昭雄、理学部　伊達宗行らとともに行なわれているものです。

文　献

1) 新版日本血液学全書刊行委員会：血液学的検査・正常値. 新版日本血液学全書, 13, pp1 (1979)

2) J-M. Freyssinet, J. Torbet and G. Hudry-Clergeon : Biochimie, **66**, 81 (1984)

3) L. Pauling : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 2293 (1979)