

혈구의 변형성이 Cell-migration과 Cell-free Layer에 미치는 영향

한상목*, 구윤희*, 신세현*

The Effect of Red Blood Cell Deformability on Cell Migration and Cell Free Layer

Sangmok Han*, Yunhee Ku*, Sehyun Shin*

1. 서 론

심혈관계의 미세혈관에서 특정 용적률의 적혈구 분포는 미세순환의 역할인 혈액유동 조절 및 물질교환에 지대한 영향을 미친다. 또한 이러한 적혈구 분포에 적혈구의 변형성 역시 혈액 유동현상에 영향을 준다.

미세혈관의 전단유동장에서의 적혈구의 유동현상 및 그들의 속도 profile의 변화에 대한 여러 연구가 선행되어 왔다. J. Bisshop 등⁽¹⁾은 쥐의 정맥에 형광물질을 투여하여 적혈구에 마커로 사용하였으며, 45~75mm의 혈관에서 형광입자의 축방향 위치변화와 반경방향 위치변화를 추적함으로써 그들의 cell migration을 살펴보았다. 또한 일반 적혈구와 Dextran 500을 투여하여 적혈구의 응집능(aggregation)을 변화시킨 적혈구의 각각의 속도 성분을 분석함으로써 혈구의 응집능이 cell migration에 미치는 영향에 대해 보고하였다. 또한, B. Prakash 등⁽²⁾은 200mm 유리관내에서의 적혈구의 영상 및 속도 profile을 axial tomographic과 image velocimetry 기술을 이용하여 도시화하였다.

본 연구에서는 최근의 주목받고 있는 미세순환에서의 유동특성 중 cell migration의 변화를 관찰하고자 한다. J. Bisshop등과 같이 형광물질을 첨가하여 형광입자의 유동을 관찰하는 것이 아니라, 실제 적혈구의 거동을 현미경과 고속카메라를 이용하여 디지털 이미지 프로세싱을 통하여 분석하고자 한다. 또한 미세혈관에서의 cell migration이 전체 혈액 유동에 미치는 영향에 대해서 살펴보도록 하겠다.

2. 본 론

2.1 혈액샘플

정상인의 혈액을 정맥에서 채혈하여 항응고제 EDTA K3가 코팅된 Vacutainer에 저장한다. 혈액을 3,000rpm으로 10분동안 원침하여 혈장과 백혈구, 혈소판으로 구성된 연층은 제거하고 인산염완충식염수(Phosphate buffered saline, pH 7.4)로 적혈구를 2번 세척한다. 세척한 적혈구는 다시 인산염완충식염수에 특정 용적률(Hct=10%, 20%)로 현탁시켜 적혈구현탁액을 준비한다. 여기에 적혈구의 형상에 영향을 주는 혈청 단백질 serum albumin을 0.5% 첨가하여 적혈구의 creation(찌그러짐)이 발생하지 않도록 한다. 또한, 인공적으로 적혈구의 변형성을 손실하도록 glutaraldehyde (GA) 0.02%를 준비하여 적혈구의 용적률이 0.1 l/l 가 되도록 하여 25°C에서 30분간 노출시킨다.(Shin et al., 2005) 그 후 원심분리기로 분리한 적혈구를 인산염완충식염수로 세척하여 다시 인산염완충식염수에 특정 용적률 (Hct = 10%, 20%)로 현탁한다. 역시, serum albumin을 첨가하여 적혈구 creation이 발생하지 않도록 한다.

2.2 실험장치

Fig. 1은 본 실험에 사용한 실험 장치도이다. 본 장비는 도립현미경(IX-51, Olympus, Japan), 고속카메라(APX, Photron, Japan), 실린지 펌프(KDS 220, KD Scientific, USA), PDMA로 제작한 Micro-channel로 구성되어있다. Micro-channel은 MEMS Patterning 기술을 이용하여 100mm×10mm×2mm의 크기로 제작하였다. 마이크로 채널 실험에서의 multi layer로 구성된 혈구 유동장에서 3-D 효과를 배제하여 한층의 혈구에

* 경북대학교 기계공학과

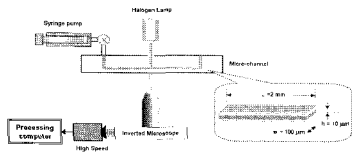


Fig. 1 Schematic diagram for measuring cell migration

대하여 영상을 획득 및 분석을 하기 위하여 마이크로 채널의 깊이를 10mm로 제작하였다. 혈구 영상은 고속 카메라의 frame rate (3000 frame)과 노출시간(shutter speed=1/50000 s)을 선정하여 마이크로 채널에서 유동하는 정상 적혈구의 실제영상을 촬영하였다. 이렇게 촬영한 영상은 각 frame 당 20개의 cell을 선정하여 다음 frame의 영상에서의 위치변화를 추적하게 되고 이를 축방향 속도 성분과 반경방향 속도 성분을 나누어 각각 저장하고, 이러한 영상 50장을 분석하여 평균하여 도식하였다.

2.3 실험결과 및 고찰

Fig. 2(a)는 마이크로 채널에서 적혈구의 축방향 속도성분을 각기 다른 용적률과 적혈구의 변형성 정도에 대한 실험 결과로 평균 유속이 30mm/s ($Re \approx 0.3$)이다. 유동 속도를 30층류 관내에서의 현탁액의 흐름은 일반적인 포물선 형태를 나타내고 그들의 용적률이 커짐에 따라 포물선 형태에서 점점 blunt flow 형태의 profile을 가지게 된다. 또한 적혈구의 변형성이 감소하게 되면 정상 적혈구의 흐름보다 더 blunt한 형태의 profile을 지닌다. 또한, Fig. 2(b)는 마이크로 채널에서 적혈구의 반경방향 속도성분을 나타낸 것이다. 그래프는 GA를 25°C에서 30분간 노출시켜 혈구의 변형성을 감소시킨 적혈구 현탁액인 경우에 정상 적혈구 현탁액에 비해 반경방향의 속도가 작게 나타나는 것을 보여준다. 또한 채널의 중심으로 이주하는 적혈구의 속도가 벽면도 아닌 관의 1/4, 3/4지점에서의 속도가 상대적으로 가장 크게 나타나는 것을 보여준다.

위에서 살펴본 바와 같이 혈구의 변형성이 감소되면 전단유도장에서의 cell migration 정도가 감소하는 것을 알 수 있다. 이는 혈액 유동의 cell-free layer와도 연관되어 혈구의 변형성이 감퇴되면 cell-migration이 감소하여 cell free layer도 감소하게 되고, 결국 적혈구의 유동저항이 증가하게 되는 것이다. Cell free layer의 형성 메커니즘으로 거론된 이론에 적용해보면 전단유도에 의해 cell migration이 발생함으로써 결과

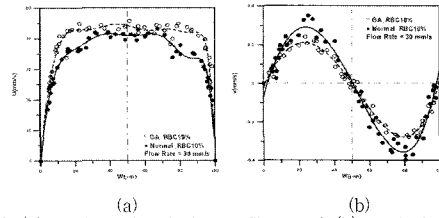


Fig. 2 (a) Horizontal velocity profiles and (b) vertical velocity profiles for normal RBC and Glutaraldehyde Solution(GA), Hematocrit =10%, Flow Rate=30mm/s

적으로 cell free layer가 생성되고 이에 따른 혈류역학적인 두 얼굴을 보여주게 되는 것이다.

3. 결론

미세순환에서의 적혈구의 유동현상의 변화는 조직으로의 물질운반기능에 지대한 영향을 끼친다. 본 연구에서는 미세순환에서의 적혈구의 움직임을 살펴보기 위하여 In-vitro에서 형광물질을 사용하지 않고 직접 혈구의 영상을 촬영 분석하여, 마이크로 채널에서의 축방향 속도 성분과 반경방향 속도 성분을 각각 분석했다. 또한 적혈구의 변형성을 인공적으로 감소시켜 변형성이 이들 속도 profile에 미치는 영향에 대해서 연구하였다.

후 기

본 연구는 한국과학재단 산하 국가지정연구실사업(NRL)으로 지원되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- (1) Bisshop, J.J., Popel, A.S., Intaglietta, M. and Johnson, A.C, 2002, "Effects of aggregation and shear rate on the dispersion of red blood cells flowing in venules," Am J Physiol Heart Circ Physiol, 283, H1985
- (2) Prakash, B. and Singh, M., 1995, "Optimum kinetic energy dissipation to maintain blood flow in glass capillaries: and analysis based on flow field determination by axial tomographic and image velocimetry techniques," J. Biomechanics, 28, 649.