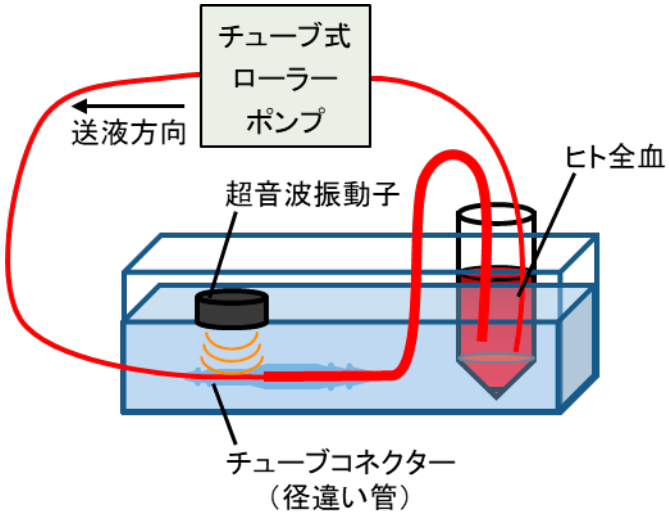
200　超音波による人工心肺装置起因性塞栓症の予防法開発	澤口　能一

【目的】体外循環により心肺機能を代行する人工心肺装置は、現代の心臓手術において必要不可欠である。また、人工心肺装置を応用した補助人工心臓等は、難治性重症心不全患者の治療に必須の治療機器となっている。しかし、これらの人工心肺装置の体外循環回路では、半日も使用すれば回路中に血栓が目に見えて形成され始め、この血栓が肺、腎、脳等の全身の様々な部位での塞栓源となり、無症候性の塞栓症から致命的な心筋梗塞や脳梗塞まで様々な血管閉塞性疾患を引き起こすことが問題となっている。体外循環における血栓の好発部位は、血流が滞留しやすい個所を含む人工肺や血流ポンプ（人工心臓）および、これらとチューブの接合部である。そのため、体外循環回路が起因となる塞栓症は、体外循環中だけに留まらず、むしろ回路の交換を行う際にチューブ接合部に溜まった比較的大きな血栓が飛ぶことで発症することが知られている。そこで、本研究ではヒト全血を用いて構築した *in vitro* 体外循環モデルにおいて、チューブ接合部に発生する血栓を超音波により抑制することが可能であるか基礎的検討を行った。

【方法】抗凝固剤にクエン酸ナトリウムを用いて採血した全血を用いて、ヒト全血を用いた *in vitro* 体外循環モデルを構築した。この体外循環モデルでは、37℃の水浴中でクエン酸全血を保温しながらチューブ式ローラーポンプを用いて 1 時間回路内を循環させた。また、血栓の好発部位を再現するため回路の途中にチューブコネクターを用い、チューブとチューブコネクターの接合部に超音波を照射することで血栓の形成を抑制できるか、目視およびチューブコネクター内の血栓重量を測定することで評価した。なお、本研究を実施するにあたっては、本学の臨床研究倫理審査委員会の承認を得た上で、採血を伴う学生実習において実習後に破棄される血液を学生の同意を得て供与いただいた。

【結果】ヒト全血を用いた *in vitro* 体外循環モデルを 1 時間循環させた結果、超音波照射群ではチューブとチューブコネクターの接合部に血栓はほとんど形成されなかった。一方で、超音波非照射群では、チューブとチューブコネクターの接合部には顕著に血栓が形成され、さらにチューブとチューブコネクターの間に形成された血栓が原因とみられる回路内の“つまり”により、1 時間循環させることができない例も観察された。チューブのコネクター内に形成された血栓の重量を比較すると、超音波照射群では 8.3±7.7 mg、超音波非照射群では 65.3±45.4 mg、超音波非照射群では 65.3±45.44 mg と採血ロットの違いにより大きなばらつきが認められたものの、P 値は 0.048（student t-test）となり、有意に血栓の形成を抑制する結果となった。本検討により、チューブとチューブの接合部に発生する血栓を超音波により抑制できたことから、体外循環回路の血栓の好発部位に超音波を照射することで血栓症の発症を抑制できる可能性が示唆された。

ヒト全血を用いた *in vitro* 体外循環モデル



200. 超音波による人工心肺装置起因性塞栓症の予防法開発

澤口　能一

桐蔭横浜大学 生命医工学科 医療生命科学研究室

Key words：超音波，体外循環回路，血栓，塞栓症，予防

緒　言

体外循環により心肺機能を代行する人工心肺装置は、現代の心臓手術において必要不可欠である。また、人工心肺装置を応用した補助人工心臓等は、難治性重症心不全患者の治療に必須の治療機器となっている。しかし、これらの人工心肺装置の体外循環回路では、半日も使用すれば回路中に血栓が目に見えて形成され始め、この血栓が肺、腎、脳等の全身の様々な部位での塞栓源となり、無症候性の塞栓症から致命的な心筋梗塞や脳梗塞まで様々な血管閉塞性疾患を引き起こすことが問題となっている。

現在、体外循環型の人工心肺装置による塞栓症の予防対策としては、体外循環回路のパーツをディスポーザブル化することで回路交換を容易にし、さらに回路内部をヘパリンなどの抗血栓薬でコーティングすることにより血栓が形成しにくい環境を構築するといった工夫が施されている。しかしながら、ヘパリンコーティングなどにより回路内部の血栓形成を抑制した場合であっても、実際には血栓が形成され、各組織の塞栓源となっている。また、一般に体外循環回路の使用中はヘパリンの投与も行うが、ヘパリン投与患者のうち最大で5%程度の割合でヘパリン起因性血小板減少症を発症することが報告されている。このヘパリン起因性血小板減少症を発症した場合、ヘパリン投与により血栓が形成されやすい体内環境となってしまう。このような状況では、ヘパリンがコーティングされた人工心肺回路の使用も中止しなければならず、塞栓症発症率が上昇してしまう。

血栓は、血流が滞留しやすい個所を含む人工肺や血流ポンプ（人工心臓）および、これらとチューブの接合に形成されやすい。そのため、体外循環回路が起因となる塞栓症は、体外循環中だけに留まらず、むしろ回路の交換を行う際にチューブ接合部に溜まった比較的大きな血栓が飛ぶことで発症することが知られている。このように、生命の維持に不可欠である人工心肺装置は常に血栓による塞栓症に脅かされており、人工心肺装置を安全に運用するためには、循環回路の血栓形成抑制法を新規に開発することが必要不可欠である。

著者はこれまでに、独自に開発した、血栓が経時的に増大する *in vitro* 血栓成長モデルを用いて、非侵襲的な出力の範囲の超音波を照射するだけで血栓形成を最大で50％程度抑制できることを明らかとしてきた。[1, 2] そこで本研究では、ヒト全血を用いた *in vitro* 体外循環モデルを用いて、血栓好発部位の一つであるチューブの接合部に超音波を照射することで血栓の形成を抑制することができるか検討し、超音波群において顕著な血栓形成抑制効果が得られたので報告する。

方　法

1. 全血を用いた *in vitro* 体外循環モデル

血液とクエン酸ナトリウムを容積比で 9 : 1 となるように採血したクエン酸血を用いて、*in vitro* 体外循環モデルを構築した。採血したクエン酸血を 50 mL の遠沈管に入れ、37℃の水浴中で保温しながらチューブ式ローラーポンプ（CP-330、ニプロ）を用いて 1 時間回路内を循環させた。循環回路のチューブには内径 3.97 mm の TYGON LMT-55 を用い、循環速度は 600 mL/hr に調整した。また、血栓の好発部位を再現するため回路の途中にチューブコネクターを接続した。超音波を照射することで血栓の形成を抑制できるか、目視およびチューブコネクター内の血栓重量を測定

することで評価した。なお、本研究を実施するにあたっては、本学の臨床研究倫理審査委員会の承認を得た上で、採血を伴う学生実習において実習後に破棄される血液を学生の同意を得て供与いただいた。

2. 超音波の照射条件

超音波振動子は直径 10 mm のものを使用し、周波数 500 kHz、連続波で駆動し、37℃の水槽内にプローブ先端を水面より 2 mm 程度沈めて、*in vitro* 体外循環モデルを循環させている 1 時間の間、連続的に照射した。超音波を *in vitro* 体外循環モデルに照射する際は、超音波振動子表面からチューブとチューブコネクターの接合部表面までの距離を 1 cm に調整し、この接合部表面で最大音響強度 1 W/cm^2 となるように駆動電圧を調整した。超音波の音場分布は Acoustic Intensity Measurement System を用いて測定した（図 1）。

3. 超音波による血栓形成抑制効果の評価

超音波による血栓形成抑制効果の評価は、目視およびチューブコネクター内の血栓重量を測定することで評価した。チューブコネクター内の血栓重量を測定する際は、超音波照射前のチューブコネクターの重量および *in vitro* 体外循環モデルを 1 時間循環させた後のチューブコネクターの重量を測定し、その差分を血栓重量として算出した。

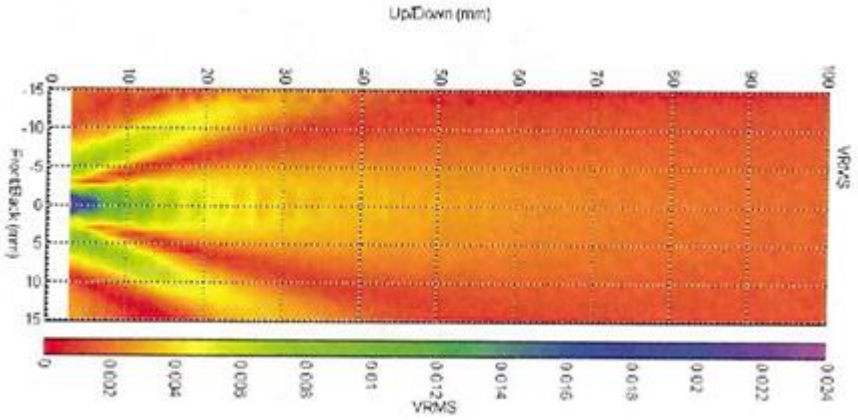


図 1. 超音波音場分布測定値

音響強度測定装置に 0.22 mm のハイドロホンプローブを設置して、超音波振動子表面から 3 mm～100 mm および超音波振動子の中心軸から左右に±15 mm の水中における音場分布を測定した。

結　果

***in vitro* 体外循環モデルにおける超音波の血栓形成抑制作用**

ヒト全血を用いた *in vitro* 体外循環モデルを 1 時間循環させた結果、超音波照射群ではチューブとチューブコネクターの接合部に血栓はほとんど形成されなかったのに対し、超音波非照射群では顕著に血栓が形成され、さらにチューブとチューブコネクターの間に形成された血栓が原因とみられる回路内の“つまり”により、1 時間循環させることができない例も 6 例中 1 例観察された（図 2a）。また、チューブのコネクター内に形成された血栓の重量を比較すると、超音波照射群では平均 8.3 mg の血栓が形成したのに対し、超音波非照射群では 65.3 mg の血栓形成となり、超音波の照射により顕著に血栓の形成を抑制できることが示唆された（図 2b）。

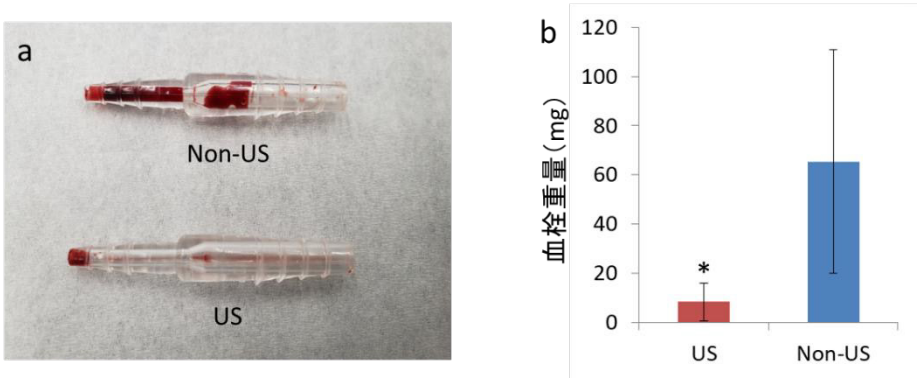


図 2. 超音波による血栓成長抑制効果

a） *in vitro* 体外循環モデルを 1 時間循環後にチューブコネクターに形成された血栓。上段のチューブコネクターが超音波非照射群、下段チューブコネクターが超音波照射群。

b） チューブコネクター内に形成した血栓重量平均値。US：超音波照射群、Non-US：超音波非照射群。*$p<0.05$（student t-test）、n＝6。

考　察

本検討では採血ロットの違いにより血栓形成重量に大きなばらつきが認められた。この原因の一つとして考えられるのが、本検討で使用しているクエン酸血が学生実習にて学生間で、練習で採血したものをプールして用いているためではないかと考えられた。すなわち、採血途中で失敗してしまった検体が混入してしまうと、実際には血液とクエン酸ナトリウム溶液の容積比が 9：1 になっていないロットが発生し、実験結果に大きく影響したのではないかと考えられた。本検討は、超音波照射群と超音波非照射群を比較する際は、必ずロットをそろえて実験を行っていたため、今回の検討結果の 6 例から血栓形成抑制率を算出した。その結果、超音波による血栓成長抑制率は 87.5%±4.2（平均値±SD）となり、超音波による血栓形成抑制効果は非常に強力であることが推察された。

本検討により、超音波は体外循環中に発生する血栓の形成を抑制できる可能性が示唆された。しかしながら、本検討では血栓を形成させやすくするために、血流速度を比較的低速な環境で実施した。そのため、今後は実際の体外循環速度と同等の速度でも超音波の発生を抑制できるか検討を行う必要があると思われる。また、本検討はあくまでもクエン酸血を用いた *in vitro* の評価であることから、*in vivo* 体外循環モデルについても同時に評価していく必要があると考えられる。

共同研究者・謝辞

本研究の遂行にあたり、*in vitro* 体外循環モデルの構築を監修いただいた共同研究者の桐蔭横浜大学医用工学部生命医工学科の大沼健太郎講師に感謝申し上げます。

文　献

1） Sawaguchi Y, Wang Z, Furuhata H. Ultrasound control of the growth of thrombus. Jpn J Med Ultrasonics. 2011 Jan 38; 67-72. DOI: 10.3179/jjmu.38.549

2） Sawaguchi Y, Wang Z , Ito S, Kikuchi R, Yamamoto H, Tachibana K, Nakajima T, Nakata N. Basis examination for development of prevention of vascular occlusion by ultrasound. Neurosonology. 2017 30(1):4-7. DOI: https://doi.org/10.2301/neurosonology.30.4