

Nonthrombogenic 左心バイパスの実験的研究

——血液凝固機能の検討と回路の走査電子顕微鏡による観察——

岡山大学医学部第2外科教室（指導：砂田輝武教授）

絹川信彦

（昭和51年8月24日受稿）

I 緒言

胸部大動脈瘤に対する血行再建術では、大動脈の一時的遮断を必要とするが、単純遮断のみでは遮断中枢側の高血圧、左室の圧負荷増大、脊髄麻痺の発生、腎の虚血性障害などが問題となる。^{1)~4)}

大動脈遮断にともなうこれら臓器障害を最少限度におさえ、遮断許容時間の延長を図るために各種の補助手段が用いられている。^{5)~8)}

胸部下行大動脈瘤手術の補助手段としては、現在、左心バイパス法が一時的外短絡法とともに広く用いられている。^{9)~13)}

左心バイパス法はポンプで左心機能を代償しながら必要な灌流量を容易に維持できる利点をもつていて、全身のヘパリン化を要するために術中、術後の出血に煩わされる難点がある。

この難点を解消する方法に抗凝固剤を必要としない非血栓性材質の補助循環回路への応用がある。^{14)~19)}

著者は非血栓性材質による左心バイパス回路を作成し、これを用いてヘパリンなどの抗凝固剤を全く使用せずに、左心バイパスの動物実験を行い血液凝固機能ならびに血液と接触する材質面での血小板の変化を走査電子顕微鏡で観察した。

左心バイパス回路の素材は塩化ビニールとポリカーボネイトを使用した。内径9.5mm、長さ200cmの塩化ビニールチューブと内径6mmの塩化ビニール製カニューレ2本（脱血用と送血用）とを2個のポリカーボネイト製コネクターで連結した閉鎖回路とした。

全回路を非血栓性材質に転化するため、チューブ、カニューレ、コネクターを個々に、polyurethane-polyvinyl-graphite液（PPG液）でcoatingした。

PPG液は密栓できるガラス製の容器にtetrahydrofuran 6lを入れ、この中にpolyurethane 150g. と polyvinyl-chloride 60g. とを充分に溶解させ、室温にて5日間放置した後、colloidal-graphite 600ml (Dag. dispersion no. 154) を混和して作成した（表1）。

PPG-coatingは毎回、使用直前にガラス棒でよく攪拌したPPG液に、乾燥させたチューブ、カニューレ、コネクターなどをそれぞれ1~2秒間浸漬した後、室温にて24時間以上乾燥させ方法で行い、PPG-coating面へのヘパリン吸着は施さなかった。

このようにして作成したPPG-coating回路を用い、ヘパリンを全く投与せずに8頭の雑種成犬で2時間のnonthrombogenic左心バイパスを行った。

表1 PPG液の組成

POLYVINYL CHLORIDE	60 g
POLYURETHANE	150 g
TETRAHYDROFURAN	6 L
COLLOIDAL GRAPHITE	600 cc

II Nonthrombogenic 左心バイパス

II-1 血行動態と血液凝固機能について

II-1-1 実験方法

体重15~18kgの雑種成犬を25mg/kg ネンプタール静脈麻酔下に気管内挿管し、room airで調節呼吸を行いながら左第V肋間で開胸した。次いで左大腿動脈に送血用カニューレを、心尖部より左室に大き

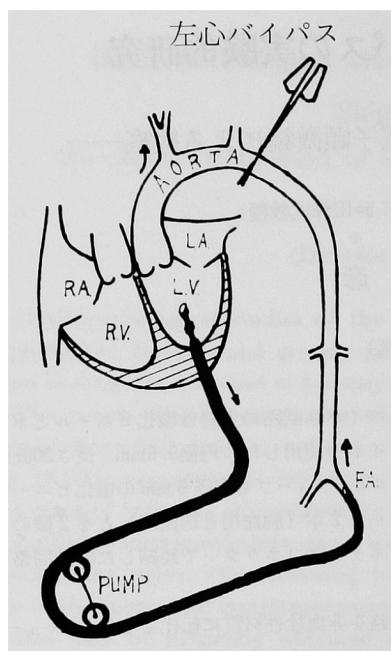


図1 Nonthrombogenic 左心バイパス回路

な4個の側孔をもつ脱血用カニューレを挿入し、両者をローラーポンプを介してコネクターで連結する左心バイパス回路を設けた(図1)。

貯血槽をもたない閉鎖回路とし、約180mlの乳酸リンゲル液で充填した。左頸動脈、右大腿動脈、左室にそれぞれPPG-coatingカテーテルを留置し、実験中の圧測定に使用し、心電図とともに記録した。

実験犬へのヘパリン投与は全く行わずに、左心バ

イパス開始後、血圧の安定するのをまって左鎖骨下動脈起始部の直下で胸部下行大動脈を完全に遮断し、灌流量50~60ml/kg/min.の範囲で2時間のnon-thrombogenic左心バイパスを行った。

5頭について、凝固時間(Lee-White法)、血小板数(直接法)、プロトロンビン活性(Ouickの2段法)を術前、左心バイパス開始5分後、1時間後、2時間後、左心バイパス終了2時間後にそれぞれ測定した。また、そのうち2頭にユーグロブリン溶解時間の測定とthromboelastogram(TEG)を記録した。採血は毎回、左頸静脈に留置したPPG-coatingカテーテルから血液を逆流させ静脈血が滴下するのを確めてから行った。

II-1-2 実験成績

II-1-2-1 血行動態について

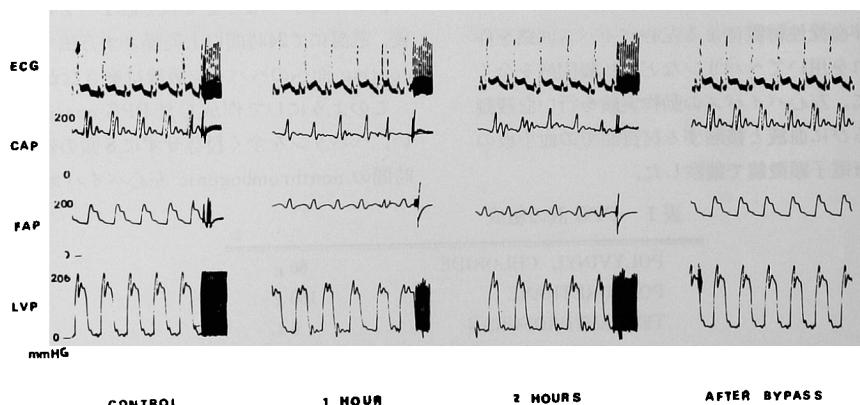
貯血槽をもたない閉鎖回路を用いたが、内径6mmのカニューレで經左室脱血を行ったため回路に余分な陰圧がかかることなく、常に充分な脱血量がえられた。このため容易に灌流量を50~60ml/kg/min.の範囲に調整することができ、頸動脈圧と大腿動脈圧はほぼ同程度に維持された。また心電図と左室圧はともに正常範囲に保たれていた(図2)。

II-1-2-2 血液凝固機能に及ぼす影響

実験犬へのヘパリン投与を全く行わなかったため、出血はほとんどみられず手術野は乾燥の傾向を示していた。

凝固時間、プロトロンビン活性には有意の変化はみられず、ともに正常範囲にあった。

血小板数は左心バイパス開始5分後に術前値の約



CAP: 頸動脈圧, FAP: 大腿動脈圧, LVP: 左室圧

図2 Nonthrombogenic 左心バイパスの血行動態

50%に減少したが、時間の経過とともに漸次回復し、左心バイパス終了2時間後では有意の差はみられなかった（表2）。

表2 Nonthrombogenic 左心バイパスによる凝固機能の変化

	凝固時間 ±S.E.M.	血小板数 ±S.E.M.	プロトロンビン時間 ±S.E.M.
術前	6.8±0.6分	24.2±4.2万	7.0±0.4秒
5分	7.4±0.4	10.6±1.7	7.8±0.5
1時間	7.1±0.2	13.7±1.6	8.2±0.6
2時間	7.1±0.4	15.6±2.3	9.1±0.9
バイパス終了後 2時間	7.6±0.5	17.5±2.5	10.2±0.4

S.E.M. : StandardError of the Mean

N. : 5

ユーグロブリン溶解時間を測定した2例に線溶活性の亢進がみられたがTEGは正常であった（表3）。

II-2 走査電子顕微鏡による回路の観察

主役となる血小板の動勢について経時的に観察した。さらに、コントロール群（雑種成犬3頭）として未処置の塩化ビニール回路によるヘパリン化左心バイ

表3 Nonthrombogenic 左心バイパスにおける Thromboerastogram

犬 No.2	術前	5分	1時間	2時間	バイパス終了後2時間
凝固時間	7.0分	6.5	6.5	7.0	8.0
血小板数	28.0万	12.4	16.8	19.4	15.0
プロトロンビン時間	8.0秒	8.4	9.2	9.0	10.8
ユーグロブリン溶解時間	40分	25	47	50	62
T. E. G. γ	5.0 mm	4.0	3.0	7.5	
K	3.0 mm	8.0	2.0	4.0	
ma	59.0 mm	36.0	79.0	70.0	

犬 No.8	術前	5分	1時間	2時間	バイパス終了後2時間	バイパス終了後24時間
凝固時間	8.0分	8.5	7.0	6.0	6.5	11.5
血小板数	24.2万	12.0	15.2	15.2	21.8	15.8
プロトロンビン時間	6.7秒	7.0	7.0	7.6	9.2	10.2
ユーグロブリン溶解時間	150分	46	40	40	150	150
T. E. G. γ	4.0 mm	5.0		5.0		3.5
K	2.0 mm	4.0		4.0		2.0
ma	83.0 mm	68.0		78.0		75.0

II-2-1 実験方法

PPG-coating 回路の非血栓性を検討するため3頭

パスを行い、塩化ビニール面における変化を走査電子顕微鏡下に比較観察した。

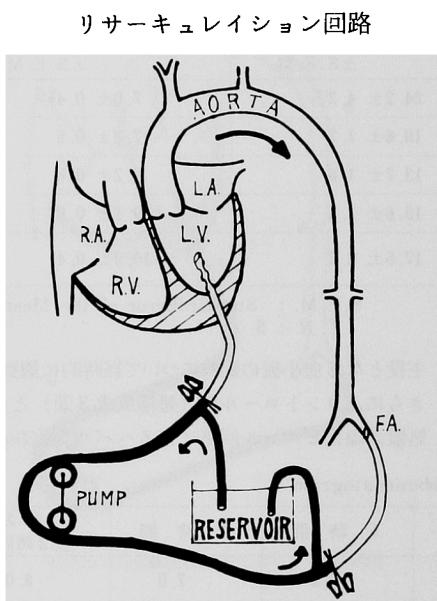
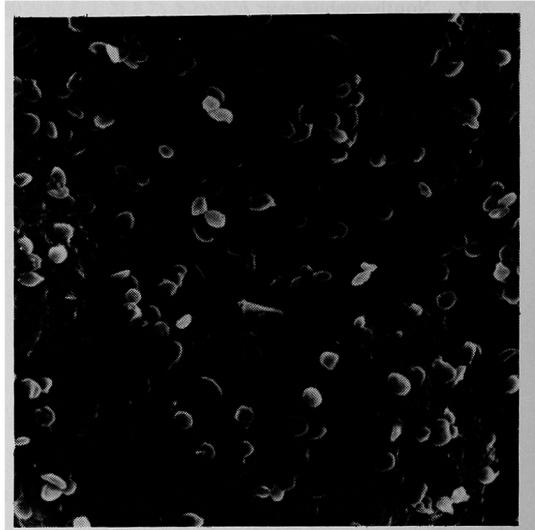


図3 標本の洗浄用リサーキュレーション回路

図4 Nonthrombogenic左心バイパス1時間後の回路内面 $\times 1700$

nonthrombogenic 左心バイパス回路の脱血側チューブを 5 cm 単位の長さでバイパス開始後 30 分、60 分、90 分、バイパス終了時（開始後 120 分）にそれぞれ標本として採取した。

標本の採取条件を一定にするため、標本チューブの洗浄用にリサーキュレーション回路を組みこんだ（図3）。

この PPG-coating 洗浄回路は左心バイパスの脱血側と送血側とを Reservoir を介して連結した開放回路で、生理的食塩水で充填し抗凝固剤の添加は行わなかった。

リサーキュレーション回路の灌流速度は左心バイパス時の 10% 減で行い、回路内の血液を充填液で駆出後、生理的食塩水で約 15 秒間灌流して標本チューブを採取した。

走査電子顕微鏡資料の作成は徳永らの方法に準じた。²¹⁾ pH 7.4 に調整したリン酸バッファーにグルタルアルデヒドを加えて 2.8% とした固定液を毎回作り、これに採取したチューブ切片を静かに封入し水室保存下に 90 分以上固定した。次いで固定液から取

り出した標片を 5 段階のアセトン系列（70%，80%，90%，95% で各 20 分間、100% で 40 分間）で脱水した後、カーボン、ゴールドを蒸着して資料とした。

コントロール犬のヘパリン化は左心バイパス直前に初回量 3 mg/kg を静注投与し、1 時間後に 1 mg/kg を追加投与した。標本の採取条件と走査電子顕微鏡資料の作成は nonthrombogenic 左心バイパス時と同様に行ったが、リサーキュレーション回路の充填液はヘパリン加生理的食塩水を使用した。

II-2-2 実験成績

経時に採取した標本の PPG-coating 面には多数の血小板が附着していたが、いずれの標本にも血小板血栓はみられなかった。

血小板の形は球形または類球形のものが多く、3000 倍拡大の血小板 124~138 個のうち両者の占める割合は、左心バイパス開始 30 分後で 72%，60 分後で 76%，90 分後で 82%，バイパス終了時（120 分後）で 76% であった。また、3000 倍拡大の血小板 124~138 個について血小板の最大径を平均値でみると、バイパス開始 30 分後で 1.16μ 、60 分後で 1.14μ 、90 分後で 1.25μ 、

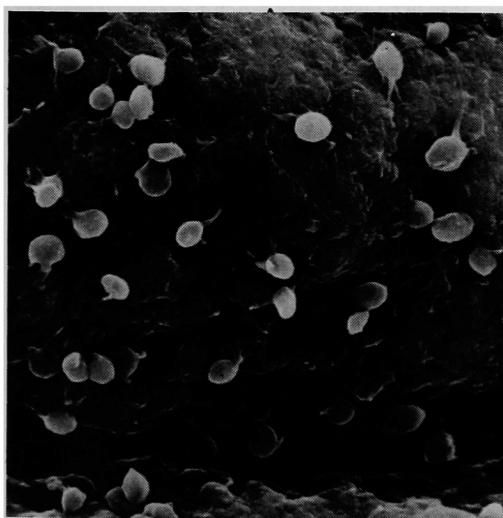
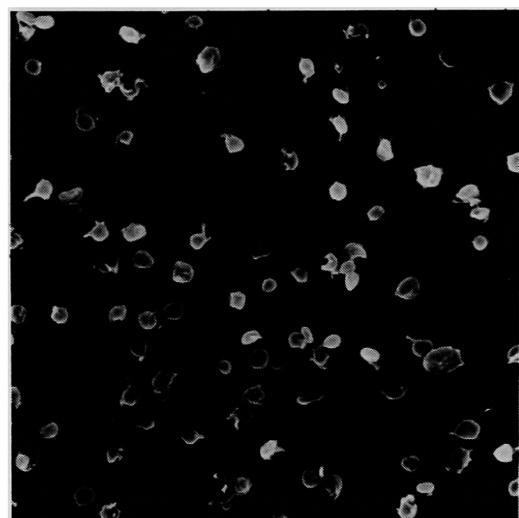
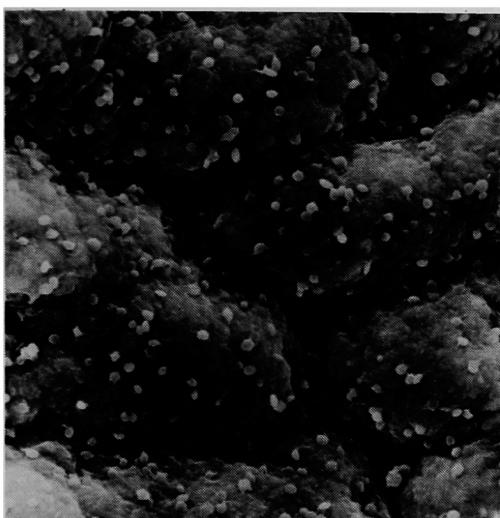
バイパス終了時で 1.21μ であった。

左心バイパス開始後60分と120分の PPG-coating 面の所見は類似しており、ほとんどの血小板は短突起を有し偽足を出していた。血小板は孤立して散在し、一部に3~4個のグループで血小板の凝集がみられた(図4, 5, 6)。

凝集部を含めて個々の血小板は明瞭に区別され、

周囲にフィブリン網の形成や、血小板の *metamorphosis* はみられなかった。

以上の所見は、他の標本においても変りがなく、また、コントロールに用いた未処置の塩化ビニールによるヘパリン化左心バイパス60分後、ならびに120分後の走査電子顕微鏡所見とほとんど変らなかった(図7, 8, 9)。



(左上) 図5 Nonthrombogenic 左心バイパス
2時間後の回路内面 $\times 1000$

(左下) 図6 Nonthrombogenic 左心バイパス
2時間後の回路内面 $\times 3000$

(右上) 図7 ヘパリン化左心バイパス1時間後
の回路内面 $\times 1700$

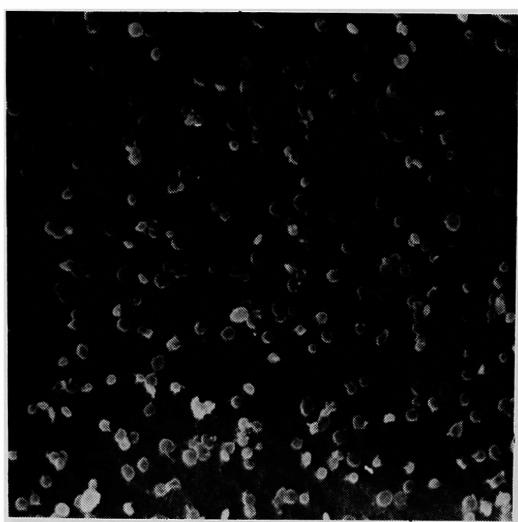


図8 ヘパリン化左心バイパス 2時間後の
回路内面 $\times 1000$

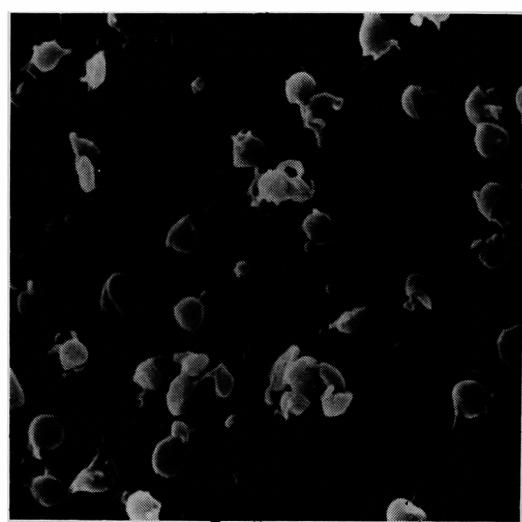


図9 ヘパリン化左心バイパス 2時間後の
回路内面 $\times 3000$

II-3 小括

PPG-coating 回路を用いてヘパリンを全く使用しない2時間の nonthrombogenic 左心バイパスを犬で行った。閉鎖回路であったが内径6mmのカニューレで経左室脱血を行ったため、50~60ml/kg/min.の灌流量が容易にえられ血行動態は安定していた。実験中の手術野にはほとんど出血はみられなかった。

凝固時間とプロトロンビン活性には有意差がなかった。血小板数はバイパス開始5分後に術前値の約50%に減少したがバイパス終了2時間後には回復がみられ有意差はなかった。2例に線溶活性の亢進がみられたがTEGは正常であった。

走査電子顕微鏡による観察では、PPG-coating面に多数の血小板の附着と一部に血小板の凝集をみたが、血小板血栓、血小板の metamorphosis、フィブリノーゲン網の形成はどの標本にもみられなかった。これらの所見はヘパリン化左心バイパスの未処置の塩化ビニール面における所見とほとんど変りがなかった。

2時間の nonthrombogenic 左心バイパス中、PPG-coating面の非血栓性は時間の経過に関係なく終始よく保たれていた。

III PPG-coatingチューブの血小板とフィブリノーゲンに及ぼす影響

III-1 実験方法

PPG-coating チューブの抗凝固性をシリコンチューブと比較するため、影響をうけやすい血小板とフィブリノーゲンの変化を検討した。

体重10~15kgの雑種成犬をネンブタール静脈麻酔下に気管内挿管し、room airで調整呼吸を行ながら左第V肋間で開胸した。

胸部下行大動脈を左鎖骨下動脈起始部の約3cm末梢で離断し、内径6mm、長さ50cmの PPG-coating チューブ（ヘパリンの吸着は施さない）を挿入し2時間の実験を行った。

コントロール群には内径6mm、長さ50cmのシリコンチューブを使用した。

両群ともにヘパリンその他の抗凝固剤は全く投与せずに、それぞれ7頭について、血小板数（直接法）、フィブリノーゲン量（チロジン法）を術前、チューブ挿入後5分、1時間、2時間について測定した。採血は両群ともに左頸静脈に留置した PPG-coating カテーテルを用い静脈血が逆流し滴下するのを確めてから行った。

III-2 実験成績

PPG群では血小板数、フィブリノーゲン量とともに経時的な変化はみられず有意差はなかった（表4）。

表4 PPG-coating チューブとシリコンチューブの血小板、フィブリノーゲンに及ぼす影響

フィブリノーゲン (チロジン法) mg/dl \pm S. E. M.

	PPG N : 7	Silicone N : 7
術前	563.8 \pm 18.2	533.0 \pm 12.5
5分	568.6 \pm 17.0	475.7 \pm 14.4
1時間	539.6 \pm 19.2	472.1 \pm 15.6
2時間	538.8 \pm 21.4	440.7 \pm 17.2

血小板数 万/mm³ \pm S. E. M.

	PPG N : 7	Silicone N : 7
術前	15.3 \pm 0.4 万	17.4 \pm 0.7 万
5分	12.9 \pm 0.7	9.3 \pm 1.3
1時間	14.3 \pm 1.8	8.8 \pm 1.4
2時間	15.4 \pm 2.2	6.8 \pm 0.7

S. E. M.: Standard Error of the Mean

シリコン群では血小板数が時間の経過とともに減少の傾向を示し、血流開始5分後で術前値の約53%に減少、2時間後には約39%にまで減少がみられた。他方、フィブリノーゲン量は経時的に有意の変化がなかった。

III-3 小括

血流の速い動脈血を流した場合、PPG-coating チューブはシリコンチューブと異なり、血液凝固機能に関与する血小板、フィブリノーゲンに対し何ら影響を与えることなく抗凝固性を維持していた。

IV 血流停止時の PPG-coating 面における変化

—走査電子顕微鏡による観察—

IV-1 実験方法

IV-1-1 ヘパリン非投与時 (非ヘパリン化血)

血流停止時の PPG-coating 面における変化を見るため、5本の PPG-coating チューブ (内径9.5 mm、長さ10cmでヘパリン吸着を施さない)に抗凝固剤の投与をうけない未処置の雑種成犬から静脈血を採血用の PPG-coating カテーテルを介して直接各チューブに5mlずつ採取し、空気の混入をさけて鉗子でチューブを封じ室温下に静置した。5分後に開封して生理的食塩水で洗浄したチューブを縦軸にそって開き観察した。

IV-1-2 ヘパリン投与時 (ヘパリン化血)

静止血液と接触する材質の抗凝固性を走査電子顕微鏡で観察するため PPG-coating チューブ、シリコンチューブ、未処置の塩化ビニールチューブを使

用した。

雑種成犬に3mg/kgのヘパリンを静注投与し、全身のヘパリン化を行い10分後に血液を採取した。内径8~9mmの前述した3種のチューブにそれぞれ5mlのヘパリン化血を封入し室温下に静置した。1時間後に全てのチューブを開封し、ヘパリン化生理的食塩水で洗浄後、縦軸にそって開き観察した。

走査電子顕微鏡の資料作成はII-2-1と同様に行った。

IV-2 実験成績

IV-2-1 ヘパリン非投与時 (非ヘパリン化血)

PPG-coating チューブの洗浄に使用した生理的食塩水ならびに各チューブの内面には肉眼的血栓はみとめられなかった。

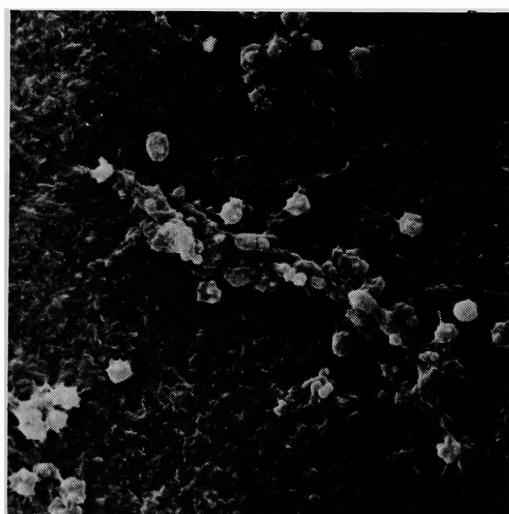


図10 血流停止 (非ヘパリン化血) 5分後の PPG-coating 面 $\times 1000$

血流停止5分後のこれら PPG-coating チューブ内面を走査電子顕微鏡で観察すると、血小板の metamorphosis、血小板血栓、フィブリン網の形成がみられた (図10)。

IV-2-2 ヘパリン投与時 (ヘパリン化血)

血流停止1時間後の PPG-coating チューブ、シリコンチューブ、塩化ビニールチューブの内面は全て肉眼的には不变であった。

これらを走査電子顕微鏡で観察すると、PPG-coating チューブでは血小板が多数附着していたが、ほとんどの血小板は孤立性で一部に凝集がみられたの

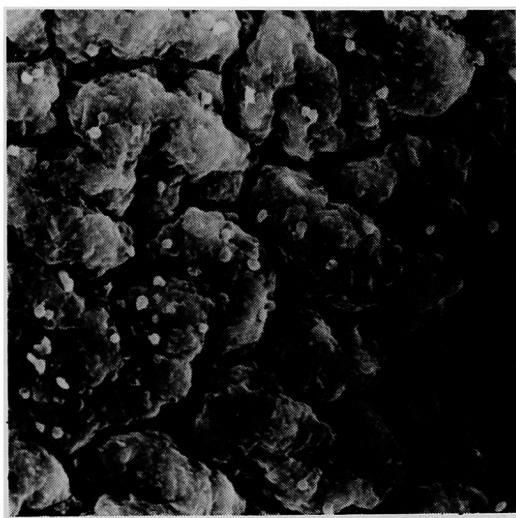


図11 静止ヘパリン化血と接触1時間後の
PPG-coating面 $\times 1000$

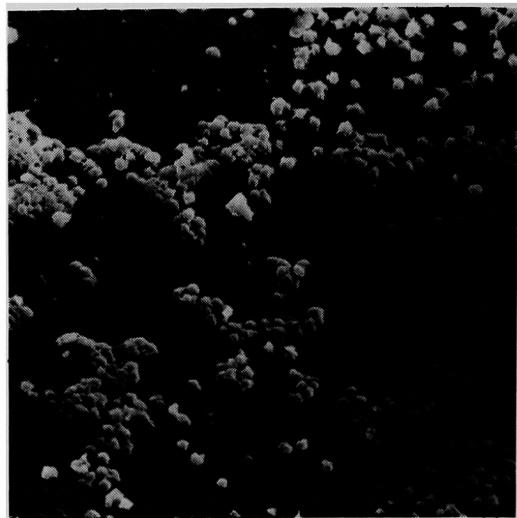


図13 静止ヘパリン化血と接触1時間後の
塩化ビニールチューブ内面 $\times 1000$

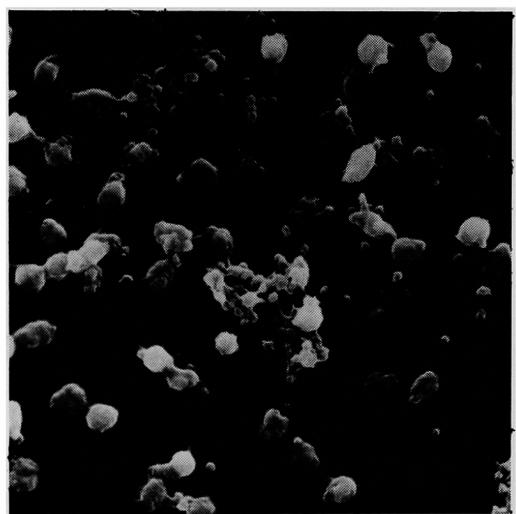


図12 静止ヘパリン化血と接触1時間後の
シリコンチューブ内面 $\times 1000$

みであった(図11)。

シリコンチューブでは血小板のmetamorphosis, 血小板血栓, 血球附着などがみられた(図12)。

未処置の塩化ビニール面ではシリコンチューブでみられた血小板血栓の形成がさらに強くみられ, 血小板血栓, 血小板のmetamorphosis, フィブリン網

の形成などがみられた(図13)。

IV-3 小括

血流停止(非ヘパリン化血)5分後のPPG-coating面を走査電子顕微鏡で観察すると血小板血栓, 血小板のmetamorphosis, フィブリン網の形成がみられた。この様な血栓形成の所見は, 既に述べた(II-2-2), nonthrombogenic左心バイパスの速い速度で血流(非ヘパリン化血)の流れるPPG-coating面では2時間後にもみられなかった。

また血流停止(ヘパリン化血)1時間後のPPG-coating面は, シリコンならびに未処置の塩化ビニール面と異なり, graphiteの有する陰性荷電によってcoating面への血小板その他の血液成分の附着を抑制していた。さらに, PPG-coating面に附着した血小板が血栓形成へと変化する傾向をも抑制していると考えられた。

V 総括ならびに考案

左心バイパス法は胸部大動脈遮断時の補助手段として登場し, 腎機能, 左心機能などに対する検討が実験的に繰り返され, DeBakey & Cooleyらによって臨床的に確立された。^{23)~28)}

現在, 胸部下行大動脈瘤の血行再建術において, 左心バイパス法は一時的外短絡法とともに汎用されている。^{5) 6) 12)}

本法はポンプで左心機能を代償し, ポンプの操作

によって容易に必要な灌流量を調整できる利点をもっている。

しかしながら、全身のヘパリン化を常に必要とするため、ヘパリン化によって生じる出血の問題に苦慮させられる。²⁹⁾

ヘパリン化による出血を解消するため、著者は PPG-coating 法を採用し左心バイパス回路を非血栓性化した。³⁰⁾

この PPG-coating 回路を用いて、ヘパリンを全く必要としない nonthrombogenic 左心バイパスの実験を行い、回路の抗凝固性を検討した。

血液の凝固には、血液の性状、血流の速度、血流の状態、血液と接触する材質の化学的及び物理的性質などが関与する。²⁹⁾

したがって、人工材料の循環器系への応用は、血液と接触する材質表面の非血栓性がその成否を大きく左右する。³⁰⁾

生体の血管内で血液の凝固がおこらないのは、赤血球などが陰性荷電を有しており、同時に血管内膜が陰性に荷電しているためであるといわれてきた。

1953年 Sawyer らは血管壁の電位差を測定し、正常血管内膜は陰性に荷電しているが、血管損傷によって血管内膜が陽性荷電に変ると血栓形成がおこると報告した。^{31) 32)}

その後も、荷電と血栓との問題は検討され人工材料の開発と材質の非血栓性化が研究された。^{33) 34) 35)}

また、陰性に荷電したすべての材料が抗血栓性を示すものでないことも知られている。

Leonard は陰性荷電材料において、合成高分子間の Ca が環状構造のものでは抗血栓性を示すが、環状構造でないものでは分離によって血小板と結合するため、材料の抗血栓性は失われると報告している。³⁶⁾

1961年 Gott らは材料を colloidal-graphite で coating し陰性荷電とすることにより、材料の非血栓性化に成功した。³⁷⁾

さらに colloidal-graphite で陰性荷電に coating した材料を陽性の表面活性剤である benzalkonium-chloride で処理した後、graphite-coating 面にヘパリンを積極的に吸着させる Graphite-Benzalkonium Heparin coating (GBH) 法を開発した。³⁸⁾

GBH 法はヘパリンの抗凝固作用と陰性荷電とによって血栓形成を防止する方法であるが、semi-rigid の材質への応用が不充分であるほか、coating 面に吸着させたヘパリンが血清中で失われることも知られている。⁴⁰⁾

GBH 法に続き、人工材料の非血栓性化を図る研究が進められ、semi-rigid な材質への graphite-coating 法や、ヘパリンなどの抗凝固剤を材料に吸着させる方法などが検討された。^{41) 42) 43)}

1969年 Dietrick, Wakabayashi らは、GBH 法を改良して、semi-rigid な材料でも容易に graphite-coating ができる PPG-coating 法を考案した。^{14) 15)}

PPG-coating 法では graphite の溶媒である tetrahydrofuran が塩化ビニールを溶かし、graphite フィルムが材料の表面から浸透する形で coating が行われるため、非常に強固な物理的に安定した coating 面がえられる。

PPG-coating 面へのヘパリン吸着は GBH 法に準じて benzalkonium-chloride で処理した後にヘパリン稀釀液に漬けて行なうが、Serres らは心室拍動型ポンプと PPG-coating チューブによる non-thrombogenic 左心バイパスの実験を行い、抗凝固性を検討した結果、PPG-coating にヘパリン吸着を施さなくても coating 面の抗凝固性に関しては、GBH 法と差がないことを報告している。¹⁷⁾

著者は PPG-coating にヘパリン吸着を施さず、graphite の陰性荷電によって非血栓性化された PPG-coating 回路を用いて、回路の抗凝固性を検討した。

全身のヘパリン化を要しない 2 時間の nonthrombogenic 左心バイパスでは、凝固時間、プロトロンビン活性は有意の差を示さなかった。血小板については nonthrombogenic 左心バイパス開始とともに減少がみられたが、時間の経過につれて漸次回復の傾向を示していた。

また 2 例でユーグロプリン溶解時間の短縮により線溶活性の亢進をみたが TEG は正常であった。

PPG-coating 材料による nonthrombogenic 左心バイパスの臨床応用は、1970年 Connolly らによって行なわれた。¹⁹⁾ 心室拍動型ポンプと PPG-coating チューブを用いてヘパリンを使用せずに 1~4 時間の左心バイパスを行い、10 例の胸部下行大動脈瘤手術に成功している。

その臨床例での凝固機能検査によると、凝固時間、プロトロンビン活性、フィブリノーゲンなどには有意の変化はみられず、血小板の減少もみられていない。本邦においては、平井らが臨床例の報告を行っている。⁴⁴⁾

graphite-coating と血流の関係をみると、Gott らは内径 7 mm、長さ 9 mm のシリコン塗布リング、graphite-coating リング、GBH 法処理による gra-

phite-coating リングなどを血流の緩徐なイヌの下大静脈に留置した実験を行い、その結果、シリコン塗布リング、graphite-coating リングでは2時間後に血栓の発現をみているが、GBH法で処理したヘパリン吸着 graphite-coating リングでは14日目でも血栓が出現しないと報告している。³⁰

著者はヘパリン吸着を施さない PPG-coating チューブを犬の胸部下行大動脈に挿入し、速い血流下での血小板、フィブリノーゲンの変化をみたが、2時間の実験では両者ともに有意の変化はみられなかった。

コントロールに使ったシリコンチューブの場合は明らかな血小板の減少がみられた。

PPG-coating 材料は graphite のもつ陰性荷電によって、速い血流下ではシリコンよりもすぐれた抗凝固性を維持していた。

PPG-coating 面での血小板の動勢をみるため、走査電子顕微鏡（加圧電圧25kv）で観察したが、50～60ml/kg/min. の灌流量で維持した2時間の non-thrombogenic 左心バイパスでは、血小板血栓、血小板の metamorphosis、フィブリノーゲンの形成はみられなかった。

服部ら²²によると、未操作（ヒト全血中）の血小板は大部分、類円板形または凸レンズ形を示し、少數の血小板は辺縁に短突起を有している。また血小板の形は類円板形が約78%、類球形と球形とで18%，その他4%は不整形である。これら血小板が血栓形成へと変化する過程で、まず辺縁部を除いて血小板の全表面に小さな膨隆が出現し、さらに進んで類円板形の血小板が球形化し、膨隆は大きく丸くなつて血小板は凝集するとともに偽足形成がみられると報告している。

著者の観察した nonthrombogenic 左心バイパス時の PPG-coating 面に附着した犬の血小板では、球形または類球形が72～82%であり、血小板の凝集、短突起の保有、偽足形成などがみられた。これらの所見はヘパリン化左心バイパス時の塩化ビニール面の所見とほぼ同様であった。

しかしながら、ヘパリンなどの抗凝固剤を添加しない血液（非ヘパリン化血）を PPG-coating チューブに封入し5分間静置した場合の coating 面では血小板の metamorphosis、血小板血栓、フィブリノーゲンなどの血栓形成の所見がみられた。既に述べたように nonthrombogenic 左心バイパス時の速い血流下では PPG-coating 面での血小板の動勢は、血流停

止5分後にみられるような血栓形成の段階にまでは進展しないものと考えられる。

また、ヘパリン化血を各種チューブに封入し、1時間静置した場合の走査電子顕微鏡による観察でシリコンならびに未処置塩化ビニール面には血小板の metamorphosis、血小板血栓、フィブリノーゲンの形成がみられたが、PPG-coating 面には血小板が多数散在し、一部に血小板の凝集がみられたのみであった。

PPG-coating 面はヘパリン吸着を施さなくとも graphite の陰性荷電のみによって抗血栓性を維持しており、PPG-coating 面に附着あるいは凝集した血小板が血栓形成へと進展する形態的変化を抑制しているように考えられる。

VII 結語

ヘパリン吸着を施さない PPG-coating 回路を用い、全身のヘパリン化を必要としない nonthrombogenic 左心バイパスを犬で2時間行い、血液凝固機能を検討した。さらに PPG-coating 面の非血栓性を検討するため、走査電子顕微鏡（加圧電圧25kv）によって coating 面に附着した血小板の動勢を観察した。

1) 2時間の nonthrombogenic 左心バイパス中術野からの出血はほとんどみられなかった。

2) nonthrombogenic 左心バイパス終了時の回路内には血栓がみられなかった。

3) 凝固機能検査では、凝固時間、プロトロンビン活性に有意の変化はみられなかった。

4) nonthrombogenic 左心バイパス回路の走査電子顕微鏡所見では、血小板の metamorphosis、血小板血栓、フィブリノーゲンの形成などはみられなかった。

5) 走査電子顕微鏡による観察で、PPG-coating 面はシリコンならびに未処置の塩化ビニール面にくらべて、附着した血小板などの血栓形成への変化を抑制していた。

6) PPG-coating 法は柔軟な材料でも容易に coating が可能で、平滑にして強固な coating 面がえられる。しかも graphite のもつ陰性荷電のみでも、速い血流下ではヘパリンを全く必要としない抗凝固性を維持している。

以上の結果より PPG-coating 回路による全身のヘパリン化を必要としない nonthrombogenic 左心バイパスは可能である。

稿を終るにのぞみ、ご指導とご校閲を賜った恩師
砂田輝武教授に深甚の謝意を表する。

また、終始ご指導、ご鞭撻下さった平井淳一博士、
白髪健郎博士に深謝する。さらに本研究にご協力い

ただいた野一色泰晴学兄はじめ第2外科教室員各位
に謝意を表す。なお本論文の要旨は第9回日本人工
臓器学会総会、第13回日本脈管学会総会において発
表した。

文 献

- 1) Chamberlain, J. M., Klopstock, R., Parnassa, P., Grandt, A. R., and Cincotti, J. J.: The use of shunts in surgery of the thoracic aorta. *J. Thorac. Surg.* **31**: 251, 1956.
- 2) Pontius, R. G., Brockman, H. L., Hardy, E. C., Cooley, D. A., and DeBakey, M. E.: The Use of Hypothermia in the Prevention of Paraplegia Following Temporary Aortic Occlusion. Experimental Observations. *Surgery* **36**: 33, 1954.
- 3) Crawford, E. S., Fenstermacher, J. M., Richardson, W., and Sandiford, R.: Reappraisal of Adjuncts to Avoid Ischemia in the Treatment of Thoracic Aortic Aneurysms. *Surgery* **67**: 182, 1970.
- 4) Hughes, R. K., and Reemtsmus, K.: Correction of coarctation of the aorta. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **62**: 31, 1971.
- 5) 日本胸部外科学会第21回総会(1968)シンポジウム:胸部大動脈瘤手術の問題点、日胸外会誌、**17**: 523, 1969.
- 6) 井上正:胸部大動脈瘤手術における補助手段法、日胸外会誌、**20**: 467, 1971.
- 7) 砂田輝武、稻田潔、寺本滋、勝村達喜、中西正三、石合省三、横山太郎、広田晴郎:左心バイパス法による胸部大動脈瘤の手術。胸部外科、**19**: 2, 1966.
- 8) 井上正、川田光三、川田志明、相馬康広、須田英明、小出司郎策、小田豊、竹内成之:胸部下行大動脈瘤手術におけるTemporary Long External By-pass法の応用、胸部外科、**22**: 538, 1969.
- 9) 林逸平:胸部下行大動脈遮断に関する研究——とくに一時の体外バイパス法の実験的研究——日胸外会誌、**21**: 1050, 1974.
- 10) 本城巖:左心バイパス法による胸部下行大動脈遮断に関する実験的ならびに臨床的研究。日胸外会誌、**17**: 574, 1969.
- 11) 中川準平:胸部大動脈手術に関する実験的研究、とくに大動脈瘤を対象として、日胸外会誌、**17**: 184, 1969.
- 12) 砂田輝武:「胸外、**22**: 538, 1969(井上ほか)」に対する討論胸部外科、**22**: 538, 1969.
- 13) 秦紘:拍動式人工心による左心バイパス法の実験的研究、日胸外会誌、**24**: 300, 1976.
- 14) Dietrick, W., Wakabayashi, A., and Connolly, J. E.: Athrombogenic Left Ventricular Bypass. *Amer. J. Surg.* **118**: 244, 1969.
- 15) Wakabayashi, A., Dietrick, W., and Connolly, J. E.: Closed-chest left heart bypass without anticoagulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **58**: 811, 1969.
- 16) Wakabayashi, A., Yim, D., Dietrick, W., Hirai, J., and Connolly, J. E.: Left Ventricular Bypass: A New Nonthrombogenic Device with Homograft Aortic Valves. *Amer. J. Cardiol.* **25**: 450, 1970.
- 17) Serres, E. J., German, J. C., Wakabayashi, A., Connolly, J. E., Hirai, J., Mukherjee, N. D., and Stemmer, E. A.: Open Chest Pulsatile Left-heart Bypass Without Anticoagulation. *Arch. Surg.* **101**: 18, 1970.
- 18) Hirai, J., Wakabayashi, A., and Connolly, J. E.: A New Method of Pulsatile Bypass without Heparin for Aortic Arch Replacement. *TASAIO* **17**: 183, 1971.

- 19) Connolly, J. E., Wakabayashi, A., German, J. C., Stemmer, E. A., and Serres, E. J.: Clinical experience with pulsatile left heart bypass without anticoagulation for thoracic aneurysms. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **62**: 568, 1971.
- 20) 絹川信彦, 平井淳一, 白髪健朗, 砂田輝武: Nonthrombogenic 左心バイパス, 脈管学, **14**: 101, 1974.
- 21) Tokunaga, J., Fujita, T., and Hattori, A.: Scanning Electron Microscopy of Normal and Pathological Human Erythrocytes. *Arch. histol. jap.* **31**: 21, 1969.
- 22) Hattori, A., Tokunaga, J., Fujita, T. and Matsuoka, M.: Scanning Electron Microscopic Observations on Human Blood Platelets and Their Alterations Induced by Thrombin. *Arch. histol. jap.* **31**: 37, 1969.
- 23) Cooley, D. A., DeBakey, M. E., and Morris, G. C., Jr.: Controlled Extracorporeal Circulation in Surgical Treatment of Aneurysm. *Ann. Surg.* **146**: 473, 1957.
- 24) DeBakey, M. E., Cooley, D. A., Crawford, E. S., and Morris, G. C., Jr.: Aneurysms of the Thoracic Aorta: Analysis of 179 patients Treated by Resection. *J. Thorac. Surg.* **36**: 393, 1958.
- 25) Austen, W. G., and Shaw, R. S.: Experimental studies with extracorporeal circuits as a method to enable surgical attack on thoracic aneurysms. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **39**: 337, 1960.
- 26) Connolly, J. E., Kountz, S. L., and Boyd, R. J.: Left heart bypass: Experimental and clinical observations on its regulation with particular reference to maintenance of maximal renal blood flow. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **44**: 577, 1962.
- 27) Mandelbaum, I., and Webb, M. K.: Left ventricular function during cross-clamping of the descending thoracic aorta. *J. A. M. A.* **186**: 229, 1963.
- 28) Hug, H. R., and Taber, R. E.: Bypass flow requirements during thoracic aneurysmectomy with particular attention to the prevention of left heart failure. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **57**: 203, 1969.
- 29) 杉江三郎, 田辺達三: 人工材料と抗血栓性について人工臓器, **1**: 17, 1972.
- 30) 濡美和彦, 人工臓器, 初版, 福武直, 東京大学出版会, 1970, P. 45, P. 163.
- 31) Sawyer, P. N., Pate, J. W., and Weldon, C. S.: Relations of Abnormal and Injury Electric Potential Differences to Intravascular Thrombosis. *Am. J. Physiol.* **175**: 108, 1953.
- 32) Sawyer, P. N., and Pate, J. W.: Bio-Electric Phenomena as an Etiologic Factor in Intravascular Thrombosis. *Am. J. Physiol.* **175**: 103, 1953.
- 33) Leininger, R. I., Cooper, C. W., Falb, R. D., and Grode, G. A.: Nonthrombogenic Plastic Surfaces. *Science* **152**: 1625, 1966.
- 34) Sharp, W., Gardner, D., and Andresen, G.: A Bioelectric polyurethane elastomere for intravascular replacement. *TASAIO* **12**: 179, 1966.
- 35) Sawyer, P. N., and Srinivasen, S.: Studies on the biophysics of intravascular thrombosis. *Amer. J. Surg.* **114**: 42, 1967.
- 36) Leonard, F.: A rationale for the preparation of nonthrombogenic materials. *TASAIO* **15**: 15, 1969.
- 37) Gott, V. L., Koepke, D. E., Daggett, R. L., Zarnstorff, W., and Young, W. P.: The coating of intravascular plastic prostheses with colloidal graphite. *Surgery* **50**: 382, 1961.
- 38) Gott, V. L., Whiffen, J. D., and Dutton, R. C.: Heparin Bonding on Colloidal Graphite Surfaces. *Science* **142**: 1297, 1963.
- 39) Whiffen, J. D., Dutton, R., Young, W. P., and Gott, V. L.: Heparin application to graphite-coated intravascular prostheses. *Surgery* **56**: 404, 1964.

- 40) Kramer, R. S., Vasko, J. S., and Morrow, A. G.,: Stability of the graphite-benzalkonium-heparin surface: in vitro and in vivo studies employing radioactive ^3H -Heparin. S. Forum. 17 : 136, 1966.
- 41) Leininger, R. I., Epstein, M. M., Falb, R. D., and Grode, G. A.,: Preparation of nonthrombogenic plastic surfaces. TASAO 12 : 151, 1966.
- 42) Grode, G. A., Anderson, S. J., Grotta, H. M., and Falb, R. D.,: Nonthrombogenic materials via a simple coating process. TASAO 15 : 1, 1969.
- 43) Merrill, E. W., Salzman, E. W., Lipps, B. J., Jr., Gilliland, E. R., Austen, W. G., and Johnson, J.,: Antithrombogenic cellulose membranes for blood dialysis. TASAO 12 : 139, 1966.
- 44) 平井淳一, 白髪健朗: Non-thrombogenic 左心バイパスによる重症動脈管開存症の一治験例, 胸部外科, 29 : 480, 1976.

Experimental study on nonthrombogenic left heart bypass**Nobuhiko KINUGAWA, M.D.**

Department of Surgery, Okayama University Medical School

(Director : Prof. T. Sunada)

A new technique is described to facilitate descending thoracic aorta replacement without the use of anticoagulants. To eliminate the need of anticoagulants, tubes and cannulae are coated with nonthrombogenic polyurethane-polyvinyl-graphite (PPG). The left heart bypass employing them can provide a dry operative field. No significant changes were observed in clotting time and prothrombin time during this nonthrombogenic left heart bypass.

The following findings were observed under scanning electron microscopy : The majority of platelets were solitarily dispersed and a few platelets were aggregated in each other on the PPG-coated tube. They were uniformly spherical or spheroidal with short spiny projections and long pseudopods. Aggregations of platelets were present but metamorphoses of the platelets and formation of fibrin nets were not observed. These findings of PPG-coated tube were similar to that of uncoated polyvinyl chloride tube in heparinized left heart bypass. Moreover PPG-coated tube showed a tendency to depress transformation of platelets in early stage of thrombus formation. However, either silicone tube or uncoated polyvinyl chloride tube did not prevent transformation of platelets.

The advantages of this method over conventional left heart bypass are that the anticoagulants are not required.