体外循環中のハプトグロビンの使用経験

国立大阪病院

川 畑 安 正* 長 柄 英 男** 田 村 栄 稔**
 跡 部 正 明** 松 本 学** 平 塚 博 男**

1. はじめに

人工心肺による体外循環において、高度溶血による急性腎不全は、しばしば遭遇する合併症である¹⁾²⁾。また溶血は、出血傾向、肺合併症等の発現因子でもある。

溶血により増加した遊離ヘモグロビン (Hb) は、血漿中のハプトグロビン (Hp) と結合し複合体 (Hb-Hp Complex) を形成し、細網内皮系とくに肝臓で代謝される。遊離 Hb 濃度が一定量を越えると、毒性物質として作用し、また腎糸球体より濾過され、ヘモグロビン尿 (hemoglobinuria) を呈する (図 1)。

今回遊離 Hb と特異的に結合する「人血漿ハプトグロビン・液状製剤」(ミドリ十字) を人工心肺回路内に投与し、ヘモグロビン尿の防止、また遊離 Hb により引き起こる合併症の予防を計り、臨床上好な結果を得たので報告する。

2. 症例と方法

今回われわれが、ハプトグロビンを投与した症例 (以下 Hp 投与群) は、僧帽弁置換術 (MVR) 13 例、大動脈弁置換術 (AVR) 2 例、大動脈弁置換術兼僧帽弁置換術 (AVR+MVR) 2 例、直視下僧帽弁交連切開術兼大動脈弁形成術 (OMC+A-plasty) 3 例、直視下僧帽弁交連切開術 (OMC)、三尖弁置換術 (TVR) 単心房、大動脈冠動脈バイ

* : ICCU

** : 循環器外科

Clinical Use of Haptoglobin in the Extracorporeal Circulation. Kawahata, Y., Nagara, H., Tamura, H., Atobe, M., Matsumoto, M. & Hiratsuka, H. (Osaka National Hospital)

図 1

投与 方 法

図 2

パス術 (A-C bypass) 各 1 例の計 24 例である。

対照群 (非投与群) は、1976 年 7 月より 12 月までに開心術を行なった 39 例である。

人工肺は国立大阪病院式 Disposale Bubble

体外循環時間とヘモグロビン尿
発現率 (対照群において)

図 3

体外循環時間とヘモグロビン尿

図 4

Oxygenator 人工心は Twin roller pump を使用した。

体外循環灌流液は Lactated-Ringer 10% Martos 21 % Mannitol を使用し、稀釈率 20 % とした。

充填血は ACD 血を使用した。

Hp の投与方法は体外循環開始後 30 分より貯血槽内に 4000~8000 単位 (200~400ml) 点滴で行なった。体外循環終了後、ウロラプスティックス (マイルス三共) にて、潜血反応が認められた症例には 2000 単位の追加投与を行なった。(図 2)

対照群と Hp 投与群でヘモグロビン尿と体外循環時間について検討し、また遊離 Hb と Hb-Hp Complex の和である血漿 Hb を Fielding 法により測定し比較を行なった。また Hp 投与 4 例について Hb-Hp Complex, 遊離 Hp, 遊離 Hb を Acetate Cellulose 電気泳動法, Cyanmetho-hemoglobin 法により分別定量し、投与量、投与時期の検討を行なった。

3. 結 果

対照群 39 例のヘモグロビン尿の出現率と時間との関係をみると、体外循環 50 分以下では 15 例中 3 例 (20%), 50 分より 100 分では 13 例中 8 例 (61%), 100 分以上では 11 例全例 (100%) にヘモグロビン尿を認めた (図 3)。これを検討し、体外循環時間が 60 分以上と予想される症例に、ハプトグロビン (Hp) を投与するのが適当であると考え、Hp 投与群は体外循環時間 60 分以上の症例とした。

体外循環時間とヘモグロビン尿の関係では対照群で、39 例中、ヘモグロビン尿の認められなかったのは 17 例 (44%) で、これらの体外循環時間は 43 ± 18 分であった。残る 22 例 (56%) ではヘモグロビン尿を認め、これらの体外循環時間は 102 ± 55 分であった。Hp 投与群では、24 例全例で、ヘモグロビン尿を認めたものはなく、これらの体外循環時間は 99 ± 44 分であった (図 4)。

血漿 Hb 量は Fielding 法で測定した。血漿 Hb は対照群、Hp 投与群とも体外循環時間とともに増加した。回帰直線を求めると、対照群では $y = 1.1x + 6.9$, 投与群では $y = 0.75x + 9.9$ あったが、両者に有意差はなかった (図 5)。

次に Hb-Hp Complex, 遊離 Hb, 遊離 Hp を Acetate Cellulose 電気泳動法, Cyanmetho-hemoglobin 法により分別定量を行なった。対照群の 1

図 5

Hp-Hb Complex遊離Hp, 遊離Hb の分別定量(非投与群) T.N. (VSD)

図 6

図 7

例を図6に示す。Controlで存在した遊離Hpは体外循環開始後速やかにHb-Hp Complexとなり、Hb-Hp Complexは44mg/dl前後の平衡状態となる。一方遊離Hbは時間とともに増加し、血漿Hbの増加は主に遊離Hbの増加によることがわかる。

Hp投与群の1例を図7に示す。30分のHp投与までは遊離Hb過剰の状態であるが、Hp投与後は遊離Hp過剰の状態となっている。HpとHbは速やかに結合するため、Hp過剰か、Hb過剰の状態となる。つまり、Hp過剰の状態では、血漿中に存在するHbは全てHb-Hp Complexとなり、遊離Hbは存在しない。この症例は、体外循環終了までHp過剰であり、血漿中に遊離Hbは存在していないことを示している。

次に、Hp投与群6例で行なった分別定量のHb-Hp Complexを図8に示す。Hb-Hp Complexは体外循環時間とともに増加し、平衡状態に達することはなかった。遊離Hpの推移は図9に示すように体外循環開始とともに速やかに消費され、その後Hp投与により著明に上昇し、 $143.9 \pm 60.1 \text{ mg/dl}$ となり、その後消費され、徐々に減少していく。一方遊離Hbは図9のようにHp投与後は一度存在しなくなり、60分で6例中1例、80分で6例中3に少量定量され、80分での6例の平均は $13.5 \pm 20.9 \text{ mg/dl}$ となった。

遊離HpのHb結合能と遊離Hbの時間的推移をみると、生体固有のHpは体外循環開始とともに速やかに消費され、Hp投与後は $101.2 \pm 56.5 \text{ mgHb/dl}$ の結合能を有するようになり、以後消費され、80分では $18.8 \pm 65.3 \text{ mgHb/dl}$ の結合能を残している(図10)。

4. 考 按

人工心肺による体外循環では、急性腎不全を起こすことがある¹⁾²⁾。体外循環時間の延長は腎不全発生頻度を増強させるといわれる³⁾⁴⁾⁵⁾。そして急性腎不全の一因となるのが溶血である⁶⁾³⁴⁾⁹⁾。現在まで体外循環による溶血の防止法として、(1)人工肺の改良⁷⁾⁸⁾¹²⁾(2)吸引血液の処理法の改良¹⁰⁾¹¹⁾³²⁾(3)希釈体外循環⁵⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁸⁾(4)ポンプの改良¹⁴⁾(5)利尿剤投与¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁸⁾(6)アチドーシスの補正⁵⁾(7)界面活性剤投与¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾(8)新鮮血使用¹⁵⁾(9)ビタミン製剤投与(10)ハプトグロビンの投与等が行なわれ、効果をあげている。

今回われわれは、溶血によるヘモグロビン尿防止対策として、人工心肺回路内に「人血漿ハプトグロビン液状製剤」を予防的に投与した。

図 8

図 9

遊離HpのHb結合能および遊離Hb

図 10

ハプトグロビン (Hp) は, 1938 年 Polonovski & Jayle²⁰⁾ により, 血漿中に存在することが推定

された。1940年, この物質を同定し²¹⁾, これがヘモグロビン (Hb) と容易に結合し安定した複合体を形成する蛋白であることを確めた。そしてこの物質をハプトグロビンと名付けた。1955年, Smithies²²⁾²³⁾が, デン粉ゲル電気泳動法により, ヒトの Hp には, 3種類の遺伝型 (Hp 1-1, Hp 2-1, Hp 2-2)があることを明らかにした。

Hp は α_2 -グロブリンに属する糖蛋白で, 日本人に多い 2-1 型, 2-2 型の分子量は各々 200000, 400000である。

正常人血清中の Hp 濃度は個人差が大きく, Nyman²⁴⁾によれば 30~180 mg/dl 大城²⁵⁾は 169.5 $\pm$ 57.6 mg/dl と測定している。

次に Hp の生理作用について述べる。この Hp は Hb と複合体を形成し (Hb-HpComplex) 分子量 15000 以上となり腎糸球体を通過しにくく, 一度形成された Hb-Hp Complex は容易に肝臓で代謝される²⁷⁾³⁵⁾。Hb-Hp Complex を形成する Hp は血清 Hp として再利用されない。Hp はこのように Hb 代謝と密接に関係し, Hb を生体内に貯蔵し, 鉄の消耗を防止している (図 1)。

入手出来る「人血漿ハプトグロビン液状製剤」は, ヒト 1000 人分の血漿を pool して電気泳動的に分画され, 90%以上の Hp (α_2 -グロブリン) を含み, 茶褐色味を帯びた液体である。組成は 1 バイアル (100ml) 中に, Hp 2000 単位あり, pH 6.0~7.5, 浸透圧比は約 1 である。Hp の単位は 1 mg の Hb に結合するといわれる。

大城によれば³⁶⁾, 投与の期待される適応は, (1)異型輸血による腎障害, (2)火傷による腎障害, (3)長期人工心肺による腎障害, (4)新生児の黄疸溶血による腎障害, (5)先天性無ハプトグロビン血症とされる。

人工心肺による体外循環中の溶血は時間とともに増加し³³⁾, 今回の対照群 39 例の測定結果でも, 50 分以下で 20%, 50 分より 100 分で 61%, 100 分以上で 100% にヘモグロビン尿を認めている。また, 対照群でヘモグロビン尿が認められなかった症例は 44% で, これらの体外循環時間は 43 $\pm$ 18 分, ヘモグロビン尿が認められたのは 56% で, 体外循環時間は 102 $\pm$ 55 分であり, 体外循環時間の延長がヘモグロビン尿発現を増加させていること

がわかる (図3, 4).

対照群の体外循環時間と、遊離 Hp と Hb-Hp Complex の和である血漿 Hb の関係を回帰直線で描くと、 $y = 1.1x + 6.9$ となり、体外循環時間が延長するに従い、血漿 Hb が直線的に増加している (図5).

血漿 Hb 値が従来の Kay-Cross rotating disc oxygenator や各種の disposable oxygenator より高めなのは²⁾²⁸⁾²⁹⁾⁴⁾ 体外循環手技の差によるものと思われる。われわれは心静止法として、anoxic arrest より人為的電気細動法を多用している。また、total flow に達する時間が平均2分と他施設よりも早い。

次に、対照群の心室中隔欠損症の1例をとりあげ、Hb-Hp Complex、遊離 Hp、遊離 Hb の分別定量を行った結果では、体外循環開始後すぐに遊離 Hb は生体固有の Hp と結合し Hp は消費されるため、Hb-Hp Complex は平衡状態となり、Hp がないため遊離 Hb が時間とともに増加していることがわかる (図6)。

ヘモグロビン尿の出現は³⁵⁾、Clowes³⁰⁾ は血漿 Hb が 100mg/dl、水野は血漿 Hb が 135~250 mg/dl を越えれば起こると指摘している。

次に Hp 投与の有効性を検査する。

Hp 投与群のヘモグロビン尿発現率は0%で、体外循環時間 99 ± 44 分であり、対照群のヘモグロビン尿を認めた22例の体外循環時間 102 ± 55 分と比較し、時間の有意差がないことより、Hp 投与のヘモグロビン尿防止の有効性がうかがわれる。Hp 投与群の体外循環時間と血漿 Hb の関係は $y = 0.75x + 9.90$ の回帰直線が得られるが、これも対照群と有意差はなかった。これは遊離 Hb と Hb-Hp Complex の和が Hp 投与群と対照群で変わらないことを示す (図4, 図5)。

次に Hp 投与群の1例を示す。(図7)

体外循環開始後、遊離 Hb が生体固有の Hp と結合し消費した後は、遊離 Hb が過剰の状態である。そして30分後、Hp 6000単位投与後は Hp が過剰の状態であり、これも時間とともに消費されている。Hb-Hp Complex が平衡状態に達することはない。もちろん、本症例はヘモグロビン尿を認めていない。Hp 投与群6例の Hb-Hp Complex

の分別定量でも、体外循環中を通して増加している。遊離 Hb、遊離 Hp の分別定量では、体外循環15分後一時的に遊離 Hb が過剰にあることを示しているが、その後 Hp 投与により遊離 Hb が過剰になりその後 Hp は消費されるが、80分後僅かに遊離 Hb が認められるがほとんどは Hp が過剰の状態である (図8, 図9)。遊離 Hp の Hb 結合能は、Hp 投与後は、 $101.2 \pm 56.5 \text{ mgHb/dl}$ の結合能を有し、80分後でも $18.8 \pm 65.7 \text{ mgHb/dl}$ の結合能を残しており、体外循環による遊離 Hb 増加に対して、Hp の投与は遊離 Hb の産生抑制の面からみて有効である (図10)。

また Hp の投与量は、以上検討の結果、60分以上の体外循環に4000~8000単位投与することにより、ヘモグロビン尿が防止出来る。また Hp 投与群の測定で Hp 1単位の遊離 Hb 結合能は 1.42 mgHb/dl であった。

最後に Hp の副作用であるが、人工心肺回路内に点滴投与する際、一時的に灌流圧の低下が認められた。平均5~10 mmHg の低下であった。これは hypotension activator によるものと思われる。また、Hb-Hp Complex が肝臓で代謝されることから、その他の副作用については、これから検討を加えていく。

5. おわりに

体外循環で発現するヘモグロビン尿に対し、Hp の人工心肺回路内に予防的に投与することは有効であった。これは溶血により生じる遊離 Hb が Hp と特異的に結合し、腎糸球体で濾過されずに細網内皮系とくに肝臓で代謝されるためである。

Hp は4000~8000単位の投与量が、われわれの使用している人工心肺では適当と思われる。

引用文献

- 1) Senning, A., Andres, J., Bornstein, P., Norberg, B. & Andersin, M. N. Renal Function during Extra corporeal Circulation at High and Low Flow Rates: Experimental Studies in Dogs. Ann. Surg. 151: 63, 1960
- 2) Galletti, P. M. & Brecher, G. A. Heart-Lung Bypass: Principles and Techniques of Extracorporeal Circulation Grune & Stratton, 1962

- 3) 岡本重一, 橋本聰一, 竹井康純, 山本久義, 津森嘉樹, 野村望, 金義潤, 川島康生, 曲直部寿夫 長時間体外循環の術後生体に及ぼす影——頃ことに臓器機能と術後合併症についての検討——25: 761, 1972 胸部外科
- 4) Yeh, T. J., Brackney, E. L., Hall, D. P. & Ellison, R. G. Renal Complication of Open-heart Surgery: Predisposing Factors Prevention and Management. *J. Thorac. Cardio. Surg.* 47: 79, 1964
- 5) 三枝正裕, 水野明, 森本和大, 中村和雄, 野田栄次郎, 長谷川嗣夫, 太田喜義, 吳大順, 体外循環による術後急性腎不全—とくに死亡例についての検討 20: 594, 1967 胸部外科
- 6) Franklin, S. S. & Merrill, J. P. Acute Renal Failure. *New Engl. J. Med.* 262: 711, 1960
- 7) 堀内昭男, Lande-Edwards 膜型肺の溶血に関する研究 日胸外会誌 23: 1064, 1975
- 8) 小井井良夫, 川瀬光彦, 安西信行, 岡田忠彦, 高安俊介, 藤倉一郎, 山口繁, Disposable Bubble Oxygenator による長期間体外循環心臓 1: 384, 1967
- 9) 伊藤昌平, 北村信夫, 富野哲夫体外循環に起因する術後急性腎不全の発生と予防 胸部外科 28: 457, 1975
- 10) Hirose, T., Burman, R. O. & O'Connor, R. A. Reduction of perfusion hemolysis by use atrumatic low pressure suction. *J. Thoracic Cardio. Surg.* 47: 242, 1964
- 11) 鷺津卓爾, 人工心肺による体外循環の臨床的研究, とくに人工心肺装置について, 日胸外会誌, 16: 680, 1968
- 12) 大島宣雄, 大田文武, 藤倉一郎, 安西信行, 川瀬光彦, 岡田忠彦, 気泡型人工肺の改良—多孔板付気泡型人工肺の開発—医器誌, 41: 393, 1971
- 13) 川崎富夫, 体外循環が血液性状に及ぼす影響に関する臨床的研究—気泡型人工肺と回転円盤型人工肺との比較を中心として, 日胸外会誌. 17: 1287, 1969.
- 14) 黒岩常泰, 人工心肺による体外循環の臨床的研究, とくに名大型人工心肺装置の灌流成績ならびに適正灌流の考察, 日胸外会誌, 14: 1153, 1966.
- 15) 水野明, 心臓外科と溶血, 血液と尿管. 2: 543, 1971.
- 16) 砂田輝武, 寺本滋, 中西正三, 佐藤昌平, 横山太郎, 体外循環後の急性腎不全症—その成因と対策—胸部外科. 19: 122, 1966.
- 17) Miyauchi, Y., Inoue, T. & Paton, B. C. Adjunctive use of a surface-active agent in extracorporeal circulation. *Circulation* 33 & 34. Suppl. 71, 1966.
- 18) Hymes, A. C. A compariso of Plnuronic F68, low molecular weight dextran, manitol and saline as priming agents in the heart lung machine. *J. Thoracic Cardio. Surg.* 56: 16, 1968.
- 19) 大城孟, 向井清, 洪性徳, 人工心肺と溶血—とくに血清ハプトグロビンとの関係, 医学のあゆみ 85: 709, 1973
- 20) Polonovski, M. & Jayle, M. F. Existence dans ϕ le plasma sanguind'une substance activant l'action peroxydasique de l'hémoglobine. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 129: 457, 1938.
- 21) Polonovski, M. & Jayle, M. F. Sur la préparation d'une rouvelle fraction des protéines plasmatiques l'haptoglobine. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 211: 517, 1940.
- 22) Smithies, O. Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61: 629, 1955.
- 23) Smithies, O. & Walker, N. F. Gænetic control of some proteins in normal humans. *Nature* 176: 1265, 1955.
- 24) Nyman, M. Serum Haptoglobin. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. II: suppl.* 39, 1959.
- 25) 大城孟, 輸血に伴う血清 Haptoglobin の推移, 最新医学. 28: 358, 1973.
- 26) Laurell, C. B. & Nyman, M. Studies on the serum haptoglobin levelin hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. *Blood* 12: 493, 1957.
- 27) Kawaguchi, M. *Acta Med. Fukuoka* 27: 70, 1957.
- 28) Peirce, E. C. II Extracorporeal Circulation For Opæn-Heara Surgery. Charles C Thomas 1969.
- 29) Ionescu, M. I. & Wooler, G. H. Current Techniques in Extracorporeal Circulation. Butterworths 1976.
- 30) Clowes, G. H. A. Jr. Extracorporeal maintenance of circulation and respiration. *Physiol. Rev.* 40: 826, 1960.
- 31) 川畑安正, 平塚博男, 人工肺の吸引回路の一工, 夫体外循環技術. 2: 192, 1977.
- 32) Osborn, J. J., Cohn, K., Hait, M., Russi, Salel, A., Harkins, G., & Gerbode, F. Hemolysis During Perfusion. *J. Thoracic Cardio. Surg.* 43: 459, 1962.
- 33) DeWall, R. A., Long, D. M., Gemmill, S. J. & Lillehei, C. W. Certain Blood Changes In Patients Undergoing Extracorporeal Circulation. *J. Thoracic Surg.* 37: 325, 1959.
- 34) Harrison, H. E., Bunjing, H., Ordinary, N. X. & Alhink, W. S. The Pathogenesis of the Renal Injury Production in the Dog by Hemoglobin or Methemoglobin. *J. Exp. Med.* 88: 339, 1947.
- 35) Andersen, M. N. Mouritzen, C. V. & Gabrieli, E. Mechanisms of Plasma Hemoglobin Clearance after Acute Hemolysis: Studies in Open-Heart Surgical Patients. *Ann. Surg.* 163: 529, 1966.
- 36) 大城孟, Personal Communication