遠心式血液ポンプのための *in vitro* 抗血栓性試験

In vitro antithrombogenic test for rotary blood pump

○泊 陽輔、丸山 修*、杉山 大介、河村 洋、西田 正浩*、山根 隆志*

東京理科大学、*産業技術総合研究所

Yosuke Tomari, *Osamu Maruyama, Daisuke Sugiyama, Hiroshi KAWAMURA, *Masahiro Nishida, *Takashi Yamane

Tokyo University of Science, *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

1. 背景

遠心式血液ポンプの開発において抗血栓性を付与することは重要であり、ポンプの抗血栓性を生物学的に評価するため、我々はヒツジを使った *ex vivo* 動物実験を利用している。動物実験は大型動物実験施設及び手術を行う外科医を必要とするため、実施できる研究機関は限られてしまう。従って、動物実験を効率的に進める必要があり、試験血液ポンプが、少なくとも動物実験実施中は、生成した血栓により実験を中断することのないよう事前評価することが求められている。

2. 目的

遠心血液ポンプが目的期間の動物実験に耐えうる抗血栓性を有することを生化学的に事前評価するために、閉回路を利用した *in vitro* 抗血栓性試験法の確立を目的とした。

3. 実験方法

1) 活性化凝固時間の制御

血液の抗凝固剤として臨床で一般的に使われているヘパリンとその中和剤であるプロタミンについて、ビーカー中で両者を購入牛血に添加し、任意の活性化凝固時間 (ACT) となるように調整を行った。また、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムと、その中和剤である塩化カルシウムでも同様の調整を行い、両者の ACT 制御能について比較した。

2) *in vitro* 抗血栓性試験

Fig.1 Mock circulation system for *in vitro* antithrombogenic testing

条件として、温度は 37℃、流量 1.5L/min、ACT=200s で制御しながら 2 時間循環させた後、運転を停止し、ポンプ内部の血栓形成の有無を調べ 1 週間のヒツジを使用した *ex vivo* 動物実験 (ACT;150-330s) の結果と比較した。使用した遠心ポンプは産総研モノピボット型ポンプ DD3, DD6 および動圧軸受型ポンプ HH7 の 3 種とした。

4. 結果及び考察

ヘパリンとプロタミンの組み合わせによる ACT 制御については、プロタミンの過剰添加により、抗凝固剤の中和剤であるにもかかわらず ACT が上昇する挙動を示した。一方、クエン酸ナトリウムと塩化カルシウムについてはそれぞれの試薬添加量の増加に伴って ACT は上昇、下降し ACT を任意に制御できることが分かった。これらの結果よりクエン酸ナトリウムと塩化カルシウムを *in vitro* 抗血栓性試験に使用した。

Fig.2 Result of *in vitro* antithrombogenic testing

を *in vitro* 抗血栓性試験に使用した。

In vitro 試験の結果を Fig.2 に示した。(a) の DD3 及び (b) の DD6 にはポンプ内全ての部位において血栓は生成していなかった。これらのポンプは、過去に行った動物実験で血栓形成が確認されたものの、1 週間の実験継続に成功している。これに対し (c) の HH7 はインペラ背面全域で血栓が形成した。HH7 と同型の HH2 で行った動物実験では実験開始後、約 1.5 時間で血栓形成による流量低下により実験を中断した経緯がある。これらの結果から現時点では本研究の *in vitro* 抗血栓性試験法による血栓の有無は、上記実験条件による動物実験継続の可否を推定できるものと期待している。

5. 結論

抗凝固剤クエン酸ナトリウムと中和剤塩化カルシウムを用いて ACT200s, 2 時間の条件で *in vitro* 抗血栓性試験を行った結果、動物実験の結果と相関を示しており、本条件による試験法が 1 週間の *ex vivo* 動物実験の継続可否を推定する事前評価となる可能性が見出された。