

<Results> Histological tests of the covering materials at 6 months-animal implantation
Polyester vs. SPU porous material

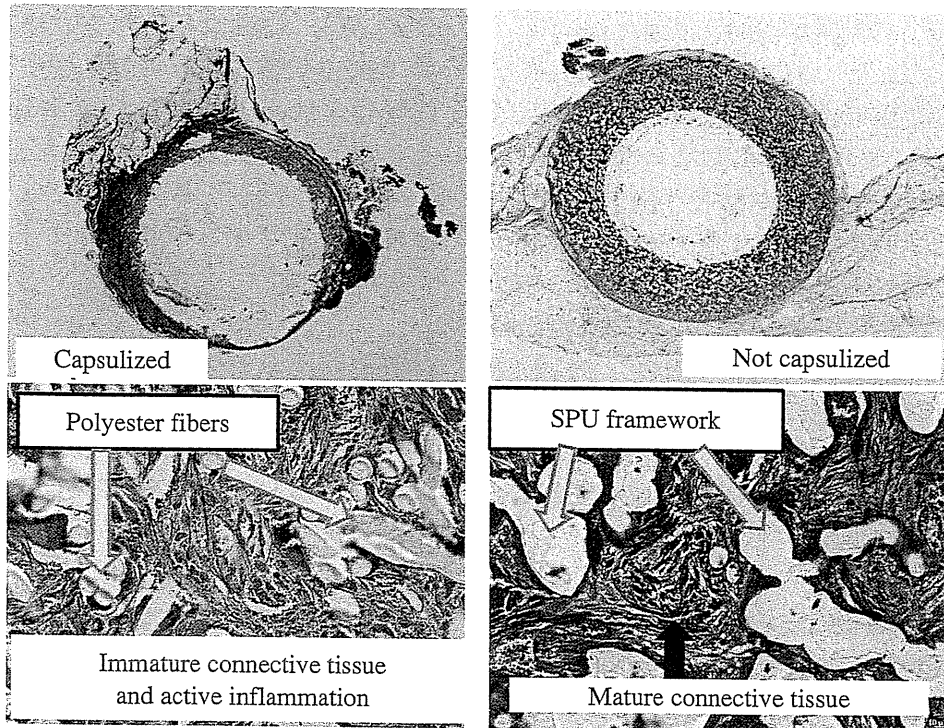


図10. ドライブライン被覆カフ部の病理組織像
ポリエステル製のカフと比較し、新規多孔体による被覆カフ (SPU) は、周囲組織のカプセル化を抑制している。また、多孔体内に浸潤した膠原線維は成熟した形態を示し、前者と比較し、強固な癒着を形成している。

- 工臓器 2008;37(1):8-13.
- 2) Tatsumi E, Nakatani T, Imachi K, et al : Domestic and foreign trends in the prevalence of heart failure and the necessity of next-generation artificial hearts : a survey by the Working Group on Establishment of Assessment Guidelines for Next-Generation Artificial Heart Systems. J Artif Organs 2007;10(4): 187-94.
 - 3) Kanter KR, McBride LR, Pennington DG, et al : Bridging to cardiac transplantation with pulsatile ventricular assist devices. Ann Thorac Surg 1988; 46(2):134-40.
 - 4) Zierer A, Melby SJ, Voeller RK, et al : Late-onset driveline infections : the Achilles' heel of prolonged left ventricular assist device support. Ann Thorac Surg 2007;84(2):520-1.
 - 5) Griffith BP, Kormos RL, Nastala CJ, et al : Results of extended bridge to transplantation : window into the future of permanent ventricular assist devices. Ann Thorac Surg 1996;61(1):396-8.
 - 6) Monkowski DH, Axelrod P, Fekete T, et al : Infections associated with ventricular assist devices : epidemiology and effect on prognosis after transplantation. Transpl Infect Dis 2007;9(2):114-20.
 - 7) Choi L, Choudhri AF, Pillarisetty VG, et al : Development of an infection-resistant LVAD driveline : a novel approach to the prevention of device-related infections. J Heart Lung Transplant 1999;18(11): 1103-10.
 - 8) 岡本吉弘, 根本泰, 黄海瑛, 他 : 組織工学用三次元ポリウレタン多孔質スキャホールド材の開発. 人工臓器 2005;34(2):S-100.

体外循環時におけるリポソーム型人工酸素運搬体 (TRM645) の有用性と安全性に関する研究

Evaluation of a Novel Combined Therapy of a Extracorporeal Cardiopulmonary Bypass Using Liposome-encapsulated Hemoglobin (TRM645)

水野 敏秀⁽¹⁾, 石塚 隆伸⁽²⁾, 金田 伸一⁽²⁾, 巽 英介⁽¹⁾, 妙中 義之⁽¹⁾

Toshihide Mizuno⁽¹⁾, Takanobu Ishizuka⁽²⁾, Shinichi Kaneda⁽²⁾, Eisuke Tatsumi⁽¹⁾, Yoshiyuki Taenaka⁽¹⁾

和文抄録

本研究では、体外循環時および心肺停止蘇生時の心肺補助装置の回路充填剤として、テルモ社製人工酸素運搬体 (TRM645) を使用し、その予後侵襲の軽減化などに対する有用性および安全性について検討を行った。実験動物にはヤギを使用し、希釈体外循環実験では、右房脱血、頸動脈送血で常温体外循環を行った。TRM645投与群には40% TRM645加回路充填液を使用した。体外循環は心停止下で120分間施行し、経時的に全身酸素運搬量・全身酸素消費量・混合静脈血酸素飽和度の測定と血液生化学検査を行った。結果、ナノカプセル型人工酸素運搬体を回路充填剤に添加することによって、希釈体外循環施行時の全身組織酸素代謝が促進される傾向にあることが示された。また、新規心肺蘇生法の有用性の検討を目的とした実験では、実験的心停止後に経皮的な心肺補助装置 (PCPS) を用いて20分間の右房脱血、右頸動脈送血による呼吸循環補助を行った。実験では、心肺補助中の酸素運搬量が同等にもかかわらず、TRM645投与群で酸素代謝量が維持され、組織への酸素到達状態が良好であることが示された。また、血液生化学的にも、TRM645の使用により蘇生後の臓器傷害が軽減されていたと考えられた。以上より、体外循環による心肺補助とTRM645の併用は、循環補助中の全身酸素代謝の維持や蘇生後の多臓器不全を防止する効果が期待できると考えられた。

Abstract

We have developed novel circulatory support methods combined with artificial oxygen carrier in cardiopulmonary bypass (CPB) for cardiac surgery and cardiopulmonary resuscitation therapy using a percutaneous cardiopulmonary support (PCPS). We used newly developed liposome-encapsulated hemoglobin (TRM645) which has some preferable features for the clinical use, and it is expected to improve the oxygen metabolism to work as oxygen carrier. Our two studies were purposed to evaluate the combined therapy with TRM645 in large animal experiments focusing on systemic oxygen metabolism during diluted CPB and low flow PCPS. These results suggested that the application of TRM645 in the priming solution was able to maintain systemic oxygen consumption under the diluted CPB and low flow PCPS. In the method we have proposed, we determined the feasibility to deliver oxygen to the peripheral tissues at which red blood cells could not transport oxygen.

Our new method with TRM645 showed potential to maintain the oxygen metabolism, and to prevent hypoxic organ injury during the diluted CPB and low flow PCPS.

Keywords

liposome-encapsulated hemoglobin, cardiopulmonary bypass, percutaneous cardiopulmonary support, oxygen metabolism

(1) 国立循環器病センター研究所 〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1 国立循環器病センター研究所, 人工臓器部 Dept. Artificial Organs, National Cardiovascular Center Research Institute, Fujishirodai 5-7-1, Suita, Osaka

(2) テルモ株式会社研究開発センター R&D center, TERUMO CORPORATION

論文受付 2008年9月8日 論文受理 2008年12月17日

はじめに

Cardiopulmonary Bypass (CPB) や Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) など人工心肺装置を用いた体外循環法は、今日の心臓外科の最も基本的な技術の一つであり、この体外循環技術の開発と安全性の向上は、心臓外科の成績向上に直接関連している¹⁾。現在の一般的な体外循環法は、体外循環中の非生理的な循環動態の安全性を保証するために、低体温状態での希釈体外循環法が基本の一つとして普及している。しかし、この体外循環時における低体温や血液希釈などの状態は、循環生理学的に必ずしも適切な環境とはいえない^{2,3)}。一方で、常温での希釈体外循環については、低体温の副作用の回避、冷却と加温に必要な体外循環時間の短縮、出血の減少などが利点とされるが、体外循環中の酸素運搬量を高値に設定する必要があり、低体温循環と比較し、高いヘマトクリット値やポンプ流量に維持しなければならない⁴⁾。また、特発的な低循環状態に対する安全時間が短くなることも大きな問題点としてあげられている。更に大量のプライミング液により血液を希釈した状態は、低ヘモグロビン血症を伴う危険性が常にあり、術後合併症の発生や回復に大きな影響を及ぼすことが考えられる^{5,7)}。特に、小児に対する本法の適用時には、かかる血液希釈による障害が術予後に大きく影響する危険性が高いとされている。現段階では、その対応として自己ないし他家輸血療法を併用しているが、輸血療法には免疫的な不適性や、感染症の発生など、輸血自体が新たな合併症を招く可能性を有する。このため、現在でも無輸血でより安全で高効率な体外循環法の開発は、心臓外科の発展に大きく貢献できる課題である。

また、経皮的挿入が可能な送脱血カテーテルと膜型人工肺および遠心ポンプを組み合わせた経皮的な心肺補助 (Percutaneous cardiopulmonary support; PCPS) システムは、大学病院救急部や救命救急センターなどの三次救急施設を中心に行われている有効な心肺蘇生法であるが、平成15年度に救急搬送された病院外心肺停止患者約95,000例において自己心拍が再開し1ヵ月後の生存を得た症例は約500例、3%程度であり、PCPSなど新しい蘇生法の適用により自己心拍の再開は可能ながらも、その後の蘇生後脳症、多臓器不全などの合併症のため社会復帰に至るまでの回復を望むことは困難な場合が多い⁸⁾。この原因としては、PCPS手技が末梢血管からのアプローチに限られるため全身の循環維持に必要な至適流量を得ることが困難なことが挙げられる。またショック状態にある心肺停止患者は末梢循環不全が顕著であるため、PCPS施行後においても脳、心臓の低酸素状態が遷延し、社会復帰の点で劇的な成績向上はなく、標準的治療とは言い難いのが現状である。

換言すれば、これら呼吸循環に関する機械的補助法においても、低ヘモグロビン血症や低流量循環によって血液の酸素運搬能が低下している場合は、各臓器への十分な酸素供給をおこなうことができず、生命の維持が困難であるといえる。臨床的に、これら諸事象への対策としては、酸素運搬量を増加させる手法(おもに血中ヘモグロビンの増加、血流量の増加)を講じる場合が多いが、上述したように臨床現場で効果的に行えることは

少ない。

我々は、かかる問題に対し、テルモ社と共同研究を行っているナノカプセル型人工酸素運搬体を体外循環回路の充填剤として使用し、希釈体外循環の血液希釈時や低流量循環時における血液の酸素運搬能を向上させ、術中の末梢組織における低酸素状態を改善し、より安全な体外循環が期待可能な手法の開発を行った。我々が使用したナノカプセル型人工酸素運搬体はヘモグロビンをリポソームで包埋していたナノ粒子で、生体赤血球と比較し非常に高効率に酸素を運搬することが可能であり、他の人工酸素運搬体と比較して血中半減期が長く、生体に対する影響が少ないことを特徴としている^{9,10)}。

従来の研究より、機械的循環法への人工酸素運搬体併用法の効果については、動物実験にて検討が行われ¹¹⁾、高次脳機能の保存効果¹²⁾、心筋保護効果が認められているが^{13,14)}、人工酸素運搬体を添加した場合の体内を循環する血液全体の酸素運搬能および酸素代謝能を直接的に評価した研究は少ない。

本論文では、新エネルギー・産業技術総合開発機構による課題設定型産業技術開発費助成事業「ナノカプセル型人工酸素運搬体製造プロジェクト(平成15年度～平成17年度実施)」の一環として行われた「体外循環時におけるテルモ社製人工酸素運搬体TRM645の有用性と安全性に関する研究」に関する2つの研究を紹介する。これらの研究は、機械式呼吸循環補助と人工酸素運搬体の投与を併用することにより、低ヘモグロビン血症、低流量ながら全身の酸素供給を維持し、人工酸素運搬体を用いて末梢組織への酸素供給を確保するという、双方の短所を補完する新しい強力な呼吸循環補助法を確立するものである。

1. 小児希釈体外循環時におけるナノカプセル型人工酸素運搬体添加回路充填材使用による全身組織酸素代謝の変化に関する研究

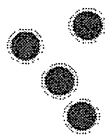
本研究では、小児希釈体外循環に対しナノカプセル型人工酸素運搬体添加回路充填材を使用し、その体外循環時の全身酸素代謝の変化について、仔ヤギを用いた動物実験モデルを作成し、検討を行った¹⁵⁾。

(1) 方法

本実験には、実験動物としてオス仔ヤギを使用し、対照群4頭(BW 21.5±2.6 kg)、テルモ社製人工酸素運搬体使用群(TRM群)4頭(BW 19.8±0.8 kg)とし、実験を行った。

i) 人工酸素運搬体

本実験で使用された人工酸素運搬体は、テルモ株式会社研究開発センターで作成された人工酸素運搬体(TRM645)を使用した。TRM645は、精製したヒトヘモグロビンにinositol hexaphosphateを添加して、脂質を混合したのち高速攪拌器で処理してリポソーム化したものを、ポリエチレングリコールで修飾し、生理食塩水に懸濁したコロイド状溶液である。ヘモグロビンを内包したリポソームは、平均粒子径が約230 nm、P50を45-55 mmHg、懸濁溶液中のヘモグロビン濃度が6 g/dL



	赤血球	TRM645
・大きさ	7~9 μm	200 nm (赤血球1/40)
・血液型	8種類以上	なし
・酸素運搬力	2.5~4.5 mL/dL	4.5 mL/dL
・血液寿命	14~1440 時間	24 時間
・保存	21日	180日

Fig. 1. ナノカプセル型人工酸素運搬体と生体赤血球の比較

に調整した (Fig. 1).

ii) 体外循環実験

動物実験では、検体は常法を用い麻酔導入が行われ、イソフルレン吸入による全身麻酔下で行われた。次に、血行動態として、心電図、平均大動脈圧、中心静脈圧の計測ラインを装着し、体温は直腸温を計測した。

体外循環は、開胸下に左頸動脈送血・右房後大静脈脱血方式で行われ、回路内の充填剤には、TRM群にTRM645 400 mLを添加した回路充填材 (ヒドロキシエチルデンプン520 mL, 7%炭酸水素ナトリウム溶液30 mL, マンニトール50 mL, ヘパリン2,000 IU) を使用し、総充填量 1,000 mLとした。なお、対照群にはTRM645 の代替として、同量の酢酸リンゲル液を添加したものを使用した。体外循環回路は、ハードシェルリザーバー付ホローファイバー型膜型人工肺 (キャピオックス SX10X, テルモ), 遠心ポンプ (キャピオックス CX-SP4538, テルモ), および動脈血フィルタ (キャピオックス CX-AF02, テルモ) を選択した (Fig. 3)。本実験における体外循環条件は、深部体温を 36-37 °C とし、バイパス流量を 100-120 ml/kg/min, $V/Q = 0.5$, $FiO_2 100\%$ とした。体外循環開始後には、検体を電気的細動器により心室細動状態とし、完全体外循環を確立した (Fig. 2)。

iii) 測定方法および測定項目

本実験において、血行動態の計測にはデータ記録解析システム (MacLab/16s, AD Instruments, Castle Hill, Australia) を用いて測定を行い、体外循環回路のバイパス流量の測定には超音波流量計 (T106, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) を用いた。体外循環開始前の酸素消費量は呼気ガスモニタ (S/5 コンパクトモニター, Detax Ohmeda, Helsinki, Finland) を用いて計測した。血液ガス性状 (酸素分圧 (PO₂) と血中乳酸値, 血中ヘモグロビン濃度 (Hb) と酸素飽和度 (SvO₂, SaO₂) の測定には、血液ガスシステム (ABLTMシステム, ラジオメーター, コペンハーゲン, デンマーク) とヘモオキシメータ (OSMTM3, ラジオメーター, コペンハーゲン, デンマーク) を用いた。なおこの実験に先立って、血液検体に

実験動物: 仔ヤギ (TRM645使用群: オス4頭, 対照群: オス4頭)
体重 TRM群 vs 対照群: 19.8±0.8 vs 21.5±2.6 (kg)

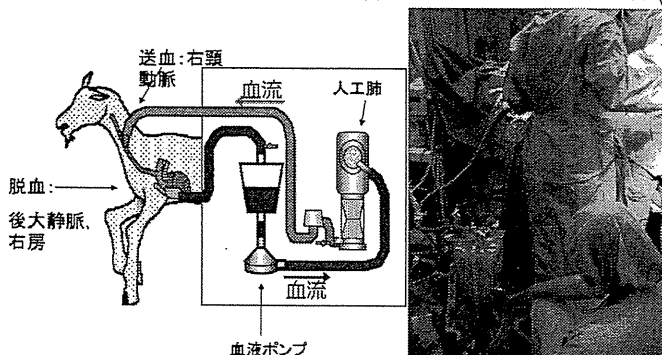


Fig. 2. 小児希釈対外循環の模式図および実験風景

- 膜型人工肺
- 血液ポンプ
- 術野回路

テルモ社製 SX-10
テルモ社製 CX SP 45
国産人工臓器式

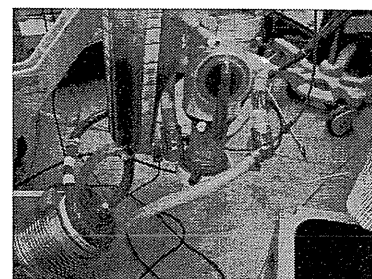


Fig. 3. 体外循環回路

TRM645が含まれる場合、各計測値に関して血液ガスシステムとヘモオキシメータが適正な値を示すことを確認した。各項目の計測について、体外循環開始前および開始後 5, 10, 15, 30, 60, 90および120分後に経時的に行った。

全身酸素運搬量 (DO₂), 全身酸素消費量 (VO₂), 心拍出量 (CO), 動静脈血酸素較差 (AVDO₂), 動脈血酸素含有量 (CaO₂), 静脈血酸素含有量 (CvO₂) については、実験により測定された各値に基づき、以下の式より計算を行った。

$$DO_2 = CaO_2 \times CO \text{ [ml O}_2 \text{ /kg/min]} \text{ (体外循環前)}$$

$$DO_2 = CaO_2 \times BF \text{ [ml O}_2 \text{ /kg/min]} \text{ (体外循環中)}$$

$$CO = VO_2 / AVDO_2 \text{ [dL/kg/min]} \text{ (体外循環前)}$$

$$VO_2 = AVDO_2 \times BF \text{ [ml O}_2 \text{ /kg/min]} \text{ (体外循環中)}$$

$$AVDO_2 = (CaO_2 \times CvO_2) \text{ [mL/dL]}$$

$$CaO_2 = 1.34 \times Hb \times SaO_2 + 0.003 \times PaO_2 \text{ [mL/dL]}$$

$$CvO_2 = 1.34 \times Hb \times SvO_2 + 0.003 \times PvO_2 \text{ [mL/dL]}$$

実験中のヘマトクリット値および、TRM645加血液におけるTRM645の血中容積比の計測については、採取された全血 1 mL にそれと同量の 8% デキストラン溶液 (D4876, SIGMA-ALDRICH, Inc., MO, USA) を加え、12,000 rpm, 10分間の遠心分離を行いTRM645と血球とを血漿から分離し、その容積比

を算出した。また、血液性化学検査用に採取された血液は、全血を3,000 rpm で10分間遠心分離した上清を1 mL使用し、同量の35 %デキストラン溶液を加えてから再度3,000 rpmで30分間遠心分離を行い、TRM645 を分離後、被検血清として使用した。病理学的検索のために、120分間の体外循環の後、安楽殺処置を行い、速やかに脳、心、肺、肝、脾、腎を採取し、10 %中性緩衝ホルマリン固定を行った。検体は常法を用い、ヘマトキシレン・エオジン染色による組織標本を作製した。

(2) 結果

本実験における体外循環の平均大動脈圧は、TRM群が47-61 mmHg、対照群が41-50 mmHgの範囲であり、実験条件内で維持が可能であった。また、バイパス流量は、対照群 (109-116 mL/kg/h)、TRM群 (103-118 mL/kg/min) とともに、予定の流量で実験を行った。一方で、全身の末梢血管抵抗においては、TRM群で顕著に高い傾向にあった (Table 1)。実験中におけるヘマトクリット値は、体外循環による血液希釈により、TRM群では術前値の $34 \pm 6\%$ から体外循環中は $15 \pm 4\%$ に低下し、またTRM645の添加によるTRM群のTRM645の血中容積比は、体外循環中約5 %で維持されていた。

Table 1. 希釈体外循環中の血行動態

Table 1: Hemodynamics

	Pre CPB	30 min	120min	
Control	mAP [mmHg]	80 ± 18	41 ± 3	47 ± 18
	CVP [mmHg]	14 ± 1	13 ± 6	12 ± 6
	Bypass flow [mL/kg/min]		111 ± 17	115 ± 10
	SVR [dyne*sec/cm ²]		995 ± 335	1135 ± 508
	TRM	mAP [mmHg]	82 ± 18	53 ± 4
CVP [mmHg]		11 ± 6	10 ± 5	11 ± 6
Bypass flow [mL/kg/min]			103 ± 34	116 ± 4
SVR [dyne*sec/cm ²]			1851 ± 1154	1617 ± 709

体外循環中のTRM645を含む総ヘモグロビン値は 6.3 ± 1.5 g/dLであり、同様に対照群においても体外循環中のヘマトクリット値が $16 \pm 3\%$ に低下し、ヘモグロビン値は 6.2 ± 1.3 g/dL) で、両群において差は認められなかった。このため、ヘモグロ

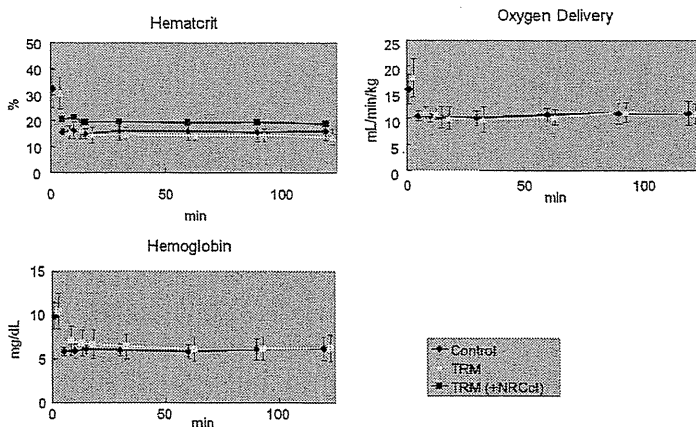


Fig. 4. 希釈体外循環中の血液性状および酸素運搬量

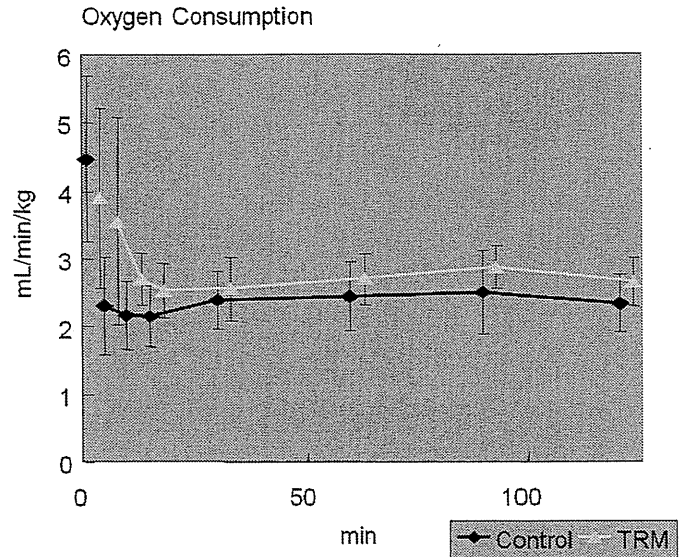


Fig. 5. 希釈体外循環中の酸素消費量

ビン値、血中酸素飽和度およびバイパス流量から算出されるDO₂に関してもTRM群で 11.0 ± 2.0 mL/kg/min、対照群で 20.9 ± 4.8 mL/kg/minから 11.0 ± 2.3 mL/kg/minとなり、術前値の約半分量に低下していた (Fig. 4)。

一方、体外循環中のSvO₂は、TRM群で低く推移する傾向が認められ (対照群 86-89 %、TRM群 82-85 %)、結果、全身のVO₂に関しては、実験中を通じTRM群が高値を示す傾向 (対照群2.4-2.5 mL/kg/min、TRM群 2.5-2.7 mL/kg/min) が認められた (Fig. 5)。生化学的に、乳酸値はTRM群でやや高値を示す傾向にあったが、対照群との間に差異は認められず、体外循環開始30分後に最高値となり (対照群 23.8 ± 11.1 mg/dL、TRM群 25.0 ± 2.9 mg/dL)、以降徐々に低下した。

体外循環中の血液生化学的にピルビン酸値は、対照群では体外循環開始30分後に最高値 (1.0 ± 0.5 mg/dL) となり、以降2時間後 (1.0 ± 0.4 mg/dL) まで一定の値で推移したが、TRM群では30分後 (1.0 ± 0.1 mg/dL) 以降2時間後 (1.4 ± 0.4 mg/dL) まで上昇傾向にあった。また、末梢組織での酸素代謝の指標となる乳酸/ピルビン酸比では、両群ともに体外循環後一時的に上昇し、末梢組織での無酸素呼吸が優位になり、体外循環30分後以降徐々に低下する傾向が認められるが、同期において、TRM群が明らかに低値で推移し、早期に回復する傾向を示した。病理組織学的検索により、両群ともに主要臓器に対する著大な病理的变化は認められず、TRM群では、TRM645投与による毒性的所見や、各臓器内の細網内皮系組織内へのヘモジリン沈着は認められなかった。

(3) 考察

一般に体外循環時における末梢組織での酸素消費量は、経時的に低下してゆく傾向にある。本現象は、全身に送り出される動脈血の酸素運搬量が十分であっても、体外循環下の特殊な血流状態下によって、血流分布の不均衡などが併発し、局所的に十分

な酸素が到達していない末梢循環不全部位が存在するためと考えられている。本研究においても、実験の体外循環中には血液希釈に起因する酸素運搬量および酸素消費量の低下が認められ、特に対照群においては、混合静脈血酸素飽和度が著しく高値で推移し、末梢組織で酸素消費が行われていない状態が観察された。しかしながら、人工酸素運搬体の添加により、体外循環中のヘモグロビン濃度に変化は認められないものの、体外循環中の末梢組織酸素消費量は、対照群に比較し、高値で推移する傾向が認められ、特に体外循環開始直後の酸素消費量の低下は緩やかで、従来の生体赤血球では酸素が到達しにくかった末梢組織へ酸素が到達していることが想起された。さらに、乳酸・ピルビン酸比の結果からも、人工酸素運搬体の使用により比較的早期に末梢組織での好氣的代謝が回復し、組織での酸素消費が良好に行われていることが示されている。また、体外循環中の酸素運搬量に対する酸素消費量の変化は、体外循環中の酸素運搬量が通常の1/2程度と低下するに依り、同範囲の酸素運搬量の変化に対し、全身の酸素消費量が急激に変動しているが、一方でTRM群においては、酸素運搬量が少ない体外循環中においても、全身酸素消費量の変動が少ないことが認められた (Fig. 6)。かかる結果は、TRM645の投与が体外循環中の低酸素運搬時においても、全身での酸素代謝が比較的安定して行われていることを示し、常温体外循環の欠点である特発的な低流量状態の危険性を軽減できる可能性があると考えられる。従って、人工酸素運搬体の添加は、体外循環時の強度血液希釈による酸素消費量の経時的な低下を抑制するための有用な手法になり得ると考えられる。

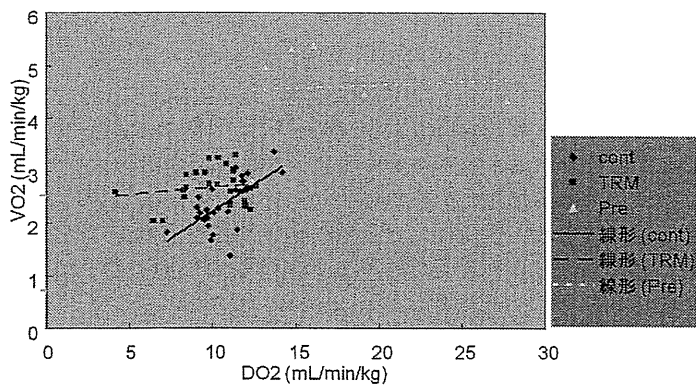


Fig. 6. 希釈体外循環中における酸素運搬量に対する酸素消費量の変化

2. PCPSと人工酸素運搬体併用による新規心肺蘇生法の実験的検討

本研究ではPCPSを用いた病院外心肺停止に対する蘇生後の社会復帰率を向上させる目的で、心肺停止時のPCPS使用と同時に、赤血球より末梢組織への酸素運搬性に優れた人工酸素運搬体を併用し、低流量補助下における末梢組織での酸素代謝を確保することにより、脳および心臓の低酸素状態を改善する手法の検討を行った¹⁰⁾。

実験動物: 成ヤギ (TRM645使用群: メス5頭, 対照群: メス3頭)
 体重 TRM群 vs 対照群: 56.9±9.3 vs 58.0±3.5 (kg)
 回路充填液 TRM645 300 mL
 (対照群 酢酸リンゲル 300 mL)

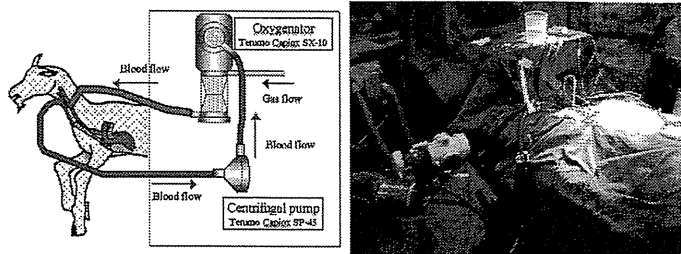


Fig. 7. PCPSによる心肺蘇生実験風景

(1) 方法

実験では、成ヤギ10頭 (体重59±6.5 kg) を使用し、常法を用いてイソフルレンによる全身麻酔下に行われた。検体は、心電図、大動脈圧、中心静脈圧計測ラインが装着された後、開胸下に心臓を露出し、直流細動器を用いて、10分間の心肺停止状態にさせた。次にPCPS装置 (Capiiox EBS, テルモ) を用いて右房脱血、右頸動脈送血方式による呼吸循環補助 (30 ml/kg/min, V/Q=1.0) を20分間行った。20分間の補助循環後、体外式除細動器にて自己心拍を再開させ、その後120分間の観察を行った。動物実験には、回路内にテルモ社製人工酸素運搬体 (TRM645, テルモ) を充填した回路 (TRM群, 5頭)、および同量の生理食塩水を充填した回路 (対照群, 5頭) を準備し (回路充填量300 mL)、回路内充填材への人工酸素運搬体添加による全身酸素代謝の変化について検討を行った (Fig. 7)。各項目の計測については、心停止前の値を術前値とし、PCPS駆動直後より、経時的に血行動態の計測を行い (PCPS駆動後5, 10, 15, 20分、心拍再開後30, 60, 90, 120分後)、また同時に酸素運搬量 (DO₂)、全身組織酸素摂取量 (VO₂) を算出し、全身末梢組織での酸素代謝の指標とした。血液生化学的検査項目としては、GOT, LDHの測定を行った。

(2) 結果

実験では、全例において自己心拍の再開が可能であった。PCPS駆動後における両実験群のヘマトクリット値およびヘモグロビン値には、ほぼ変化は認められず、TRM群においては、人工酸素運搬体の血中容積比は実験中約1%であった。しかしながら、心肺停止後PCPSのみによる低流量の呼吸循環補助中には、DO₂およびVO₂は、術前値と比較し、著しく低下し、全身への酸素の運搬量は術前値の半分ほどであることが示された。PCPS駆動中のDO₂については、対照群とTRM群ともにほぼ一定で推移していた。しかしながら、対照群のVO₂は、PCPS駆動5, 10, 15分後と暫時減少し (143, 103および94 mL/min)、経時的に全身の酸素代謝が低下する所見が認められたが、TRM群においては、VO₂の減少はPCPS駆動5, 10, 15分後 (154, 126および131 mL/min) においてほぼ軽微であった (Fig. 8)。また、血液生化学的には、自己心拍再開120分

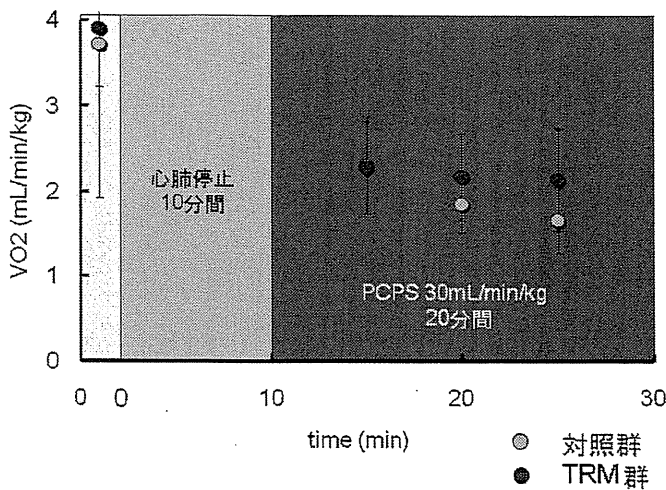


Fig. 8. 循環再開後の全身酸素消費量

するPCPS補助や心拍再開後においても、低流量循環によって末梢組織での酸素不足が遷延し、二次的な臓器障害を併発する原因の一つと考えられた。しかし、我々の提案する本法により、低循環PCPS補助下においても、人工酸素運搬体が、従来生体赤血球では酸素を運搬することが困難であった末梢組織へも酸素を到達させることが可能であり、全身酸素代謝の維持に貢献していることが示され、心拍再開後における臓器への二次的な障害を軽減していると推察された。

まとめ

本プロジェクトで行われた2つの研究の特徴は、人工酸素運搬体を用いることにより、低ヘモグロビン血症や低循環など全身的な酸素運搬量の低下時において、血液の“いわゆる”酸素運搬量を変化させずに、全身の酸素消費量を増加させることが可能であることを示した点にある。本実験のような中大動物を用いた新規医療部材の検討については、実験数を多く設定することが困難であり、本研究においても、 $n=4$ の群間比較となった。このため現段階での人工酸素運搬体の効果については、実測値からの直接的に解釈を行っており、各群間の傾向を示すのみにとどまった。しかしながら、本検討においても人工酸素運搬体を使用した群では、希釈体外循環時の酸素代謝経過に特徴的な傾向が指摘されるなど、人工酸素運搬体の投与が対象の体内酸素代謝動態に影響を及ぼしている事は、十分に想起される。従って、体外循環時における回路充填剤への人工酸素運搬体添加の併用療法は、生体赤血球の到達しにくい末梢組織での酸素代謝を増加させ、安全域の広い常温希釈体外循環法や、新しい強力な呼吸循環補助法に応用可能な新規手法になりえると期待されるが、今後の研究として、我々は、実験数を増やし、統計手技の適用による有意差検定の実施や、人工酸素運搬体の酸素代謝動態の特徴を解析する必要があると考えている。

また一方で、別の課題として、ナノ粒子である人工酸素運搬体を血管内に投与することによる生体や医療計測機器への様々な影響を詳細に検討しなければならないことが、現在の問題点として挙げられている。たとえば希釈体外循環の研究で述べた体外循環中の酸素消費量の増加は、実験中には混合静脈血の酸素飽和度および酸素ガス分圧の低下として記録され、さらに乳酸値も従来法に比較し高くなる傾向にある。このため、従来の体外循環の概念のまま各測定値に対し対応を行うと、対象とする患者の状態を見誤る可能性もあり、臨床現場で実際に使用する場合には、人工酸素運搬体を使用した場合の血液性状の特殊性を体外循環士などが熟知しなければならない。また、人工酸素運搬体混合血については、その血液性状を測定する際に様々な臨床検査機器への影響が懸念され、人工酸素運搬体の血中濃度による測定値校正の分析や精度の再評価が必要である。これからの研究では、その実用化に向け、人工酸素運搬体の治療効果を示す事と共に、本治療法を使用した場合の体内動態や血液検査値の特殊性を明らかにする必要もあると考える。

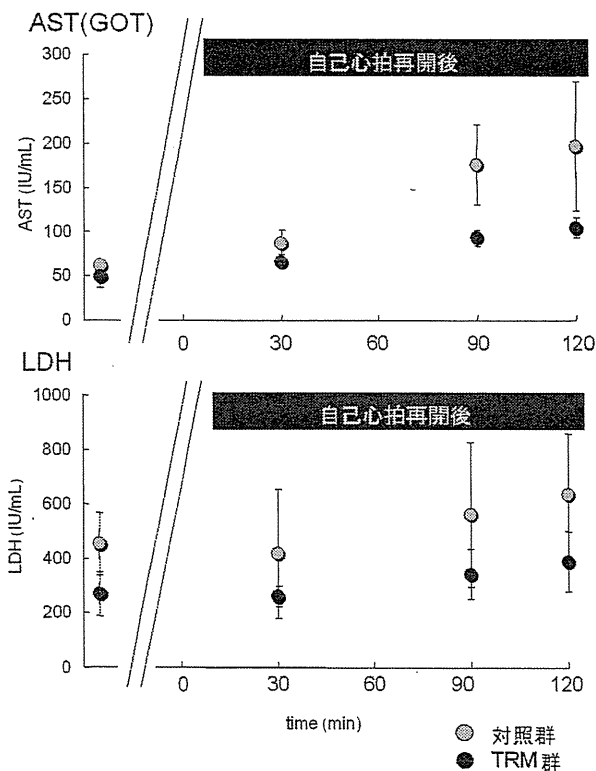


Fig. 9. 自己心拍再開後の血液生化学値 (ASTおよびGOT)

後におけるGOT (TRM群104 vs. 対照群181 IU/L) およびLDH (TRM群342 vs. 対照群761 IU/L) がTRM群で明らかに低値を示していた (Fig. 9)。

(3) 考察

本研究では、実験的心肺停止下のPCPS補助循環中に、低流量循環に起因するDO₂の半減が認められ、この結果、初期的に維持可能であったVO₂が、PCPS駆動下においても経時的に減少していくことが示された。かかる現象は、心肺停止状態に対

引用文献

1. Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, et al. eds. *Cardiopulmonary bypass: principles and practice*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000
2. Slater JM, Orszulak TA, Cook DJ. Distribution and hierarchy of regional oxygen delivery during hypothermic cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;72:542-47
3. Boston US, Slater JM, Orszulak TA, Cook DJ. Hierarchy of regional oxygen delivery during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;71:260-64
4. Cook DJ. Changing temperature management for cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 1999;88:1254-71
5. 山本善護. 血液希釈体外循環のガス動態に関する研究. *日胸外会誌* 1968;16:1014
6. Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ, Shah A. Adverse effects of low hematocrit during cardiopulmonary bypass in the adult: should current practice be changed? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125(6):1438-50
7. Duebener LF, Sakamoto T, Hatsuoka S, Stamm C, Zurakowski D, Vollmar B, Menger MD, Schafers HJ, Jonas RA. Effects of hematocrit on cerebral microcirculation and tissue oxygenation during deep hypothermic bypass. *Circulation* 2001;104(12 Suppl 1):I260-4
8. Fire and Disaster Management Agency of the Ministry of International Affairs and Communications: 2005 Current state of ambulance and rescue service, Fire and Disaster Management Agency of the Ministry of International Affairs and Communications, 2006;47(in Japanese)
9. Ogata Y. Evaluation of human hemoglobin vesicle as an oxygen carrier: Recovery from hemorrhagic shock in rabbits. *Polym Adv Technol* 2000;11:1-6
10. Ogata Y. Characteristics and function of human hemoglobin vesicles as an oxygen carrier. *Polym Adv Technol* 2000;11:205-9
11. Isaka M, Sakuma I, Imamura M, Makino Y, Fukushima S, Nakai K, Shiiya N, Kenmotsu O, Kitabatake A, Yasuda K. Experimental Studies on Artificial Blood Usage for Hemodilution during Cardiopulmonary Bypass. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2005;11:238-244
12. Oda T, Nakajima Y, Kimura T, Ogata Y, Fujise Y. *J Artif Organs*; 2004;101-106.
13. 山崎真敬, 饗庭了, 四津良平, 小林鉦一. ヘモグロビン小胞体を用いた人工心肺充填液による高次脳機能保護効果. *人工血液* 2006;14:62-65
14. Bessho M, Hama M, Katoh R, Yanagida S, Kusuhara M, Ohsuzu F. Hemoglobin Vesicle Aids Recovery of Cardiac Function during Ischemia-Reperfusion in Langendorff Perfused Rat Hearts. *人工血液* 2007;14:92-97
15. Kansaku R, Mizuno T, Tatsumi E, Ogata Y, Ishizuka T, Taenaka Y. Oxygen metabolism during cardiopulmonary bypass with hemodilution using liposome-encapsulated hemoglobin in kid goats, *J Artifi Org* 2008;11:24-8
16. Ota K, Mizuno T, Tatsumi E, Katagiri N, Taenaka Y, Ishizuka T, Ogata Y, Ujike Y. Experimental Study of a Novel Method of Cardiopulmonary Resuscitation Using a Combination of Percutaneous Cardiopulmonary Support and Liposome-encapsulated Hemoglobin (TRM645). *Acta Medica Okayama* 2008;62: in press

抗血栓性表面処理T-NCVCコーティングの抗凝血作用機序に関する研究 Study on the anti-coagulable mechanisms of T-NCVC coating

水野 敏秀(正会員), 巽 英介(非会員), 片桐 伸将(正会員),
佐藤 正喜(非会員)*, 柏原 進(非会員)*, 田中 秀典(非会員)*,
築谷 朋典(非会員), 本間 章彦(正会員), 妙中 義之(非会員)
Toshihide MIZUNO, Eisuke TATSUMI, Nobumasa KATAGIRI,
Masaki SATO*, Susumu KASHIWABARA*, Hidenori TANAKA*,
Tomonori TSUKIYA, Akihiko HOMMA and Yoshiyuki TAENAKA

Abstract

We were able to develop the anti-thrombogenic surface coating technology "T-NCVC coating" which allows for the continuation of long-term anticoagulation effects. In this study, we focused on the dynamics of blood protein adsorption to the coated surface as well as cell adhesion using cultured fibroblasts and analyzed the antithrombotic mechanisms of T-NCVC coating. As the characteristics of our coating technology with regard to blood, our study showed the inhibitory actions against cell adhesion not affected by proteins adhering and the presence of other plasma proteins on the coated surface. On the other hand, our technology was identified that it has membrane-toxicity against blood cells indicated by the increase in neutrophil activation and hemolytic rate. These actions between the blood and our coating technology were suggested to be one of the causes for the long-term effects of this coating technology. These antithrombotic mechanisms were different from those that had been previously proposed and are important observations in clarifying the process of thrombosis formation on artificial materials coming in contact with blood.

Keywords

Anti-thrombogenic surface coating technology, Anti-cell adhesion, Plasma protein adsorption

1. 緒論

近年, 人工心臓などの血液と接する循環器系人工臓器には, 器材の表面に血栓形成を抑制する種々の血液適合化処理を行うことで, より安全且つ長期的に使用可能な性能が望まれている。従来の研究において, 器材表面の血栓形成を防止するための理論的手法としては, 器材表面の均一化(平滑化), 器材表面への血漿タンパク質吸着の防止(材料表面の性質の制御による抗血栓性の賦与), 器材表面に血液凝固防止剤(ヘパリンなど)を固定化する方法(抗血栓物質の利用)など多く研究がなされている¹⁾。しかし, いずれの方法においても, その効果を長期的に維持することは困難であり, 未だ十分な技術の確立がなされていない。

我々がかかっている問題に対し, 従来から開発を行ってきたヘパリンコーティング法を応用し, コーティング剤の分子構造を制御し, 血液と接する材料表面の抗血栓性能を最適化することにより, 長期間の血液凝固防止作用の維持を可能とした T-NCVC コーティングを開発し得た。本技術は, 分子単位で制御された長鎖ジアルキル基を有する脂肪族系カップリング試薬とヘパリンの複合体からなる新たな抗血栓性表面処理法であり, 従来技術では短期の抗凝血効果しか望めなかったイオンコーティング法の欠点を克服し, 長期の抗血栓効果を保持することを可能とした²⁾。この T-NCVC コーティングは, すでに市販の人工心臓および膜型人工肺に採用され, その長期的な抗血栓性を飛躍的に向上させることにより, その長期使用における安全性の維持に大きく貢献している^{3,4)}。しかしながら, 我々の T-NCVC コーティングにおいては, 実際の実験的および臨床的使用時に際して従来型のヘパリンコーティング法と比較して, 非常に長期的な効果を持続可能であるにも関わらず, その抗血液凝固作用の機序解析が不十分であり, 不明な部分が多く認められている。本研究では, 本処理表面における血中タンパク質の吸着状態および培養線維芽細胞を用いた細胞接着状態に注目し, この抗血栓性表面処理法の抗血栓機序の解明を行った。

2008 年 4 月 15 日受理

2008 年 7 月 16 日最終原稿受理

国立循環器病センター研究所人工臓器部

大阪府吹田市藤白台 5-7-1

* 東洋紡績(株)総合研究所

滋賀県大津市聖田 2-1-1

Dept. Artificial organs, National cardiovascular

center institute, Fujishirodai 5-7-1, Suita, Osaka

* Toyobo Co. Ltd., Katada 2-1-1, Ootsu, Siga

2. 材料および方法

我々が東洋紡績社と共同開発を行った抗血栓性表面処理法は、複数の長鎖ジアルキル基を有する脂肪族系カップリング試薬とヘパリンのイオン結合型複合体で、血液に対する抗凝血性を向上させた新規技術である (Fig. 1)。試験材料は、佐藤ら⁵⁾の方法により作製された T-NCVC コーティング剤を、テトラヒドロフラン・エタノール混合溶媒に溶解して各種濃度 (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 3, 4 および 5 %) の溶液に調整し、ポリスチレン製の細胞培養皿および 96 穴プレートに塗布し、乾燥後、溶媒を蒸発させた状態で、固相化したものを使用した。

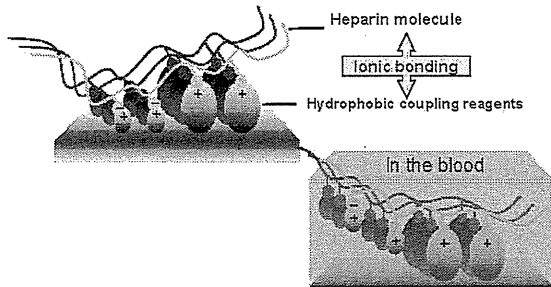


Fig. 1: T-NCVC コーティングの概念図

2.1 T-NCVC コーティングの超微細表面構造に関する形態学的観察

試験材料はポリスチレン製細胞培養皿にコーティング剤 1 % 溶液を塗布し、洗浄後、EOG 滅菌処理を行ったものを使用した。表面観察には原子間力顕微鏡 (AFM) を用い、培養皿に生理食塩水を満たし、液体中で培養皿表面に塗布された本処理法の表面形状を観察した。

2.2 T-NCVC コーティングに対する線維芽細胞接着性に関する研究

コーティング剤 1 および 5 % 溶液を塗布したポリスチレン製培養皿に細胞を播種し、皿底に接着、伸展する状態を経時的に観察を行った。細胞は成ヤギ由来の線維芽細胞を使用し、細胞の形態を確実に観察する為、蛍光色素である PKH26 を用いて染色した。培養液は 10 % FBS 添加の DMEM を使用し、CO₂ 添加インキュベーションにより 12 および 24 時間培養を行った。細胞の観察は、倒立型蛍光顕微鏡を用い、デジタルカメラで明視野画像および蛍光画像を撮影し、システム上で合成をおこなった。また培養液にフィブロネクチンおよびビトロネクチンを添加した群および試験材料をあらかじめヘパリナーゼで 37 °C、2 時間処理し、表面のヘパリンを失活させた群を用意し、同様に観察を行った。

2.3 T-NCVC コーティングに対する血漿タンパク質吸着量の定量

各種濃度のコーティング剤が塗布された 96 穴プレートの各ウェルにウシ血漿を 300 μL ずつ添加し、室温で 1 時間放置してタンパク質をプレートに吸着させた。その後、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS:20 mM リン酸ナトリウム, 150 mM NaCl, pH 7.2) で 9 回洗浄した。吸着タンパク質の定量はウシ血清アルブミンを標準タンパク質として用い、Lowry らの方法⁵⁾に従って行った。

また、器材へのタンパク質吸着過程は、血漿タンパク質の電荷的な吸着過程⁶⁾と細胞自身が器材表面に細胞外マトリクスを分泌する細胞介在性タンパク質吸着過程⁷⁾の異なる過程で行われていることから、本抗血栓性処理の表面に吸着する血漿タンパク質量の経時的変化および血漿タンパクの吸着と血液細胞の関連性の検討として、無処理プレート、コーティング剤 1 % および 3 % 溶

液を塗布したプレートの各ウェルに血漿あるいは血液細胞を分離していない ACD 加血液を 300 μL ずつ添加し、サーモキサーコンフォートを用いて 37 °C で、1 および 9 時間震盪しながらインキュベーションしてタンパク質をプレートに吸着させた。その後 PBS で 9 回洗浄し、コーティング表面に吸着したタンパク質量の定量を行った。

2.4 T-NCVC コーティングに対する赤血球および好中球反応に関する検討

本表面処理技術に対する血液細胞の影響を検討するために、好中球の活性産物である遊離ラクトフェリンおよび溶血産物として遊離ヘモグロビンの測定を行った。無処理プレートならびにコーティング剤 1 % および 3 % 溶液を塗布した 96 穴プレートの各ウェルに ACD 加全血液を 300 μL ずつ添加し、サーモキサーコンフォートを用いて 37 °C で 1, 3, 6 および 9 時間震盪培養を行った。培養後回収血液を、4 °C で 730 x g にて 15 分遠心し、血漿を分離したものを検体とした。検体中のラクトフェリンの測定はサンドイッチ ELISA 法を用い、PBS で 2.5 μg/mL に希釈した精製抗ウシラクトフェリン抗体を ELISA 用マイクロタイタープレートの各ウェルに 100 μL ずつ分注し、4 °C で一晩放置して抗体をプレートに吸着させた。

遊離ヘモグロビンを測定には、検体 150 μL を溶血試薬 1,350 μL に添加した上で、次にフェリシアン化カリウム 5 % 水溶液およびシアン化カリウム 5 % 水溶液をそれぞれ 15 μL ずつ添加し、生じたシアンメトヘモグロビンを測定した。検体中のヘモグロビン濃度はシアンメトヘモグロビンのモル吸光係数 ($\epsilon_{540\text{nm}} = 44,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) より算出し、溶血率は下式により算出した。溶血率 (%) = [血漿ヘモグロビン濃度 / 血液ヘモグロビン濃度] × 100

2.5 T-NCVC コーティングに対する好中球および赤血球反応における血漿タンパク質の相互作用についての検討

血漿タンパク質存在下における本処理法に対する好中球の活性化反応の影響を検討するために血漿・HBSS 混液に懸濁した好中球群および血漿成分を含まず HBSS 液のみに懸濁した好中球群を用意し、各種プレート中で同様に試験を行った。

2.6 統計処理

二群間の有意差検定はデーターを TWO-WAY ANOVA で分析してから Tukey test を用いて多重比較を行った。

3. 結果

3.1 T-NCVC コーティングの超微細構造に関する形態学的観察

T-NCVC コーティングの表面構造は、AFM の観察により、無処理培養皿が比較的平滑な表面として観察されるのに対し、本処理法を施された表面の超微細構造が 200~500 nm の凹凸を繰り返す顆粒状構造を有していた (Fig. 2)。

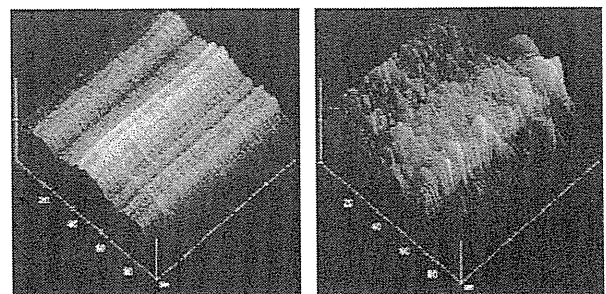


Fig. 2: T-NCVC コーティング処理後の表面構造

3.2 T-NCVC コーティングに対する線維芽細胞の接着性に関する研究

T-NCVC コーティングに対する培養線維芽細胞の接着実験では、静置培養 24 時間後においても、表面処理を施した培養皿底面への線維芽細胞の接着や仮足の伸展などは認められず；細胞は球形のまま培養維持が可能であることが示された。また、本表面処理法の細胞接着阻害能は、培養液中にフィブロネクチンないしヒトロネクチンを添加した実験群やヘパリナーゼ処理後の実験群において、細胞の接着作用を促進させた状態においても、その阻害効果が低下することではなく、非常に安定的であることが認められた。

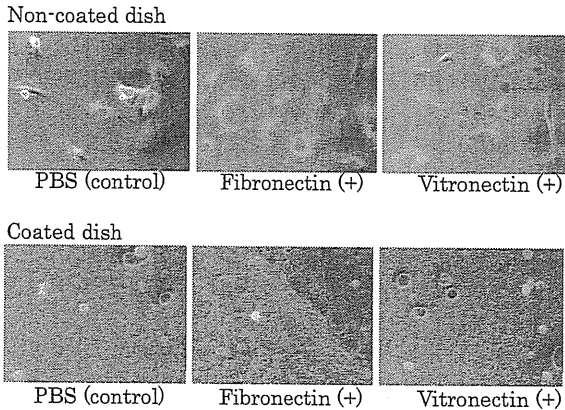


Fig. 3: T-NCVC コーティング後における培養線維芽細胞着実験。細胞接着蛋白添加培養 12 時間後の細胞接着能の変化

3.3 T-NCVC コーティングに対するタンパク質吸着量の定量

コーティング剤 0.2~1.0 % 溶液が塗布されたプレートでは、無処理群と比べ (1.068 ± 0.015 µg/well)，器材面に吸着したタンパク質量は少なかつたものの (約 0.6~0.7 µg/well)；2~5 % の群では無処理群より吸着したタンパク質量が多い結果 (約 1.0~1.6 µg/well) となった (Fig. 4)。

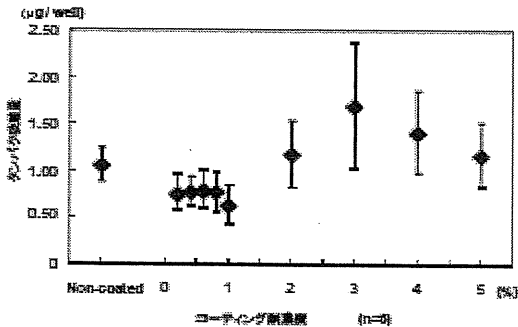


Fig. 4: 各濃度の T-NCVC コーティング剤を塗布したプレートにおける血漿吸着タンパク量の変化

T-NCVC コーティング塗布時におけるタンパク吸着過程とその吸着量の経時的変化の検討において、血液細胞を含まない血漿成分のみを使用した検討では、培養 1 時間から 9 時間後までにプレートに吸着するタンパク質量が、無処理プレートならびにコーティング剤 1 % 溶液を塗布したプレートで有意な変化が認められないのに対し、コーティング剤 3 % 溶液を塗布したプレート群では、9 時間後までのタンパク吸着量が経時的に増加する傾向にあった。一方で、血液細胞を含む全血を使用した場合においては、逆に培養後 1 時間から 9 時間までに吸着するタンパク質量の変化は、

無処理プレートとコーティング剤 1 % 溶液を塗布したプレートで増加傾向にあり、コーティング剤 3 % 溶液塗布プレートでは、血漿のみを使用した検討とほぼ差異が認められなかった (Fig. 5)。

本処理法における無処理表面や低濃度の処理表面では、表面電荷による器材へのタンパク吸着は少ないものの、長時間の作用により細胞自身が分泌するタンパク質の器材表面への吸着が増加しているのに対し、高濃度のコーティング剤で処理された表面については、表面電荷によるタンパク吸着は経時的に増加する傾向にある一方で、細胞介在性タンパク吸着はあまり行われていない傾向にあることが示された。

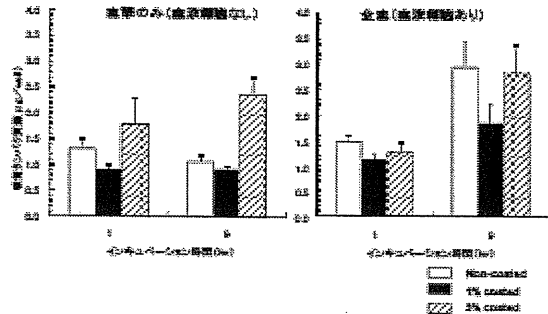


Fig. 5: 各濃度の T-NCVC コーティング剤塗布時におけるタンパク吸着過程と吸着量の経時的変化

3.4 T-NCVC コーティングに対する赤血球および好中球反応に関する検討

無処理プレートでは、9 時間の培養間に好中球より分泌されたラクトフェリン量には有意な変化が認められないのに対し、コーティング剤が塗布されたプレート群においては経時的なラクトフェリン量の増大が見られ、コーティング剤 1 % 溶液を塗布されたプレートでのインキュベーション 9 時間後、コーティング剤 3 % 溶液を塗布されたプレートでのインキュベーション 6 時間および 9 時間後の好中球より遊離されたラクトフェリン量は有意に増大し、高濃度のコーティング剤を塗布された器材表面は好中球活性を増加させる傾向があることが示された。本表面処理法の赤血球膜傷害作用については、コーティング剤 1 % および 3 % 溶液を塗布されたプレートにおいて経時的な溶血率の増大が見られ、特に 6 時間および 9 時間後の溶血率は有意に高値を示していた (Fig. 6)。

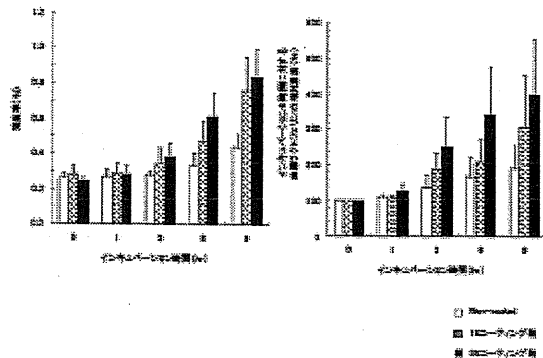


Fig. 6: T-NCVC コーティングに対する溶血率および好中球ラクトフェリン分泌の経時的変化

3.5 T-NCVC コーティングに対する好中球および赤血球反応における血漿タンパク質の相互作用についての検討

血漿・HBSS 混液に懸濁した好中球を各種プレート中で培養したとき、好中球から遊離したラクトフェリンの割合は約 2~4 % であり、器材表面に対する好中球の活性化は軽度であったのに対し、HBSS 液のみに懸濁した好中球を使用した実験群においては、好中球から遊離したラクトフェリンの割合は無処理プレートで 6.6 ± 0.5 %、コーティング剤 1 % 溶液を塗布されたプレートで 13.9 ± 2.5 %、コーティング剤 3 % 溶液塗布プレートで 22.4 ± 4.2 % であり、いずれのプレートにおいても血漿成分を含んだ培養液を使用した群と比較し、器材表面に対する好中球活性の亢進が認められ、特に本表面処理後のプレートについては、有意に高値を示していた (Fig.7).

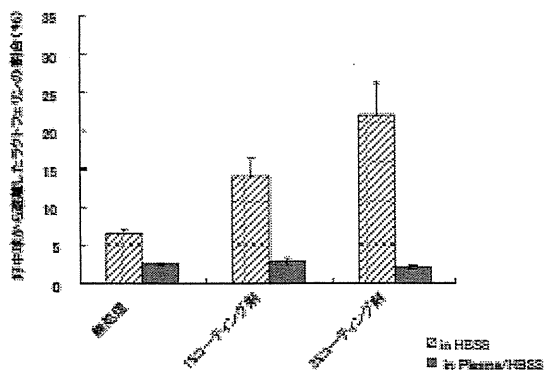


Fig. 7: 血漿タンパク質存在下における T-NCVC コーティングに対する好中球活性の変化

考察

我々が開発した T-NCVC コーティングの血液に対する特徴は、本処理法を施した器材表面に血漿タンパク質および細胞から分泌されるタンパク質が吸着した状態で存在している一方で、その表面に接する細胞の接着過程を強く阻害する作用が認められることである。さらに、本法には血液細胞への細胞膜傷害作用も認められていることから、今回の研究で見いだされた T-NCVC コーティングの細胞接着阻害作用は、細胞膜を傷害し、細胞が接着できないような表面を有していることに由来する作用であるとも推察された。

また、この細胞膜傷害作用は、本表面処理法に対する好中球活性が血漿タンパク質存在下において著しく低下している結果からも示されるように、器材表面に吸着したタンパク質の作用により、本処理法の傷害性が緩和され、血液細胞が不可逆的な状態に陥らないまま、細胞接着ができない環境を作り出している可能性も示唆し、このような生体適合性の低い表面ながらも、決定的な障害を与えないコーティング表面を有していることが、本処理法の長期的な効果を可能にしている一因であると考えられた。

今回の検討より、我々の T-NCVC コーティングがその効果を十分に発揮するためには、血液への暴露後に一定の期間をもって器材に血漿タンパク質が吸着し、器材表面と血液細胞との相互作用が確立される時間が必要と考えられた。つまり、T-NCVC コーティングが施された医療機器の使用に際しては、使用時の急性期に抗凝固療法の併用が効果的で、一定期間経過後、本抗血栓性処理表面が十分な効果を発揮できる状態になると想起された。

このような抗血栓性機序については、従来提唱されていた抗凝血栓性機序とは異なり、血液と接する人工材料の血栓形成性の過程を解明する上で重要な所見であり、本作用を応用することにより、より長期の抗血栓性に優れた表面処理法の開発が可能であると考えられた。

謝辞

本研究は、細胞培養に関する実験について奈良県立医科大学、胸部・心臓血管外科、内藤洋助教、生化学的分析に関する実験を北里大学、獣医学部獣医学科獣医生化学教室、渡辺清隆教授との協同のもと遂行されたものであり、ご協力いただいた皆様に感謝の意を表します。

参考文献

- (1) 林 和子, 血液適合性材料. 高分子学会編. 医療機能材料. 初版. 東京:共立出版社, 1990:113-136
- (2) 佐藤 正喜 ほか:新しく開発したヘパリン化材料の抗血栓性評価. 人工臓器 1999;28:502-508
- (3) 西中 知博ほか, 国立循環器病センター型空気駆動式補助人工心臓の最近の改良点と今後の展望. 許 俊鋭 ほか編, 人工臓器, 再生医療の最先端. 初版. 東京:先端医療技術研究所, 2005:69-73
- (4) 西中 知博ほか:優れた抗血栓性と長期耐久性を有する心配補助システムの開発. 膜型肺 2002;25:53-57,
- (5) Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.1951; 193: 265-275.
- (6) 今井庸二:生体反応. 高分子学会編. 医療機能材料. 初版. 東京:共立出版社, 1990:62-106
- (7) Murphy-Ullrich JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? J. Clin Invest 2001; 107(7):785-90,

磁気結合インペラを有する人工心臓用遠心ポンプの ふれまわり運動に関する研究*

築谷朋典^{*1}, 妙中義之^{*2}, 鈴木隆起^{*3}
堀口祐憲^{*3}, 辻本良信^{*4}

Experimental Study on the Whirling Motion in the Centrifugal Blood Pump with a Magnetically Coupled Impeller

Tomonori TSUKIYA^{*5}, Yoshiyuki TAENAKA, Takayuki SUZUKI,
Hironori HORIGUCHI and Yoshinobu TSUJIMOTO

^{*5} Department of Artificial Organs, Research Institute of National Cardiovascular Center,
5-7-1 Fujishirodai, Suita-shi, Osaka, 565-8565 Japan

Non-contact bearing systems are often employed for rotary blood pumps to prevent blood coagulation at the stagnant regions inside the pump. These bearing systems do not have such sufficient rigidity that the standard operational conditions usually exceed their critical speeds. In this study, we conducted measurements of the radial displacement of the impeller of the centrifugal blood pump developed as a left ventricular assist device to investigate the relationship between the whirling motion of the impeller and the working condition of the pump. The results indicated that the averaged center position of the impeller depends on the flow rates and that the ratio of the whirling motion to the impeller rotation can be expressed as a function of the flow coefficient. It is also revealed that the flow from the impeller through the casing bottom toward the impeller center plays an important role in the whirling motion.

Key Words: Turbomachinery, Pump, Artificial Heart, Impeller, Flow Induced Vibration, Fluid Force

1. はじめに

重症心不全患者に対する機械的循環補助法は、人工の血液ポンプによって拍出能力の低下した心臓のポンプ機能を補助・代替する方法である。近年、血液ポンプを患者の体内に設置して使用可能な補助人工心臓システムの実現により、内科的治療と比べても延命効果が高いことが科学的にも証明され、その使用例は着実に増加している⁽¹⁾⁽²⁾。このような目的に使用される血液ポンプの形式としては、心臓の拍動を模擬した容積型ポンプが主に用いられてきた。しかしながら容積型ポンプはサイズが大きくなり、体格の小さな患者の体内に埋め込んで使用することは困難である。また、人工弁等の構成部品が多いうえに、往復運動する要素を含むため耐久性の面においても十分とはいえない。この問題を克服するために、超小型の連続流ポンプ（軸流型あるいは遠心型）の開発が近年盛んに行われてきた。長期間体内に埋め込んで使用するためには、血栓

防止の観点から軸シールを持たない構造が必須であり、近年では動圧軸受⁽³⁾⁽⁴⁾や磁気軸受⁽⁵⁾など非接触型の軸受が主流となっている。これらの軸受には剛性の高い設計は望めないため、ポンプを危険速度以上で運転することになる。このような場合に軸系に作用する流体力がふれまわり振動に対して励振的であれば、危険速度以上の回転数において過大な軸振動が発生するためインペラがケーシングに接触し血球成分の甚大な破壊を引き起こす。また、補助人工心臓は上流にほぼ直列に接続されている生体心の拍動によりポンプの運転点が数 Hz の周波数で大きく変動し、かつ平均的な運転条件も生体心の持つ拍出能力に依存して変化する。したがって、人工心臓用ポンプは広い運転範囲における回転安定性を実現する必要がある。ふれまわり運動に関する詳細な研究は大変意義深いものである。

本研究は、永久磁石カップリング方式を採用した遠心型血液ポンプを対象として、インペラのふれまわり運動の計測を行い、人工心臓用血液ポンプのインペラに作用する流体力の概要とふれまわり運動を支配する要因について明らかにしようとするものである。本研究で扱うポンプは、ポンプ内部における血栓の発生を最小限に抑えようとする目的から、後述するように軸

* 原稿受付 2008年1月28日。

*¹ 正員、国立循環器病センター研究所人工臓器部(☎565-8565 吹田市藤白台5-7-1)。

*² 国立循環器病センター。

*³ 大阪大学大学院基礎工学研究科(☎560-8531 豊中市待兼山町1-3)。

*⁴ 正員、フェロー、大阪大学大学院基礎工学研究科。

E-mail: tsukiya@ri.ncvc.go.jp

受の役割を果たすブシュに二次元羽根が直接取り付けられており、シュラウドを一切持たない構造となっている。このような羽根形状におけるふれまわり運動の特性はほとんど明らかになっておらず、これを知る点でも興味深い。

2. 記号

ρ	: 流体密度
μ	: 流体粘度
r_2	: インペラ外半径
b	: インペラ出口の羽根高さ
Q	: ポンプ流量
ΔP	: 入口管壁の圧力に対する 出口管壁の圧力の差
ϕ	: 流量係数 = $Q / (2\pi r_2^2 b \omega)$
ψ	: 圧力係数 = $\Delta P / \{\rho (r_2 \omega)^2\}$
N	: ポンプ回転数
ω	: ポンプ回転角速度
Ω	: ふれまわり運動の角速度
ε	: ふれまわり角速度比 = Ω / ω
Re	: ポンプレイノルズ数 = $\rho r_2^2 \omega / \mu$

3. 実験装置および方法

3.1 供試ポンプ 計測対象として、当研究施設にて開発を行ってきた遠心型血液ポンプ⁽⁶⁾を使用した。ポンプの断面図を図1に示す。インペラは永久磁石(2)を内部に持つブシュに翼が結合した構造を持っており、この永久磁石はケーシング壁を隔てて半径方向に対向するリング状の駆動用永久磁石(3)とともに磁気カップリングを形成し、駆動用永久磁石に接続されたDCブラシレスモータにより駆動される。インペラの軸方向の運動に関しては、羽根のケーシングへの接触を防止するために吸込管に設置したシリング状のスラスト受け(5)により変位を制限している。ブシュとケーシング壁はそれぞれ円筒形であり、同心の位置にある場合には0.5 mmの隙間を有し、インペラは主にインペラとケーシングとの隙間に生じる流体力により支持される。また、ブシュ中心には直径5.0 mmの孔が貫通しており、インペラにより発生した圧力差を利用してケーシング底部面に流れを誘起する構造になっている。この孔は、ポンプ機能の面からは漏れ損失を増加させるのみであるが、ポンプ内部、特に底部における血栓形成を防止する目的で設けられている。この遠心ポンプのインペラは羽根内径が26mm、外径 $2r_2$ が40mmで羽根の出口高さ b が6 mmの円弧翼を6枚有している。また、翼はシュラウドを持たない二次元形状のいわばフルオープン羽根である。また、ケーシングは、

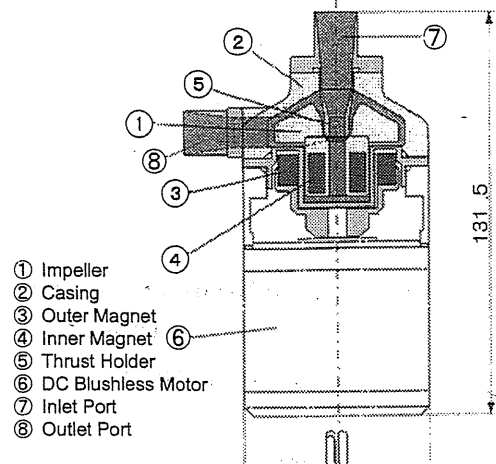


Fig. 1 The cross section of the centrifugal blood pump

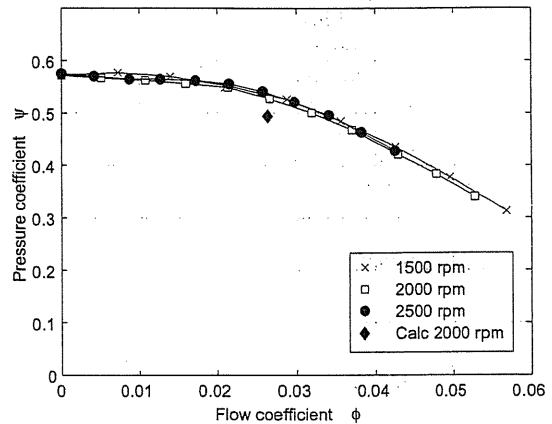


Fig. 2 Performance curve

ポンプの体内への埋め込みを可能とすることを最優先項目とし、渦巻ケーシングではなく、より小型化できる円形ケーシングとした。補助人工心臓は装着患者の体格や心機能により大きく運転条件が変化するために定格動作点は存在しないが、平均的な成人の心機能を参考にして設計目標としての動作点を $Q = 5.0 \text{ L/min}$ ($N=2000 \text{ rpm}$ 時, $\phi = 0.026$ に相当), $\Delta P = 100 \text{ mmHg}$ ($1.33 \times 10^4 \text{ Pa}$) と設定した。図2に本ポンプの性能曲線を後述する数値計算結果と共に示す。横軸、縦軸はそれぞれ流量係数 ϕ 、圧力係数 ψ である。動作流体はインペラの変位を計測する際に用いた重量濃度64%のヨウ化ナトリウム水溶液である。

3.2 インペラ変位測定装置 本ポンプのインペラは能動的な位置制御を受けないため、回転に伴って永久磁石の吸引力、流体の圧力により主に半径方向に変動することになる。ここでは半径方向の変位にのみ着目し、インペラの変位をレーザー変位計を用いて計測した。本来、使用ポンプのケーシングは主に曲面で

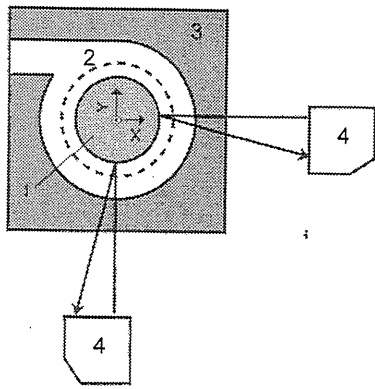


Fig. 3 Experimental setup for measurement of the impeller displacement 1:Impeller Bush, 2:The outer edge of the impeller blades, 3:Casing, 4:Laser Displacement Sensor

構成されているが、レーザー変位計の使用を考慮し、外壁が平面となるアクリル製ケーシングを新たに作成した。さらに、ケーシング内面におけるレーザー光の屈折を防ぐために、動作流体として重量濃度64%ヨウ化ナトリウム水溶液を用いた。計測はすべて管理された室温(30℃)のもとで行った。このとき $\rho=1.904 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$, $\mu=2.90 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ であった。

図3にインペラ変位計測系の概略図を示す。インペラの回転軸をZ方向とし、回転軸に垂直な二方向(X,Y)の変位を計測するようにそれぞれ拡散反射式レーザー変位計(LC-2450, Keyence)を設置した。インペラがシュラウドを持たないフルオープン形状であることから、レーザー変位計のターゲットとしてインペラ下端近傍のブッシュ部最上端の高さ約2mmの円筒面を用いた。レーザー光のケーシング壁通過時の屈折により出力される変位の値は空気中のものとは異なるため、あらかじめ半径が既知の校正用ジグを作成し、ヨウ化ナトリウム水溶液中にて測定を行い、変位と出力の直線関係を確認し校正を行った。変位計自身のサンプリング周波数は50 kHzであるが、測定にあたってはコントローラ(LC-2400, Keyence)にて16回の平均処理を行った結果をアナログ出力し、AD変換ボードによりデジタル化した後にPC上で数値処理を行った。測定例として図4に2000 rpm, 締め切り運転の場合のインペラ中心軌跡を示す。インペラは大きくふれまわり運動しながら回転し、平均的な中心位置もケーシングの中心位置とは一致していないことがわかる。この軌跡を詳細に見ると、インペラのふれまわり運動の回転方向はインペラ回転方向と同じ前回りのふれまわりであることが全ての測定結果において確かめられた。計測結果ではインペラは一定の半径を持つ円軌道に沿っ

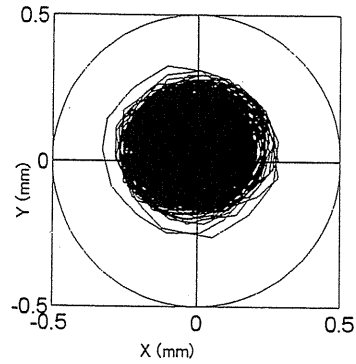


Fig. 4 The measured locus of the impeller center at 2000 rpm under shutoff condition

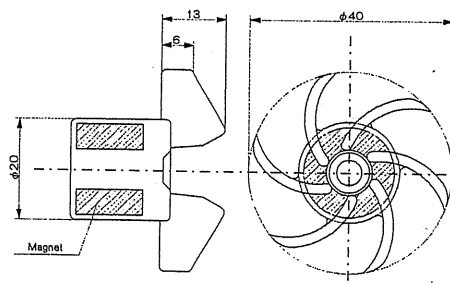


Fig. 5 The schematic view of the plugged impeller

ていないことが示されたが、ふれまわり運動の大きさを与える指標として、以下の指標を計算により算出した。まず、1秒間の計測結果を用いてインペラ中心の平均座標(X_0, Y_0)を算出した。また、平均座標と計測されたインペラ位置との距離についても平均値を求め、これを2倍してインペラのふれまわり軌跡を円とみなした場合の直径に相当する量を算出した。さらに、X, Y方向の信号はほぼ同様の傾向を示していたので、X方向の変位計出力をFFTアナライザ(CF-5220Z, Ono Sokki, Japan)に入力し、周波数解析を行った。

前述のとおり、本ポンプはポンプ内部での血栓形成への対策として、インペラ下部のブッシュ中心部に直径5 mmの貫通孔が設けてあり、インペラにより与えられた圧力を利用してインペラ外周部からケーシングとブッシュの間、貫通孔を通してインペラ中心部付近へ向う流れが生じる構造としている。しかしながら、インペラを出た流体は旋回しており、この旋回成分を持った流れがインペラの回転位置や周波数に影響を与える可能性は高いと考えられる。そこで、旋回流の隙間への流入を防ぎ、旋回流がインペラの運動に与える影響を明らかにするために、図5に示す同一形状で貫通孔のみを閉塞したインペラも製作した。

通常インペラと貫通孔閉塞インペラを対象として、

インペラの運動に与えるインペラの回転数と流量の影響を調べるために、回転数 $N = 1500 - 2500$ rpm, 流量係数 $\phi = 0 - 0.053$ の範囲でそれぞれ計測を行った。

3.3 インペラに作用する流体力の数値計算 インペラには流体力ならびに駆動用永久磁石によるトルクが作用するため、計測したインペラ変位にはこの両者の影響が含まれている。インペラに作用する外力のうち流体力による影響のみについて検討するため、ポンプ内部流れに対する数値計算を行い、インペラに作用する流体力の算出を行った。本数値計算ではふれまわりは与えず、インペラの回転軸をケーシング中心に固定した。回転するインペラを含む領域は回転座標系、ケーシング領域は静止座標系で計算を行った。インペラ、ケーシング、吸込管、および吐出管における計算格子数はそれぞれ、約 105 万、30 万、9 万、3 万であり、合計で約 148 万である。回転数 N は 2000 rpm, 流量は一定 ($\phi = 0.026, Q = 5.0$ L/min) としている。計算は非定常計算であり、その時間刻み幅は回転周期の 120 分の 1 に相当する 2.5×10^{-4} sec である。吸込管壁と吐出管壁における圧力の差 ΔP の変動が周期的になるまで計算を行った。計算には商用ソフトウェアである ANSYS CFX-11 を使用し、乱流モデルとして SST モデルを採用した。境界条件として、吸込管の入口面で質量流量、吐出管の出口面で静圧を設定し、壁面は平滑面で non-slip 条件とした。また、インペラに作用する流体力はインペラ表面上の圧力を面積積分することによって算出した。

4. 結果

4.1 通常インペラの場合 時間平均したインペラ中心位置が流量とともに変化する様子の例として、回転数 $N = 2000$ rpm の結果を図 6 に示す。流量を 0 から 10 L/min まで 1 L/min 間隔で変化させた場合の結果である。図の原点はケーシング中心に一致しており、インペラ中心の軌跡はこの原点を中心とする半径 0.5 mm の円内を移動することが可能であり、円周上でブッシュがケーシング内壁に接触することを示す。また、ポンプ出口管の開口部をグラフにオーバーラップして疑似的に表示している。流量が低い場合にはインペラ中心はケーシング中心に近い位置にあるが、流量の増加にともなってインペラ中心が負の X 方向、すなわち舌部方向に向かって移動していた。より詳細に見ると、流量係数 ϕ が 0 から 0.032 までは負の X 方向に移動し、さらに流量が増加するとそこから正の Y 方向に移動し、舌部方向に偏心する。このときのケーシング中心からインペラ中心までの距離は約 0.4 mm であ

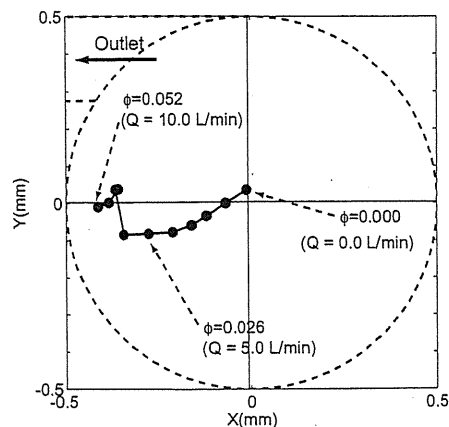


Fig. 6 The average position of the impeller center (X_0, Y_0) $N=2000$ rpm

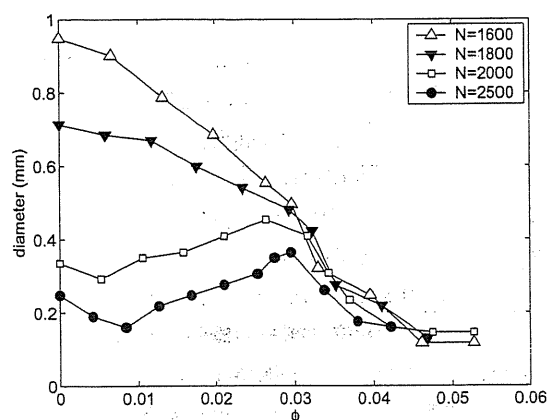


Fig. 7 The average diameter of the whirling motion

り、かなりインペラが偏心して回転していることがわかる。流量の変化に対するこの傾向は計測したすべての回転数で共通していた。本ポンプの設計コンセプトは前述のとおり体内埋込可能な補助人工心臓であり、寸法を可能な限り小さくするために渦巻ディフューザではなく円形ケーシングを採用している。そのため、流量の増加によってインペラに作用する流体力が増加する傾向がより強く現れたものと考えられる。ふれまわり運動の直径と流量の関係を図 7 に示す。回転数が低い場合は、インペラの軸受に作用する流体力が不十分であり、インペラがケーシングに接触しながら回転しているが、回転数が増加するにしたがって、ブッシュ近傍のケーシングのすべり軸受としての能力が向上し、ふれまわり運動の直径が減少していく。 $\phi > 0.03$ の大流量側では、いずれの回転数においても流量の増加に伴って直径が減少する。

また、X 方向の変位を測定する変位計出力のスペクトル解析の結果を図 8 に示す。回転数 N が 2000 rpm,

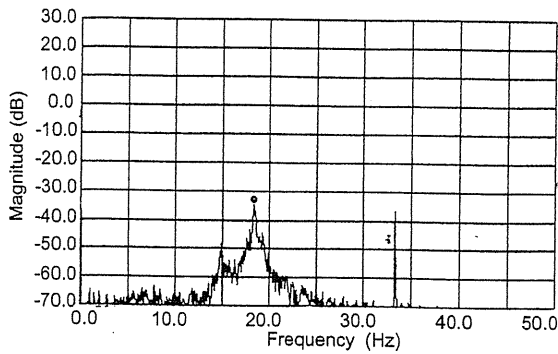


Fig. 8 Spectrum of the displacement to X direction. $N = 2000$ rpm, $\phi = 0.026$ ($Q = 5.0$ L/min)

流量係数 ϕ が 0.026 の場合の結果である。インペラの回転数成分 (33.3 Hz) では明確なピークが現れているが、回転数成分以下の約 10 から 30 Hz の範囲において、ふれまわり運動に起因すると考えられるスペクトルの分布が認められる。この中でも最大値を示したふれまわり運動の角速度 Ω とインペラの回転角速度 ω の比 ε (以後、ふれまわり角速度比と称する) を算出した。その結果を図 9 に示す。本結果は 1500 rpm から 2000 rpm までの回転数に対し、ふれまわり角速度比 ε を流量係数 ϕ に対してプロットしたものである。締め切りから流量が増加するにつれてふれまわり角速度比 ε は約 0.6–0.7 から 0.5 へと緩やかに減少している。流量係数 ϕ が 0.035 以上になると、ふれまわり運動の明確な周波数を捉えることができなかつたため、 ε をプロットできていない。流量係数 ϕ が 0.03 より大きい場合には図 6 に示した偏心量と図 7 に示したふれまわり半径の和がプッシュとケーシングとの隙間量にほぼ等しくなることから、流量の増大によってインペラの軸がケーシング壁近傍に移動した結果、図 7 に示すようにふれまわり運動の直径が小さくなったことに起因するものと考えられる。

図 9 に示すように、流量係数 ϕ で整理すれば、ふれまわり角速度比 ε に対する回転数の影響をかなり排除できたことから、プッシュとケーシングの隙間を流れる流量とふれまわり運動の角速度比 ε の間にも高い相関があることが示唆される。

本ポンプ羽根車部分の相似拡大モデルを使用した実験的研究⁽⁷⁾において、鈴木らはふれまわり角速度比 ε が 0 から 0.75 の範囲でふれまわり運動に対して励振的に作用する流体力が発生することを示している。本研究では、 $\varepsilon = 0.5 - 0.7$ のふれまわり運動が発生しており、この実験結果と矛盾しない結果が得られている。

4.2 貫通孔閉塞インペラの場合 貫通孔閉塞インペラでの中心位置計測結果の例として、 $N = 2000$ rpm

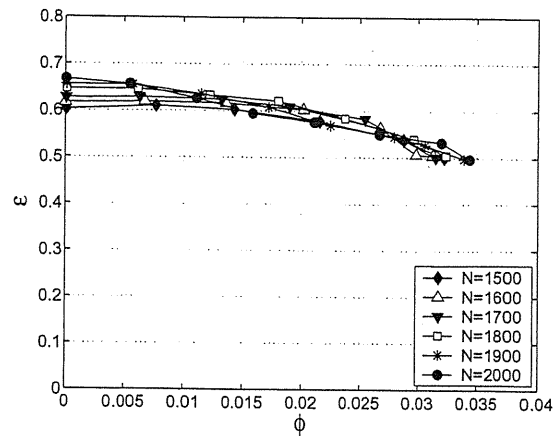


Fig. 9 The relationship between the frequency ratio $\varepsilon = \Omega/\omega$ and the flow coefficient ϕ

の場合のインペラの平均中心位置を図 10 に示す。計測を行った条件においては、流量の変化に対するインペラ平均中心位置の変化の様子は貫通孔をもつオリジナル形状とほぼ同様であり、流量の増加に伴ってインペラ平均中心位置は出口方向に移動する傾向を示していた。この結果により漏れ流れの有無によってインペラの平均浮上位置はほとんど影響を受けないことがわかる。また、通常のインペラにおいてふれまわり運動の直径に与える回転数の影響が大きかつた $N = 1500 - 2000$ rpm の範囲におけるふれまわり運動の直径と流量係数の関係を図 11 に示す。貫通孔があるインペラの場合と同様に、回転数の増加に伴って、特に $\phi > 0.035$ の高流量域では、プッシュ近傍のケーシングのすべり軸受としての能力が向上し、ふれまわり運動の直径が減少する傾向が顕著である。また、どの回転数においても締め切りから流量が増加するにつれふれまわり運動の直径が増加し、回転数により異なるが、 $\phi = 0.017 - 0.035$ あたりから再び直径が減少する。直径が増加から減少へと変化する流量は、 $N = 2000$ rpm の場合には $\phi = 0.035$ であり、図 10 においては平均中心位置が最もケーシング中心から遠ざかる流量にほぼ一致している。通常のインペラと同じく、インペラがケーシング壁に接近することによりふれまわり運動の直径に制約を受けるために、大流量側では直径が小さくなっていると考えられる。

ふれまわり角速度比 ε と流量係数 ϕ の関係を図 12 に示す。貫通孔を閉塞し、漏れ流量をなくした場合、ふれまわり角速度比 ε は流量によらずほぼ 0.5 となっている。貫通孔が閉塞した場合は、プッシュとケーシングの隙間内の流れは、プッシュ壁面を移動壁、ケーシング壁面を固定壁とするクエット流れ、あるいはテーラー

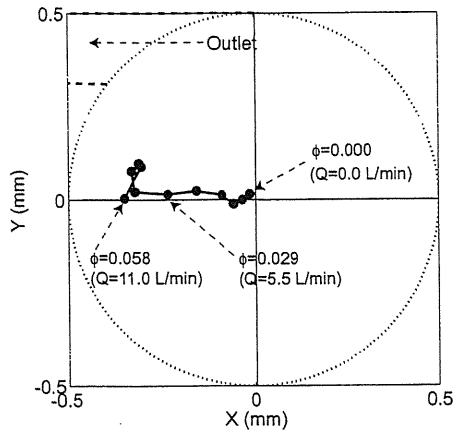


Fig. 10 The average position of the plugged impeller center. $N=2000$ rpm

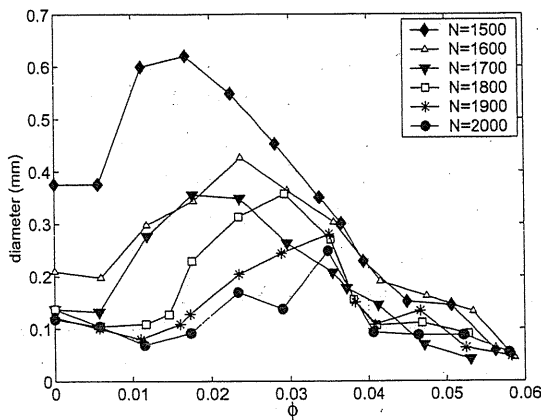


Fig. 11 The diameter of the whirling motion with the plugged impeller

渦が生じた流れになっていると考えられる。旋回流速の平均値はブシュの壁面速度の2分の1になっていると予想され、この流れにブシュが押し流されるためにふれまわり角速度比 ε が0.5程度になるものと考えられる。一方、貫通孔を持つ通常インペラの場合には羽根車により旋回速度を与えられた流れが隙間に流入するため、ふれまわり角速度比が0.5を超えるような値をとるものと推察される。低流量では、漏れ流量が大きく、かつ旋回速度も大きいため漏れ流れの影響を強く受けふれまわり角速度比 ε が0.6-0.7程度と大きくなり、大流量時には漏れ流量が減って、かつ旋回速度が小さいために、ふれまわり角速度比は漏れ流れがない場合のものと同様に0.5程度になると考えられる。図12の結果と図9の結果との比較から、ふれまわり角速度比はブシュとケーシングの隙間を通過する

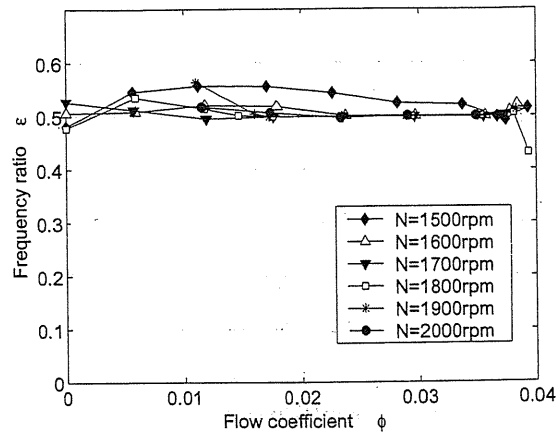


Fig. 12 The relationship between the frequency ratio $\varepsilon = \Omega/\omega$ and the flow coefficient ϕ in the plugged impeller

漏れ流れの流量とその旋回速度に大きく影響を受けることがわかる。

4.3 インペラに作用する流体力の数値計算 実機のインペラの運動を数値計算で模擬することが困難であるため、インペラの回転軸をケーシング中心に固定した状態における内部流れのシミュレーションを行った。 $N=2000$ rpm, $\phi=0.026$ の場合の圧力係数は図2に示されている。インペラに作用するインペラ一回転あたりの半径方向流体力を図13に示す。羽根部分にかかる流体力の方が相対的に大きいですが、その方向はブシュに作用する流体力の方向とほぼ一致していた。この流体力の方向は、羽根部分の拡大モデルの実験的結果⁽⁷⁾と一致している。インペラ全体に作用する流体力の方向と図6に示したインペラの平均中心位置を比較すると、おおよそ90度ずれていた。この原因として、駆動用永久磁石による磁力の影響が考えられる。インペラを駆動する6極の永久磁石による磁力は、インペラが偏心した方向で最も強く作用し、インペラを回転させるため接線方向に作用する。この磁力によりインペラは流体力の方向から接線方向にずれると考えられる。本計算はインペラを幾何学的中心位置に固定しているために、インペラが実験で得られたような複雑なふれまわり運動をしている場合に作用する流体力を定量的に評価することはできないが、本数値計算結果や拡大モデルの実験結果⁽⁷⁾からインペラの変位を取り扱う上で磁力の影響が無視できないことがわかる。

5. 結 論

補助人工心臓として開発された遠心性血液ポンプを対象として、磁気結合カップリングを持つインペラの

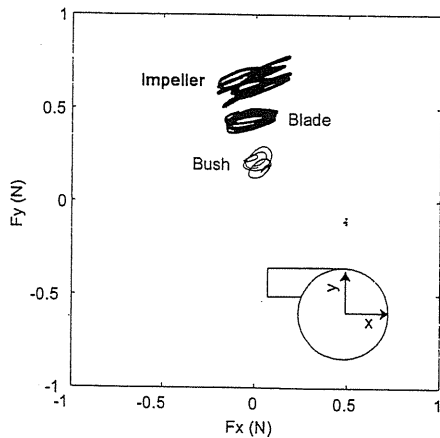


Fig. 13 Computational radial fluid force acting on the impeller surface.. $N=2000$ rpm. $\phi=0.026$

ふれまわり運動の計測を行った。得られた主な知見は以下のとおりである。

1. インペラ中心の平均位置は回転数・流量により変化し、特に流量の増加によってケーシング出口近傍へ移動することが明らかとなった。
2. ふれまわるインペラの軌跡を円運動と仮定してその平均直径を算出すると回転数の増加に伴ってすべり軸受としての能力が増加し、平均直径は小さくなる。また、大流量側では、流量が増加するにつれても平均半径は小さくなる傾向を持つ。これは流量の増加に伴って、インペラの中心の偏心量が大きくなり、インペラがケーシングに近接することによって、ふれまわり運動の範囲に制約をうけるためであると考えられる。
3. ふれまわり運動の角速度はインペラ回転角速度の0.5-0.7倍程度であり、流量の増加とともにゆるやかに減少する傾向にあった。また、貫通孔を塞いだインペラのふれまわり運動の角速度は、流量によらずインペラ回転角速度の約0.5倍であった。このように、ふれまわり運動の角速度はケーシングとブッシュの隙間を通過する漏れ流れによって強く影響を受ける。
4. 数値計算により求められた流体力とインペラ中心の平均位置と比較すると、その方向は一致しておらずおよそ90度のずれがあることが認められ、インペラの中心位置には流体力と駆動永久磁石の磁力が共に影響している。

謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究B）の援助の下に行われた。また、実験を遂行するにあたり、当時大阪大学基礎工学部4回生であった山本幸久君、上窪真由子君の協力を得たことに対しここに感謝して記する。

文 献

- (1) Eric A. Rose, Annetine C. Gelijns, Alan J. Moskowitz, Daniel F. Heitjan, Lynne W. Stevenson, Walter Dembitsky, James W. Long, Deborah D. Ascheim, Anita R. Tierney, Ronald G. Levitan, John T. Watson, Nuala S. Ronan, Peter A. Shapiro, Ronald M. Lazar, Leslie W. Miller, Lopa Gupta, O. Howard Frazier, Patrice Desvigne-Nickens, Mehmet C. Oz, Victor L. Poirier, Paul Meier, Long-term Use of a Left Ventricular Assist Device for End-stage Heart Failure, *The New England Journal of Medicine*, Vol.345, No.20 (2001), pp.1435 - 1443
- (2) Soon J. Park, Alfred Tector, William Piccioni, Edward Raines, Annetine Gelijns, Alan Moskowitz, Eric Rose, William Holman, Satoshi Furukawa, O. Howard Frazier, Walter Dembitsky, Left Ventricular Assist Device as Destination Therapy: A New Look at Survival, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, Vol.129, No.1 (2005), pp.9-17
- (3) D. Esmore, D. Kaye, R. Salamonsen, M. Buckland, M. Rowland, J. Negri, Y. Rowley, J. Woodard, J. Begg, P. Ayre, First Clinical Implant of the VentrAssist Left Ventricular Assist System as Destination Therapy for End-stage Heart Failure, *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, Vol.24, No.8 (2005), pp.1150 - 1154
- (4) Fukamachi K, Ochiai Y, Doi K, Massiello AL, Medvedev AL, Horvalh DJ, Gehart RL, Chen JF, Krogulecki AY, Takagaki M, Howard MW, Kopcak MW, Golding LA, Chronic Evaluation of the Cleveland Clinic CorAide Left Ventricular Assist System in Calves, *ASAIO Journal*, Vol.26, No.6 (2002), pp.529 - 530
- (5) Nojiri C, Left Ventricular Assist System with a Magnetically Levitated Impeller Technology, *Journal of Japan Surgical Society*, Vol.103, No.9 (2002), pp.607 - 610
- (6) Wakisaka Y, Taenaka Y, Chikanari K, Okuzono Y, Endo S, Takano H, Development of an Implantable Centrifugal Blood Pump for Circulatory Assist, *ASAIO Journal*, Vol.43, No.5 (1997), pp.M608 - M614
- (7) Suzuki T, Prunières R, Horiguchi H, Tsukiya T, Taenaka Y, Tsujimoto Y, The Rotordynamic Fluid Forces on an Artificial Heart Pump Impeller in Whirling Motion, *Transactions of the Japan Society of Mechanical Engineers, Series B*, Vol.73, No.725 (2007), pp.205 - 212.

二段インペラを用いた高揚程型血液ポンプの開発 Development of the Blood Pump with the Two-stage Impeller

○築谷 朋典¹, 武蔵 虎太郎², 堀口 祐憲², 辻本 良信², 巽 英介¹, 妙中 義之¹,
1. 国立循環器病センター研究所, 2. 大阪大学大学院基礎工学研究科

OTomonori Tsukiya¹, Torataro Takemika², Hironori Horiguchi², Yoshinobu Tsujimoto², Eisuke Tatsumi¹, Yoshiyuki Taenaka¹,

1. Research Institute of National Cardiovascular Center, 2. Department of Engineering Science, Osaka University

1. 緒言

体外循環あるいは ECMO 等の心肺補助装置に使用される血液ポンプは送血チューブと人工肺による抵抗に打ち勝って血液を輸送するため比較的高い圧力を発生する必要がある。チューブが細径化する場合には特に顕著である。高圧を実現するためには高回転運転が必要であり、血球の破壊が懸念される。本研究では、低いポンプ回転数で高圧発生を実現するポンプとして開発中の、二段インペラを有する血液ポンプについて述べる。

2. 血液ポンプの構造

開発した血液ポンプの主要部分の構造は Fig.1 に示されている。まず、ポンプ入口部にはサクシヨンボリュートを用いており、動作流体に予旋回を与え入口部での圧力低下を軽減する効果を狙っている。インペラは同一の形状をもつ二段の羽根車を有しており、一段目の羽根車を出た動作流体は翼型戻り流路を経由して二段目の羽根車入口へと導かれる。二段目の羽根車を出た後はダブルボリュートを経由して拍出される。ダブルボリュートを採用した理由は、インペラに作用する半径方向流体力をできるだけ抑えるためである。装置全体の小型化を狙い、試作ポンプではインペラの直径を 40mm とした。試作したポンプの充填体積量は 41mL である。

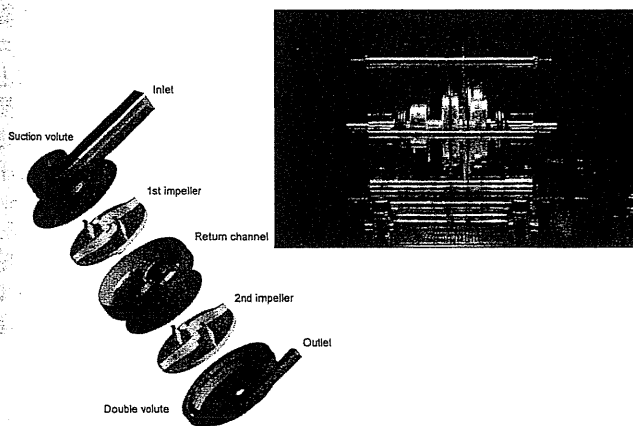


Fig.1 The structure of the pump

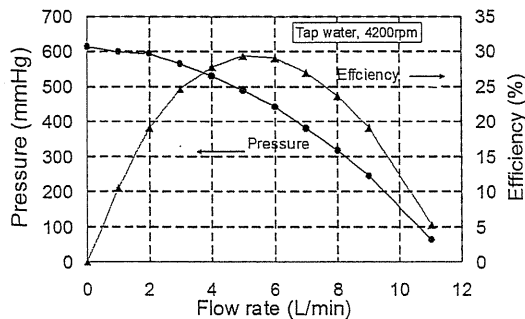


Fig.2 The hydrodynamic characteristics

3. 試作ポンプ性能

試作したポンプの圧力特性曲線を Fig.2 に示す。動作流体が生理食塩水の場合、約 4200rpm において流量 5.0 L/min、揚程 500mmHg を達成している。二段インペラの採用により、ポンプを直列にした場合と同様、特性曲線の勾配として表される流量の変化に対する圧力の変化が大きい特性を示している。このことは、一定の抵抗変化に対する流量の変動幅が小さいことを示しており、血液ポンプの制御性という観点からは有利であると考えられる。また、入口から出口に至る流路での圧力上昇の分布を調べたところ、戻り流路における若干の圧力損失が確認された。

4. 内部流れの数値計算による血液適合性評価

試作機の形状の妥当性の検証項目として、ポンプ内部における血球の破壊あるいは血栓形成の可能性に関する検討を数値流体計算に基づいて行った。計算には商用数値計算コード(CFX-11, ANSYS)を用い、ポンプ入口部から出口部までの非定常計算を行った。血球破壊に関して、流体のせん断応力分布を算出したところ、インペラ羽根の上端とケーシングの隙間部に、インペラの圧力面から負圧面に向かって羽根を乗り越える流れが引き起こす高せん断応力部が存在することが明らかとなった。また、ボリュート舌部においても同様に高せん断応力部が存在し、相対的に血球破壊を引き起こす可能性が示された(Fig.3)。また、血栓形成に関しては、まず血流の淀み成分を中心に全領域を検索した結果、戻り流路の流路中央部において、閉じた渦領域が形成され、中心部において流速が低い領域が形成されていた(Fig.4)。これらの結果をふまえ、高いせん断応力を示す領域ならびに血液の淀む領域を解消するための設計変更を行っている。

5. 結論

二段インペラを用いた遠心型血液ポンプの開発を行い、小さいインペラ径でも相対的に低い回転数において高い圧力を発生することに成功した。

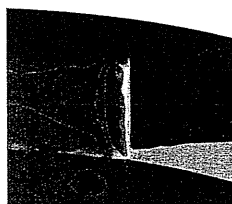


Fig.3 The shear stress distribution

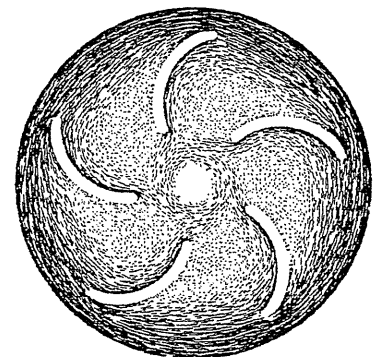
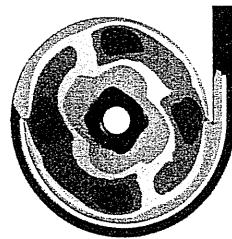


Fig.4 The velocity profile at the return channel