

論文の内容の要旨

論文題目： 血液ポンプの溶血試験における影響因子に関する研究

李 欣陽（り きんよう）

【研究目的】

血液ポンプの溶血試験は、開発段階における血球破壊の検討や前臨床試験における安全性評価のためには必要不可欠な試験である。近年、補助人工心臓や心肺機能補助装置などで血液ポンプの長期臨床使用例の増加に伴い、溶血評価の重要性が高まっており、医薬品医療機器総合機構においても、溶血評価を参考扱いから仕様として扱うことが検討されている。しかし、現在の標準的手法である **American society for testing and materials** の溶血試験方法では、安全域の境界値が不明であり、血液性状、動物種、試験温度や測定方法により溶血指数の値が異なるなどの問題点をかかえているため、理想的な溶血試験方法の開発が必須である。しかし、現時点においては、様々な影響因子が溶血試験に与える影響が十分にわからないために、理想的な溶血試験方法を開発するのは困難である。

本研究は、安全で高性能な血液ポンプを提供することを目標として、血液ポンプの溶血試験における影響因子を把握するために、抗凝固剤、保存温度および測定方法が検体に与える影響について検討し、理想的な溶血試験方法としての高希釈溶血試験の基礎研究として、血液希釈が溶血試験に与える影響について検討を行うことを目的とした。

【抗凝固剤、保存温度および測定方法が検体に与える影響】

方法：ブタ血を使用し、洗浄赤血球を作ったのち、純水で溶血させ、ヘモグロビン水溶液を作製した。作製したヘモグロビン水溶液に、クエン酸ナトリウム、ヘパリンおよびエチレンジアミン四酢酸（EDTA）を加え、抗凝固剤の代わりに純水を加えたものを対照として、ヘモグロビン濃度の経時的変化を調べた。また、ヘモグロビン水溶液を、室温（25℃）、37℃および冷凍（-60℃）の条件下で静置保存し、ヘモグロビン濃度を測定した。さらに、酸化ヘモグロビン測定法（Cripps 法、Kahn 法、Porter 法および Shinowara 法）とラウリル硫酸ナトリウム法を用いて、測定方法がヘモグロビン濃度計測に与える影響を調べた。

結果と考察：溶血試験において血液の凝固を防止するために用いる抗凝固剤としては、短時間の溶血試験においては、EDTA、ヘパリンもしくはクエン酸ナトリウムのいずれを使用してもよいが、48 時間以上の長時間においては、EDTA とヘパリンではメトヘモグロビンができてくるため、クエン酸ナトリウムを使用すべきであることがわかった。保存温度としては、短時間であれば室温保存でよいが、長時間の場合には、冷凍保存が適していることがわかった。また、抗凝固剤や検体の保存温度を適切に選定すれば、酸化ヘモグロビン測定法でも適切な測定ができることがわかった。

【血液希釈が溶血試験に与える影響】

方法：ブタ血を生理食塩水で希釈することにより、ヘマトクリット値 5～30%の試験血液を作製した。まず、希釈することにより血液の非ニュートン流体の性質がどうなるのかを調べた。次に、室温（ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ）、 $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ および $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の温度条件下で、様々な希釈度の血液を用いて溶血試験を行い、血液希釈と試験温度の影響を調べた。また、洗浄赤血球を用いて、同様に血液希釈と試験温度の影響を調べた。さらに、高ヘマトクリット値と低ヘマトクリット値の血液を用い、流量を調節することによりレイノルズ数を合わせて溶血試験を行った。

結果と考察：血液を生理食塩水でヘマトクリット値 5%にまで希釈しても、非ニュートン流体の性質を持っていることがわかった。血液希釈と試験温度の関係に関しては、同一温度においては、粘度（もしくはヘマトクリット値）が高くなるとずり速度が低下するため溶血は低くなる傾向を示すはずであるが、この傾向を示しているのは 37°C の場合のみであり、 30°C ではほぼフラットになり、 25°C では逆の傾向を示していた。これは、温度が低くなるにつれ、ずり応力以外の要因が大きく溶血度合いに関係してくることを示唆しており、温度が低いと、血漿成分が薄くなるほど溶血度合いが少なくなる物理的な要因が存在することを示唆している。洗浄赤血球を用いた同様の実験では、血漿成分が無い場合には、溶血特性は温度条件によらずに一定の傾向を示しており、ずり応力による物理的な血球破壊とは反対に作用する要因が大きな影響を与えることがわかった。室温（ 25°C ）条件で、低ヘマトクリット値の血液に対して、流量を調整してレイノルズ数を高ヘマトクリット値の血液に合わせるという補正を試みた結果、高希釈血液においても溶血指数があまり変わらないことがわかり、高希釈溶血試験の補正方法としては、レイノルズ数を使用するのが適切である可能性が示唆された。このことは、溶血度合いに関連するずり応力以外の因子は、層流や乱流などの流れの状態に関連した因子であることを示唆している。

【総括】

本研究で、抗凝固剤、保存温度および測定方法が検体に与える影響が明らかとなり、さらに高希釈による新たな溶血試験方法の実現可能性が示された。本研究は、より安全で高性能な血液ポンプの提供を可能とする一助になると思われる。