

〈原著論文〉

自己血小板貯血における採血前ヘパリン投与が 採取血小板の凝集能に及ぼす影響に関する検討

滝内 宏樹, 種本 和雄

川崎医科大学心臓血管外科学, 〒701-0192 倉敷市松島577

抄録 心臓大血管の手術において術中止血に難渋する場合や大量輸血を要する場合がある。特に血小板製剤は供給量が限られており、自己血貯血、血小板成分貯血の有用性が報告されている。術中自己血小板採取には約90分を要するが、ヘパリンの採取血小板機能への影響は不明であり、採取終了まで人工心肺を開始できないことから、手術時間が延長しているのが現状である。ヘパリンによる自己多血小板血漿 (PRP) への影響がなければ、採取と同時に手術の進行が可能となり、手術時間の短縮が期待できる。

今回我々は、全身麻酔下にブタを用いて、成分採血装置 COMPONENT COLLECTION SYSTEM (HAEMONETICS 社) による自己血小板採取を行い、ヘパリンが PRP の血小板凝集能に与える影響を検討した。1頭のブタに対し1週間の間隔を置いて2度の採血を行い、1度目はヘパリン非投与群 (N 群) とヘパリン投与群 (H1群) の採血を行い、2度目はヘパリン投与群のみ (H2群) 採血を行った。N 群と H 群で採取した血小板数および血小板凝集能の比較を行った。血小板凝集能は HEMA TRACER 712 (MCM 社) にて測定した。本研究は川崎医科大学動物実験委員会の承認を得て行った。

データ数は N 群7例, H 群12例 (H1群7例, H2群5例) であった。PRP 中の血小板数は N 群で $153.6 \pm 67.6 \times 10^4 / \mu\text{l}$, H 群で $142.8 \pm 47.6 \times 10^4 / \mu\text{l}$ であり、有意差はなかった ($p = 0.6857$)。また、血小板の最大凝集率は N 群, H 群で凝集惹起物質濃度が ADP $2 \mu\text{M}$ で 32.1 ± 9.2 , $24.1 \pm 13.6\%$ ($p = 0.183$), ADP $4 \mu\text{M}$ で 44.6 ± 6.4 , $33.5 \pm 13.3\%$ ($p = 0.057$), Collagen $2 \mu\text{g/ml}$ で 43.4 ± 28.5 , $28.8 \pm 16.4\%$ ($p = 0.176$) と有意差は認めなかったが、高濃度の ADP の場合のみ H 群でより低い傾向にあった。

今回の実験ではヘパリン投与前後で採取した自己血小板の凝集能に差は認めず、PRP 中の血小板数および血小板機能はヘパリンの影響は受けないと結論できる。よって、今後は臨床での術中自己血小板採取の有用性について研究を進めていく。doi:10.11482/KMJ-J41(2)143 (平成27年10月5日受理)

キーワード：術中自己血小板貯血, ヘパリン, 血小板機能

緒言

心臓大血管における人工心肺を用いた手術の際に、血球の破壊や消費、術中の低体温による

血小板機能の低下¹⁻³⁾、術前の抗血小板療法による凝集能低下などにより凝固能が阻害され、術中止血に難渋する場合や術後大量輸血を要す

別刷請求先
滝内 宏樹
〒701-0192 倉敷市松島577
川崎医科大学心臓血管外科学

電話：086 (462) 1111
ファックス：086 (464) 1189
Eメール：hirokit22@gmail.com

る場合がある。また、血小板製剤は供給量が限られており、術中出血量軽減や同種血輸血削減のため、自己全血貯血や成分採血装置による多血小板血漿 (Platelet-rich plasma, 以下 PRP) の採取が行われている。PRP 採取には手術前日に採血を行う方法と術中に行う方法があるが、どちらにおいても術中出血量の減少や周術期輸血量の減少といった有用性が報告されている⁴⁻¹⁷⁾。術中採取の場合は自己血小板採取後にヘパリンを投与し、人工心肺を開始するため、麻酔導入から執刀まで60分以上の待機時間を要している^{7-9, 14, 15)}。ヘパリンはアンチトロンビンⅢ (ATⅢ) と結合することにより凝固因子を不活化させ、抗凝固作用を発揮する。しかし、ヘパリンは副作用として血小板減少や血小板凝集をもたらすことがある。これまでの術中自己血小板採取の報告は、ヘパリン投与前に採取を行っているものがほとんどで、ヘパリンの採取血小板への影響については報告が無い¹⁸⁾。ヘパリンが PRP の血小板凝集能に影響を及ぼさなければ、PRP 採取と同時に手術の進行が可能となり、手術時間の短縮が可能でその意義は大きいと考えられる。

本研究の目的は、術中自己 PRP 採取において、全身ヘパリン投与が採取血小板の凝集能に影響を与えるか否かを検討し、ヘパリン投与下で作製された PRP の臨床使用に問題がないことを示すことである。

材料と方法

ヘパリン全身投与が採取血小板数および採取血小板凝集能に及ぼす影響を検討するために、まず実験動物によりヘパリンの影響の検討を行った。本研究は川崎医科大学動物実験委員会の承認 (14-085, 15-032) を得て行い、まず、2015年1月から3月まで試験的にデータ収集、解析を行い、その結果を元に2015年6月から7月まで追加で実験を行い、データ解析を行った。

実験動物および麻酔

本実験ではブタ、WLD 種、オス、体重18～

28 kg (有限会社 ジャパン・ラム, 広島) を使用した。麻酔はケタミン塩酸塩 (10 mg/kg) を筋注し、鎮静が得られた後、耳静脈に22Gで点滴ルートを確認し、チオペンタールナトリウム (100 mg/回) を緩徐に静注して、深い鎮静を得た後に仰臥位で気管内挿管を行った。実験中はセボフレン (3%) を使用して、全身麻酔維持を行った。

採血方法

採血は外頸静脈を露出し、カニューレション (Argyle™ メディカット™ セーフティカニューラ16G) を行い、HAEMONETICS社の成分採血装置 COMPONENT COLLECTION SYSTEM (以下 CCS) を用いて自己 PRP を作製した。

1頭のブタに対し、1週間の間隔をおいて計2回の PRP 採取を行うこととし、1回目はヘパリン非投与群 (N 群) の PRP 採取を行った後、CCS の遠心ボウル内の濃厚赤血球 (RBC) のみを返血し、ヘパリンの全身投与を行い、ACT 延長を確認してヘパリン投与連続採取 (1週目) 群: H1群の PRP 採取を行った。採取後は分離された Platelet-poor plasma (PPP) と RBC および PRP の残検体を返血して閉創した。2回目は1週間飼育後に同様の麻酔処理を行い、ヘパリン投与後の PRP 単回採取 (H2群とする) を行った (図1)。

CCS の設定

本装置ははじめに HAEMO CALCULATOR に性別、身長、体重、ヘマトクリットなどのデータを入力し、目標採取量を決定する。採血中は HAEMO UPDATE に脱血量、サイクル、処理量、ACD 液使用量、経過時間などの最新状況が表示される。また、MODIFY PARAMETERS にて詳細な設定が可能である。

CCS の採取プログラムは3種類で、① PBSC (末梢血幹細胞採取) ② TPR (血小板除去) ③ TLR (白血球除去) となっており、術中自己血小板採取については TPR モードで血小板除去 (= 採取) を行う。対象は動物であるため、

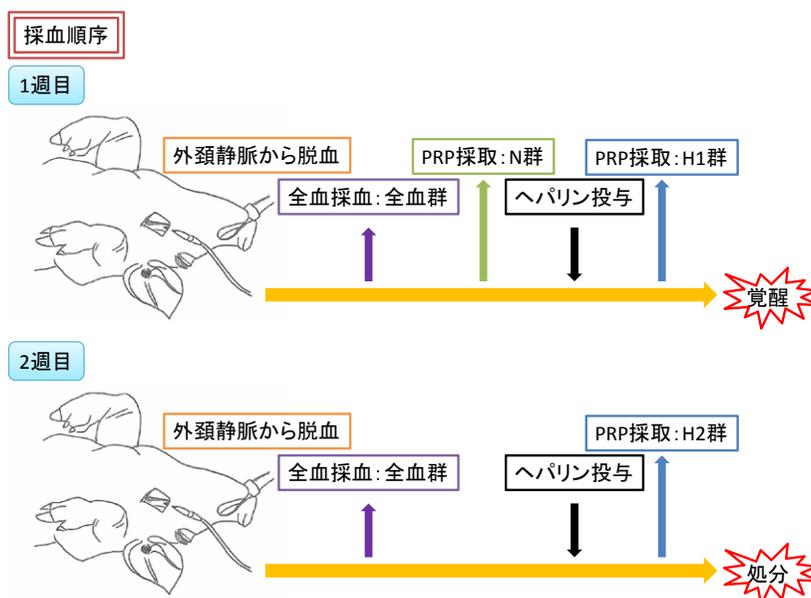


図1 各群の採血のタイミングに関して図示する。

HAEMO CALCULATOR は男性, 身長170 cm, 体重65 kg, Hct 30% のデフォルト設定とした。よって1サイクルの採取において, 血小板が含まれるバフィーコート回収は自動では行えず, 手動で行った。回路内の ACD 液と血液の混合比は1:12とし, 脱血速度は60 ml/min を維持した。

血液成分の測定

カニューレ後後にコントロールとして全血を EDTA 入り採血管に採取し, 白血球数 (WBC), ヘモグロビン (Hb), ヘマトクリット (Hct), 血小板数 (Plt) を測定した。自己 PRP 中の WBC, Hb, Hct, Plt を測定し, さらに血小板保存環境の確認として pH, ナトリウム (Na) 濃度, カリウム (K) 濃度の測定も行った。

ヘパリンの投与および効果判定

ヘパリンは150単位/kg を投与することとし, H1群は N 群の PRP 採取を行った後, CCS の遠心ボウル内の RBC のみを返血し終わったタイミングで, H2群は脱血ルートが確保できた段

階でヘパリンの全身投与を行った。ヘパリン投与前後で ITC 社の HEMOCHRON 401 を用いて, 全血検体の活性化凝固時間 (ACT) を測定し, ヘパリンの効果を確認した。また, 初回のみ PRP 中の残存ヘパリン濃度を測定した。

血小板凝集能の測定

透光度型血小板凝集能測定装置 HEMA TRACER[®] 712 (エム・シー・メディカル社) を用いて全血および PRP の血小板凝集能を測定した。血小板凝集惹起物質としてアデノシン 2リン酸 (ADP) と Collagen を使用し, 測定時の終濃度を ADP2 μ M, ADP4 μ M, Collagen2 μ g/ml に設定した。測定時の blank はそれぞれの PPP を用いた。

まず, 全血を3.2%クエン酸ナトリウム入り採血管に採取し, 白血球数が1,000個/ μ l 以下となるように1,500 rpm で10分間遠心後, 上清2 ml を全血 PRP とし, 血小板数と凝集能を測定した。残りの検体は3,000 rpm で15分間遠心し, その上清を全血 PPP として凝集能測定の際の検体希釈調整に使用した¹⁹⁾。検体は最終的に血

血小板数が $30\text{-}40 \times 10^4$ 個/ μl となるように調整を行った。

自己PRP検体は5 mlを1,500 rpmで5分間×3回遠心処理を行い、上清1 mlを採取し、血小板数を $30\text{-}40 \times 10^4$ 個/ μl に調整し、検体採取から60分後に凝集能を測定した。

統計解析

各値の有意差検定はStudent's t-testにより行い、数値はすべて平均±標準偏差で表し、 $P < 0.05$ を有意とした。

結果

研究期間を通して、計6頭のブタからN群7例、H群12例（H1群7例、H2群5例）のデータを得た。

同一日、同一個体による比較

同一個体におけるN群とH1群で凝集能の比較を行った（図2）。N群に比べ、H1群では凝集惹起物質別（ADP2 μM 、ADP4 μM 、Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ ）に平均8.6%、11.7%、19.7%の凝集能低下を認め、t検定により $p = 0.0381$ 、0.0159、0.0429と有意差を認めた。

H1群における連続採取の影響に関する検討

H1群とH2群で血小板凝集能を比較し、N群採血の影響を受けていたかどうかを検証した（表1）。H1群とH2群間で血液処理量（ 314 ± 32 vs 421 ± 47 ml, $p = 0.0009$ ）、Na濃度（ 143.3 ± 1.8 vs 140.6 ± 1.1 mmol/l, $p = 0.0152$ ）において有意差を認めたが、採取血小板数は 144.0 ± 54.0 vs $141.0 \pm 43.1 \times 10^4$ 個/ μl と有意差はなく、血小板凝集能についてもADP2 μM 、ADP4 μM 、Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ のいずれの条件においても有意差は認めなかった。よって、N群との比較はH群（H1 + H2）として行った。

PRPの比較

N群 vs H群で血液処理量は 382 ± 43 vs 359 ± 66 ml, PRP採取量は 52 ± 6.8 vs 51 ± 9.2

ml, PRP中のHctは 16.8 ± 4.4 vs $17.0 \pm 5.0\%$, PRP中の血小板数は 153.6 ± 67.6 vs $142.8 \pm 47.6 \times 10^4$ 個/ μl , PRPのpHは 7.08 ± 0.04 vs 7.07 ± 0.07 , PRPのNa/K濃度は $142.4/3.3 \pm 1.7/0.5$ vs $142.2/3.3 \pm 2.0/0.6$ mmol/lで各項目共に有意

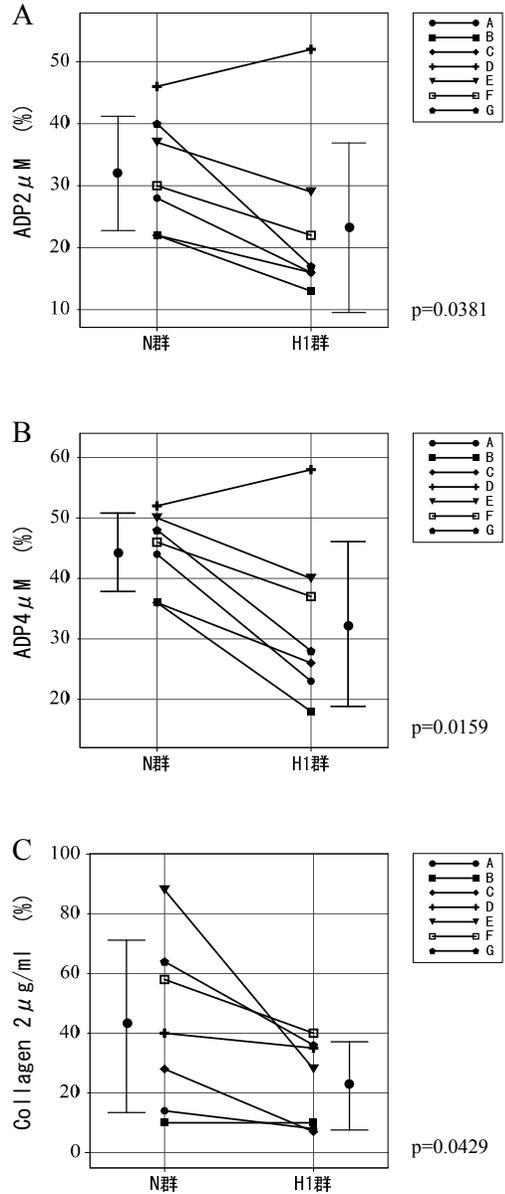


図2 同一個体におけるヘパリン非投与（N群）とヘパリン投与（H1群）の最大凝集能の比較を凝集惹起物質濃度別（A: ADP 2 μM , B: ADP 4 μM , C: Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ ）に示す。A, B, Cいずれにおいても有意差（A: $p = 0.0381$, B: $p = 0.0159$, C: $p = 0.0429$, t検定）を認めた。

差はなかった (表2).

ヘパリン投与前の ACT は平均91秒で, ヘパリン投与後の ACT は平均254秒で有意に延長していることを確認した ($p = 0.0001$). また, PRP中の残存ヘパリン濃度は1.9 IU/mlであった.

血小板凝集能の比較

血小板の最大凝集率について N 群, H 群で比較を行った (表3). 凝集惹起物質濃度が ADP 2 μM で 32.1 ± 9.2 , $24.1 \pm 13.6\%$ ($p = 0.183$), ADP 4 μM で 44.6 ± 6.4 , $33.5 \pm 13.3\%$ (p

表1 ヘパリン投与後採取多血小板血漿 (PRP) に関する検査データ

		単位	H1群 (n=7)	H2群 (n=5)	p 値
CBC	WBC	$\times 10^8/l$	81.9 ± 23.3	86.9 ± 12.6	0.6723
	Hb	g/dl	4.6 ± 1.7	4.3 ± 1.1	0.7083
	Hct	%	17.4 ± 5.8	16.3 ± 4.0	0.7235
	Plt	$\times 10^4/\mu\text{l}$	144.0 ± 54.0	141.0 ± 43.1	0.9210
PRP	血液処理量	ml	314.1 ± 32.6	420.8 ± 47.1	0.0009
	採取量	ml	47.9 ± 10.6	56.2 ± 3.7	0.1249
	ph		7.06 ± 0.09	7.09 ± 0.03	0.5106
	Na	mmol/l	143.3 ± 1.8	140.6 ± 1.1	0.0152
	K	mmol/l	3.2 ± 0.7	3.5 ± 0.3	0.4348
血小板凝集能検査	ADP 2 μM	%	23.6 ± 13.6	24.8 ± 15.1	0.1950
	ADP 4 μM	%	32.9 ± 13.5	32.4 ± 16.3	0.9586
	Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$	%	23.4 ± 14.6	36.2 ± 17.3	0.8856

H1群: ヘパリン非投与群 (N 群) の PRP 採取に引き続き, ヘパリンを投与して PRP を採取した群.
 H2群: はじめからヘパリン投与を行い, PRP 採取を行った群
 すべてのデータは平均 \pm 標準偏差で示す. p 値は t 検定により評価した.

表2 ヘパリン非投与および投与後の採取多血小板血漿 (PRP) に関する検査データ

		単位	N 群 (n=7)	H 群 (n=12)	p 値
CBC	WBC	$\times 10^8/l$	74.7 ± 18.3	84.0 ± 19.0	0.3127
	Hb	g/dl	4.4 ± 1.2	4.5 ± 1.4	0.8908
	Hct	%	16.9 ± 4.4	17.0 ± 5.0	0.9464
	Plt	$\times 10^4/\mu\text{l}$	153.6 ± 67.6	142.8 ± 47.6	0.6857
PRP	血液処理量	ml	381.7 ± 43.2	358.6 ± 66.4	0.4229
	採取量	ml	51.9 ± 6.8	51.3 ± 9.2	0.8973
	ph		7.08 ± 0.04	7.07 ± 0.07	0.8197
	Na	mmol/l	142.4 ± 1.7	142.2 ± 2.0	0.7789
	K	mmol/l	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.6	0.9190

N 群: ヘパリンを投与せずに PRP を採取した群
 H 群: ヘパリン投与後に PRP を採取した群
 すべてのデータは平均 \pm 標準偏差で示す. p 値は t 検定により評価した.

表3 血小板最大凝集能の比較

	血小板最大凝集能 (%)		
	ADP 2 μM	ADP 4 μM	Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$
全血 (n=12)	49.3 ± 9.9	58.4 ± 7.0	62.5 ± 19.1
N 群 (n=7)	32.1 ± 9.2	44.6 ± 6.4	43.1 ± 28.5
H 群 (n=12)	24.1 ± 13.6	32.7 ± 14.0	28.8 ± 16.4
p 値 (N : H)	0.1827	0.0565	0.1757
p 値 (全血 : N)	0.0020	0.0006	0.1027
p 値 (全血 : H)	0.0001	0.0000	0.0002

N 群: ヘパリンを投与せずに PRP を採取した群
 H 群: ヘパリン投与後に PRP を採取した群
 すべてのデータは平均 \pm 標準偏差で示す. p 値は t 検定により評価した.

= 0.057), Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ で 43.4 ± 28.5 , $28.8 \pm 16.4\%$ ($p = 0.176$) と有意差は認めなかったが, 高濃度の ADP の場合のみ H 群でより低い傾向にあった (図3).

考 察

心臓大血管における体外循環手術では機械的破壊による血小板数の減少, 血小板機能の低下, また凝固線溶系亢進が生じ, 出血傾向を認めることが知られている¹⁻³⁾. 凝固系の破綻をきたすと, 止血は困難となり, 大量に輸血を必要とする可能性が高くなる. 同種血輸血の削減には術前貯血, 術中回収血輸血の他に自己血小板採取がある. 術中の血小板の破壊, 消費を回避する目的で術前に自己血小板を採取する方法が導入され, 有効性が報告されている^{4-9, 15, 16)}. 血小板採取のタイミングは術前日に採取する方法と手術当日に採取する方法がある. 術中に採取する場合は, 麻酔導入後から人工心肺開始, すなわちヘパリン投与までに施行している例がほとんどであり, プロトコールにより異なるが平均44 - 104分を要している^{7-9, 15, 16)}. そのばらつきはヘパリン投与のタイミングになれば目標採血量に達していなくても手術進行を優先するパターンと目標採血量に達するまで手術を待つパターンがあるためである. しかし, これまでの報告では両者ともに「ヘパリン投与」を一つの区切りとしているがその理由については言及されていない.

ヘパリン, とくに手術で使用される未分画ヘパリンは分子量約6,000から20,000daltonの硫酸化ムコ多糖の一種であり, アンチトロンビンⅢと結合し, 血液凝固を阻害する作用を有している. 本来は抗凝固作用を発揮するが, 逆に血栓症を惹起し, ヘパリン誘発性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia, HIT) を引き起こすこともある²⁰⁻²²⁾. ヘパリン自体が血小板膜に結合し, 血小板内活性化機構 (いわゆる2次凝集) を引き起こさずに, 血小板膜上のフィブリノーゲン結合部位の構造変化のみを起し, カルシウムイオンの存在下でフィブリ

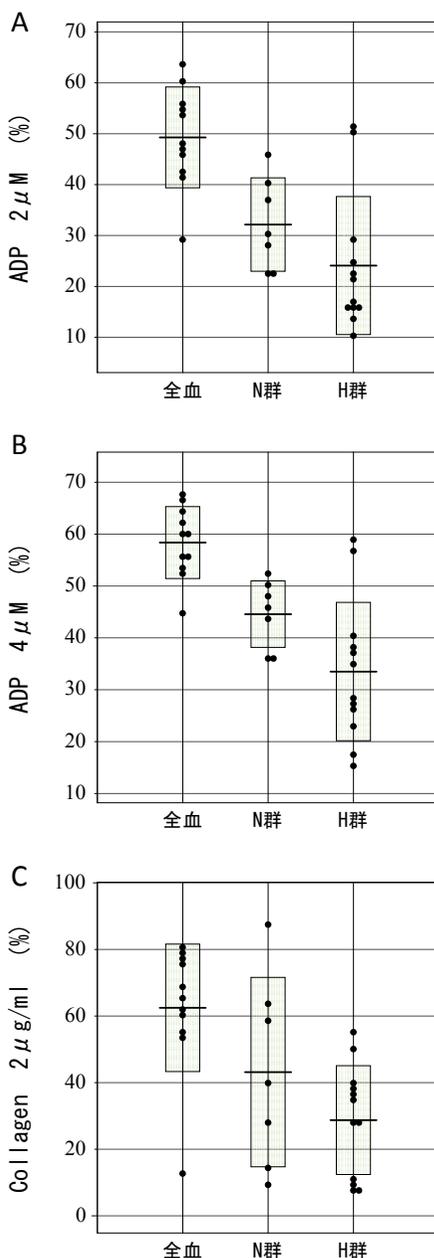


図3 全血, ヘパリン非投与群 (N 群), ヘパリン投与群 (H 群) の最大凝集能の比較を凝集惹起物質 ADP 2 μM (A), ADP 4 μM (B), Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ (C) ごとに示す. N 群と H 群では有意差なく ($p = 0.183$, $p = 0.057$, $p = 0.176$), 全血と N 群では ADP 2 μM で $p = 0.002$, ADP 4 μM で $p = 0.001$, H 群では ADP 2 μM で $p = 0.0001$, ADP 4 μM で $p = 0.0000$, Collagen 2 $\mu\text{g/ml}$ で $p = 0.0002$ と明らかな有意差を認めた.

ノーゲンが血小板間を架橋するとも言われている¹⁸⁾。ヘパリンにより採取したPRPの凝集能低下が懸念されるため、これまで自己血小板採取はヘパリン投与前に行われてきたと考えられる。

しかし、実際の自己血小板採取においてヘパリンが採取した血小板の凝集能にどれほど影響を与えているか検証した報告は見当たらない。そこで我々は自己血小板採取におけるヘパリン投与の影響について実験を行った。

その結果、同一個体におけるヘパリン非投与群(N群)とヘパリン投与群(H1群)の連続採取において、N群に比べ、H1群で血小板凝集能の有意な低下がみられた。これは連続採取群(H1群)と単回採取群(H2群)で凝集能に有意差がなかったことから、PRPの連続採取による影響ではなく、ヘパリンによる影響の可能性が考えられる。しかし、N群とH群(H1+H2)の凝集能を比較した場合、高濃度のADPで惹起した場合のみH群で低い傾向にあったが、有意差は認めなかった。PRP採取バッグ中のヘパリン濃度は1.9 IU/mlであり、凝集能の変化は先に述べたヘパリンによるフィブリノーゲンを介した血小板同士の架橋によるもの、残存ヘパリンによるトロンビン抑制作用等が考えられる。また、今回参考としてヘパリン投与前の全血の血小板凝集能を測定した。全血の血小板最大凝集率はADP2 μ Mで49.3 \pm 9.9%、ADP4 μ Mで58.4 \pm 7.0%、Collagen 2 μ g/mlで62.5 \pm 19.1%であった。全血の凝集能と比較するとN群ではADP 2 μ Mでp = 0.002, ADP 4 μ Mでp = 0.001, H群ではADP 2 μ Mでp = 0.0001, ADP 4 μ Mでp = 0.0000, Collagen 2 μ g/mlでp = 0.0002と明らかな有意差を認めた(図3)。その要因として、ACD液によるカルシウムイオン濃度の低下、血液成分分離装置による強い遠心力に伴う1次凝集惹起の影響が考えられた²³⁾。

今回の研究におけるStudy limitationはヘパリン投与後の全血の血小板凝集能を測定できていなかったため、ヘパリンによる血小板凝集能低

下が全血中でどの程度起こっているか検討できていないこと、血液成分分離装置による強い遠心力に伴う1次凝集が惹起されているか否かについて、PRP採取後から時間経過に沿った電子顕微鏡による血小板形態の変化の観察ができていないことがあげられる。

今後は臨床研究へ取り組みを検討しているが、測定検体分のPRPが失われるという不利益があるものの、自己血小板採取による止血能維持効果の方がはるかにメリットであると考えられる。脱血ルートは中心静脈が第一選択であるが、心臓大血管手術ではほぼ全例で確保しているため、新たなリスクではない。心臓大血管手術に際してPRP採取と同時に手術の進行が可能となれば、手術時間が短縮され、その意義は大きいと考えられる。

結 語

術中自己血小板採取は周術期の出血軽減、輸血量の減少に有用と言われているが、ヘパリン投与下で採取、返血を行った報告はない。

今回の実験ではヘパリン投与前後で採取した自己血小板の凝集能に差は認めず、PRP中の血小板数および血小板機能はヘパリンの影響は受けないと結論できる。よって、今後は臨床での術中自己血小板採取の有用性について研究を進めていく。

COI (Conflict of Interest) 開示

本研究において滝内大樹はHAEMONETICS社より成分採血装置COMPONENT COLLECTION SYSTEMの回路8キットの提供を受けている。

謝 辞

本研究において、機器の管理および測定にご協力いただきました川崎医科大学心臓血管外科学教室研究補助員の榊原聖子さん、川崎医科大学附属病院中央検査部の高橋佳子技師、富岡菜々子技師、実験動物の飼育管理および麻酔に関してサポート頂きました医用生物研究ユニットの職員の方々に深く感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 小堀正雄, 宮田茂樹, 増田豊, 他: 体外循環後の血小板機能, 凝固機能の変動. 臨床麻酔 12: 577-582, 1988
- 2) 亀井政孝, 宮田茂樹: 人工心肺と血小板. 日本血栓止血学会誌 12: 119-125, 2001
- 3) Muriithi EW, Belcher PR, Rao JN, *et al.*: The effects of heparin and extracorporeal circulation on platelet counts and platelet microaggregation during cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 120: 538-543, 2000
- 4) Alberts M, Bandarenko N, Gaca J, Lockhart E, Milano C, Alexander S, Linder D, Lombard FW, Welsby IJ: Reduced use of allogeneic platelets through high-yield perioperative autologous plateletpheresis and reinfusion. Transfusion 54: 1348-1357, 2014
- 5) Zhou SF, Estrera AL, Loubser P, Ignacio C, Panthayi S, Miller C 3rd, Sheinbaum R, Safi HJ: Autologous platelet-rich plasma reduces transfusions during ascending aortic arch repair: a prospective, randomized, controlled trial. Ann Thorac Surg 99: 1282-1290, 2015
- 6) 濱田伸哉: 心大血管手術中の血小板アフェレーシスに関する研究. 麻酔 50: 1322-1331, 2001
- 7) 堀辰之, 篠原宣幸, 松若良介, 他: 開心術における新しい血小板温存法(濃厚血小板血漿 P-con)の臨床的有用性の検討. 人工臓器 26: 38-40, 1997
- 8) 花井慶子, 山本晃士, 菊地良介, 他: 胸部大動脈瘤手術における自己血小板輸血の止血効果. 日本輸血細胞治療学会誌 54: 592-597, 2008
- 9) 高橋隆一, 木曾一誠, 森厚夫, 井上仁人: 冠動脈バイパス術における術前自己血小板採取の経験. 自己血輸血 13: 253-256, 2000
- 10) 嶋津明, 多賀聡, 平尾大吾, 他: 心, 大血管手術における自己血成分輸血の検討. 日本臨床外科医学会雑誌 53: 766-769, 1992
- 11) 坂本久浩: 外科領域における血小板輸血と自己血小板採取. 日本輸血学会雑誌 41: 560-563, 1995
- 12) 上田彰, 原和信, 広瀬聡, 宮脇勇, 竹井沙織梨, 内田直里, 石原浩: 開心術前日に自己血小板採取を行った9例の検討. 体外循環技術 27: 16-19, 2000
- 13) 小西宏明, 長谷川伸之, 三澤吉雄, 上沢修, 加藤盛人, 布施勝生: 心臓再手術における自己血貯血の問題. 自己血輸血13: 257-260, 2000
- 14) 国原孝, 椎谷紀彦, 佐々木重幸, 松下十志文, 松居喜郎, 佐久間まこと, 安田慶秀: Multi component system™を用いた術中自己血小板採取による心臓大血管手術における同種血輸血節減の試み. T Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 46 (Suppl.): 65, 1998
- 15) 浅田秀典, 郷一知, 稲葉雅史, 山本浩史, 赤坂伸之, 内田恒, 川合重久, 真岸克明, 笹嶋唯博: 開心術における自己濃厚血小板貯血の有用性. T Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 46 (Suppl.): 129, 1998
- 16) 有元秀樹, 清水幸宏, 宮本覚, 南村弘佳, 石川巧, 前島慶人, 阪口正則, 大上賢祐: 開心術における自己血小板貯血の検討. T Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 52 (Suppl.): 390, 2004
- 17) 山路直人, 森恵子, 松葉勝彦, 玉木茂久: 当院における体外循環手術前自己血小板採取の有用性. 日本輸血細胞治療学会誌 55: 250, 2009
- 18) 坂根 洋史: 未分画ヘパリンが血小板機能に及ぼす影響についての実験的検討. 関西医科大学雑誌 45: 49-58, 1993
- 19) 綿谷早苗, 柳田恵, 鈴木泰明, 横尾聡, 古森孝英: 多血小板血漿の血小板凝集能と TGF- β 含有量に関する解析. 日本口腔外科学会雑誌 52: 316-321, 2006
- 20) Nand S, Robinson JA: Plasmapheresis in the management of heparin-associated thrombocytopenia with thrombosis. Am J Hematol 28: 204-206, 1988
- 21) Kappa JR, Fisher CA, Todd B, Stenach N, Bell P, Campbell F, Ellison N, Addonizio VP: Intraoperative management of patients with heparin-induced thrombocytopenia. Ann Thorac Surg 49: 714-722, 1990
- 22) Adelman B, Sobel M, Fujimura Y, Ruggeri ZM, Zimmerman TS: Heparin-associated thrombocytopenia: observations on the mechanism of platelet aggregation. J Lab Clin Med 113: 204-210, 1989
- 23) Kawahito K, Mohara J, Misawa Y, Fuse K: Platelet damage caused by the centrifugal pump: in vitro evaluation by measuring the release of alpha-granule packing proteins. Artif Organs 21: 1105-1109, 1997

〈Original Article〉

Impact of systemic heparinization on platelet function in autologous platelet-rich plasma

Hiroki TAKIUCHI, Kazuo TANEMOTO

*Department of Cardiovascular Surgery, Kawasaki Medical School,
577 Matsushima, Kurashiki, 701-0192, Japan*

ABSTRACT Homologous platelet-rich plasma (HPRP) is used during cardiovascular surgery. A shortage of homologous HPRP has been highlighted recently, and autologous platelet-rich plasma (APRP) is an alternative. It takes approximately 90 min before heparin administration to collect APRP during surgery, so this procedure delays surgical treatment. Collection of APRP after systemic heparinization (SH) could be beneficial for surgical procedures. We clarified the impact of SH on the function of collected autologous platelets. The study protocol was approved by the Animal Experiment Committee of Kawasaki Medical School (Kurashiki, Japan).

We undertook collection of APRP using a COMPONENT COLLECTION SYSTEM (Haemonetics, Braintree, MA, USA) in pigs under general anesthesia. We examined the influence of heparin upon the ability of APRP to aggregate platelets. Blood collection was conducted twice from each pig at an interval of 1 week. First, we collected APRP before SH (N group), followed by sequential collection after SH (H1 group). One week after the first experiment, collection of APRP was made only after SH (H2 group). Capacity for platelet aggregation was measured using HEMA TRACER[®] 712 (MCM, Tokyo, Japan) and compared between the N group and H group.

Collected data were seven in the N group and twelve in the H group from six pigs. Platelet count of APRP ($\times 10^4/\mu\text{l}$) was 153.6 ± 67.6 in the N group and 142.8 ± 47.6 in the H group, and the difference was not significant ($p = 0.6857$). Maximum platelet aggregation in the N group and H group was 32.1 ± 9.2 and $24.1 \pm 13.6\%$ ($p = 0.183$) in adenosine diphosphate (ADP; $2 \mu\text{M}$), 44.6 ± 6.4 and $33.5 \pm 13.3\%$ ($p = 0.057$) in ADP ($4 \mu\text{M}$) and 43.4 ± 28.5 and $28.8 \pm 16.4\%$ ($p = 0.176$) in collagen ($2 \mu\text{g/ml}$). Capacity of APRP to aggregate platelets was lower in the H group compared with that in the N group, but not significantly lower.

We conclude that SH does not affect the platelet count and capacity for platelet aggregation of APRP. These promising results could lead to clinical application of APRP after SH.

(Accepted on October 5, 2015)

Key words : the autologous platelet-rich plasma, Heparinization, Platelet aggregation test

Corresponding author
Hiroki Takiuchi
Department of Cardiovascular Surgery, Kawasaki
Medical School, 577 Matsushima, Kurashiki, 701-0192,
Japan

Phone : 81 86 462 1111
Fax : 81 86 464 1189
E-mail : hirokit22@gmail.com

