

体外循環中に生じる Microemboli に関する研究

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

林 眞

〔原稿受付：昭和49年7月2日〕

Studies on Microemboli Produced during Extracorporeal Circulation

by

MAKOTO HAYASHI

The 2nd Department of Surgery, Kyoto University School of Medicine

(Director : Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

Microemboli in the blood of extracorporeal perfusion system was studied and the following results were obtained.

(1) A part of microemboli in the extracorporeal circulation blood originated in priming stored blood.

(2) Heparinized blood contained more microemboli than citrated blood. There was some statistical inverse correlation between emboli volume and platelet count. ($r = -0.684$)

(3) In recirculation circuit (in vitro), there was a large amount of microemboli formation at the time when blood passed through the bubble oxygenator, however, this phenomenon was observed only in the first stage of oxygenation, five minutes after start of oxygenation, there was a tendency to diminution of microemboli volume.

In membrane oxygenator, there was a little emboli formation. The rate of drop in the platelet count during the oxygenation was seen markedly in bubble oxygenator, however, after sixty minutes of oxygenation, there was no significant difference in the rate between membrane type and bubble type oxygenation.

(4) The composition of the microemboli was evaluated by scanning electron microscopy, thin layer chromatography (Lipid), PTAH stain and Sudan III stain.

The emboli were mainly composed of platelet-aggregates and it contained phospholipid and cholesterol, however, in the emboli that collected from the blood of the circuits during the assisted perfusion in cases of the patients as well as the dogs, there was appearance of a little triglyceride, on the other hand, in total perfusion with cardiectomy suction, the microemboli came to contain a great deal of triglyceride.

(5) The change of emboli volume during cardiopulmonary bypass (in vivo) was detected by SFP method. The following results were obtained.

(A) Microemboli volume increased markedly immediately after bypass start, and after

five minutes of it, the volume fell below the control level. Making a comparison between bubble and membrane type oxygenator group, there was a highly significant increase ($P<0.005$) in emboli volume in the former group.

- (B) During the bypass, the arterial line blood contained more emboli than the venous line blood. There was a significant difference ($P<0.05$), and bubble oxygenator group had more emboli than membrane oxygenator group in the arterial line blood. These phenomena showed the fact that these microemboli were continuously produced during the bypass and filtrated in the capillary beds.

(6) After bypass, the recovery rate of platelet count was better in the membrane oxygenator group, after six postoperative hours.

The recovery of platelet adhesiveness was better in membrane oxygenator group after five postoperative hours.

(7) In the small arteries of dogs' kidney that was sacrificed immediately after assisted perfusion, microembolism was observed more frequently in the bubble oxygenator group. This emboli stained strongly by Sudan III.

(8) The hemolytic plasma that was obtained from bubble oxygenation promoted the aggregation of platelets when added to fresh blood and formed microemboli. There was a statistically significant correlation ($r=0.883$) between plasma free hemoglobin and SFP.

第I章 緒 言

体外循環の非生理的なために生じる生体の諸現象は、同時に行なわれる開心術という操作、及び生体の精緻な代償機構によって masking され、厳密にそれを掌握することを困難化せしめている憾みのあることは否定し得ない。

現在の開心術に用いる体外循環は、通常数時間以内のものであり、体外循環が直接原因と思われる死亡率も比較的少なく、重篤な合併症も稀れなところから、ややもするとその安全性が過大に評価されている怖れがある。

従って、従来われわれが手術操作、侵襲等にもとずく直接死亡例と見做して来たものの中にはわれわれが現在懐いている体外循環についての概念では想像しえないような未だ気付かれていないそれ自体にもとずく死亡例が潜んでいる可能性も充分考えられる。ために今後更に必然性を増すと考えられる長時間体外循環に於いては、この非生理性が更に一層表面化してくることが大いに考えられ得る。

この非生理性の問題の1つに体外循環血液中の Microemboli の問題がある。この問題については、従来 Owen⁽¹⁾ を初めとする諸家^{(2)~(14)} によって種々の検討

がなされては来たが、この物質の性格ならびに生体に及ぼす影響に関しては未だ充分に解明されるに至っていない。

この問題は今後の理想的長時間体外循環開発のため、あるいは人工臓器の置換に関連して早急に解決されなければならない重要課題のように思われる。というのも、この Microemboli の殆んど全てが血小板を主体としたものであるとすれば、単に臓器の Microembolism ということだけにとどまらず、この現象による血小板数の減少及び機能低下は出血傾向を招来することにもなるし、又血小板が凝集を起すに際しては必然的に末梢循環に多大の影響を及ぼす Hormonal Agents^{(15)・(16)・(17)} の遊離を促がすことにもなるからである。従って、長時間体外循環及び人工臓器置換後に発来する溶血現象^{(18)・(19)}、とも関連して大きな問題をはらんでいることになる。

このような問題について、実験的並びに臨床的に匡したのが本論文である。

第II章 人の保存血液中の Microemboli 量及び血小板数の経時的変動

第1節 実験方法

健康な成人男子の尺側皮静脈より1回100cc ずつの

血液を計 6 回採取し、この血液は夫々直ちにヘパリン保存血（ヘパリン 20mg/dl + 5% Glucose 5 cc/dl）、40 cc、及びクエン酸保存血（クエン酸-Na. 700mg/dl）、60cc としてシリコナイズした滅菌瓶中に密閉、5°C 下に保存した。

血球の算定は血小板、白血球、赤血球の 3 種とし、ヘパリン保存血では、コントロール、保存 1 時間目、3 時間目、5 時間目、24 時間目、の計 5 回、クエン酸保存血では、コントロール、保存 1 時間目、3 時間目、5 時間目、24 時間目、3 日目、7 日目の計 7 回の算定を行なった。算定方法は血小板は間接法、赤血球及び白血球は M.C.C. (Microcounter cell) 法によった。

又、上記の各保存時間の血液中の Microemboli 量 ($35\mu \times 35\mu$ 以上のもの) は次のような方法によって測定した。即ち Swinnex-13 Filter Holder (MILLIPORE LTD.) (写真 1)。内に入れた Dacron 製 Mesh ($35\mu \times 35\mu$) を血液 5 cc を一定時間 (1 分間) を要して通過させた後に Filter (直径 9 mm) 上に捕捉された Emboli を Mesh と共に固定、染色し、これを光学顕微鏡 (100 倍) で観察、算定した。算定方法は直径 9 mm の Filter 面上の円の中から、100 倍視野を 5 個

所撰択して、各 100 倍視野中の Emboli が占めている Mesh の数を算定し、5 個所の算術平均を Emboli 量とした。(100 倍視野中に 231 個の Mesh が存在する。図 1)。

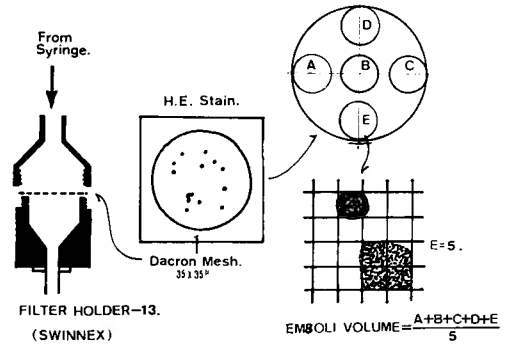


図 1 Microemboli 定量法

第 2 節 実験成績

Emboli 量を両保存血液について比較すると、表 1、図 2、の如く採血後 5 分目のコントロール値で既に両者の間には有意の差が ($P < 0.05$) みられ、その後 24 時間目までヘパリン保存血では有意の差を以て多量の Emboli が形成されていた。しかしヘパリン保存血では、保存 5 時間目に至ると Emboli 量は 127.0 ± 50.6 と 1 時間値に較べて有意の差を ($P < 0.05$) 以てそれは一時的に減少した。

一方、クエン酸保存血では 24 時間保存に於てもコントロール値との間に有意の上昇が認められず、保存 3 日目に至って 10.8 ± 2.7 とやや上昇するがヘパリン保存血のコントロール (採血後 5 分) 値には未だ達してい

表 1 ヘパリン保存血、及びクエン酸保存血中の経時的 Microemboli 量の変動 (人)。

	Emboli Volume in Heparinized Blood. N=6.	Emboli Volume in Citratized Blood. N=6
0. hour	25.8 ± 12.6	0.0 ± 0.0
1.	219.7 ± 25.8	0.2 ± 0.4
3.	230.5 ± 4.4	—
5.	127.0 ± 50.6	0.5 ± 0.8
24.	231 <	3.8 ± 4.0
3. days	—	10.8 ± 2.7
7.	—	149.8 ± 30.3
	Mean $\pm$ IS. D.	

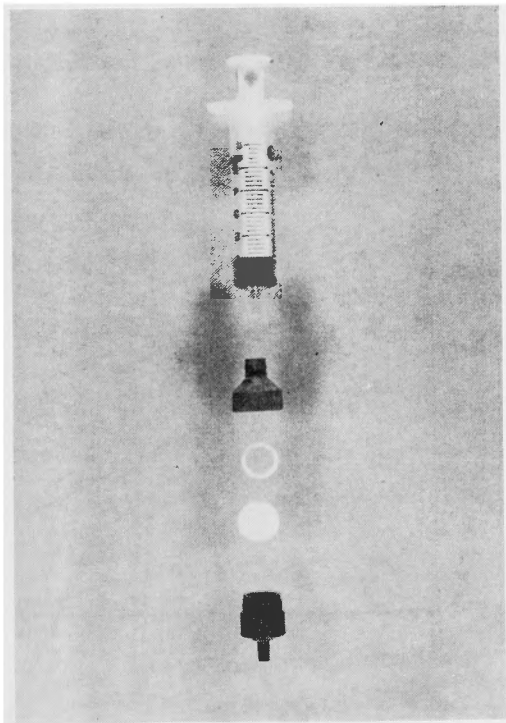


写真 1 Emboli 定量用フィルター及び Filter Holder.

表 2 ヘパリン保存血及びクエン酸保存血中の血小板, 白血球及び赤血球数の経時的変動。(人)

	Heparinized Blood. N=6.			Citratd Blood. N=6.		
	($\times 10^4$) Platelet.	Leucocyte.	($\times 10^4$) Erythrocyte.	($\times 10^4$) Platelet.	Leucocyte.	($\times 10^4$) Erythrocyte.
0 hour	22.3 $\pm$ 2.19	10400 $\pm$ 1000	360.0 $\pm$ 28.8	17.0 $\pm$ 1.59	9750 $\pm$ 1700	354.0 $\pm$ 22.0
1	12.9 $\pm$ 3.20	9400 $\pm$ 1300	—	16.9 $\pm$ 2.00	8950 $\pm$ 1200	—
3	13.8 $\pm$ 2.98	9400 $\pm$ 1300	350.0 $\pm$ 31.3	18.2 $\pm$ 2.04	8850 $\pm$ 900	351.5 $\pm$ 22.5
5	13.7 $\pm$ 4.54	8700 $\pm$ 600	343.7 $\pm$ 21.4	17.4 $\pm$ 1.28	8900 $\pm$ 900	355.5 $\pm$ 25.5
24	5.4 $\pm$ 0.55	9000 $\pm$ 1400	337.7 $\pm$ 19.7	8.4 $\pm$ 1.41	9150 $\pm$ 700	343.0 $\pm$ 18.0
3 days	—	—	—	7.1 $\pm$ 1.04	8850 $\pm$ 700	345.5 $\pm$ 19.5
7	—	—	—	6.6 $\pm$ 1.31	7650 $\pm$ 1600	330.5 $\pm$ 15.5
		Mean $\pm$ IS.D.				

ない。しかし7日間保存になると149.8 $\pm$ 30.3と次第に上昇する傾向が認められた。

血小板数の変動は表2, 図3, の如くヘパリン保存5時間値ではコントロール値に較べて38%の減少を認

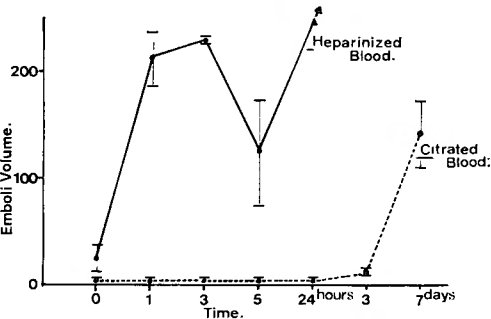


図 2 保存血中の Microemboli 量。
(ヘパリン保存血とクエン酸保存血の比較) (人)

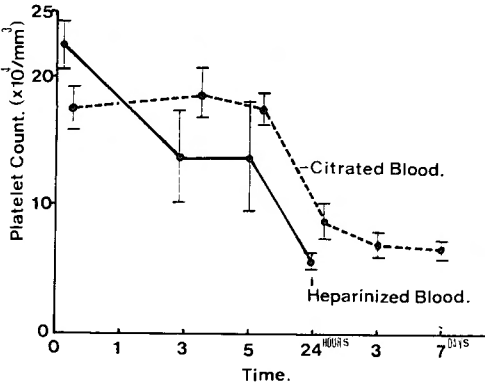


図 3 保存血中の経時的血小板数の変動。
(ヘパリン保存血とクエン酸保存血の比較) (人)

めるがクエン酸保存血では同時間内には有意の減少が認められなかった。保存24時間目でヘパリン群はコントロールに較べて75.6 $\pm$ 2.5%の減少率を示したがクエン酸群では50.1 $\pm$ 9.4%程度の減少にとどまり両者の減少率には有意の差 (P<0.05) が認められた。

赤血球, 白血球に関してはいずれも測定期間内では有意の変化は認められなかった。

Emboli 量と血小板数との間の関連性をみると、ヘパリン保存血では5時間値で一時的に Emboli 量の減少があり、ために相関性を求められなかったが、クエン酸保存血では負の相関関係 (r = -0.684) を示す傾向がみられた。(図4)

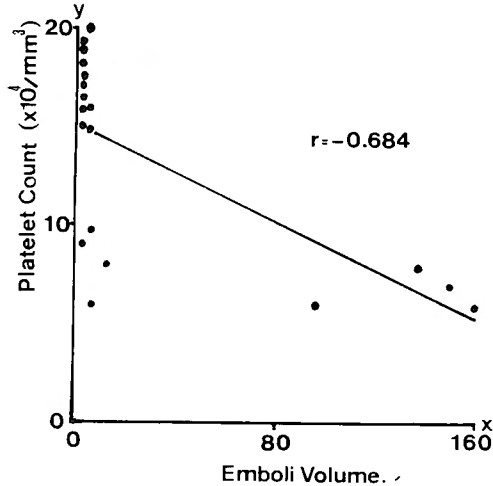


図 4 保存血(クエン酸)中の Microemboli 量と血小板数の関係。(人)
($r = -0.684$
($Y = 15.281 - 0.063x$)

第Ⅲ章 気泡型及び膜型人工肺による犬血液酸素加過程に於ける Microemboli 形成量の比較 (in vitro)

第1節 実験方法

体重10~15kgの雑種成犬15頭を使用し Nembutal 30 mg/kgにて静脈麻酔を行った後、一頭より500ccの血液を股動脈から採血しヘパリン 20mg/dl を加えた後、次の3種の方法で酸素加を行った。

(1) MERA 製シート型人工肺 (S-S型) の Disperser 部分を取り出し、図5の如く 500cc の Flask 内に上部から挿入し200ccの血液中に 2l/minの割合で酸素を吹送り酸素加を行った。

(2) Temptrol Q-130 (Bentley Labs.) を用いて血液 300cc 中に 3l/min の割合で酸素を吹送り酸素加を行った。回路としては循環製のものをを用い全長 1 m とし、ポンプは 2 Roller の Micropump (Pemco Labs.) を使用し 50cc/min の割合で血液循環を行なった。

(3) Lande'-Edwards Membrane oxygenator (1M²) (Edwards Labs.) を使用し血液 300cc 中に 3l/min の割合で酸素を吹送り酸素加を行った。Reservoir 及び回路としては循環製のものを使用し、回路の全長は 112cm とした。pump は(2)、と同様のものを使用し 50 cc/min の割合で血液循環を行った。

以上のような3種の方法で酸素加を行う過程で Emboli 形成量を第Ⅱ章で述べた方法によって測定し、

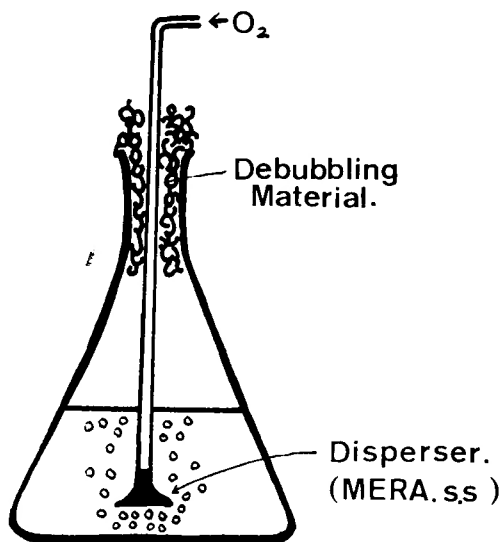


図5 フラスコ内気泡型酸素加装置。

同時に血小板数、白血球数を測定した。採血は各回路の動脈line より行い、コントロール、酸素加1分後、5分後、10分後、30分後、60分後、の計6回とした。

第2節 実験成績

(1) 図5の如き方法にて血液を酸素加する際にみられる Emboli 量の変化は表3、図6の如く、酸素吹送開始後1分にて既に207.4±7.3とコントロール値、11.4±14.0に較べて有意の差を以て爆発的に増加した。その後も、この測定値を超えた値に終始した。

表3 各種酸素加方法に於ける Microemboli 形成量の経時的変動。(犬) (in vitro)

	Emboli Volume in Blood-Oxygenation.		
	Bubbling (O ₂) in Flask. N=6	Temptrol Q-130. N=6	Lande'-Edwards (1M ²) N=6
0 min	11.4±14.1	1.4± 2.6	0.8± 1.3
1	207.4± 7.3	221.2±6.81	4.8± 1.8
5	199.0±12.5	153.8±25.5	52.0±22.1
10	221.4±10.1	57.0±18.0	8.4± 7.6
30	179.2±24.1	42.8±19.7	2.8± 4.8
60	231 <	17.0± 2.7	7.6± 3.2

Mean±S. D.

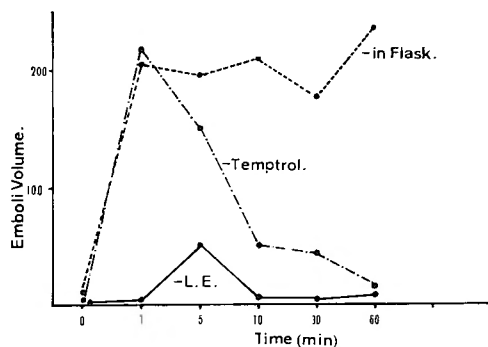


図6 各種酸素加装置に於ける Microemboli 形成量の比較。(犬) (in vitro)

(Temptrol: Temptrol Q-130 使用群)
(L.E.: Lande'-Edwards 1M² 使用群)

(2) Temptrol Q-130 使用群では酸素加開始後1分にて(1)と同様に急峻な上昇傾向を示したが、5分後には減少傾向を示し、10分目から60分目にかけて終始減少の傾向を維持した。

(3) Lande'-Edwards Membrane Oxygenator 使用群では他群(1)、(2)に較べて Emboli 形成量は著しく少量である。5分値でピークに達した後、減少傾向を60

分目まで持続した。

血小板数は、表 4、図 7 の如く、酸素加開始後10分にて(1)群では約30%の減少を夫々示した。即ち、その程度は(1)、(2)群の気泡型酸素加法に於て著しかった。(1)群に於ては30分後から血小板数の増加が認められたが、他の 2 群ではそれがみられなかった。

一方、白血球は 3 群共に60分値にてほぼ同率で有意の減少率 (40%) を示し、各酸素加装置群の間の有意の差は認められなかった。

第Ⅳ章 Microemboli の形態学的検索

第 1 節 実験方法

- (1)、人のヘパリン保存血 (20時間保存) 及び A C D 保存血 (20時間) 中の Emboli (5 例ずつ)
- (2)、犬の血液酸素加 (気泡型) 中に得られた Emboli (in vitro) (5 例)

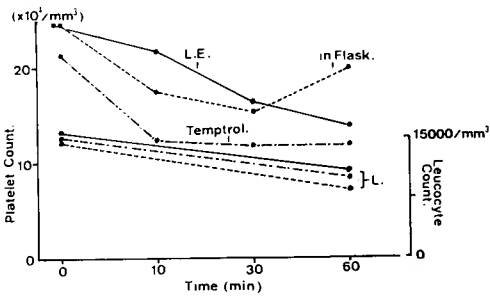


図 7 各種酸素加装置による酸素加過程に於ける血小板及び白血球数の変動。
(犬) (in vitro)
(Temptrol: Temptrol Q-130 使用群)
(L. E.: Lande'-Edwards 1M² 使用群)

- (3)、人の血液酸素加 (気泡型) 中に得られた Emboli. (in vitro), (3 例),
- (4)、人及び犬の補助循環中に得られた Emboli, (3 例)
- (5)、人の開心術、体外循環中に得られた Emboli. (5 例)。

以上 5 種の Emboli について次の 5 項目の検索を行なった。

- (1)、Hematoxylin-Eosin 染色 (以下、H-E染色と略す)。
- (2)、Sudan III 染色。
- (3)、Phosphotungstic Acid Hematoxylin 染色。(以下、PTAH 染色と略す)
- (4)、走査電子顕微鏡による観察。
- (5)、薄層クロマトグラフィー (以下、TLC と略す) による脂質定性分析。

(A)、Emboli の採取法。

保存血 及び 血液酸素加 (in vitro) 中の Emboli は Swinnex-13 Filter Holder に入れた Dacron製 Mesh (35μ×35μ) にて採取した。補助循環及び開心術、体外循環中の Emboli は動脈回路に挿入した。Barrier Blood Filter (Johnson & Johnson)にて採取した。

(B) 標本作製。

Emboli を捕捉した Filter を直ちに生理的食塩水に入れ、静かに洗滌、表面の血液を除去した。光学顕微鏡用標本はその後、10%ホルマリン液にてフィルターと共に固定し H-E 染色, Sudan III 染色、及び PTAH 染色を行なった。

走査電子顕微鏡用標本は次のようにして作製した。
(1)、Filter の洗滌後、直ちに 4 %グルタルアルデ

表 4 各種酸素加方法に於ける血小板及び白血球数の経時的変動。
(犬) (in vitro)

	Bubbling (O ₂) in Flask. N=6.		Temptrol Q-130. N=6.		Lande'-Edwards (1M ²) N=6.	
	(X 10 ⁴) Platelet.	Leucocyte.	(X10 ⁴) Platelet.	Leucocyte.	(X10 ⁴) Platelet.	Leucocyte.
(min)						
0	26.2±3.9	14600±4100	21.6±5.1	14700±3000	25.2±3.0	15500±3200
10	11.3±2.5	—	12.4±2.1	—	22.2±1.2	—
30	16.5±5.6	—	12.0±1.3	—	16.5±2.3	—
60	20.5±4.0	8800±3600	12.6±4.0	9400±2000	13.5±1.2	10000±2500
	Mean±I.S.D.					

ハイド液にて2時間、固定。

(2) 次いで、1/10 Mol. フォスフェイトバッファーにて2時間から24時間固定。

(3) 次いで水洗後、50%、70%、90%アルコールにて各15分づつ脱水処理。

(4) 更に100%アセトンにて10~15分間、脱水処理

(5) 台に標本を貼付しカーボンと金の蒸着、(HITACHI AKASHI)

(6) SEM, HITACHI にて観察し、写真撮影を行う。

(c) 脂質定性分析

Emboli を生理的食塩水で洗滌した後 Folch 氏液(クロロホルム2, メタノール1,)と共に homogenize し、抽出液をシリカゲル G. 薄層板(Merck)に乗せ Folch氏法にて展開した。

展開溶剤としては、石油エーテル:80, エチルエーテル:20, 酢酸:1, の比率のものを使用した。呈色反応は50%硫酸を噴霧した後、加熱して検出した。

第2節 実験成績

人のヘパリン保存血(20時間)中の Emboli は50~100 μ の球状をしたものが一単位となり、その内部構造は1~2 μ の Eosin 好性の細顆粒が均等に、密に分散している。又この表面には細い凹凸がみられる。この球状物質は数単位が互に癒合し500~700 μ に達するものが多量に認められる(写真2, 写真4)

ACD保存血中の Emboli はヘパリン保存血中のものと内部及び表面構造は同一であるが、単位同志の癒合傾向が少く、保存24時間以内のものではほとんど100 μ 以内である。

これを走査電顕で観察すると、Emboli の表面は2 μ 内外の球形物質の集簇であり、その中の多数のものが偽足状の突起を出し、互いに連結している(Pseudopodia)中には完全な集塊を形成しているものが混在する(写真5, 写真6)。Emboli の表面には赤血球及び白血球が点在してみられるが量的には少量である。

血液酸素加過程及び補助循環中に得られた Emboli の光顕像は人、犬共に大型であり、500~1000 μ のものが多く、内部構造は保存血液中的のものよりやや homogen になるが構成単位は50 μ 内外のもので、この集合によって生じたものと考えられる。

又、Emboli 表面には白血球の附着が認められるが、それによる集塊は認められない(写真3)

走査電顕でこの表面を観察すると、血小板の凝集塊と思われるものが全表面を覆って居り、その像は

ADP, 又はトロンビンにて血小板を凝集せしめた像に酷似している(写真7, 写真8)。

開心術のための体外循環中の Emboli の走査電顕像は前者とはほぼ同一形態であるが、Emboli, Mesh 及び赤血球の表面に1~2 μ の不正形の物質が多数附着しているのがみられる(写真9, 10)。

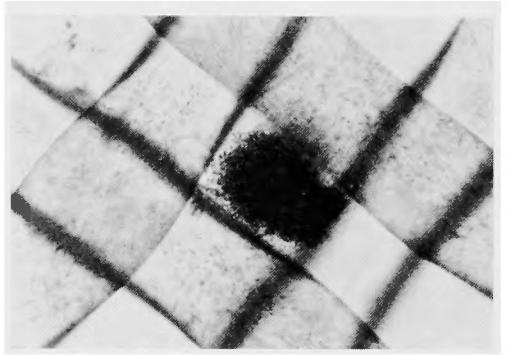


写真2 Mesh (35 μ ×35 μ) に捕捉された Microemboli.

直径約40 μ . ACD 保存血20時間。(人)

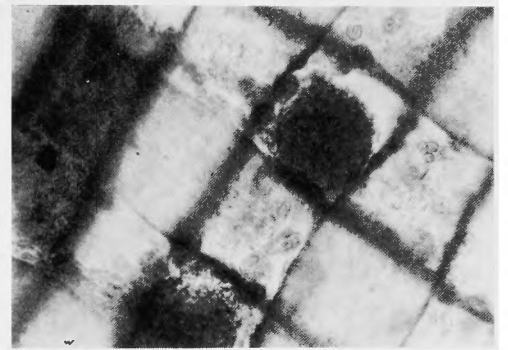


写真3 酸素加血液中に生じた Microemboli (in vitro) (人)

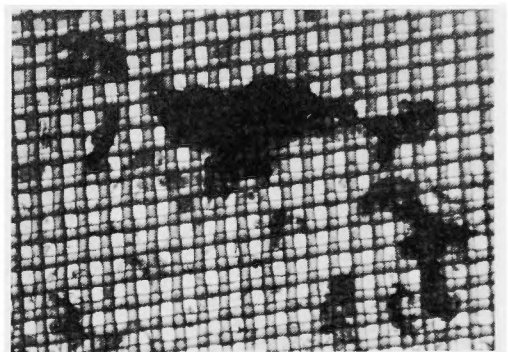


写真4 Microemboli の集簇 (人)



写真 5 ヘパリン保存血 (20時間) 中に生じた Microemboli 集簇の表面 (人) (走査電顕 1000倍)



写真 6 “写真5” の強拡大 (人) 3000倍

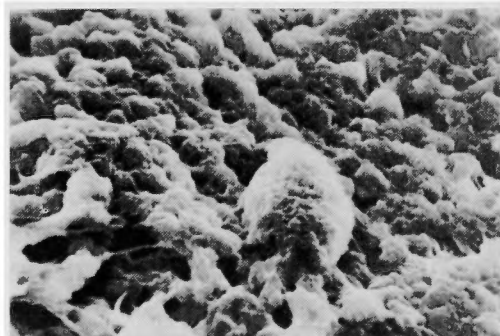


写真 8 “写真7” 表面の強拡大 (人)
(走査電顕 5000倍)

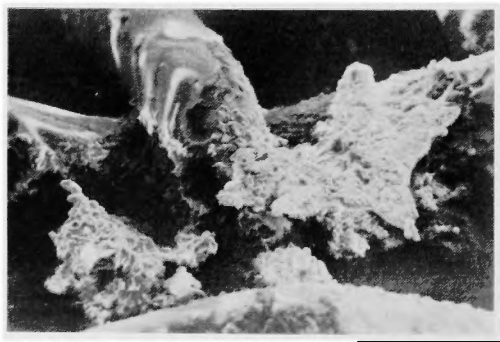


写真 7 体外循環中の動脈回路の BARRIER Filter にて捕捉された Microemboli. (人) (走査電顕 2000倍)



写真 9 人の体外循環中 (開心術を伴う) の Filter Mesh 上の debris. (走査電顕 2000倍)



写真10 赤血球表面に付着した debris.
(走査電顕 3000倍)

以上、光学顕微鏡及び走査電顕所見より、この一連の Emboli は全て血小板凝集物質によって構成されているものと考えられる。

Sudan III 染色性によって、これら Emboli を検討すると、表5の如く保存血中の Emboli 及び血液酸素加過程の Emboli は人、犬共に全て Sudan III. 陰性であったが、in vivo の補助循環中の Emboli では Sudan III. 弱陽性で更に人の開心術のために行なった体外循環中の Emboli は Sudan III 強陽性であった。

PTAH 染色によって Emboli 中のフィブリンの存在をも観察したが全て陰性であった。

TLC による脂質定性分析では、人の保存血中の Emboli 及び犬の血液酸素加中の Emboli ではリン脂質、及びコレステロールがその主成分をなしていたが補助循環時の Emboli ではトリグリセライドの混入

が僅か乍ら認められた。又開心術中のものではトリグリセライドの混入が著しく増加した。

第Ⅴ章 人の体外循環中の動脈回路に於ける Microemboli 量の変動

第1節 実験方法

血液中の Microemboli 量を測定する場合、これが多量に存在する場合には光学顕微鏡学的に算定するのが適しているが、量的に少なく、又その変動も少ない場合には Swank の開発した Screen Filtration Pressure 法 (以下 SFP 法と略す)⁽²⁵⁾が適している。

著者はこの SFP 法を用いて人の体外循環中の動脈回路に存在する Microemboli を測定し、膜型人工肺使用群と気泡型人工肺使用群との Emboli 量の比較を試みた。

又、体外循環開始後10分、即ち吸引血を回路内に混入せぬ時期に於ける動脈回路及び静脈回路に於ける Emboli 量を SFP 法にて測定し上記2群についても比較検討した。

症例は体重10~25kgのVSD患者に限定し膜型人工肺使用群6例、気泡型人工肺使用群6例の計12例について検討した。

膜型人工肺には Lande'-Edwards (3 M² × 1) を使用し、回路は図8の如く Recirculation 回路を有する Thomas Buffes の回路を使用した。

希釈率は10%以内とし、希釈液としては、プラスマネット及びラクトートリンゲル液を用いた。使用した

表 5 各種血液中に存在する Microemboli の性状。(人及び犬)

Emboli	Sudan III. Stain.	Fibrin Stain. (PTAH)	Thin Layer Chromatography.		
			Triglycerides.	Cholesterol.	Phospho Lipid.
Stored Blood. (Dog)	—	—	—	+	+
Stored Blood. (Human)	—	—	—	+	+
Oxygenated Blood. (Dog)	—	—	—	+	+
Oxygenated Blood. (Human)	—	—	—	+	+
In Partial Perfusion. (Dog)	+	—	+	+	+
In Partial Perfusion. (Human)	+	—	+	+	+
In Total Perfusion.* (Human)	##	—	##	+	+

* Open Heart. (+). Sternotomy. (+). Sucker (+).

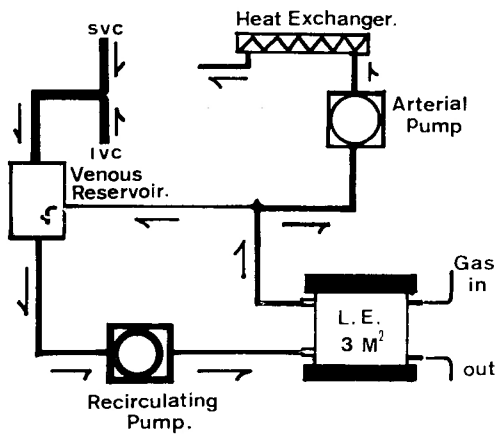


図 8 Lande'-Edwards 3M²×1 を用いた。
臨床用体外循環回路。

充填血液は平均 3 日間保存の ACD 保存血を用いた。
採血時期は次の通りである。

- (1) 保存血
- (2) Filtration 後の保存血(FilterはBARRIER)
- (3) Recirculation 開始時
- (4) Recirculation 終了時
- (5) 体外循環開始後 1 分
- (6) 体外循環開始後 5 分
- (7) 体外循環終了時

各時期に10ccの血液を採取し各検体について 2 回づ
つ SFP を測定し、その平均値を求め測定値とした。

SFP 法

全血液中に存在する 20μ×20μ 以上の Emboli を定量

する装置である。即ち、一定量の血液を一定速度、一
定駆動力にて注射器(5 cc)により圧出し、これが 20μ
×20μ の Stainless Mesh を通過する際に Filter 面に生
じる圧を測定し間接的に Mesh を埋めた Emboli 量を
定量するものである(図 9)。著者は 2 cc の血液を 0.2
cc/sec で圧出し、圧出開始後 6 秒の圧 (mmHg) を測
定値とした(正常値: 35 ± 5 mmHg)。

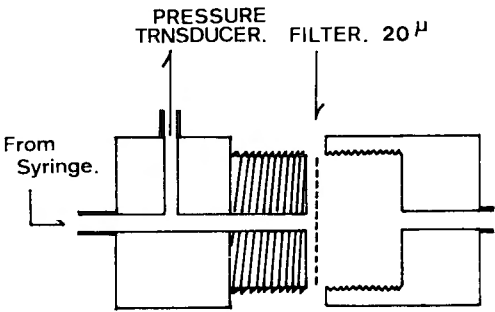


図 9 Screen Filtration Pressure
(SFP) 測定装置。

又各血液の SFP を測定した後、Mesh を取り出し
血小板性の Emboli によるものであることを確認した。
SFP 測定装置には Swank SFP apparatus (Controq
Labs. Box 873. BANGOR. MAINE 04401) を使用
した。

第 2 節 実験成績

体外循環中の SFP の変化は表 6、図 10、の如く、
保存血では 500mmHg 以上で測定可能範囲の上限にあ
るが、Filtration 及び 希釈によって Recirculation 開

表 6 体外循環各時期に於ける SFP 値: 気泡型人工肺 (Temptrol Q-110) 及び
膜型人工肺 (Lande'-Edwards 3M²) に於ける比較。(人)

	Screen Filtration Pressure. (mmHg)	
	N=6 Temptrol Q-110.	N=6 Lande'-Edwards. (3 M ²)
Stored Blood. (ACD)	618.3±32.5	532.7±104.9
Filtration. (BARRIER Blood Filter)	54.3± 4.0	55.7± 14.4
Recirculation Start.	30.3± 2.0	32.0± 0.0
Recirculation off.	68.3±13.7	42.3± 2.5
Bypass Start. 1 min.	105.0±10.1	54.7± 12.9
5 minutes on Bypass.	33.3± 1.5	25.3± 6.1
End of Bypass.	49.3±14.8	32.7± 3.1

Mean ± ISD.

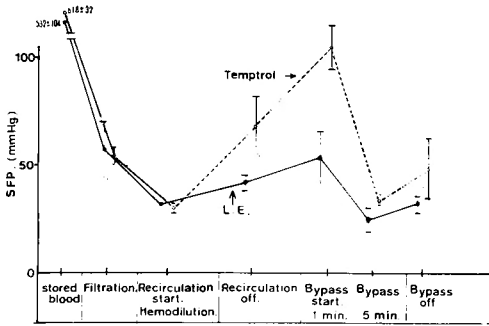


図10 各種人工肺使用時の体外循環中の SFP の変動 (人)
(L.E.: Lande'-Edwards 3M² 使用群)
(Temptrol: Temptrol Q-110 使用群)

始時は 30 ± 2.0 mmHg に低下していた。ここでRecirculation を平均20分間行なうと、気泡型人工肺群では 68.3 ± 13.6 mmHg と有意の上昇 ($P < 0.01$) を示したが、膜型人工肺使用群では 42.3 ± 2.5 mmHg と若干の上昇を認めたに過ぎなかった。

次いで、体外循環を開始し1分後、即ち、新鮮な生体からの静脈血が酸素加装置内を通過し、動脈回路に移行したと考えられる時期に測定を行うと気泡型人工肺使用群では 105.0 ± 10.14 mmHg、膜型人工肺使用群では 57.3 ± 6.79 mmHg、と両者間に有意の差を認め、気泡型人工肺使用群の方がはるかに多量の Emboli を発生している事が判明した。

しかし、開始後5分、即ち血液が生体内を数回循環したと考えられる時期に測定すると、気泡型人工肺使用群で 33.3 ± 1.52 mmHg、膜型人工肺使用群で 25.3 ± 6.1 と両者共に正常値以下に低下していた。

次いで未だ吸引血の混入のない時点、即ち体外循環開始後10分にて動脈回路及び静脈回路の SFP を比較

表 7 気泡型人工肺 (Temptrol Q-110) 及び膜型人工肺 (Lande'-Edwards 3M²) 使用時の動・静脈回路に於ける SFP 値の比較。(人)

	SFP (mmHg)	
	Arterial Line. N = 6	Venous Line. N = 6
TEMPTROL. Q-110.	47.1 ± 12.1	32.3 ± 2.1
LANDE'- EDWARDS. 3M ² × 1	23.3 ± 2.2	19.8 ± 0.5

Mean $\pm$ S.D.

すると表7の如く両群共に動、静脈回路間で SFP 値に有意の差をみた。

又、気泡型人工肺群の動脈回路の SFP 値は膜型人工肺群のそれに較べて有意の差 ($P < 0.05$) を以って高値であった。

第Ⅶ章 体外循環中及びその後の血小板数の変動と血小板粘着能の動態

第1節 実験方法

第Ⅴ章の症例について、次に示す時期に採血し血小板数及び血小板粘着能を測定した。

採血時期

- (1) 手術開始
- (2) Heparinization (3 mg/kg)
(血小板粘着能は Heparinization 後20分にて測定)
- (3) 体外循環開始
(血小板粘着能は開始後10分にて測定)
- (4) 体外循環終了
(血小板粘着能はプロタミンによる中和後10分にて測定)
- (5) 手術終了
(プロタミン中和後約1時間)
- (6) 術後3時間
- (6') 血小板粘着能はプロタミン中和後3時間
- (7) 術後6時間
- (7') 血小板粘着能はプロタミン中和後6時間
- (8) 術後24時間
- (8') 血小板粘着能はプロタミン中和後24時間
- (9) 術後48時間
- (10) 術後72時間 (血小板のみ)

血小板粘着能測定法 (Salzman 変法)²⁰⁾²¹⁾

測定には血小板粘着能測定管²⁰⁾—ガラスビーズ法—(医学書院器械株式会社)を用いた。

この測定装置は内径2mmのポリビニール管2本を備え、その一本(A)の中にはガラスビーズ ("Superbrite" Minnesota Mining Co.,) 0.5g が入って居り、もう一本(B)の内腔は中空性である。この(A)(B)2本の管は三方活栓を経て注射針に連結される。

被検血液は被検者より直接各々の管を通過し別々にシュウ酸瓶に採取される。採血速度は一定に保ち1ml/30秒とした。

次いで(A)及び(B)の管を通して来た血液中の血小板数を測定した。(A)管からの血液中の血小板数をA', (B)管からの血液中の血小板数をB' とすると血小板粘着能(%)は次式により求められる。

$$\frac{B'-A'}{B'} \times 100. \quad B'-A' \text{ は粘着血小板}$$

である。血小板粘着能の正常値は45~65%²²⁾である。

第2節 実験成績

体外循環による血小板数の変動は表8、図11の如くであるが、手術開始時の血小板数をコントロールにとると、Heparinization による血小板数の変動は認められない、しかし体外循環を開始すると、両人工肺使用群何れに於いても50%近くのそれが減少を認めた。体外循環直後から術後3時間目にかけて血小板数は徐々に回復し、気泡型人工肺使用群ではコントロールの約60%にまで回復しているが、膜型人工肺使用群では

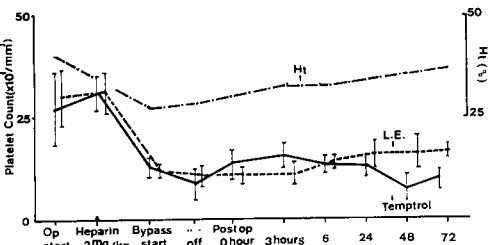


図11 各種人工肺使用時の体外循環中の血小板数及びヘマトクリットの変動(人)
(L.E.: Lande'-Edwards 3M² 使用群)
(Temptrol: Temptrol Q-110 使用群)

40%にとどまった。ところが術後6時間に至ると気泡型人工肺群では再度減少傾向が出現し、この傾向は術後48時間目まで持続した。一方膜型人工肺使用群では徐々に血小板数は回復し気泡型人工肺群の如き再度の減少傾向は終始認められなかった。

血小板粘着能の経過をみると(表9、図12) Heparinization による粘着能の変化はほとんど認められない。しかし、体外循環開始後10分目に測定すると、粘着能は両人工肺群共に10%以下にまで低下し(Temptrol 群: 3.9±2.3%, Lande'-Edwards 群: 3.4±3.1%) 体外循環中、終始、流血中に存在する10万内外の血小板は殆んどその機能を失っていた。

体外循環後、プロタミンにて中和する時期に至ると、両群共に粘着能は20% 前後にまで回復していた。人

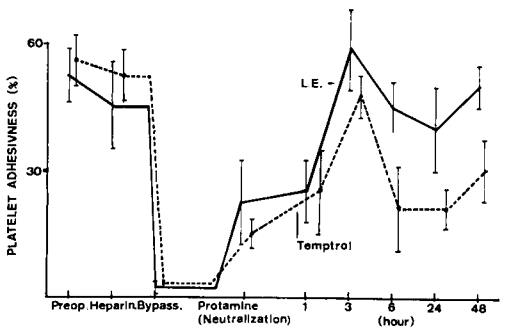


図12 各種人工肺使用時の体外循環、前・中・後の血小板粘着能の変動(人)
(L.E.: Lande'-Edwards 3M² 使用群)
(Temptrol: Temptrol Q-110 使用群)

表8 気泡型人工肺(Temptrol Q-110)及び膜型人工肺(Lande'-Edwards 3M²)を使用した体外循環中及び体外循環後の血小板、白血球及びヘマトクリット値の比較。(人)

	TEMPTROL Q-110. N=5			LANDE'-EDWARDS. 3M ² N=5		
	PLATELET (×10 ⁴)	LEUCO- CYTE. (×10 ³)	Ht. (%)	PLATELET (×10 ⁴)	LEUCO- CYTE. (×10 ³)	Ht. (%)
Operation Start.	26.6±8.9	8.3±2.3	40.0±2.5	30.4±6.9	6.6±1.7	38.1±3.2
Heparinization.	30.3±3.7	—	—	30.6±5.4	—	—
Bypass Start.	13.2±2.4	5.2±2.0	27.2±1.5	11.9±1.3	3.8±6.8	26.6±1.5
Bypass off.	9.0±3.6	11.4±3.2	28.1±2.1	10.9±2.7	4.9±5.1	27.2±2.5
Postoperation. 0 hour.	13.5±3.8	—	30.1±3.3	11.6±1.5	—	29.0±1.5
Postop. 3 hours.	15.5±2.9	—	—	11.5±1.5	—	—
Postop. 6 hours.	13.5±2.1	20.3±2.7	32.5±2.7	14.1±1.6	13.7±3.0	37.7±2.9
Postop. 24 hours.	12.8±2.0	—	32.0±2.5	15.7±2.6	—	35.2±3.6
Postop. 48 hours.	7.3±2.6	—	35.5±3.0	15.7±3.8	—	36.5±3.5
Postop. 72 hours.	10.2±2.0	—	36.3±2.5	16.4±1.1	—	35.2±5.3

Mean ± IS. D.

表 9 体外循環, 前・中・後の血小板粘着能:
気泡型人工肺 (Temptrol Q-110) と膜
型人工肺 (Lande'-Edwards 3M²) 使
用時に於ける比較。(人)

	PLATELET ADHESIVENESS. (%)	
	Temptrol Q-110. N=5	Lande'-Edwards. (3 M ²) N=5
Preoperation.	55.8±8.8	52.3± 8.4
Heparinization. (20 min)	53.9±7.4	46.4±10.6
Bypass (10 min)	3.9±2.3	3.4± 3.1
Neutralization with Protamine. (10 min)	16.0±3.4	22.4±11.1
Postneutrali- zation	25.0±9.6	25.9± 8.7
1 hour.		
3 hours.	48.1±6.0	57.8± 9.9
6 hours.	20.2±9.3	46.2± 7.2
24 hours.	21.9±7.3	40.6±11.5
48 hours.	31.1±8.3	49.6± 4.5

Mean±IS. D.

V S D. 8~20kg.

Heparin . 3 mg / kg.

Protamine : 7 mg / kg.

Bypass Duration: 1 hour.

Perfusion Rate: 100~120cc / min / kg.

工肺の差異による相違は認められなかった。プロタミン中和後3時間目では両群共に粘着能は正常値に復していたが、中和後6時間目で気泡型人工肺使用群は再度、粘着能の低下がみられ、比処に至って膜型人工肺使用群と初めて有意の差を生ずるに至った。この傾向は中和後24時間目に於いても同様に認められた。

以上の結果から、血小板数の回復率は膜型人工肺使用群の方が術後6時間以降に於て優れて居り、血小板粘着能でも術後5時間目以後に於てやはり膜型人工肺群が優っていた。

第Ⅶ章 犬の補助循環後の腎組織に於ける Microembolism の検討

第1節 実験方法

実験犬には10~15kgの体重を有する雑種犬8頭を使用した。Nembutal を30mg/kgの割合で静注し直ちに気管内挿管を行ない、Harvard Respirator により室内空気で行った。送血管は右股動脈より挿入し先端が総腸骨動脈内にあるように調節した後固

定した。脱血管は右外頸静脈及び左股静脈より挿入し SVC. IVC. に先端が達するように固定した。一方人工肺としては Temptrol Q-130 (4例) と Lande'-Edwa-

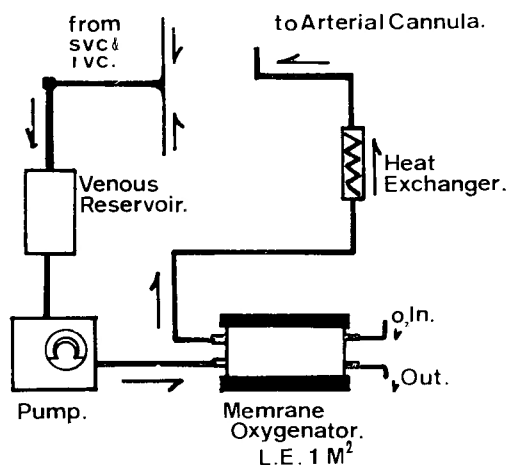


図13 犬の補助循環用回路
(L. E. 1M²: Lande'-Edwards 1M²)

ards (1M²×1)(4例)とを夫々使用した(図13)。

各回路には実験犬血液とのクロスマッチに適合した採血犬からのヘパリン加血液(20mg/100cc)を充填、これにラクトートリンゲル液を希釈液(希釈率15~20%)として添加した。

体外循環を行なうにさきだち、まず動静脈回路を接続し1時間のRecirculationを行なったが、Recirculation flow は両人工肺群共に 30ml/min とし酸素流量は3l/min とした。

その後、初めて実験犬に回路を接続し補助循環を開始したが、送血量は40~50cc/kgとし直腸温は30~35°Cに保った。このようにして2時間の体外循環を行なった後、プロタミンによる中和を行わず、直ちに屠殺し、腎を取り出し、10%ホルマリン液にて2週間固定した後、Sudan III 染色にて光顕学的に観察した。

Embolism の評価は次の如く行なった。

光顕100倍にて

- (1)、一視野に平均10ヶ所以上の Embolism...
(+++)
- (2)、一視野に平均5~9ヶ所の Embolism...
(++)
- (3)、一視野に平均1~4ヶ所の Embolism...(+)
 - (4)、全視野に Embolism の存在しないもの...
(-)

第2節 実験成績

写真11の如く、主に腎髄質の葉間動脈分枝の弓状動脈と思われる血管内腔に4～5個の Emboli が集塊をなして栓塞している像が多数認められた。しかしこれより末梢の小葉間動脈及び輸入細動脈内にも少量ではあるが Emboli が単独で血管を閉塞している像が認められた(写真12)

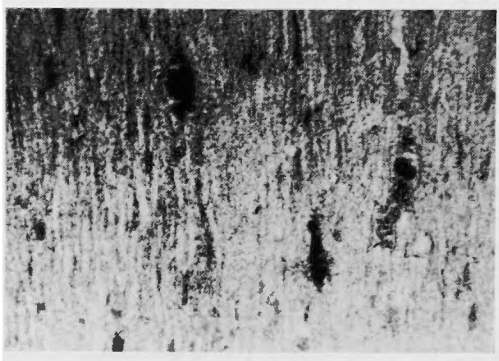


写真11 補助循環直後の腎の Embolism (犬)

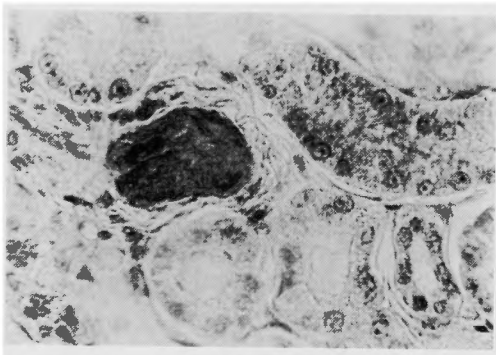


写真12 補助循環直後の腎の Embolism 強拡大(犬)

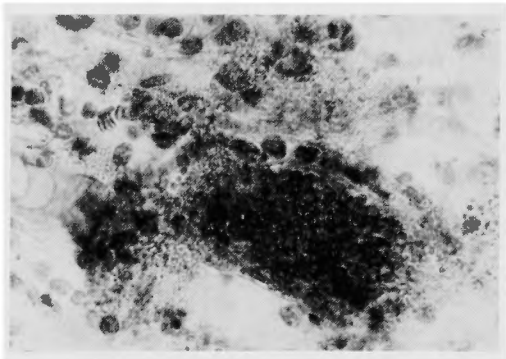


写真13 補助循環後の腎の Embolism. (犬)
(血小板の集塊と赤血球の集合及び出血が認められる)

強拡大で観察すると写真13の如く Emboli の内部構造はやや homogeneous であるが血小板と思われる細顆粒が認められ in vitro の実験の際に酸素加装置内に認められた Emboli と酷似していた。

又これら Emboli は全て Sudan III 陽性であった。

栓塞した Emboli の周囲には赤血球の Sludging が認められる場合が多かったがその血管外への漏出は顕著でなかった。

又、血管壁及び血管内腔に脂質滴が単独で存在するといった像は認められなかった。

Embolism の頻度を気泡型人工肺使用群と膜型人工肺使用群にて比較するすると表10の如く明らかに気泡型人工肺使用群に Embolism が多発していた。しかし膜型人工肺使用群でも同様の Embolism が少量ではあるがやはり認められた。

表10 補助循環後の腎の Microembolism の頻度：(気泡型人工肺(Temptrol Q-130)及び膜型人工肺(Lande'-Edwards 1M²)使用の場合の比較) (犬)

Dog.	OXYGENATOR.	EMBOLISM in KIDNEY.
1.	Temptrol Q-130.	++
2.	"	+
3.	"	+++
4.	"	++
5.	Lande'-Edwards. 1 M ²	—
6.	"	—
7.	"	+
8.	"	+

V—A Bypass.
Preoxygenation : 1 hour.
Partial Perfusion : 2 hours
Perfusion Rate : 40～50cc / kg.

第Ⅷ章 気泡型酸素加装置による溶血現象と Microemboli との関連性

第1節 実験方法

(1), 雑種成犬 (10～12kg) の股動脈から約 100cc の血液を採取しヘパリン20mg/dlを加えた後、Flask 中で気泡型酸素加を一時間行ない、この血液について SFP 法で Microemboli 量を定量した。これを更に遠沈 (3000rpm/min : 30分) し溶血血漿 (B)を得た。

一方、同犬より新たに採取した10ccの動脈血を直

ちに heparinize (5 mg/10cc) し SFP を測定し 50mmHg 以下であることを確認した後、直ちに (B) 血漿と 1 対 1 の割合で静かに混合し、5 分以内にその SFP を測定した。

又コントロールとしては酸素加前の血液を直ちに遠沈し血漿(A)を採取しこれを 1 時間常温に保存した後、新たに採血した SFP 値 50mmHg 以下の血液と 1 対 1 の割合で混合しその SFP を測定した。

(2)、(1)と同様の方法で血液を酸素加する過程で経時的に、5分、10分、15分、30分、45分、60分の計 6 回、血液を採取し、各々遠沈 (3000 rpm/min, 30分) し各溶血血漿についてシアニ化メトヘモグロビン法にて Plasma Free Hb 値を測定すると共に、この溶血血漿を同犬の新鮮血 (SFP 50mmHg 以下のもの) を (1)の方法に準じて混合した後、その SFP を測定した。

第 2 節 実験成績

(1)、コントロールの血漿(A)と SFP 40.25 ± 4.03 mmHg の新鮮な血小板を含む血液とを混合した場合、表 11 の如く SFP は 18.75 ± 4.85 mmHg と有意の差で低下する。これは血漿(A)によって単に希釈されているため Emboli の新たな形成によるものではない。

表 11 気泡型酸素加血液、血漿成分の新鮮血 SFP 値に及ぼす影響。(犬)
(Plasma A: 非酸素加血液の血漿)
(Plasma B: 酸素加血液の血漿)
(in vitro)

	S F P (mmHg) N = 6
Fresh Blood. (SFP. 40.3 ± 4.0 mmHg) + Plasma A.	18.75 ± 4.85
Fresh Blood. (SFP. 44.5 ± 7.32 mmHg) + Plasma B.	132.50 ± 7.32

Mean $\pm$ IS. D.

一方血漿(B)と新鮮血の混合では SFP は 132.5 ± 7.32 mmHg と明らかに有意の上昇を示した。

以上のことから気泡型酸素加装置によって生じた溶血血漿は血小板の Aggregation を促進する物質

を含んでいることが示唆された。

(2)、次いで、気泡型酸素加装置によって生じた各時間の溶血血漿の Plasma Free Hb 値と、それと新鮮血とを混合した際に得られた SFP 値との関係をみると表 12 の如く、Plasma Free Hb 値が 200~900mg

表 12 酸素加血液の Plasma Free Hb 値とその血漿成分の新鮮血 SFP 値に及ぼす影響。(犬) (in vitro)

	Plasma free Hb. (mg / dl) N = 6	S F P. (mmHg) N = 6
Control.	50.0 ± 5.0	35.2 ± 12.8
5. min.	94.5 ± 5.5	36.5 ± 12.8
10.	115.0 ± 44.0	38.0 ± 14.0
15.	198.0 ± 27.0	41.5 ± 17.5
30.	940.0 ± 40.0	186.5 ± 18.5
45.	1130.0 ± 100.0	200.5 ± 24.5
60.	2645.0 ± 185.0	233.0 ± 47.0

Mean $\pm$ IS. D.

/dl の間で SFP 値は急上昇することが認められた。そして両者は図 14 の如き $r=0.883$ の相関関係を示した。

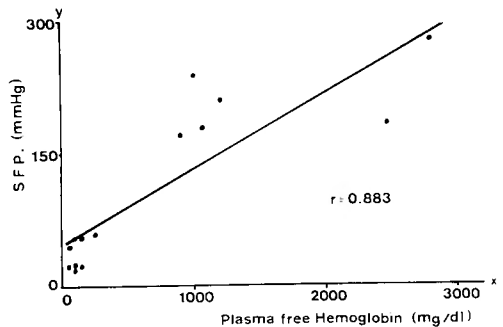


図 14 酸素加血液の Plasma Free Hb 値とその血漿成分の新鮮血 SFP 値に及ぼす影響 (犬) (in vitro)
($r=0.883$,
 $Y=45.884+0.087x$)

第 Ⅲ 章

総括並びに考按

(1) Microemboli 定量法

血液中の Microemboli 定量法については、Gas Emboli に際しては Ultrasound Reflect Scope 及び Doppler

Detector を利用する方法が用いられているが²³⁾²⁴⁾ 血球成分、特に血小板を主体とした Emboli の定量には Swank²⁵⁾ の開発した S F P 法が一般に広く用いられている。著者も人の体外循環中の Emboli 測定に S F P 法を用いたが、この測定法の利点はヘマトクリット、及び血液の viscosity に影響されることなく²⁶⁾ Emboli 量を鋭敏に測定し得ることである。一方これの有する欠点としては Emboli の性状、形、大きさが観察出来ない事、及び大型で而も多量の Emboli を含有する血液では、測定誤差が大きくなるということである。

一方著者の考案した測定法はやや大型の Emboli を多量に有する検体の測定にも適して居り、而も顕鏡しつつ Emboli を算定するために、その性状、形、大きさ等を検討し乍らその測定を行うことが可能である。ただ、操作がやや繁雑で洗滌、固定、染色の段階で Emboli が脱落したり、Emboli が Mesh 表面に均等に分散しないために生じる算定上の誤差を見るといった憾みがある。最近これと類似した方法で Dutton¹⁴⁾ も体外循環、流血中の Emboli 量を測定している。

(Ⅱ) Microemboli の発生源

体外循環中にみられる血小板を主体とする Microemboli の由来としては、2 種あるように思われる。その一つは Swank²⁷⁾ が指摘しているように、充填用保存血中に既に存在するものであり、第二は体外循環回路(吸引回路をも含む)内で形成されるものである。現在充填用に用いられる血液はヘパリン保存血及び A C D 保存血の 2 種類があるが、Emboli の含有量を前述の著者が考案した測定法でみる限りに於いては、クエン酸保存血の方がヘパリン保存血よりも少ない。このことは Swank²⁷⁾ が S F P 法にて既に指摘しているところであるが著者の測定により、保存期間、1 時間で既に両者間に歴然とした差を生じるに至ることが判明した。

血球成分と Emboli との関連で Swank 等は白血球の Emboli 形成への関与を指摘しているが著者の走査電顕による観察では、白血球の混在は Emboli の表面に関する限りでは極めて少量で又、白血球数の経時的変動でも有意の減少は認められなかった。一方血小板はその数の経時的有意の減少が認められ、Emboli 量との間に負の相関関係が認められた ($r = -0.684$)。

ヘパリン保存血中のこの種の Emboli 形成及び血小板減少の原因を Copley²⁸⁾ 等は Heparin そのものの作用によるものとしているが、Perkinson²⁹⁾ は Heparin 量の不足によるとし、更に Wright³⁰⁾ は容器表面への

附着にその原因を求めている。

この種の Emboli のもう一つの発生源としては、体外循環回路内の酸素加装置をあげることが出来る、Ashmore⁷⁾ は犬の血液を用いた in vitro の実験で、回転円盤型人工肺が形成するこの種 Microemboli を S F P 法にて観察し、その経時的増加を立証している。著者も前述の測定法で、犬血液を用いた in vitro の回路に於て、気泡型人工肺と膜型人工肺について夫々その経時的 Emboli 形成量を比較検討した結果、前者は後者に較べて著しく多量の Emboli を短時間内に形成せしめることを立証した。このことは Microemboli の形成は血液と酸素との直接の接触によるものと考えざるを得ない。Ashmore⁷⁾ は酸素及び空気吹送時の Emboli 形成量を比較し、酸素吹送時の方がこの形成が著しいと報告しているが、その点に関しては著者は検討していない。

一方、経時的な Emboli の形成状態をみると、著者の実験成績は Ashmore の報告した回転円盤型人工肺、酸素吹送時の Emboli 形成パターンとは全く異ったものであった。

Ashmore の場合、それが直線的に上昇したのに対し、著者の成績では、気泡型人工肺で酸素加を開始すると、その直後に急激な Emboli の多量形成がみられ、5 分後には却って漸減する傾向が認められたのである。このパターンは Emboli 形成量の非常に少ない膜型人工肺に於ても同様であった。

この減少は、回路を有しない Flask 内での気泡型酸素加によって得られた実験成績から考え、Emboli が回路内に捕捉されていることにその原因を求めざるを得ない。特に Temperol 人工肺の如くその内部に除泡装置と Mesh を有するものではこの可能性が大である。又、第 2 の原因として考えられるものとして、一度形成された Aggregates の崩壊をあげることが出来る。Flask 内の酸素加過程で認められた開始後 30 分以降の血小板数の上昇及び Temptrol 人工肺、Lande'-Edwards 人工肺群に於て血小板の減少が比較的少なかった点等はこの Aggregates の崩壊現象と再度分離された血小板の失機能性を暗示せしめる。

一方、この酸素加過程に於ける血小板数の減少の経過には 2 種のパターンが認められ、気泡型酸素加装置の場合には、酸素加開始直後から急激な減少が認められ、その後 60 分まではほぼ平衡状態を持続したが、この急峻な血小板減少期は Emboli の多量発生時期とよく一致していた、従って、この減少は主として、血小

板性の Aggregates 形成によるものと考えられる。そしてその後の平衡状態はさきに述べたような Aggregates の崩壊等によって機能を失った血小板が浮遊してくるためと考えられる。

一方、膜型人工肺の場合には血小板は徐々に減少し、60分間の Recirculation 後には気泡型人工肺群とはほぼ同率の減少を示すに至るが、これは凝集と粘着とが徐々に進行するためと考えられる。この膜型人工肺はその構造上、血液接触面積が広大 (1M^2) であるために、膜表面への粘着による捕捉が優先している可能性が大きい。事実、人の体外循環後の膜型人工肺のシリコン膜表面の走査電顕像で、不均等ではあるが、部分的に血小板及びその凝集塊が膜に附着している像が認められた (写真14)。

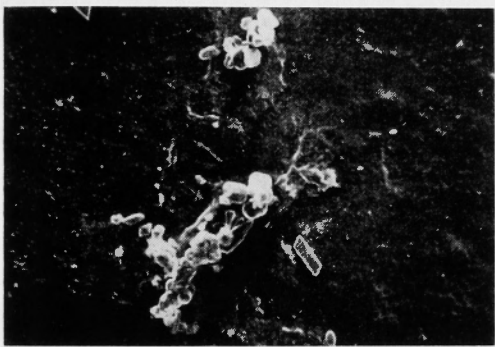


写真14 膜型人工肺の膜面に附着した血小板及び血小板集塊 (走査電顕 1000倍)

Ⅲ). Microemboli の形態と構成成分

体外循環中にみられる Microemboli の構成成分に関しては種々の報告がみられる。Swank²⁷⁾ Ashmore²⁾ は血小板と白血球にフィブリンが附加されたものであり、血漿タンパクの変性がその原因であるとしているが、Allardyce⁶⁾ は無細胞性でフィブリンを含有し、タンパク分子が崩壊したと思われる集塊と血小板の崩壊物とが混合したものであるとしている。又 Rittenhous¹⁰⁾, Egeblad¹¹⁾, Dutton¹⁴⁾ はフィブリンの含有は無く、血小板の凝集塊であると報告している。

著者の行った走査電顕での観察では、人の体外循環中に得られる Emboli の主体をなすものは血小板の凝集したものであり、ADP 及びトロピンにて凝集せしめたそれが形態ともよく酷似していた。しかし、白血球の混在は極めて少量であった。

又全て斯る Emboli は PTAH 染色陰性であった。

一方、体外循環回路に吸引血の混入がある場合には

Emboli, 赤血球及び Mesh 表面に不正形の Debris の附着していることが走査電顕像で認められた。この Emboli を TLC にて脂質定性分析をしてみると、この主成分はリン脂質とコレステロールであったが、Debris を有する Emboli には又著しい量のトリグリセライドの出現の認められることが特徴的所見であった。この事実は吸引血を介してトリグリセライドが著しく多量に混入して来る怖れの大なることを物語っている。吸引血の混入のない、犬及び人の補助循環 (気泡型人工肺使用) 時に得られた Emboli ではトリグリセライドの出現は遙かに少量であった。又 in vitro の回路内での酸素加時には Emboli にトリグリセライドの出現は認められなかった。

Lee³¹⁾ は犬の血漿を用いた in vitro の回路で、スクリーン、円盤型及び気泡型人工肺にて酸素加した血漿中に Chylomicron の Aggregation 及び Free Fat Globules (30μ) の出現を証明し Lipoprotein が酸素と直接接触した際には Delipidization を起す可能性のあることを指摘している。又 Wright³²⁾ も同様の現象を認めている。

犬及び人の補助循環時の Emboli 中のトリグリセライドが Lipoprotein の変性による Free Fat であるとするればこれが何処で合体したかが問題となる。捕捉する際の Mesh 上での単なる合体か、その間に親和性を有するのかは不明であるが、Adkins³³⁾ が報告する Hyperlipemia の犬に Thrombin を投与することによって血球性の Aggregates を伴った Fat Embolism を作製し得たという事実は、この Emboli と Free Fat との間に何等かの親和性が存在するのかも知れない。

Ⅳ). 人の体外循環中の Microemboli 量の変動

人の体外循環中の Microemboli の量的変化を SFP 法にて追跡すると、体外循環開始直後既に多量の Emboli が爆発的に形成されるが、5分後には最早コントロール値よりもやや低値となる。又吸引血が回路内に混入していない時期に測定した動脈回路血と静脈回路血の SFP 値は有意の差をもって動脈回路血の方が高値を示した。この2つの事実は形成された Microemboli が生体内で filtrate されいることを示すものであり又、酸素加装置内で Microemboli が常形成されていることを示す。

一方、体外循環開始時にみられた多量の Emboli の発生原因は、生体内の機能に富んだ血小板が Disperser 内で酸素に接触したために生じたものと考えられるが、その他の原因として、又回路内血液の溶血がそ

れに大いに与っている可能性も否定しえない。

V). 犬の補助体外循環後の腎に於ける Microembolism

動脈回路から生体内に入った Microemboli の運命を検索するために行った犬の補助循環では、気泡型人工肺使用群で多くの Embolism が腎組織内に認められた。

この Embolism が in vitro の回路内でみられた Emboli によるものであるかどうかは確認し得なかったが、Embolism の量的差が両人工肺使用群間に明らかに認められたこと及び、血管内に認められる Emboli の構造、大きさがさきの Emboli によく酷似しているといった点で同一のものと考えてよいように思われる。

ただ、異なる点は、血管内に存在するものでは、強いズダン染色陽性を呈したことで、さきに述べたように、犬体外循環の流血中の Emboli がズダン弱陽性であったところから、同起源性のものであるとすると、そのような変化は Capillary に到達後に生じたものと考えざるを得ない。

Tenevein³⁴⁾はこの種の Embolism が腎のみでなく、脳、心筋内毛細血管にも存在したと報告している、又 Carlson³⁵⁾は最近の臨床報告に於て、膜型人工肺使用群と気泡型人工肺の回路に微小フィルター(40 μ)を組み入れると Bender-Gestalt Visual Moter Test 及び腎機能の改善され得るに至ることを指摘している。

VI). 人の体外循環後の血小板の状態

最近の塚田³⁶⁾の報告によると、ガラスビーズカラムによる血小板粘着能測定法では、粘着能だけでなく凝集能の一部が測定結果に含まれることをビーズ表面の走査電顕学的観察で明らかにしている。又この測定法では、ヘパリンによる粘着能、凝集能の低下は認められなかったという。そして又 O'Brien³⁷⁾, Salzman²¹⁾も亦、同様の事実を報告している。

著者のガラスビーズカラムによる測定結果では、ヘパリン投与から、体外循環開始までの平均約30分以内には粘着能には有意の低下が認められなかったが、体外循環開始後10分の測定値では明らかに粘着能及び凝集能の著しい低下が認められた。このことから次の事実が考えられ得る。既に、血小板のカラムへの Retention が無いということはヘパリン作用のためではなく、粘着能及び凝集能を有する血小板の殆んど全てが短時間の中に流血中から消失し、その機能を消失したもののみが血液中を circulate していることを示唆している。

一方、体外循環後の血小板機能をみると、両人工肺使用群で認められた、プロタミンによる中和後3時間までの血小板粘着能、凝集能の回復傾向は Leval³⁸⁾の報告する如く生体内に Retention されていた新鮮な血小板の放出によるものと考えられる。しかし、仮に新鮮な血小板が放出されても、その際、生体内の血液が気泡型人工肺使用群の如く溶血が著しい場合には、Rabiner³⁹⁾が報告したように、再度、血小板は変化し Emboli として末梢で Trapping され、消費される可能性がある。

著者の気泡型人工肺使用群での中和後3時間以後に認められた、再度の血小板数減少と粘着能、凝集能低下は、この溶血血液によって生じた現象ではないかと考えられる。

膜型人工肺使用群での結果はこれを裏付けるものであろう。

この時期には又フィブリンの関与も充分考えられ、Disseminated Intravascular Coagulation とそれに伴う末梢循環の不全、更には出血傾向の発現も充分に考えられ得ることであり、非常に危険な時期であると考えられる。

一方、溶血と血小板凝集現象との関連性⁵³⁾⁵⁴⁾は衆知の事実で、著者の行った、犬血液の気泡型酸素加によって生じた溶血血漿は明らかに新鮮な血液内の血小板を凝集せしめるように作用することが確認された。又、Plasma Free Hb と S F P 値との間には明らかな正の相関関係($r=0.883$)が認められた。

現在、小児科領域にて問題になっている Hemolytic Uremic Syndrome⁵⁵⁾の本態を Consumption Coagulopathy と考える時⁵⁶⁾、溶血がその Trigger になっていること⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾は充分に考えられる。又特発性高脂血症と Hemolytic Uremic Syndromeとの合併が1965年 Campbell⁵⁹⁾によってなされているが、著者の行った前述の犬の実験による結果、更には又脂質の凝固促進作用⁶⁰⁾⁶¹⁾脂質の経口的摂取時に血小板粘着能が増加⁶²⁾⁶³⁾⁶⁴⁾するといった事実を併せ考える時、体外循環による Microembolism の発生をより興味深い問題とする。

現在、体外循環中の Microemboli の除去のために微小フィルターが使用され始めているがこれが Microemboli と共に正常な血小板をも捕捉してしまう可能性があり又、血液の異物接触面積の増加等未だ多くの問題が胎されているばかりでなく更には血小板凝集時に生じる Hormonal Agents の問題、体外循環後の血小板機能低下の問題及び Fat Emboli 等とも併せ考え、

このフィルターの応用のみでは到底その全てが解決され得るようには思われない。

一方現在一般化しつつある膜型人工肺でも著者の実験結果からすると、体外循環中はやはり血小板に対して可成りの影響を与えるものとは考えられるが、従来使用されて来た人工肺に較べれば Microemboli 形成に関する限り、非常に優れたもので、又術後の血小板機能の回復にも有利なものといえる。

しかし、この血小板性 Microemboli の問題を体外循環のみでなく 広く臓器移植、Disseminated Intravascular Coagulation 等の問題にまで拡大して論ずるならば、今後これらの解決のために切望されることは血小板機能の薬物的コントロール以外にはあるまい。

第X章 結 語

気泡型及び膜型人工肺による体外循環中に認められる Microemboli について検討し次のような結論に到達した。

- (1) 体外循環中に認められる Microemboli の一部は充填保存血に由来するものである。
- (2) ヘパリン保存血はクエン酸保存血に比較し短時間に大型でしかも多量の Emboli を形成する。
- (3) in vitro の回路内では、血液が気泡型人工肺を通過する際に、この種 Emboli を爆発的に発生する。しかし、この多量発生は酸素加開始の初期のみであり、その後の流血中の Emboli 量は徐々に減少する。

膜型人工肺による酸素加の場合はこの種の Emboli 発生は極めて少量であるが、発生量の経時的变化は気泡型人工肺と同様のパターンである。

この種 Emboli の発生時期に一致して血小板減少が認められる。気泡型人工肺使用の場合は初期の血小板減少が著しいが、膜型人工肺では酸素加過程中、徐々に減少し、60分間の酸素加後は両人工肺使用群間に血小板減少率の上での有意の差が認められなかった。

- (4) 光学顕微鏡及び走査電子顕微鏡学的観察にて、この種 Microemboli の構成成分は血小板の Aggregates が主体をなしていた。

TLCによる脂質定性分析ではリン脂質とコレステロールがその主成分をなし、in vivo の補助体外循環中の Microemboli にはトリグリセライドの混入が僅か乍ら認められたが、開心術

中のものではトリグリセライドの混入が著しく増加した。

フィブリンは全ての Microemboli に認められなかった。

- (5) in vivo の体外循環中の Microemboli 量の変化は体外循環開始後1分にて一過性に急上昇し、その後急速にコントロール以下に低下した。この現象は生体内の Capillary にてこれが filtrate されていることを示す。

又、体外循環中の動脈回路の Microemboli 量は常に静脈回路のそれよりも有意の差 ($P < 0.05$) を以って高値であり、その差は気泡型人工肺使用群に於て著しかった。

これは体外循環中、常に Microemboli が形成されている事を示す。

- (6) 体外循環後の血小板数の回復率は術後6時間以降にて膜型人工肺使用群が優れており、又血小板粘着能の回復は術後5時間以降に於てやはり膜型人工肺使用群が優れていた。
- (7) 犬の補助体外循環後の腎にズダンⅢ陽性の血小板を主成分とした Microembolism が観察されこの頻度は気泡型人工肺使用群に著しく多かった。
- (8) 気泡型酸素加装置による溶血血漿は新鮮な血液中の血小板に対し、凝集を促進せしめ、Microemboli を形成する事が判明した。又 Plasma Free Hb 値と S F P 値の間には相関関係が認められた ($r=0.883$)。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った、日笠頼則教授、岡本好史博士に深く感謝致します。又血小板に関して御教示下さいました、本学第1内科、安永幸二郎講師、実験に協力して下さいました、小西裕博士、走査電顕に関して御協力下さった内田貞夫技官、又種々の面で御指導、御協力下さった大津日赤外科渡辺裕部長、西村和典技師に深く感謝致します。

なお、本論文の要旨は、第11回人工臓器学会及び第26、27回日本胸部外科学会総会に於て発表した。

References

- 1) Owen, G., Adams, J. E., McElhanon, F. M. and Yongblood, R. W. . Experimental alterations of certain colloidal properties of blood during cardiopulmonary bypass. J. Appl. Physiol., **14**: 947, 1959.
- 2) Miller, J. A., Fonkalsrud, E. W., Latta, H. L.

- and Malney, J.V., Jr.: Fat embolism associated with extracorporeal circulation and blood transfusion. *Surgery*, **51**: 448, 1962.
- 3) Helmsworth, J. A., Gall, E. A., Perrin, E. V., Braley, S.A., Flege, J.B., Jr., Kaplan, S., Keirle, A. M. and DeForest, D.: Occurrence of emboli during perfusion with an oxygenator pump. *Surgery*, **53**: 177, 1963.
 - 4) Swank, R. L., Hirsch, H., Breuer, M. and Hissen, W.: Effect of glass wool filtration on blood during extracorporeal circulation. *Surg. Gyn. Obst.*, **117**: 547, 1963.
 - 5) Swank, R.L. and Porter, G. A.: Disappearance of microemboli transfused into patients during cardiopulmonary bypass. *Transfusion*, **3**: 192, 1963.
 - 6) Allardyce, D.B., Yoshida, S.H. and Ashmore, P.G.: The importance of microembolism in the pathogenesis of organ dysfunction caused by prolonged use of the pump oxygenator. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **52**: 706, 1966.
 - 7) Ashmore, P.G., Svitec, V. and Ambrose, P.: The incidence and effects of particulate aggregation and microembolism in pump-oxygenator system. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **55**: 691, 1968.
 - 8) Osborn, J.J., Swank, R.L., Hill, J.D., Aguilar, M.J. and Gerbode, F.: Clinical use of a dacron wool filter during perfusion for open-heart surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **60**: 575, 1970.
 - 9) Hill, J.D., Osborn, J.J., Swank, R.L., Aguilar, M.J., Lanerolle, P. and Gerbode, F.: Experience using a new dacron wool filter during extracorporeal circulation. *Arch. Surg.*, **101**: 649, 1970.
 - 10) Rittenhouse, E.A., Hessel, E. A., Ito, C.S. and Merendino, K. A.: Effect of dipyridamole on microaggregate formation in the pump oxygenator. *Ann. Surg.*, **175**: 1, 1972.
 - 11) Egeblad, K., Osborn, J.J., Hill, J.D. and Gerbode, F.: Blood filtration during cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **63**: 384, 1972.
 - 12) Ashmore, P.G., Swank, R.L., Gallery, R., Ambrose, P. and Prichard, K.H.: Effect of dacron wool filtration on the microembolic phenomenon in extracorporeal circulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **63**: 240, 1972.
 - 13) Lande', A. J., Carlson, R. G., Patterson, Jr., Baxter, J. and Lillehei, C.W.: Cardiac surgery with disposable membrane lungs. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **XVIII**: 532, 1972.
 - 14) Dutton, R.C. and Edmunds, L.H., Jr.: Measurement of emboli in extracorporeal perfusion systems. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **65**: 523, 1973.
 - 15) Hollenberg, M., Pruett, R. and Thal, A.: Vasoactive substances liberated by prolonged bubble oxygenation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **45**: 402, 1963.
 - 16) Yong, N. K., Eiseman, B., Spencer, F. C. and Rossi, N.: Increased pulmonary vascular resistance following prolonged pump oxygenation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **49**: 580, 1965.
 - 17) Replogle, R., Levy, M., Dewall, R.L. and Lillehei, R. C.: Catecholamine and serotonin response to cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **44**: 638, 1962.
 - 18) De Vries, W. C., Kwan-Gett, C. S. and Kolff, W.J.: Consumptive Coagulopathy, Shock, and artificial heart. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **XVI**: 29, 1970.
 - 19) Hershgold, E.J., Kwan-Gett, C.S., Kwai, J. and Rowley, K.: Hemostasis, coagulation and the total artificial heart. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **XVIII**: 181, 1972.
 - 20) 安永幸二郎: 血小板粘着能. 臨床検査, **16**: 220, 1972.
 - 21) Salzman, E.W.: Measurement of platelet adhesiveness. *J. Lab Clin. Med.*, **62**: 724, 1963.
 - 22) 安永幸二郎: 内科宝函投稿中.
 - 23) Spencer, M.P., Lawrence, G.H., Thomas, G.I. and Sauvage, L.R.: the use of ultrasonics in the determination of arterial atheroembolism during open-heart surgery. *Ann. Thoracic Surg.*, **8**: 489, 1969.
 - 24) Simmons, E., Litchi, E., Dwyer, S., Rowley, B., Young, R., Mackenzie, J. and Almond, C. H.: Detection of microparticles during cardiopulmonary bypass by use of electronic devices. *Adv. Cardiol.*, **6**: 94, 1971.
 - 25) Swank, R.L., Roth, J.G. and Jansen, J.: Screen filtration pressure method and adhesiveness and aggregation of blood cell. *J. Appl. Physiol.*, **19**(2): 340, 1964.
 - 26) Dhall, D. P. and Matheson, N. A.: Platelet aggregate filtration pressure-a method of measuring platelet aggregation in whole blood. *Cardiovasc. Res.*, **3**: 155, 1969.
 - 27) Swank, R. L.: Alteration of blood on storage: Measurement of adhesiveness of "AGING" platelets and leukocytes and their removal by filtration. *New Engl. J. Med.*, **265**: 728, 1961.
 - 28) Copley, A.L. and Robb, T.P.: Studies on platelets. II. The effect of heparin on the platelet count in vitro. *Am. J. Clin. Path.*, **12**: 416, 1942.
 - 29) Perkins, H.'A., Osborn, J.J. and Gerbode, F.:

- The effect of heparin on the platelet count in vitro. *Am. J. Path.*, **30**: 397, 1958.
- 30) Wright, H.P.: The adhesiveness of blood platelets in normal subjects with varying concentrations of anticoagulants. *J. Path. Bact.*, **53**: 255, 1941.
 - 31) Lee, W. H., Jr., Krumhaar, D., Fonkalsrud, E.W., Schjeide, O.A. and Maloney J.V., Jr.: Denaturation of plasma proteins as a cause of morbidity and death after intracardiac operation. *Surgery.*, **50**: 29, 1961.
 - 32) Wright, E.S., Sarkozy, E., Dobell, A.R.C. and Murphy, D.R.: Fat globulemia in extracorporeal circulation. *Surgery.*, **53**: 500, 1963.
 - 33) Adkins, R. B. and Foster, J. H. Experimental study of the genesis of fat embolism *Ann. Surg.*, **156**: 515, 1962.
 - 34) Jenevein, E. P., Jr. and Weiss, D. L.: platelet microemboli associated with massive blood transfusion. *Am. J. Path.*, **45**: 313, 1964.
 - 35) Carlson, R.G., Lande', A.J., Landis, B., Rogoz, B., Baxter, J., Patterson, R.H. Jr., Stenzel, K. and Lillehei, C.W.: The Lande'-Edwards membrane oxygenator during heart surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **66**: 894, 1973.
 - 36) 塚田理康, 小川哲平: ガラスビーズへの血小板粘着について一走査電顕による検討一. *臨床血液*, **14**: 777, 1973.
 - 37) O'Brien, J. R., Schoobridge, S. M. and Finch, W.J.: Comparison of the effect of heparin and citrate on platelet aggregation. *J. Clin. Path.*, **22**: 28, 1969.
 - 38) Leval, M., Hill, J.D., Mielke, H., Bramson, M.L., Smith, C. and Gerbode, F.: Platelet kinetics during extracorporeal circulation. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs.*, **XVIII**: 355, 1972.
 - 39) Rabiner, S.R. and Friedman, L.H.: The role of intravascular haemolysis and the reticuloendothelial system in the production of a hypercoagulable state. *Brit. J. Haemat.*, **14**: 105, 1968.
 - 40) Hardaway, R.M.: Disseminated intravascular coagulation in shock. *Throb. Diath. Haemorrh. Suppl.*, **36**: 159, 1969.
 - 41) Hardaway, R. M.: Disseminated intravascular coagulation in experimental and clinical shock. *Am. J. Cardiol.*, **20**: 161, 1967.
 - 42) Boyd, A.D., Engelman, R.M., Beaudet, R.L. and Lackner, H.: Disseminated intravascular coagulation following extracorporeal circulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **64**: 685, 1972.
 - 43) Abildgaard, C. F.: Recognition and treatment of intravascular coagulation. *J. Pediat.*, **74**: 163, 1969.
 - 44) Gans, H., Siegal, D. L., Lillehei, C. W. and Krivit, W.: Problem in hemostasis during open-heart surgery: II. On the hypercoagulability of blood during cardiac bypass. *Ann. Surg.*, **156**: 19, 1962.
 - 45) Rodriguez-Erdmann, F.: Bleeding due to increased intravascular blood coagulation. *New Engl. J. Med.*, **273**: 1370, 1965.
 - 46) Verstraete, M., Vermynen, C., Vermynen, J. and Vandenbrucke, J. Excessive consumption of blood coagulation components as cause of hemorrhagic diathesis. *Am. J. Med.*, **38**: 899, 1965.
 - 47) 二之宮景光. 血管内凝固症候群. 一外科領域一, *日本臨床*. **31**: 822, 1973.
 - 48) Margaretten, W.: Local tissue damage in disseminated intravascular clotting. *Am. J. Cardiol.*, **20**: 185, 1967.
 - 49) Lasch, H. G., Heene, D. L., Huth, K. and Sandritter, W. Pathophysiology, Clinical manifestations and therapy of consumption-coagulopathy. *Am. J. Cardiol.*, **20**: 381, 1967.
 - 50) McKay, D. G. and Müller-Berghaus, G.: Therapeutic implications of disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Cardiol.*, **20**: 392, 1967.
 - 51) Corrigan, J.J., Jr., Ray, W. L. and May, N.: Changes in the blood coagulation system associated with septicemia. *New Engl. J. Med.*, **279**: 851, 1968.
 - 52) Rosenberg, J. C., Hawkins, E. and Mammen, E.: Hypovolemia-induced intravascular coagulation and platelet aggregation in renal transplants. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs.*, **XVIII**: 283, 1972.
 - 53) Hellem, A. J.: The adhesiveness of human blood platelets in vitro. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **12**: suppl. 51, 1960.
 - 54) Gaarder, A., Jonsen, J., Laland, S. Hellem, A.J. and Owren, P.A.: Adenosine diphosphate in red cells as a factor in the adhesiveness of human blood platelets. *Nature.*, **192**: 531, 1961.
 - 55) Gassser, C., and Gautier, E., Annemarie Steck, Siebenmann, R. E. u. Oechslin, R.: Hämolytisch-urämische Syndrom: Bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. *Schweiz. Med. Wschr.*, **85**: 905, 1955.
 - 56) Künzer, W. u. Aalam, F.: Zur Heparinbehandlung des akuten Hämolytisch-urämischen Syndroms. *Klin. Wschr.*, **42**: 820, 1964.
 - 57) 村上元孝, 松田 保, 恩地一彰, 梅田俊彦, 河村洋一, 西野哲夫, 平丸三樹, 万見新太郎, 維田智久: 発作性夜間血色素尿症の経過中 "hemolytic

- uremic syndrome”の発現をみた一剖見例, 臨床血液 **9** : 751, 1968.
- 58) Brain, M. C. : Microangiopathic hemolytic anemia. *New Engl. J., Med.* **281** : 833, 1969.
- 59) Campbell, S. and Carre, I. J. : Fatal haemolytic uraemic syndrome and idiopathic hyperlipaemia in monozygotic twins. *Arch. Dis. Childh.*, **40** : 654, 1965.
- 60) 村上元孝, 小竹 要, 松田 保, 恩地一彰, 梅田俊彦, 西野哲夫 : 血栓症の成因, 日本臨床, **23** : 1734, 1965.
- 61) O'Brien, J.R. : Fat ingestion, blood coagulation and atherosclerosis. *Am. J. M. Sc.*, **234** : 373, 1957.
- 62) Moolten, S.E., Vroman, L., Vroman, G.M.S. and Goodman, B. : Role of blood platelets in thromboembolism. *Arch. Int. Med.*, **84** : 667, 1949.
- 63) Moolten, S.E., Jennings, P.B. and Solden, A. : Dietary fat and platelet adhesiveness in arteriosclerosis and diabetes. *Am. J. Cardiol.*, **11** : 290, 1963.
- 64) Philp, P.B. and Wright, H.P. : Effect of adenosine on platelet adhesiveness in fasting and lipaemic bloods. *Lancet.*, **31** : 208, 1965.