

## 医用材料への抗血栓性の 賦与について

三浦喜温\* 廣田晃一\*\*

### 1. はじめに

抗血栓性医用材料とは、血液と接触した場合に惹起される血液の凝血的な変化や材料表面での血栓の形成をできる限りあるいは完全に阻止する事を目的とした医用材料の事である。人工腎臓、人工血管、人工心肺、更には人工心臓の臨床応用など最近の人工臓器の発達には眼覚ましいものがあるが、これら人工臓器の中にはその性質上血液との接触が不可避なものも少なくない。しかし生体にとって異物であるそれら人工物が血液と接触すると、血液中の有形成分（特に血小板）や一連の蛋白質（特に凝固系に関与する酵素）が活性化され、最終的には血栓が形成される事になる。この血栓形成は、人工臓器の機能を損うという意味からも、また生体の機能を損う（例えば、微小な血栓が脳や肺のように毛細血管の多い部位に移行して塞栓を起こすなど）という意味からも、人工臓器の利用における重要な問題となっており、これを解決するために数多くの試みがなされてきた。

それらの試みは大きく分類すると、(1)血小板の粘着や凝固系の活性化といった血液との反応ができる限り少ない材料の合成、(2)血栓形成を抑制するような反応を積極的に行う性質の材料への賦与、(3)(1)と同様の事を生体由来の材料の化学的処理によって行うもの、の三種になる。これらの試みは、各々に一応の成果をあげており、その幾つかは実用化され、臨床に用いられている。しかし、それらはかならずしも充分な抗血栓性を有してはおらず、生体側の反応性を低下させる事（抗凝固剤の投与）によって不備

を補わねばならないのが現状である。

### 2. ヘパリン固定化材料

ヘパリンは血液凝固阻止作用を有する酸性ムコ多糖の一種であり、抗凝固剤として繁用されている。上述のように、人工臓器の利用に際しては、現在のところこのヘパリンその他の抗凝固剤の投与が必須であるが、これら抗凝固剤はその作用を人工臓器周辺のみにも止めておく事ができないので、直接関係のない生体の他の部位で逆に出血傾向が現われるなどの副作用を有する。

また、ヘパリンの血液凝固阻止作用は活性化凝固因子の阻害によるものであり、血液の流動状態を維持するためには効果的であるが、血小板の機能を抑制する事はできないので、必ずしも血栓の形成を阻止できる訳ではないと考えられている。

とはいえ、このヘパリンの凝固阻止作用は強力なものであり、この作用を人工臓器を構成する材料そのものに賦与しようとする試みが数多くなされている<sup>1)</sup>。これは、ヘパリンを共有結合法あるいはイオン結合法によって材料へ固定化し、その作用を発現させようとするものである。イオン結合法の場合、その効果は材料からのヘパリンの徐放性によるもので、根本的にはヘパリン投与と同一であり、長時間にわたって効果を発揮させる事は困難である。長時間にわたる抗凝固性を得るためには、安定な共有結合によってヘパリンを固定化する事が望ましい訳であるが、この共有結合法によるヘパリン固定化材料は、抗凝固性を示さないという臨床報告がなされている<sup>2)</sup>。この原因については明確にはされていないが、我々は、固定化技術の応用による効果的な材料への抗凝固性の賦与のための情報を得るために、共有結合法によるヘパリン

\* 三浦喜温 (Yoshiharu MIURA), 大阪大学, 薬学部, 教授, 工博

\*\* 廣田晃一 (Kouichi HIROTA), 大阪大学, 薬学部, 大学院 (博士課程), 生物化学工学

ン固定化材料の特性について検討を加えた<sup>3)</sup>。

Sepharose 4B, ポリビニルアルコール (PVA) あるいはポリヒドロキシエチルメタクリレート (Poly HEMA) を固定化担体として, CNBr 法によりヘパリンを固定化し, 血漿の凝固時間を測定する血漿  $Ca^{2+}$  再加時間 (PRCT) 法によって各々の活性を検討したところ, ゲル構造を有する Sepharose 4B にヘパリンを固定化した場合には PRCT の延長が認められた。しかしスポンジ構造を有する Poly HEMA においては PRCT の延長は比較的軽微であり, 更に平滑な平面構造を有する PVA では PRCT の延長は全くなく, 抗凝固性の効果を示さなかった。

純化トロンビンもしくは活性化第 X 因子を用い, Sepharose 4B を担体としたヘパリン固定化材料のこれら純化因子との反応性について検討したところ, ヘパリン固定化 Sepharose 4B は, これらの因子を結合する事ができるが, しかしそれを失活させる事はできない事が明らかになった。従って PRCT 法においてヘパリン固定化 Sepharose 4B の示した抗凝固性は, ヘパリンが凝固因子を阻害する事によって起こるのではなく, ヘパリンと結合した因子が Sepharose 4B のゲル構造に邪魔されて基質と十分に反応できない事に起因すると考えられる。実際に医用材料としてゲル構造を有するものが利用される事は極めて考えにくい事であり, 現実的にはヘパリン固定化材料が抗凝固性を示す事は困難であると考えられる。

### 3. AT III-ヘパリン固定化材料

ヘパリンは血漿に存在するアンチトロンビン III (AT III) と結合する事によって活性化凝固因子を阻害する。AT III はヘパリンの存否にかかわらず, 活性化凝固因子阻害能を有するが, ヘパリンが存在する事によってその阻害速度が増し, 殆ど瞬間的に阻害作用が認められるようになる。

ヘパリン固定化材料が抗凝固性を示さないのは, 材料に固定化されたヘパリンが活性化凝固因子を失活させないような様式で血漿 AT III と結合するためと思われる。そこで, 我々は,

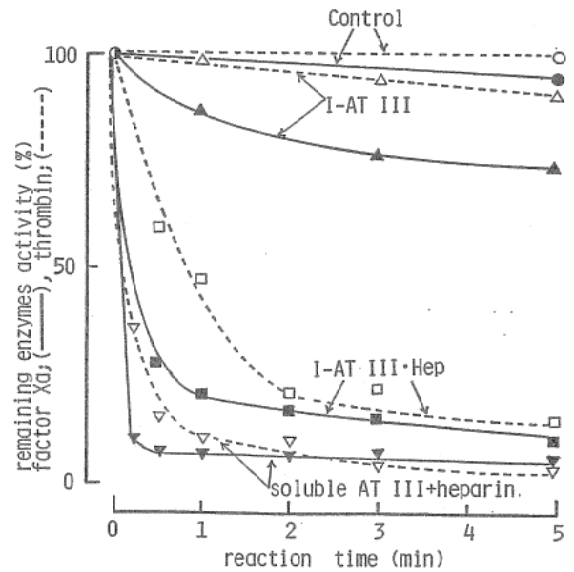




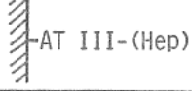
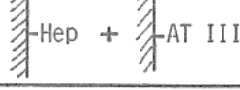

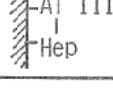
図1 Neutralizations of thrombin and factor Xa by immobilized preparations, or soluble AT III and heparin.

The immobilized preparation of 10mg, or soluble AT III and heparin, equivalent to the amounts coimmobilized on 10mg Sepharose 4B, was allowed to react with thrombin of 44  $\mu$ g or factor Xa 94  $\mu$ g at 37°C for the specified times. The remaining enzyme activity in supernatant was measured using a peptide-MCA.

AT III とヘパリンの複合体をあらかじめ形成させておき, これを材料に固定化する事によって, 効果的な抗凝固性を得る事を試みた<sup>4)</sup>。

担体として Sepharose 4B, シリコン (X-22-052, X-22-053), PVA, Poly HEMA を用い, ヘパリンの場合と同様に CNBr 法によって AT III-ヘパリン複合体を固定化し PRCT を測定したところ, Sepharose 4B を担体とした場合は著明に, 他の材料の場合にも対照と比べて明らかに PRCT を延長させる事を認めた。Fig. 1 に示した様に, AT III-ヘパリン固定化材料は遊離状 AT III-ヘパリン複合体と同様に極めて迅速に純化トロンビンおよび活性化第 X 因子を阻害しており, この短時間に最大阻害効果を発現するという性質は, 抗凝固性を得る上ですぐれた特性であると考えられる。この AT III-ヘパリン複合体による抗凝固性は, Table 1 に示した様に, AT III あるいはヘパリンをまず固定化し, 次いでその親和性によりヘパリンあるいは AT III を結合させた材料では顕

表1 Anticoagulative activity of various immobilized preparations

Preparation No.	Immobilization procedure	Schematic expression	Anticoagulative activity
1	Bovine serum albumin was immobilized (control)	 -BSA	—
2	Heparin was immobilized, AT III was bound to heparin	 -Hep-(AT III)	+
3	AT TTT was immobilized, heparin was bound to AT III	 -AT III-(Hep)	+
4	Heparin and AT III were immobilized separately	 -Hep +  -AT III	+
5	At III and heparin were coimmobilized	 -AT III   -Hep	++

著でなく、AT III-ヘパリン複合体として同時固定する必要がある。

#### 4. おわりに

以上、抗血栓性医用材料について、筆者らの研究を中心に述べてきたが、先にも記したように、抗凝固性のみを有する材料がすなわち抗血栓性を有する材料ではない。血栓の形成には、凝固系の活性化と共に血小板機能の活性化も重要な因子となっており、血小板機能の抑制につ

いても検討を重ねている。

#### 文 献

- 1) Gott, V.L., Whiffen, J.D. and Dutton, G. C. ; Science, **142**, 1297 (1963).
- 2) Bruck, S.D. ; J. Biomed. Mater. Res., **6**, 173 (1972).
- 3) Miura, Y., Aoyagi, S., Kusada, Y. and Miyamoto, K. ; J. Biomed. Mater. Res., **14**, 619 (1980).
- 4) Miura, Y., Aoyagi, S., Ikeda, F. and Miyamoto, K. ; Biochimie, **62**, 595 (1980).