

血小板フィブリノーゲン受容体阻害剤による体外循環時の血小板保護に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9456

血小板フィブリノーゲン受容体阻害剤による 体外循環時の血小板保護に関する基礎的研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任: 渡邊洋宇教授)

田 畑 茂 喜

体外循環を使用する開心術における重大な合併症に血液学的異常による出血がある。この原因として、血小板の希釈、体外循環回路での血小板の破壊や粘着、血小板の活性化に伴う凝集による血小板減少と機能低下が重要である。血小板フィブリノーゲン受容体である膜糖蛋白 (Glycoprotein, GP) II b/III a が血小板凝集に強く関与している。本研究では半減期が短い血小板 GP II b/III a 阻害剤 FK633 を用いて、GP II b/III a の制御が体外循環中の血小板保護効果を有するか検討した。雑種成熟イヌを用いて、60分間の常温体外循環を施行し、体外循環開始前にヘパリン投与と同時に FK633 (0.1 mg/kg) を静脈内に投与した FK 群 (n=6) と生理食塩水を投与した対照群 (n=6) の2群に分け、循環動態、呼吸機能、血液凝固系機能、出血時間についての体外循環前後の変動、並びに体外循環後の出血量を検討した。さらに各群1頭で体外循環で使用した膜型人工肺ホローファイバーの電子顕微鏡像を検討した。体外循環前後の血行動態、動脈血ガス分析、および凝固系指標には群間差を認めなかった。血液希釈を補正した%血小板数は、体外循環終了直前に FK 群で $59 \pm 10\%$ 、対照群で $38 \pm 15\%$ ($p < 0.01$)、プロタミン投与2時間後に FK 群で $83 \pm 10\%$ 、対照群で $58 \pm 22\%$ ($p < 0.01$) と FK 群で血小板数減少が有意に抑制された。%血小板凝集能は、体外循環中に FK 群で $13 \pm 12\%$ 、対照群で $35 \pm 9\%$ ($p < 0.01$) と FK 群で有意な血小板凝集抑制を認めたが、プロタミン投与2時間後では、FK 群で $65 \pm 17\%$ 、対照群で $79 \pm 13\%$ と血小板凝集能に差はなかった。人工肺ホローファイバーの電子顕微鏡像では、FK 群で血小板の吸着が抑制されていた。体外循環後の出血時間は FK 群では、プロタミン投与1時間後に回復し、プロタミン投与2時間後の出血量は FK 群で $73 \pm 23\text{ml}$ 、対照群で $111 \pm 44\text{ml}$ ($p=0.09$) と FK 群で少ない傾向にあった。以上から、GP II b/III a 阻害剤により、体外循環中の血小板凝集と血小板数の減少が抑制され、出血量が軽減される可能性が示唆された。

Key words cardiopulmonary bypass, platelet, glycoprotein II b/III a inhibitor, coagulation system, platelet anesthesia

体外循環を使用する開心術においては、ヘパリンの使用、血液希釈、さらに体外循環回路や血管外組織と血液成分の接触により、顆粒球、凝固・線溶系、並びに補体などが活性化される¹⁾。さらに血液学的異常による術中・術後出血²⁾、全身炎症反応の惹起³⁾による臓器障害⁴⁻⁶⁾などが生じる。これらの体外循環による侵襲のうち、血液学的異常による出血の原因として、血小板数の減少と機能低下が重要で未解決の課題である^{4) 7) 8)}。1978年 Addonizio ら⁹⁾はプロスタグランジン E₁ を用いた基礎研究において、体外循環時の血小板の過剰な活性化とそれに伴う凝集を抑制し、体外循環後の血小板数と機能を温存するという概念を発表した。その後、体外循環改良の様々な試みがなされ、現在、血小板麻酔 (platelet anesthesia) と呼ばれる新しい戦略が注目されている^{11) 10)}。こうした背景の中、体外循環中の血小板の吸着および凝集にはフィブリノーゲンレセプターである糖蛋白 (glycoprotein, GP) II b/III a が関与する¹¹⁾ことに注目し、GP II b/III a 阻害剤を用いた研究が報告されている^{10) 12) 10)}。しかし、多くは半減期が長いという特徴があるため臨床応用さ

れるには至っていない。

本研究では、半減期の短い血小板 GP II b/III a 受容体阻害剤である FK633 を用いて体外循環時の血小板保護効果を検討した。

対象および方法

I. 実験動物

実験動物として体重 9.7 ~ 21.0kg ($15.0 \pm 4.4\text{kg}$) の雑種成熟イヌ 14頭を用いた。実験群は、体外循環前に FK633 (藤沢薬品、東京) を投与した FK 群と投与しなかった対照群の2群に分け、循環動態及び血液・凝固系の測定用に各群6頭を用い、さらに各群1頭づつを体外循環後の人工肺の電子顕微鏡像の検討に用いた。

II. FK633 の構造と投与方法

FK633 は GP II b/III a 阻害剤のうちペプチド誘導体に分類され (図1)、血中の半減期は 0.52 時間と短い¹⁷⁾。イヌを用いたモデルでは 0.1mg/kg の静脈内投与で、ADP による血小板の凝集

平成11年11月19日受付、平成11年12月20日受理

Abbreviations: ACT, activated clotting time; APTT, activated partial thromboplastin time; CPB, cardiopulmonary bypass; GP, glycoprotein; Ht, hematocrit; PaO₂, arterial oxygen pressure; PT, prothrombin time; TAT, thrombin-antithrombin III complex;

が有意に抑制されたと報告されている¹⁷⁾。これに基づき投与量を0.1mg/kgに設定し体外循環前に静脈内に投与した。

Ⅲ. 実験モデルの作成

塩酸ケタミン (三共, 東京) 20mg/kgを筋肉内に投与した後, ペントバルビタールナトリウム (田辺製薬, 大阪) 30mg/kgおよびパンクロニウムブロマイド (日本オルガノン, 東京) 0.1mg/kgを静脈内に投与し, 気管内挿管下にHarvard型従量式人工呼吸器 (Bodine Electric Company, Chicago, USA) を用い, 純酸素による調節呼吸を行った。また実験中適宜ペントバルビタールナトリウムを静脈内に追加投与し, 全身麻酔を維持した。四肢誘導で心電図をモニターし, 右大腿動脈よりカテーテルを挿入し動脈圧をモニターした。右大腿静脈よりSwan-Ganzカテーテル (American Edwards Laboratories, Santa Ana, USA) を挿入し, 心拍出量, 肺動脈圧, 肺動脈楔入圧を測定した。右胸骨傍切開 (第2~4肋間) により心臓を露出した後, 上行大動脈を剥離し, テーピングした。心電図及び血行動態指標はポリグラフシステムRM-6000 (日本光電, 東京) にて連続記録した。

ヘパリンナトリウム (武田薬品, 東京) 200 単位/kgを静脈内

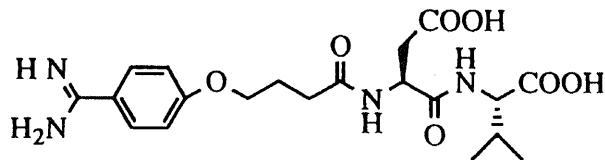


Fig. 1. Chemical structure of FK633.

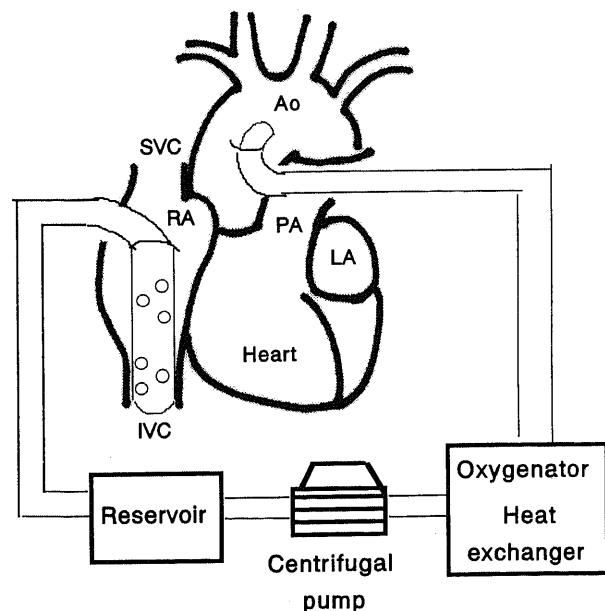


Fig. 2. Schematic diagram of the experiment. Cardiopulmonary bypass was established by cannulation of the right atrium for venous return and the ascending aorta for arterial inflow. Ao, aorta; PA, pulmonary artery; RA, right atrium; LA, left atrium; SVC, superior vena cava; IVC, inferior vena cava.

に注入した後, FK群では, 0.1mg/kgのFK633を, 対照群では生理食塩水を静脈内に注入した。ヘパリンナトリウム100 単位/kgを体外循環充填液に注入した後, 右房脱血, 上行大動脈送血による体外循環を開始した (図2)。送血ポンプには遠心ポンプ (テルモ, 東京) を用い, 人工肺には膜型人工肺 (テルモ) を用いた。体外循環充填液としてヒドロキシエチルデンプン (杏林製薬, 東京), 乳酸リンゲル液 (大塚製薬, 東京), D-マンニトール (日研化学, 東京) と7% NaHCO₃ (大塚製薬) を用いた。全身灌流温は37℃となるように恒温槽 (Sarns, Mich, USA) を用い調節した。全身灌流量は90 ml/分/kg, 灌流圧は60~80 mmHgとした。血液ガス分析装置170 (Corning, 東京) を使用して体外循環開始後, 適宜動脈血ガス分析を行い, 動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO₂) が200~300mmHgに, 動脈血二酸化炭素分圧が35~40mmHgとなるように人工肺吹送ガスの酸素濃度を調節し, さらに, pHが7.45前後に, Base excessが±2の範囲内になるように補正した。体外循環は60分間継続し, 終了後に1.5倍の硫酸プロタミン (武田薬品) でヘパリンを中和した。その後, 2時間の観察を行った。

Ⅳ. 測定項目および測定方法

1. 循環動態

体外循環開始前でヘパリンおよびFK633の投与前及び投与後, さらに体外循環終了後のプロタミン投与直後, プロタミン投与1時間後及び2時間後に心拍数, 血圧, 肺動脈圧, 右房圧, 肺動脈楔入圧, 心拍出量を測定し, 心拍出量係数, 末梢血管抵抗, 肺血管抵抗, 左室仕事量係数を次式から算出した。

$$\cdot \text{心拍出量係数 (ml/分/kg)} = \text{心拍出量/体重} \times 1000$$

$$\cdot \text{末梢血管抵抗 (dyne} \cdot \text{秒} \cdot \text{cm}^{-5})$$

$$= (\text{平均大動脈圧} - \text{右房圧}) / \text{心拍出量} \times 80$$

$$\cdot \text{肺血管抵抗 (dyne} \cdot \text{秒} \cdot \text{cm}^{-5})$$

$$= (\text{平均肺動脈圧} - \text{左房圧}) / \text{心拍出量} \times 80$$

$$\cdot \text{左室仕事係数 (g} \cdot \text{m/kg)}$$

$$= \text{心拍出量/心拍数} \times (\text{平均大動脈圧} - \text{左房圧}) \times 0.0136 / \text{体重}$$

2. 血液・凝固系検査

経時的に採血を行い, 血算, 血小板数, 血小板凝集能, 活性化凝固時間 (activated clotting time, ACT), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time, APTT), プロトロンビン時間 (prothrombin time, PT), フィブリノーゲン量, トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体 (thrombin-antithrombin Ⅲ complex, TAT) を測定した。測定時点はヘパリンとFK633または生食の投与前, これらの投与5分後, 体外循環開始5分後, 30分後, 体外循環終了直前, プロタミン投与直後, プロタミン投与1時間後及び2時間後の8点とした (図3)。以下に各項目の測定法を述べる。

1) 血算

赤血球数の測定にはシーフローDCインピーダンス方式, 白血球数の測定にはRF/DCインピーダンス方式, ヘモグロビン量の測定にはSLSヘモグロビン法, ヘマトクリット (Hematocrit, Ht) の測定にはパルス波高値検出法を用いた。

2) 血小板数

血小板数はシーフローDCインピーダンス方式を用いて測定した。測定値は血液希釈による影響を除くため次式による百分率で表した。

$$\% \text{修正血小板数}$$

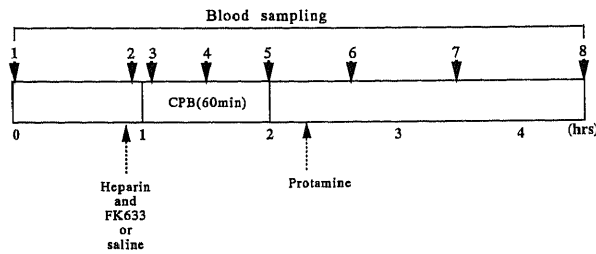


Fig. 3. The experimental design and blood sampling time. CPB, cardiopulmonary bypass. Blood sampling 1, just before the skin incision; Blood sampling 2, 5 minutes after administration of heparin and FK633 or saline; Blood sampling 3, 4, and 5, 5 minutes, 30 minutes, and 60 minutes after the start of CPB; Blood sampling 6, 7, and 8, 10 minutes, 60 minutes, and 120 minutes after administration of protamine.

$$= (\text{測定時点血小板数} / \text{体外循環前血小板数}) \times (\text{体外循環前Ht} / \text{測定時点Ht}) \times 100$$

3) 血小板凝集能

4mlの血液を採取し、3.8%クエン酸溶液0.4mlを素早く混和した。600 μ lの全血を3,000回転/分で10分間遠心分離し、少血小板血漿211 μ lを採取した。また1400 μ lの全血を800回転/分で10分間遠心分離し、多血小板血漿211 μ lを採取した。多血小板血漿にADP 100 μ mol/Lを加えた血小板凝集を、少血小板血漿を対照とした百分率で求めた。測定にはHema Tracer 601 (東京光電, 東京)を用いた。測定値は、体外循環前かつヘパリン投与前の値に対する百分率で表した。

4) ACT

活性化凝固時間は内因系凝固活性を表し、全血凝固時間、カルシウム再加時間、APTTと相関する検査項目である。Hemocrome Coagulation Timer Model 800 (International Technidyne Corporation, Metuchen, USA)を用いて測定した。

5) APTT

主に内因系凝固活性を総合的に評価する検査項目である。2mlの血液を採取し、3.8%クエン酸溶液0.2mlを素早く混和した。遠心分離し、取り出した血漿に十分量の磷脂質と異物面様作用を持つ物質を添加した後、塩化カルシウム液を加え凝固までの時間を測定し求めた。

6) PT

第七, 第十一, 第五, 第十因子, プレカリクレイン, 高分子キニノーゲンの各凝固因子以外の, 外因系凝固活性を総合的に評価する検査項目である。あらかじめ37 $^{\circ}$ Cで加温した被検血漿に塩化カルシウム入りの高濃度の組織トロンボプラスチンを加えた後, APTTと同様に凝固までの時間を測定し求めた。

7) フィブリノーゲン量

被検血漿にトロンビンを加えフィブリンクロットの生成時間を測定することによって求めた。

8) TAT

凝固系の活性に伴って活性化されたプロトロンビンは, アンチトロンビンIIIにより即座に中和され, トロンビンを直接測定することは不可能であるためTATを測定した。TATは凝固系の亢進を直接反映しており, ELISAにより測定した。

3. 出血時間

手術開始前, およびプロタミン投与直後, プロタミン投与1時間後及び2時間後の出血時間を測定した。方法は, 耳介を穿

刺するDuke法に準じた¹⁵⁾。

4. 出血量

プロタミン投与後の吸引による胸腔内出血量を時間毎に測定した。

5. 人工肺の電顕像

体外循環使用後の膜型人工肺ホローファイバーを生食で洗浄し, 約1cm²を切り取り, 電顕像検索用とした。膜型人工肺ホローファイバーは, 2.5%グルタルアルデヒド (0.1Mカコジル酸緩衝液 pH 7.4) にて4 $^{\circ}$ C, 60分間前固定した後, 2%四酸化オスミニウム (0.1Mカコジル酸緩衝液 pH 7.4) にて4 $^{\circ}$ C, 120分間後固定を行った。ついでエタノール系列で脱水し, 100%エタノールおよび酢酸イソアミルを1:1で混和した溶液で置換した。その後標本を乾燥させ, イオンスパッタ法を用いて金パラジウムでコーティングを行った。標本はJSM-5400型電子顕微鏡 (日本光電) にて直接倍率500~2,000倍で観察した。

V. 統計学的検定法

結果はすべて $\bar{x} \pm SD$ で表記した。循環動態, 血液・凝固系検査, ガス分析, 出血時間の群内因子および両群間の差の検定には反復測定のある二元配置分散分析法を用いた。多重比較には, 体外循環前値と比較するためにDunnnettの方法を用い, 同時に群間比較を行った。なお, 検定は統計ソフトSPSSに依った。また, 両群間の体外循環後の出血量の差の検定にはStudentのt検定を用いた。いずれの場合も $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

成 績

I. 循環動態

心拍数は実験中, 両群共に有意な変化を認めなかった。収縮期血圧は, 両群共に体外循環後有意に低下したが, 両群間に差はなかった。肺動脈収縮期圧, 肺動脈楔入圧は両群共に体外循環前後を通して有意な変化を認めなかった。心拍出量係数は, 体外循環前後を通して有意な変化を認めなかった。末梢血管抵抗は, 両群共に体外循環後有意に低下したが両群間に差はなかった。肺血管抵抗は, 体外循環前後を通して有意な変化を認めなかった。左室仕事係数は両群共に体外循環後有意に低下したが両群間に差はなかった (表1)。

II. 血液・凝固系検査

1. Ht値

Ht値は, 両群とも体外循環中および体外循環後に希釈の影響で有意に減少したが, 両群間に有意差はなかった (図4)。

2. 血小板数

%修正血小板数は, 体外循環終了直前でFK群59 \pm 10%, 対照群38 \pm 15% ($p < 0.01$)で, プロタミン投与2時間後にFK群83 \pm 10%, 対照群58 \pm 22% ($p < 0.01$)であり, FK群で有意に血小板数が多かった (図5)。

3. 血小板凝集能

%血小板凝集能は, ヘパリンおよびFK633投与後でFK群22 \pm 13%, 対照群51 \pm 31% ($p < 0.01$), 体外循環中でFK群13 \pm 12%, 対照群35 \pm 9% ($p < 0.01$)とFK群で有意に抑制された。しかし, プロタミン投与2時間後ではFK群65 \pm 17%, 対照群79 \pm 13%と両群間に差は認めなくなった (図6)。

4. ACT

ACTは両群共にヘパリン投与後有意に延長し, プロタミン中和後は回復したが, 両群間に有意差は認められなかった (図7)。

5. APTT

APTTはヘパリンおよびFK633の投与によって両群共に有意に延長したが⁸, 両群間に有意差は認められなかった. また, 体外循環中は両群共に全例で測定範囲を越えて延長し, 体外循環

終了後も依然延長していたが, 両群共に3例で体外循環前値程度にまで回復した(表2).

6. PT

PTは体外循環中は両群ともに全例で測定範囲を越えて延長

Table 1. Hemodynamic data

Parameters	Group	Baseline	After heparin and FK633	After protamine		
				10 min	60 min	120 min
Heart rate (beats/min)	Control	154±24	152±25	162±20	164±23	161±21
	FK633	151±15	148±17	172±16	165±15	158±22
Systolic blood pressure (mmHg)	Control	126±26	133±29	72±20 *	70±16 *	75±10 *
	FK633	145±18	146±23	70±12 *	70±10 *	71±17 *
Systolic pulmonary artery pressure (mmHg)	Control	16±4	16±4	16±4	17±5	17±2
	FK633	20±1	20±1	18±3	19±3	19±3
Left atrial mean pressure (mmHg)	Control	6±2	6±2	9±2	7±2	8±2
	FK633	7±2	8±2	8±2	8±3	8±4
Cardiac index (ml/min/kg)	Control	167±52	166±59	157±51	136±60	153±65
	FK633	151±68	155±80	126±54	128±45	124±43
Systemic vascular resistance (dyne·sec·cm ⁻⁵)	Control	4269±2590	4420±2385	1826±519 *	2086±604 *	1978±462 *
	FK633	4453±963	4509±1197	2251±976 *	2124±849 *	2043±681 *
Pulmonary vascular resistance (dyne·sec·cm ⁻⁵)	Control	259±145	223±143	177±145	345±282	259±177
	FK633	235±101	320±105	279±172	325±198	320±175
Left ventricular stroke work index (g·m/kg)	Control	1.43±0.61	1.51±0.69	0.54±0.29 *	0.44±0.22 *	0.542±0.28 *
	FK633	1.45±0.59	1.55±0.80	0.41±0.14 *	0.42±0.12 *	0.416±0.14 *

Each value represents as $\bar{x} \pm SD$. Baseline, before administration of heparin and FK633; 10 min, 60 min and 120min, 10, 60 and 120 min after administration protamine; *P<0.01 versus Baseline value within groups by Dunnett's test.

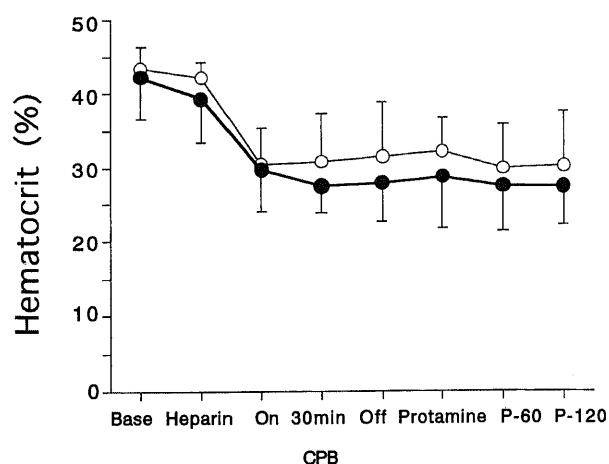


Fig. 4. Changes in hematocrit. Base, before administration of heparin and GP II b/III a inhibitor; Heparin, 5 minutes after administration of heparin and GP II b/III a inhibitor before cardiopulmonary bypass (CPB); On, 5 minutes after the start of CPB; 30min, 30 minutes after the start of CPB; Off, 60 minutes after the start of CPB; Protamine, 10 minutes after administration of protamine; P-60 and P-120, 60 and 120 minutes after administration of protamine, respectively. ○, the control group; ●, the FK group. Each value represents as $\bar{x} \pm SD$.

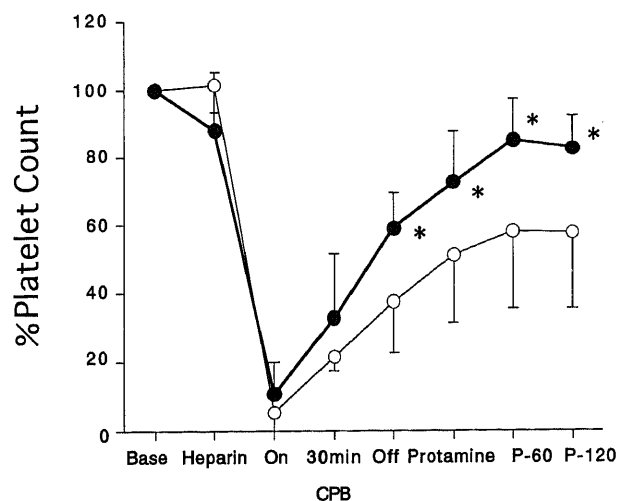


Fig. 5. Changes in hematocrit-corrected platelet counts. Platelet counts are normalized for the baseline value at each time point. * p<0.01 vs the control group by repeated-measures analysis of variance. Abbreviations and symbols are as in Fig.4. Each value represents as $\bar{x} \pm SD$.

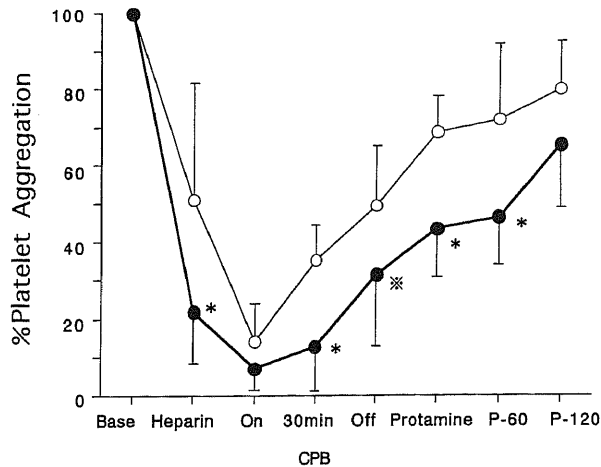


Fig. 6. Changes in platelet aggregation induced by ADP. Data are normalized for the baseline value. ※ $p < 0.05$ vs the control group, * $p < 0.01$ vs the control group, by repeated-measures analysis of variance. Abbreviations and symbols are as in Fig. 4. Each value represents as $\bar{x} \pm SD$.

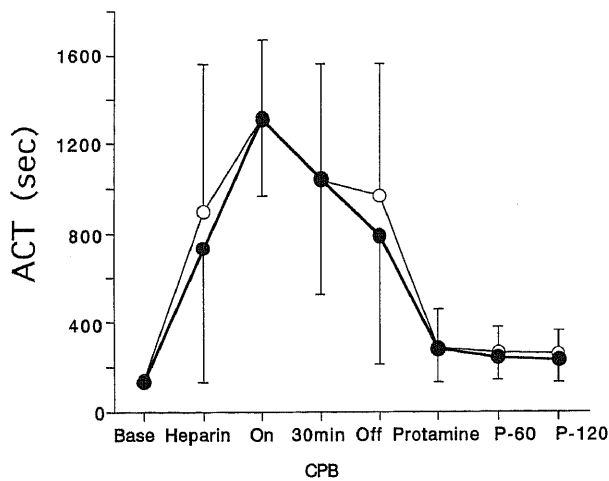


Fig. 7. Changes in activated clotting time. No significant difference between the groups by repeated-measures analysis of variance. Abbreviations and symbols are as in Fig. 4. Each value represents as $\bar{x} \pm SD$.

した。体外循環終了後は依然延長していたが、体外循環前値程度にまで回復した例が認められ、対照群の1例に対しFK群では3例あった(表2)。

7. フィブリノーゲン量

両群共に、体外循環開始後は測定感度以下となった(表2)。

8. TAT

TATは両群ともに体外循環中に上昇し、プロタミン投与後に体外循環前値より有意に上昇したが、両群間に有意差は認められなかった(図8)。

Ⅲ. 動脈血ガス分析

PaO_2 は両群ともに体外循環後に有意に低下したが、両群間に有意差はなかった(表3)。

Ⅳ. 出血時間

出血時間は両群ともに体外循環後有意に延長したが、FK群ではプロタミン投与1時間後に回復し、体外循環前値と有意差がなくなった(図9)。

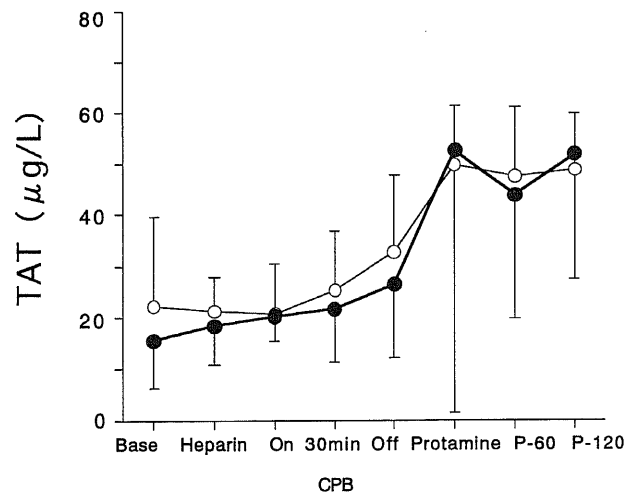


Fig. 8. Changes in thrombin-antithrombin III complex. No significant difference between the groups by repeated-measures analysis of variance. Abbreviations and symbols are as in Fig. 4. Each value represents as $\bar{x} \pm SD$.

Table 2. Hematologic variables

Parameters	Group	Baseline	After heparin and FK633	CPB			After protamin		
				On	30 min	Off	10 min	60 min	120 min
APTT (sec)	Control	15.0 ± 0.2	105 ± 60 ※	>200	>200	>200	95 ± 82 ※	123 ± 86 *	117 ± 92 *
	FK633	15.3 ± 0.5	95 ± 54 ※	>200	>200	>200	130 ± 90 *	127 ± 89 *	129 ± 89 *
PT (sec)	Control	5.1 ± 0.3	10.2 ± 1.6	>200	>200	>200	168 ± 78 *	168 ± 78 *	168 ± 78 *
	FK633	4.8 ± 0.1	8.8 ± 1.8	>200	>200	>200	135 ± 105 *	104 ± 105 *	104 ± 105 *
Fibrinogen (mg/dl)	Control	149 ± 27	141 ± 37	<50	<50	<50	<50	<50	<50
	FK633	171 ± 12	150 ± 19	<50	<50	<50	<50	<50	<50

Each value represents as $\bar{x} \pm SD$. APTT, activated partial thromboplastin time; PT, prothrombin time; CPB, cardiopulmonary bypass; Baseline, before administration of heparin and FK633; On, 5 min after the start of CPB; 30 min, 30 min after the start of CPB; Off, 60 min after the start of CPB; 10 min, 60 min and 120 min, 10 min, 60 min and 120 min after administration of protamine; ※ $p < 0.05$ versus Baseline value within groups by Dunnett's test; * $p < 0.01$ versus Baseline value within groups by Dunnett's test.

Table 3. Arterial oxygen pressure

Parameters	Group	Baseline	After heparin and FK633	After protamin		
				10 min	60 min	120 min
PaO ₂ (mmHg)	Control	245 ± 77	286 ± 73	105 ± 44	92 ± 35	90 ± 36
	FK633	295 ± 72	297 ± 69	127 ± 39	118 ± 57	91 ± 23

Each value represents as $\bar{x} \pm SD$. Baseline, before administration of heparin and FK633; 10min, 60min and 120min, 10, 60 and 120 minutes after administration of protamine.

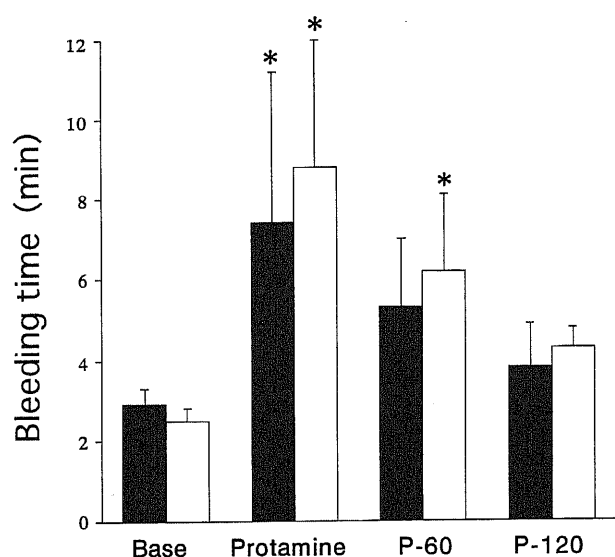


Fig. 9. Comparison of bleeding time before and after CPB. Abbreviations are as in Fig.4. * $p < 0.01$ vs baseline value within groups by Dunnett's test. ■, the FK group; □, the control group; bar, SD.

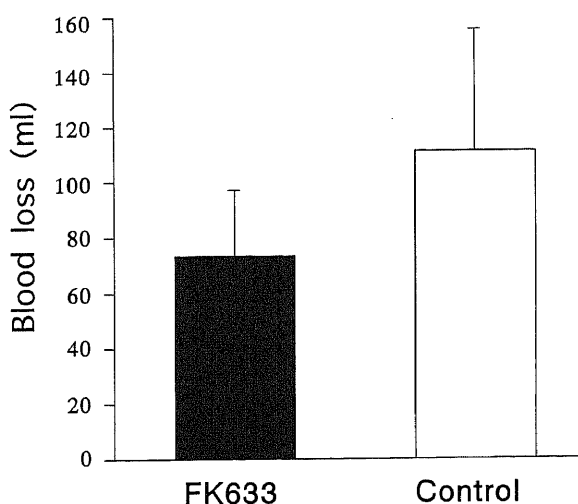


Fig. 10. Comparison of blood collected from the chest cavity after CPB. No significant difference between the groups by Student's t test. ■, the FK group; □, the control group; bar, SD.

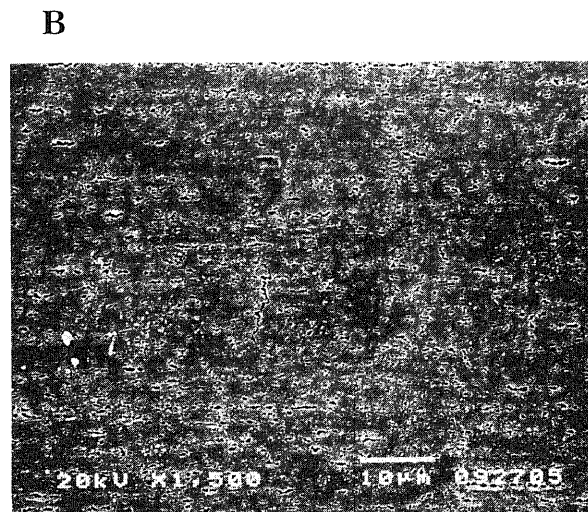
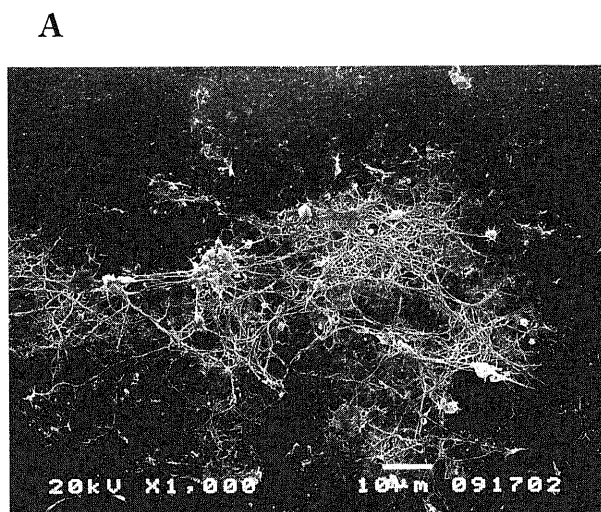


Fig. 11. Scanning electron micrograph of the oxygenator membrane. (A), Photomicrograph of a control dog without FK633 treatment. The outer surface of the membrane is covered with adherent platelets. (B), In a dog treated with FK633, the surface of the oxygenator membrane is free from platelets.

V. 出血量

プロタミン投与後2時間までの吸引による胸腔内出血量は、FK群73±23ml, 対象群111±44ml (p=0.09) とFK群で少ない傾向にあったが有意差はなかった(図10).

VI. 人工肺の電顕像

各群の体外循環後の膜型人工肺ホローファイバーの電顕像を図11に示す。対照群では凝集した血小板が多く吸着している像が認められたが(図11A), FK群では血小板の吸着は対照群と比べ軽度であった(図11B).

考 察

1953年, Gibbon¹⁸⁾が心房中隔欠損閉鎖術に初めて体外循環を用いて成功して以来, 開心術は様々な形で進歩を遂げた. 近年の心臓外科手術の低侵襲化の潮流を受け, 体外循環の低侵襲化は開心術における重要課題である. 体外循環は回路, ポンプおよび人工肺などによって構成され, 異物面と血液成分の接触は不可避であり, 凝固系の活性化¹⁹⁾を抑制する目的でヘパリンが使用される. 体外循環回路の充填には晶質液や膠質液が用いられるが, 体外循環の開始とともに全身の循環血液は希釈される. これら非生理的な環境下で, 生体には血液学的異常²⁾や全身炎症反応³⁾が生じる. これらの侵襲のうち, 血液学的異常による術中・術後の出血は体外循環の特異的な合併症である²⁷⁾. この原因の一つとして血小板の過剰な活性化に続く血小板数減少および血小板機能低下が挙げられる⁴⁷⁾⁸⁾.

主な血小板機能は粘着と凝集であり, その機能活性過程で血小板膜糖蛋白が関与する. 血小板膜糖蛋白は血小板間や血小板と内皮下組織間の接着に関与する分子で, このうちGP II b/III aは, α_{IIb} と β_3 の2つのサブユニットからなるインテグリン・スーパーファミリーに属している²⁰⁾. これらは, 血管内皮下組織や血漿中に存在するフィブリノーゲン, ビトロネクチン, von Willebrand 因子, フィブロンネクチンなどの粘着蛋白の受容体として, 細胞接着現象の主役をなし, 血小板機能を調節し血栓形成という生体にとって重要な機能を担っている. GP II b/III aは, 1038個のアミノ酸からなるGP II b (分子量136kDa) と788個のアミノ酸からなるGP III a (分子量99kDa) が複合体を形成し, 血小板膜上に存在している. 1つの血小板に約5万から8万個程度のGP II b/III aが存在する. 血液の中ではフィブリノーゲンが他の粘着蛋白よりも豊富に存在するために, GP II b/III aとフィブリノーゲンの相互作用が血小板凝集に最も重要となる. GP II b/III aは, ADP, トロンビン, コラーゲン, エピネフリンなどのアゴニストの刺激により活性化状態となりフィブリノーゲンと結合する²¹⁾.

開心術における血小板活性化の機序は, 体外循環開始前のヘパリンの投与により始まる²²⁾. ヘパリン自身が血小板を活性化し, また活性化因子に対する血小板の感受性を増加させ出血時間を延長させる²³⁾. 体外循環が開始されると, 回路内特に人工肺への粘着や物理的衝撃により血小板が破壊される⁸⁾. さらに血液が異物面と接触することで生じたトロンビン¹⁹⁾により血小板は活性化され, GP II b/III aが発現する. これによりフィブリノーゲンを介した凝集が起り, 回路内に吸着したフィブリノーゲンへ血小板が粘着する²⁴⁾. 体外循環の進行とともに, 活性化された補体²⁵⁾, トロンビン²⁶⁾, プラスミン²⁵⁾, 内皮細胞により産生される血小板活性化因子, エピネフリン, さらに低体温²⁷⁾ などにより血小板の活性化が進行する. この過剰な血

小板凝集の進行により血小板の消費と機能低下が生じ, 血小板数が30~50%減少する²⁴⁾. また, 微小血栓が形成され重要臓器障害がもたらされる²⁸⁾.

このような背景のなか, 体外循環中の血小板動態に関する研究が積み重ねられてきた. 血液ポンプの血小板に対する影響に関するものとして, Moenら²⁹⁾およびYoshikaiら³⁰⁾はローラーポンプと遠心ポンプを比較し, またTaylorら³¹⁾は拍動流と非拍動流を比較し, いずれも差を認めなかった. 人工肺について, Teohら³²⁾は気泡型人工肺と比較し膜型人工肺で血小板の凝集が抑制されたと報告した. 近年では, ヘパリンコーティング回路の生体適合性について多くの報告があるが, その血小板の活性化抑制については見解が一致していない³³⁾³⁴⁾³⁵⁾³⁶⁾. また, 体外循環中にプラスマフェレーシスを用いて多血小板血漿を分離し, 術後に返血する方法³⁷⁾も考案された.

一方, 過剰な血小板の活性化および凝集を薬物で抑制して体外循環中の血小板を保護する血小板麻酔 (platelet anesthesia) という概念¹¹⁾¹⁰⁾が提唱された. これは血小板機能を体外循環中のみ特異的に抑制することで, 血管外組織や体外循環回路での血小板粘着, 凝集を最小限とし, 術後の血小板数減少と機能低下を予防することを目的とする. 1978年Addonizioら⁹⁾がプロスタグランディンE₁を用いた基礎研究により初めて血小板保護効果を報告した. その後, ジピリダモール³⁸⁾, プロスタサイクリン³⁹⁾およびその類似物質⁴⁰⁾, デスマプレッシン⁴¹⁾などが検討された. ジピリダモールは半減期が約100分と長く, プロスタサイクリンは制御困難な低血圧をもたらすために一般化せず, デスマプレッシンは有用性はないと結論された.

これらの薬剤に対し, 体外循環中の血小板の吸着および凝集にGP II b/III aが関与すること¹¹⁾に着目し, GP II b/III a 阻害剤の有用性が現在検討されている. GP II b/III a 阻害剤は抗体と非抗体に分類され, 非抗体はさらにペプチド, 蛋白質, 非ペプチドに分類されている⁴²⁾. 抗体は血液の中で少なくとも5~6日は存続し, 再投与はアレルギーショックをきたす可能性がある. 一方, ペプチドおよび非ペプチドの寿命は数時間単位である. GP II b/III a 阻害剤はADPによる血小板凝集抑制能がアスピリンの6~9倍, 血液中では5~10倍の効力があるといわれる⁴³⁾. 急性冠症候群や冠動脈カテーテルインターベンション治療後の血栓形成予防として臨床試験が重ねられている⁴²⁾.

GP II b/III a 阻害剤の体外循環への使用については, Musialら¹²⁾がディスインテグリンと呼ばれるフィブリノーゲンと同じアルギニン-グリシン-アスパラギン酸配列を有するペプチドを模擬した体外循環回路に用いたことに始まる. Shigetaら¹³⁾はヒツジを用いた長期補助循環モデルへの応用に発展させた. この後, ペプチド誘導体であるラミフィバン¹⁴⁾, チロフィバン¹⁰⁾およびペプチドであるインテグレリン¹⁵⁾¹⁶⁾の有用性がイヌあるいはヒトを用いた体外循環モデルで検討された. しかし, 体外循環への応用には半減期が長く, 未だ臨床応用されていない. 本研究で用いたFK633はペプチド誘導体のGP II b/III a 阻害剤で, 血中の半減期は0.52時間と短く¹⁷⁾, 体外循環への応用が期待される.

本研究では, 臨床の心臓手術にできるだけ近い条件でイヌの体外循環モデルを作成し, FK633の血小板保護効果を検討した. 体外循環後の血小板数の減少はFK群で有意に抑制された. このことは, 同じイヌの体外循環モデルを用いたCarteauxら¹⁴⁾のラミフィバンの検討やUthoffら¹⁵⁾のインテグレリンの検討と

同様の結果であった。しかし、本研究では体外循環開始早期の血小板数減少を抑制するには至らなかった。体外循環開始後、血小板数が徐々に回復した理由として全身血液希釈が早期よりも均等になり血小板数が安定したこと、Wengretら⁴⁴⁾が提唱した骨髓から放出される血小板による補充が考えられる。しかし、Zillaら²⁴⁾のいう生理的な血小板数の回復よりも顕著であったことから、GP II b/III a 阻害剤により血小板が保護され血小板数の回復が促進された可能性がある。

本研究では、血小板機能の指標としてADPに対する血小板凝集能を用いた。FK633が実用化される条件は、体外循環中においてのみ血小板凝集が抑制され、体外循環後のプロタミン投与後に作用が消失することである。FK群で、体外循環中は血小板凝集が有意に抑制されたが、血小板凝集能の回復にはプロタミン投与後2時間を要した。FK633の半減期が0.52時間であるにもかかわらず凝集能抑制が遷延した因子として、FK633の投与量、腎排泄量などが挙げられる。投与量はイヌの冠動脈血栓抑制効果を検討したモデル¹⁷⁾と同様に0.1mg/kgとしたが、60分間の体外循環モデルには過剰であった可能性や体外循環中の尿排泄に個体差があることが考えられる。

さらにFK633による凝固系への影響を検討した。凝固系の検査では、FK群でプロトロンビン時間の回復例が多かったことは、GP II b/III a 阻害剤が外因系凝固活性を抑制した可能性を示唆する。最近、抗GP II b/III a 抗体⁴⁵⁾やGP II b/III a 阻害剤⁴⁶⁾がトロンビン形成を抑制することが報告された。しかし、トロンビン産生の指標であるTATにはFK633による差は認めなかった。FK633に血液凝固を抑制する有意な所見は得られず、ヘパリンは通常投与量が必要であると考えられた。

体外循環後には呼吸機能障害が生じやすく⁴⁾、好中球の活性化が関与する⁴⁷⁾⁴⁸⁾ことが知られている。Zehrら⁴⁸⁾のブタを用いた体外循環モデルでは血小板活性化因子阻害剤により呼吸機能や肺組織の病理学的所見が改善したと報告されたが、Uthoffら¹⁵⁾のインテグレリンを用いた検討では、血小板凝集を抑制しても肺障害は抑制されなかった。本研究では、体外循環後の肺血管抵抗および動脈血ガス分析を検討したが差はなかった。

結 論

半減期の短いGP II b/III a 阻害剤を体外循環中に使用し、循環動態、呼吸機能、血液凝固系機能の変動、および体外循環後の出血量、さらに人工肺の電子顕微鏡像を検討し以下の結論を得た。

1. 循環動態および動脈血ガス分析結果は、体外循環後に両群間で差を認めず、FK633は影響を与えなかった。
2. FK群で、体外循環終了前から体外循環終了後にかけて血小板数の減少が有意に抑制された。
3. FK群で、体外循環中には血小板の凝集能は有意に抑制されたが、プロタミン投与2時間後には回復した。また、膜型人工肺ホローファイバーの電顕像で血小板の吸着が抑制された。
4. FK633の凝固系への影響は少なく、通常量のヘパリン投与が必要である。
5. FK群では、体外循環後の出血時間延長の回復が早く、出血量は少ない傾向にあった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました渡邊洋宇教授に深

基なる謝意を捧げます。また直接御指導を賜りました川筋道雄助教授、血液凝固検査に関し御助言、御指導を賜りました臨床検査医学講座橋本琢磨教授、電子顕微鏡像に関し御助言、御指導を賜りました分子病態医学講座中西功夫教授、統計学的処理に関し御助言を賜りました公衆衛生学講座中村裕之助教授に深く感謝いたします。また、電子顕微鏡像作成に御協力をいただきました病理学第一講座徳田良子主任、電子顕微鏡センター横田輝一主任に深く感謝いたします。最後に、血小板凝集能測定などに御尽力、御指導頂いた田中洋子技師をはじめ金沢大学第一外科学講座各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Edmunds LH Jr. Extracorporeal perfusion. In Edmunds LH Jr (eds) cardiac surgery in the adult, 1st ed, p255-294, McGraw-Hill Co Inc, New York, 1997
- 2) Woodman RC, Harker LA. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass. Blood 76: 1680-1697, 1990
- 3) Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 55: 552-559, 1993
- 4) Ratliff NB, Young WG Jr, Hachel D, Mikat E, Wilson JW. Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation: An ultrastructural study. J Thorac Cardiovasc Surg 65: 425-432, 1973
- 5) Abel RM, Buckley MJ, Austen WG, Barnett GO, Beck CH Jr, Fischer JE. Etiology, incidence and prognosis of renal failure following cardiac operations: Results of a prospective analysis of 500 consecutive patients. J Thorac Cardiovasc Surg 71: 323-333, 1976
- 6) Shaw PJ, Bates D, Cartidge NEF, French JM, Heaviside D, Julian DG, Shaw DA. Neurologic and neuropsychological morbidity following major surgery: Comparison of coronary artery bypass and peripheral vascular surgery. Stroke 18: 700-707, 1987
- 7) Harker LA, Malpass TW, Branson HE, Hessel EA II, Slichter SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective α -granule release. Blood 56: 824-834, 1980
- 8) Weerasinghe A, Taylor KM. The platelet in cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 66: 2145-2152, 1998
- 9) Addonizio VP, Strauss J III, Macarak EJ, Colman RW, Edmunds LH Jr. Preservation of platelet number and function with prostaglandin during total cardiopulmonary bypass in rhesus monkeys. Surgery 83: 619-625, 1978
- 10) Hiramatsu Y, Gikakis N, Anderson HL III, Gorman JH III, Marcinkiewicz C, Gould RJ, Niewiarowski S, Edmunds LH Jr. Tirofiban provides "platelet anesthesia" during cardiopulmonary bypass in baboons. J Thorac Cardiovasc Surg 113: 182-193, 1997
- 11) Gluszek P, Rucinski B, Musial J, Wenger RK, Schmaier AH, Colman RW, Edmunds LH Jr, Niewiarowski S. Fibrinogen receptors in platelet adhesion to surfaces of extracorporeal circuit. Am J Physiol 252: H615-H621, 1987
- 12) Musial J, Niewiarowski S, Rucinski B, Stewart GJ, Cook JJ, Williams JA, Edmunds LH Jr. Inhibition of platelet adhesion to surface to extracorporeal circuits by disintegrins: RGD-

- containing peptides from viper venoms. *Circulation* 81: 261-273, 1990
- 13) Shigeta O, Gluszko P, Downing SW, Lu W, Niewiarowski S, Edmunds LH Jr. Protection of platelets during long-term extracorporeal membrane oxygenation in sheep with a single dose of a disintegrin. *Circulation* 86(suppl. II): II 398-II 404, 1992
- 14) Carteaux JP, Roux S, Kuhn H, Tschopp T, Colombo V, Hadvay P. Ro 44-9883, a new non peptide glycoprotein II b/III a antagonist, prevents platelet loss during experimental cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 106: 834-841, 1993
- 15) Uthoff K, Zehr KJ, Geerling R, Herskowitz A, Cameron DE, Reitz BA. Inhibition of platelet adhesion during cardiopulmonary bypass reduces postoperative bleeding. *Circulation* 90(suppl. II): II 269-II 274, 1994
- 16) Suzuki Y, Hillyer P, Miyamoto S, Niewiarowski S, Sun L, Rao AK, Hollenbach S, Edmunds LH Jr. Integrilin prevents prolonged bleeding times after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 66 : 373-381, 1998
- 17) Aoki T, Cox D, Senzaki K, Seki J, Tanaka A, Takasugi H, Motoyama Y. The anti-platelet and anti-thrombotic effects of FK633, a peptide-mimetic GP II b/III a antagonist. *Thromb Res* 81: 439-450, 1996
- 18) Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 37: 171-185, 1954
- 19) Griffin JH. Role of surface in surface-dependent activation of Hageman factor (blood coagulation factor XII). *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 1998-2002, 1978
- 20) Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology platelet proteins. *Blood* 80: 1386-1404, 1992
- 21) 安保浩伸, 村田 満. 血小板フィブリノーゲン受容体・コラーゲン受容体 (GP II b/III a・GP I b/II a). *Biomedical Perspectives* 6 : 343-348, 1997
- 22) Ellison N, Edmunds LH Jr, Colman RW. Platelet aggregation following heparin and protamine administration. *Anesthesiology* 48: 65-68, 1978
- 23) Khuri SF, Valeri CR, Loscalzo J, Weinstein MJ, Birjiniuk V, Healey NA, MacGregor H, Doursounian M, Zolkewitz MA. Heparin causes platelet dysfunction and induces fibrinolysis before cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 60: 1008-1014, 1995
- 24) Zilla P, Fasol R, Groscurth P, Klepetko W, Reichensperner H, Wolner E. Blood platelets in cardiopulmonary bypass operations. Recovery occurs after initial stimulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 97: 379-388, 1989
- 25) Rinder CS, Rinder HM, Smith SR, Fitch JCK, Smith MJ, Tracey JB, Matis LA, Squinto SP, Rollins SA. Blockade of C5a and C5b-9 generation inhibits leukocyte and platelet activation during extracorporeal circulation. *J Clin Invest* 96: 1564-1572, 1995
- 26) Coughlin SR, Vu TKH, Hung DT, Wheaton VI. Characterization of a functional thrombin receptor. *J Clin Invest* 89: 351-355, 1992
- 27) Valeri CR, Khabbaz K, Khuri SF, Marquardt C, Ragno G, Feingold H, Gray AD, Axford T. Effect of skin temperature on platelet function in patients undergoing extracorporeal bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104: 108-116, 1992
- 28) Ashmore PG, Suitek V, Ambrose P. The incidence and effect of particulate aggregation and microembolism in pump-oxygenator systems. *J Thorac Cardiovasc Surg* 55: 691-697, 1968
- 29) Moen O, Fosse E, Braten J, Andersson C, Hogasen K, Mollnes TE, Venge P, Kierulf P. Differences in blood activation related to roller/centrifugal pump and heparin-coated/uncoated surfaces in a cardiopulmonary bypass model circuit. *Perfusion* 11: 113-123, 1996
- 30) Yoshikai M, Hamada M, Takarabe K, Okazaki Y, Ito T. Clinical use of centrifugal pumps and the roller pump in open heart surgery: a comparative evaluation. *Artif Organs* 20: 704-706, 1996
- 31) Taylor KM, Bain WH, Maxted KJ, Hutton MM, McNab WY, Caves PK. Comparative studies of pulsatile and nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass. I. Pulsatile system employed and its hematologic effects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 75: 569-573, 1978
- 32) Teoh KH, Christakis GT, Weisel RD, Madonik MM, Ivanov J, Wong PY, Mee AV, Levitt D, Benak A, Reilly P, Glynn MFX. Blood conservation with membrane oxygenators and dipyridamole. *Ann Thorac Surg* 44: 40-47, 1987
- 33) Wargner WR, Johnson PC, Thompson KA, Marrone GC. Heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits: Hemostatic alterations and postoperative blood loss. *Ann Thorac Surg* 58: 734-741, 1994
- 34) Moen O, Fosse E, Dregelid E, Brockmeier V, Andersson C, Høgåsén K, Venge P, Mollnes TE, Kierulf P. Centrifugal pump and heparin coating improves cardiopulmonary bypass biocompatibility. *Ann Thorac Surg* 62: 1134-1140, 1996
- 35) Boonstra PW, Gu YJ, Akkerman C, Haan J, Huyzen R, van Oeveren W. Heparin coating of an extracorporeal circuit partly improves hemostasis after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107: 289-292, 1994
- 36) Øvrum E, Mollnes TE, Fosse E, Holen EA, Tangen G, Ringdal MAL, Videm V. High and low heparin dose with heparin-coated cardiopulmonary bypass: activation of complement and granulocytes. *Ann Thorac Surg* 60: 1755-1761, 1995
- 37) Jones JW, McCoy TA, Rawitscher RE, Lindsley DA. Effects of intraoperative plasmapheresis on blood loss in cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 49: 585-590, 1990
- 38) Teoh KH, Christakis GT, Weisel RD, Wong PY, Mee AV, Ivanov J, Madonik MM, Levitt DS, Reilly PA, Rosenfeld JM, Glynn MFX. Dipyridamole preserved platelets and reduced blood loss after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 96: 332-341, 1988
- 39) Aren C, Feddersen K, Råegran K. Effects of prostacyclin infusion on platelet activation and postoperative blood loss in coronary bypass. *Ann Thorac Surg* 36: 49-54, 1983
- 40) 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: 714-723, 1990

41) De Prost D, Barbier-Boehm G, Hazebrucq J, Ibrahim H, Bielsky MC, Hvass U, Lacombe C, Francois JL, Desmots JM. Desmopressin has no beneficial effect on excessive postoperative bleeding or blood product requirements associated with cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost* 68: 106-110, 1992

42) Topol EJ, Byzova T, Plow EF. Platelet II b/III a blockers. *Lancet* 353: 227-231, 1999

43) Moliterno DJ, 小川久雄. GP II b/III a 阻害剤の可能性を
探る. *Heart View* 1: 1367-1371, 1997

44) Wengert RK, Lukasiewicz H, Mikuta BS, Niewiarowski S, Edmunds LH Jr. Loss of platelet fibrinogen receptors during clinical cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 97: 235-239, 1989

45) Byzova TV, Plow EF. Networking in the hemostatic system; Integrin α IIb β 3 binds prothrombin and influences its activation. *J Biol Chem* 272: 27183-27188, 1997

46) Van't Veer C, DiLorenzo M, Lock JB, Mann KG. Effect of platelet inhibitors on thrombin generation. *Blood* 90(Suppl 1): 29a, 1997

47) Gillinov AM, Redmond JM, Zehr KJ, Wilson IC, Curtis WE, Bator JM, Burch RM, Reitz BA, Baumgartner WA, Herskowitz A, Cameron DE. Inhibition of neutrophil adhesion during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 57: 126-133, 1994

48) Zehr KJ, Poston RS, Lee PC, Uthoff K, Kumar P, Cho PW, Gillinov AM, Redmond JM, Winkelstein JA, Herskowitz A, Cameron DE. Platelet activating factor inhibition reduces lung injury after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 59: 328-335, 1995

Basic Study on Protection of Platelet by Glycoprotein II b/III a Inhibitor During Cardiopulmonary Bypass
Shigeki Tabata, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juzen Med Soc.*, 108, 668 — 677 (1999)

Key words cardiopulmonary bypass, platelet, glycoprotein II b/III a inhibitor, coagulation system, platelet anesthesia

Abstract

Bleeding is a major problem of cardiac surgery using cardiopulmonary bypass (CPB). One of the most important causes is decrease in platelet number and function after CPB. "Platelet anesthesia" is a concept of protecting platelet function by temporarily inhibiting platelet adhesion and activation during CPB. This study examined the efficacy of a short-acting glycoprotein (GP) II b/III a inhibitor (FK633) to preserve both platelet number and function during CPB. Twelve adult mongrel dogs underwent 60 minutes of normothermic CPB followed by 2-hour observation. The FK group (n=6) received a bolus administration of 0.1 mg/kg of FK633, and the control group (n=6) received drug vehicle. Blood samples for platelet count, ADP-induced platelet aggregation and parameters concerning coagulation system were obtained at 8 time points. Hemodynamics, blood gas, bleeding time, and postoperative blood loss were assessed serially. Scanning electron micrograph of the oxygenator membrane was investigated. At the end of CPB, the control group had significantly lower platelet counts corrected for hematocrit value and expressed as percent of the pre-CPB values, when compared with those in the FK group (control, $38 \pm 15\%$; FK, $59 \pm 10\%$; $p < 0.01$). Two hours after CPB, platelet counts were better preserved in the FK group (FK633, $83 \pm 10\%$; control, $58 \pm 22\%$; $p < 0.01$). ADP-induced platelet aggregation expressed as percent of the pre-CPB value was significantly inhibited in the FK group at 30 minutes of CPB (FK, $13 \pm 12\%$; control, $35 \pm 9\%$; $p < 0.01$). Platelet aggregation in the FK group was recovered at 2 hours after CPB (FK, $65 \pm 17\%$; control, $79 \pm 13\%$; NS). In the FK group, the surface of the oxygenator membrane was free from platelets in the scanning electron micrograph. Bleeding time was not significantly different from the pre-CPB value at one hour after protamine administration in the FK group. Postoperative blood loss did not significantly differ between the two groups, but there was a tendency toward less bleeding in the FK group (FK633, 73 ± 23 ml; control, 111 ± 44 ml; $p = 0.09$). There were no significant differences between the groups in hemodynamics, blood gas, and parameters concerning coagulation system. In conclusion, a short-acting GP II b/III a inhibitor, FK633, was effective in preventing both platelet aggregation and the count decrease during CPB, and may be useful for minimizing postoperative bleeding.