

イヌの体外循環下僧帽弁修復術後における抗血栓療法の効果

誌名	動物の循環器 = Advances in animal cardiology
ISSN	09106537
著者名	藤原,めぐみ 水野,壮司 水越,崇博 篠田,麻子 内田,周平 沢田,保 竹内,潤一郎 水野,祐 原田,佳代子 粕谷,新音 船山,麻理菜 上地,正実
発行元	獣医循環器研究会
巻/号	46巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-7
発行年月	2013年6月

原 著

イヌの体外循環下僧帽弁修復術後における抗血栓療法の効果

藤原めぐみ, 水野壮司, 水越崇博, 篠田麻子, 内田周平, 沢田 保,
竹内潤一郎, 水野 祐, 原田佳代子, 粕谷新音, 船山麻理菜, 上地正実

日本大学生物資源科学部
〒252-0880 藤沢市亀井野1866

(受理 2013 年 8 月 31 日)

The Effect of Antithrombotic Treatment of Dalteparin after Mitral Valve Repair under Cardiopulmonary Bypass in Dogs

Megumi FUJIWARA, Takeshi MIZUNO, Takahiro MIZUKOSHI, Asako SHINODA,
Shuhei UCHIDA, Tamotsu SAWADA, Junichiro TAKEUCHI, Masashi MIZUNO,
Kayoko HARADA, Arane KASUYA, Marina FUNAYAMA and Masami UECHI

*Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Department of Veterinary Medicine, College of ioresouce
Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-0880, Japan*

Abstract. We evaluated the effect of ozagrel and dartepran after mitral valve repair under cardiopulmonary bypass in dogs. A total of 32 dogs were included in this study (9.7 ± 2.3 years old, 5.3 ± 3.7 kg). The two out of 32 cases were excluded because of death with aspiration or hypotension within 24 hours after surgery. Dogs ($n=14$) were treated with hydrochloric acid ozagrel orally (p.o.) for a dose of 5 or 10 mg/kg BID, or Low molecular weight heparin; dalteparin (5 IU/kg/hr) after the operation. The dose of dalteparin was increased gradually (until 50 or 75 IU/kg/hr), and then changed to subcutaneous injection of 50–100 IU/kg/day for 6–12 days ($n=16$). After that, ozagrel hydrochloride (10 mg/kg p.o., BID), a thromboxane A₂ synthase inhibitor, was administered for 1 month instead of dalteparin. In this study, it was suggested there were less thrombosis in the dartepran-treated group. The number of platelets increased earlier in dartepran-treated group. Also, there was significant lower rate of hyperlipasemia in the dartepran-treated group. This study has shown the effect of dartepran in preventing adverse events, and it was emphasized the importance of anticoagulation management after mitral valve repair.

Key words: dog, cardiopulmonary bypass, antithrombotic treatment, dalteparin

Adv. Anim. Cardiol. 46(1): 1-7, 2013

連絡先: 上地正実
日本大学生物資源科学部 獣医内科学研究室
〒252-0880 藤沢市亀井野1866

はじめに

心臓外科手術における血栓塞栓症は重大な合併症である。ヒトにおいても心臓外科手術後に血栓塞栓に由来する肺塞栓症や脳梗塞が起こることがあり^{1,2)}、効果的な抗血栓療法は予後を改善するとされている³⁾。ヒトの僧帽弁修復術では術後の抗凝固療法の必要性は弁置換術よりも低い⁴⁾ものの、縫縮した弁輪リングや人工腱索といった人工物が内膜に覆われるまでの約1-3ヵ月は血栓形成の危険性があり⁵⁾、術後に短期間の抗凝固療法が必要であるとされている。

心臓外科手術における術後合併症には出血、心不全、低心拍出量症候群、不整脈、急性腎不全、感染症、脳梗塞、消化器症候群が挙げられる。ヒトでは体外循環後に肺、脳、肝臓および骨格筋に血小板血栓の存在が確認されている^{6,7)}。術後の急性肺炎は心臓手術を受けたヒトに起こりうる合併症の一つであり^{8,9)}、術中の虚血や低血圧がその原因として考えられている¹⁰⁻¹²⁾。我々は、イヌの心臓外科手術においても血栓塞栓症が疑われる合併症を経験してきた。今回我々は、体外循環下僧帽弁修復術後のイヌに対して低分子ヘパリンであるダルテパリンならびにトロンボキサンA2の産生阻害により血小板機能を抑制する塩酸オザグレルを用いて抗血栓療法を行い合併症の発症リスクについて調査した。また、血栓塞栓症が疑われた症例に対して組織プラスミノゲンアクチベータ (t-PA) による血栓溶解療法を実施し治療効果についても調査した。

材料と方法

対象は2008年4月-2009年3月に日本大学付属動物病院にて体外循環下僧帽弁形成術を行った僧帽弁閉鎖不全症のイヌ32頭 (9.7±2.3歳, 5.3±3.7 kg) であった。対象犬の医療記録を回顧的に調査し、年齢、性別、犬種、術前後の血小板数、リパーゼ (LIPA) 活性値および術後の血栓塞栓症について記録した。体外循環はヘパリン (400 IU/kg) の静脈内投与によりACTが300秒以上になるのを確認して開始した。体外循環離脱時にはプロタミン (Novo-Protamine Sulfate[®], 持田製薬, 東京, 日本; 6 mg/kg) をゆっくり静脈内投与し、手術前のACT値になるようにヘパリンを中和した。合併症については入院期間および退院後も追跡し調査した。血栓塞栓の診断は肺動脈塞栓については身体検査所見およびX線検査、脳梗塞についてはCT検査にて行った。肺炎については臨床徴候、血液検査および腹部超音波検査により診断した。LIPA活性値が術前の3倍以上となった場合を高LIPA血症 (LIPA上昇群) と定義した。

症例はダルテパリン (フラグミン[®], ファイザー(株), 東京) 投与群 ($n=16$) と塩酸オザグレル (ドメナン[®], キッセイ薬品, 長野) 投与群 ($n=14$) とに分類した。ダルテパリン投与群では術後に胸腔内出血の停止を確認した後ダルテパリンを5 IU/kg/hrから開始し50または75 IU/kg/hrに漸増した後50~100 IU/kg BIDにて術後6—12日まで皮下投与した。塩酸オザグレル投与群には術後1または2日目より塩酸オザグレルを5または10 mg/kg BIDで開始し、1ヵ月間経口投与した。血栓塞栓症を疑う臨床徴候が認められた症例には組織プラスミノゲンアクチベータ (t-PA; アルテプラーゼ[®], 協和

発酵キリン、東京)を10万IU/kgまたは20万IU/kgで持続点滴により1時間かけて投与した。

血液検査は、術前、術後1, 3および7日目に実施した。血小板数はEDTA加血液を用いて自動血球計算機にて測定した。LIPA活性値はヘパリン加血液を用いてVetTest 8008 (IDEXX (株)、東京)にて測定した。脾炎を疑う症例では犬脾特異的リパーゼ (Spec CPL) および犬トリプシン様活性 (TLI) の測定も行った。

データは平均±標準偏差で示した。各検査値についてはダルテパリン投与群および塩酸オザグレル投与群の2群間でMann-Whitney's *U* testによって比較し、雌雄差、血栓塞栓症および脾炎ならびに高LIPA血症の有無についてはカイ2乗検定で比較した。術前後における血小板数の推移についてはフリードマン検定を用いて評価した。また、LIPA上昇群および非上昇群における術中要因の比較にはMann-Whitney's *U* testを用いて検定した。 $P<0.05$ で有意差があるものとした。

結 果

対象の32例中2例は、肺高血圧による低血圧および誤嚥により術後1日以内に死亡したため除外した。残りの30例中5例は術後1カ月以内に死亡し、5例中4例が手術による影響（脾炎2例、多臓器不全1例、突然死1例）で、1例が手術とは無関係の消化器疾患で死亡した。

ダルテパリン投与群および塩酸オザグレル投与群において内分泌機能障害を含む併発症はなく、ダルテパリン投与群のうち1頭で初診以前に近医でのステロイド服用歴が認められた以外に凝固亢進状態を惹起する条件は認められなかった。ダルテパリン投与群および塩酸オザグレル投与群による比較では、術前のシグナルメントや臨床徴候および手術時間に違いは認められなかった。また、術後の出血量においても違いはなかった。ダルテパリン投与群では高LIPA血症の発生が有意に抑制された ($P=0.022$, Table 1)。

ダルテパリン投与群および塩酸オザグレル投

Table 1. Signalment, incidence of thrombotic events and bleeding

	Ozagrel	Dalteparin	<i>P</i> -Value	Odds ratio
Cases	14	16		
Age (year)	9.4±2.1	9.9±2.7	0.63	
Sex	20.0% Male	69.2% Male		
BW	5.8±3.8	4.0±2.3	0.84	
Preoperative LA/Ao	2.7±0.5	2.7±0.5	0.97	
Preoperative LVIDd/BW	8.5±4.6	9.6±2.5	0.74	
Operation time (min)	516.7±88.3	494.0±125.5	0.27	
Number of artificial cordae	5.2±0.8	4.7±0.9	0.10	
Bleeding (ml)	90.1±133.1	48.8±38.5	0.98	
Thrombotic event	2/14	0/16	0.12	0.3-150.2
Cerebral infarction	1	0		
Pulmonary embolism	1	0		
Pancreatitis	2/14	1/16	0.46	0.2-31.0
Hyperlipasemia	5/10	1/13	0.022	1.1-130.7

LA/Ao: the ratio of the LA to aorta at the level of the aortic valve

LVIDd: diastolic left ventricular internal dimension

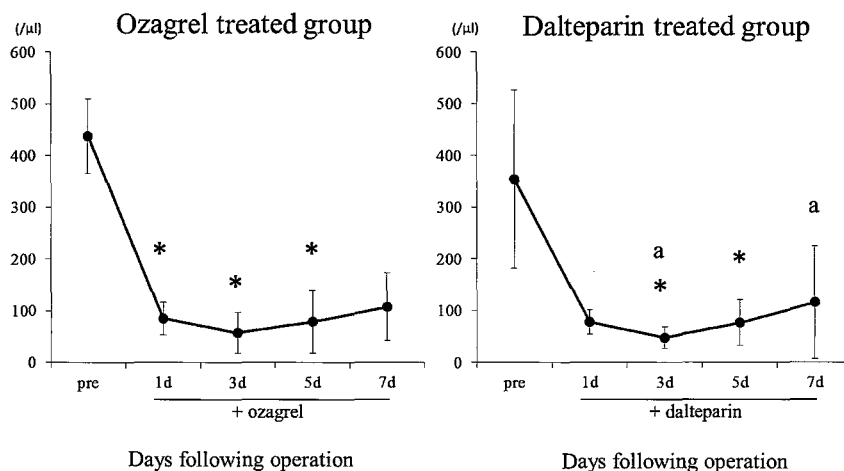


Fig. 1. The change of the number of platelet count before and after the operation
The mean platelet counts were significant lower in 3 and 5 days after CPB than those of preoperation. The only dogs treated with dalteparin had significant higher platelet counts on the 7th day than those on 3 days after surgery.
d: day, *: $P < 0.05$ vs. baseline.
Same letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

与群の血小板数は、術後1日目から3日目にかけて術前に比べ有意に減少した。またダルテパリン投与群では術後3日目に比べ7日目で血小板数は有意 ($P < 0.05$) に増加した (Fig. 1)。

塩酸オザグレル投与群の2症例に小脳あるいは肺の血栓塞栓の発症が疑われた。この2症例に対してt-PAによる血栓溶解療法を実施した。小脳梗塞を起こした症例では術後1日目に斜頸、起立不能、四肢硬直ならびに眼振といった神経症状が認められ、MRI検査にて前小脳動脈の閉塞による小脳梗塞が確認された。この症例に対して発症直後と翌日にt-PAを投与したところ、すぐに神経症状が軽減し、投与2日後に消失した。血液検査では血小板数が術後1日目から8日目まで減少した。肺塞栓症を起こした症例では術後5日目に呼吸困難を呈し、胸部X線検査にて右肺後葉と左肺前葉におけるX線の不透過性の亢進が認められた。術後6日目にt-PAを投与したところ、投与1日後に肺野の不

透過性消失および呼吸状態の安定化が認められた。血小板数は術後7日まで減少した。

考 察

ダルテパリンは未分画ヘパリンと同等の血栓形成抑制効果を持ち、静脈および動脈血栓の予防に有効である^{13, 14)}。今回、明らかな血栓塞栓症は塩酸オザグレル投与群で14例中2例（小脳梗塞および肺塞栓症）に認められたが、ダルテパリン投与群では認められなかったことから、ダルテパリン投与は血栓抑制に有効であると推察された。体外循環後の血小板数低下は機械的破壊と回路への接着¹⁵⁾の他、血小板凝集や各臓器における血小板血栓の集積にも起因する¹⁶⁾。本研究においても術後の血小板数は、両群ともに術直後に急激な血小板数減少を認めた。しかし、ダルテパリン投与群で血小板数の回復が速かった (Fig. 1)。これは、ダルテパリンが心内

Table 2. The comparison of the perioperative condition with or without hyperlipasemia

	Hyperlipasemia	Non-hyperlipasemia	P-Value
Cases	17	6	0.08
Body weight (kg)	3.8±2.9	4.5±2.8	0.37
Sex	16.7% Male	58.8% Male	0.08
Age (year)	9.2±2.4	9.6±2.6	1.00
Anesthesia time (min)	470.2±73.5	483.9±81.7	0.75
Extracorporeal circulation time (min)	137.2±27.0	138.8±41.6	0.72
Aortic clump time (min)	88.3±18.8	84.6±22.4	0.62
Perioperative mean blood pressure (mmHg)	62.0±13.8	63.3±14.6	0.70
Minimum temperature of rectum (°C)	24.7±2.1	25.0±2.9	0.86

操作部位、弁輪リングおよび人工腱索に血小板が付着する一次血栓および二次血栓形成を防いだためであると考えられた。一方で塩酸オザグレル投与群では血栓塞栓症が疑われる臨床徴候を発症し、t-PA投与により改善した。血小板抑制作用を持つ塩酸オザグレル投与群で血栓形成の抑制の効果が低かった原因として、今回用いた投与量では十分ではなかった可能性があり¹⁷⁾、また、塩酸オザグレルは血栓形成後に投与しても血栓溶解効果は期待できない¹⁸⁾ため、投与開始時期が遅かった可能性が考えられた。

心臓外科手術における合併症では消化器症候群や肺炎が発症することもある。本研究では塩酸オザグレル投与群で肺炎や高LIPA値を示す症例が有意に多かった。これに対してダルテパリン投与群では脾臓に対する合併症の発症は抑制された。イヌではLIPA活性値の感度と特異度はそれぞれ73%、55%と低い¹⁹⁾、ヒトおよびイヌにおいてLIPA活性値が正常域の3倍以上を示す場合、脾臓に何らかの障害がある可能性がある^{20, 21)}。Fernandez-Delら²²⁾は体外循環後における脾酵素上昇を肺炎と区別し脾腺房細胞障害と定義している。術後に脾腺房細胞障害を誘発する原因として術中の虚血や低血圧が知られている²³⁾。しかし、全例で術中の大動脈遮断時間や体外循環時間および平均血圧に差はなく脾腺房障害の発生は術中条件が原因とならな

いことが示唆された。また、術後にダルテパリンを投与した症例で高リパーゼ血症の発生が少なかったのは、ダルテパリンによる血栓形成抑制が末梢循環障害を軽減したことを示唆した。

本研究は回顧的研究であったために、血栓形成の指標となるFDPおよびD-dimerの推移については検討できなかった。今後の検討が必要である。

今回我々は体外循環下僧帽弁形成術後に合併症の予防にダルテパリンが有効である可能性を示し、また、血栓塞栓症が疑われる症例に対してはt-PAによる血栓溶解療法が有効であることを示した。

要 約

我々は体外循環下僧帽弁形成術を行った僧帽弁閉鎖不全症の犬に対するダルテパリンおよび塩酸オザグレルによる抗血栓療法の有効性について回顧的に調査した。術後にダルテパリンを5 IU/kg/hrから開始し50または75 IU/kg/hrに漸増した後50～100 IU/kgにて術後6～12日まで皮下投与すると血栓由来の合併症が少ない傾向にあり、術後の血小板数の回復が速かった。また、ダルテパリン投与群では術後に高リパーゼ血症を呈する個体が少なく、脾臓障害における血栓の関連性とダルテパリンによる抑制

効果が示唆された。本研究により、術後のダルテパリン投与は術後の血栓塞栓症を軽減することが示唆された。

文 献

- 1) Cooper JR Jr, Abrams J, Frazier OH, Radovancevic R, Radovancevic B, Bracey AW, Kindo MJ, Gregoric ID (2006): Fatal pulmonary microthrombi during surgical therapy for end-stage heart failure: possible association with antifibrinolytic therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, **131**, 963-968.
- 2) Salazar JD, Wityk RJ, Grega MA, Borowicz LM, Doty JR, Petrofski JA, Baumgartner WA (2001): Stroke after cardiac surgery: short- and long-term outcomes. *Ann Thorac Surg.*, **72**, 1195-1201.
- 3) Butchart EG, Payne N, Li HH, Buchan K, Mandana K, Grunkemeier GL (2002): Better anticoagulation control improves survival after valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, **123**, 715-723.
- 4) Reul RM, Cohn LH (1997): Mitral valve reconstruction for mitral insufficiency. *Prog Cardiovasc Dis.*, **39**, 567-599.
- 5) Katznelson R, Djaiani GN, Karski J (2009): Guideline on antiplatelet and anticoagulation management in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.*, **35**, 555.
- 6) Dewanjee MK, Wu SM, Kapadvanjwala M, De D, Dewanjee S, Novak S, Hsu LC, Perryman RA, Serafini AN, Sfakianakis GN, Duncan RC, Dietrich WD, Horton AF. (1996): Reduction L-Arginine during in a Pig Model of Platelet Thrombi and Emboli by Cardiopulmonary Bypass. *J Thromb Thrombolysis.*, **3**, 343-360.
- 7) Dewanjee MK, Zhai P, Hsu LC, Twardock AR (1997): A new method for quantitation of platelet microthrombi and microemboli from cardiopulmonary bypass in organs using ¹¹¹In labeled platelets. *ASAIO J.*, **43**, M701-M705.
- 8) Krasna MJ, Flancbaum L, Trooskin SZ, Fitzpatrick JC, Scholz PM, Scott GE (1988): Gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Surgery.*, **104**, 773-780.
- 9) Huddy SP, Joyce WP, Pepper JR (1991): Gastrointestinal complications in 4473 patients who underwent cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Surg.*, **78**, 293-296.
- 10) Gullo L, Cavicchi L, Tomassetti P, Spagnolo C, Freyrie A, D'Addato M (1996): Effects of Ischemia on the Human Pancreas. *GASTROENTEROLOGY*, **111**, 1033-1038.
- 11) Moneta GL, Misbach GA, Ivey TD (1985) : Hypoperfusion as a Possible Factor in the Development of Gastrointestinal Complications After Cardiac Surgery. *Am J Surg.*, **149**, 648-650
- 12) Broe PJ, Zuidema GD, Cameron JL (1982): The role of ischemia in acute pancreatitis: studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery*, **91**, 377-382.
- 13) Malm K, Dahlbäck B, Arnljots B (2003): Low-Molecular-Weight Heparin (Dalteparin) Effectively Prevents Thrombosis in a Rat Model of Deep Arterial Injury. *Plast Reconstr Surg.*, **111**, 1659.
- 14) Norgren L; Swedish EnoxVasc Study Group (2004): Can low molecular weight heparin replace unfractionated heparin during peripheral arterial reconstruction? An open label prospective randomized controlled trial. *J Vasc Surg.*, **39**, 977-984.
- 15) Ballotta A, Saleh HZ, El Baghdady HW, Gomaa M, Belloli F, Kandil H, Balbaa Y, Bettini F, Bossone E, Menicanti L, Frigiola A, Bellucci C, Mehta RH (2007): Comparison of early platelet activation in patients undergoing on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, **134**, 132-138.
- 16) Weerasinghe A, Taylor KM (1998): The Platelet in Cardiopulmonary Bypass. *Ann Thorac Surg.*, **66**, 2145-2152.
- 17) Kawano K, Ikeda Y, Kondo K, Umemura K (1999): Superiority of platelet integrin GPIIb-IIIa receptor antagonist over aspirin in preventing cyclic flow reductions in the guinea pig middle

- cerebral artery. *Eur J Pharmacol.*, **374**, 377-385.
- 18) Arie K, Igarashi H, Arie T, Katayama Y (2002): The effect of ozagrel sodium on photochemical thrombosis in rat: therapeutic window and combined therapy with heparin sodium. *Life Sci.*, **71**, 2983-2994.
- 19) Mansfield CS, Jones BR (2000): Trypsinogen activation peptide in the diagnosis of canine pancreatitis. *J Vet Intern Med.*, **14**, 346
- 20) Strombeck DR, Farver T, Kaneko JJ. Strombeck DR, Farver T, Kaneko JJ (1981): Serum amylase and lipase activities in the diagnosis of pancreatitis in dogs. *Am J Vet Res.*, **42**, 1966-1970.
- 21) Smith RC, Southwell-Keely J, Chesher D (2005): Should serum pancreatic lipase replace serum amylase as a biomarker of acute pancreatitis? *ANZ J Surg.*, **75**, 399-404.
- 22) Fernandez-Del CC, Herringer W, Warshaw AL (1991): Risk factors for pancreatic cellular injury after cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med.*, **25**, 382-387.