

ブタ血液を使用した急性血液浄化用血液濾過器ライフタイム評価モデルの構築と構築したモデルを用いた血液濾過器の評価 DM13016 栗原 佳孝

【背景・目的】急性血液浄化療法は集中治療室などにおいて急性腎不全などの重症患者に数日間連続して施行される治療法である。施行中に血液濾過器（以下、フィルタ）の血液凝固により、緊急の交換が必要になることがある。緊急の交換は患者の失血や感染のリスクがあり、またスタッフの負荷も増加するため、フィルタ使用可能時間（フィルタライフタイム）は24時間以上が望ましい。臨床においては、患者の治療開始時の病態が異なることや治療中に患者の病態が変化することなどの要因のため、基礎性能としてのフィルタライフタイムを比較検討することは難しい。そこで本研究では、同一条件下で、膜の細孔の目詰まりによってフィルタライフタイムを比較検討できる *ex vivo* 実験モデルを構築し、構築したモデルを使用して中空糸内径や膜面積を変化させることでフィルタライフタイムや蛋白除去性能が変化するかどうかを比較検討することを目的とした。

【方法】①実験モデルに使用する予定の購入した血液（購入血液）と生きているブタから採取した直後の血液（新鮮血液）の凝固・線溶系マーカの比較検討を実施した。②実験モデルの構築では血液は購入血液を、フィルタはポリメチルメタクリレート膜（PMMA膜）のCH-1.0Nを使用し、臨床で用いられる条件とほぼ同様の条件で持続血液濾過（CHF）を実施した。血液流量は100 mL/min、補充液および濾液流量は10 mL/min、抗凝固剤（メシル酸ナファモスタット）の注入速度は、初回ボーラス20 mg、持続20 mg/hとした。臨床とは異なり血液が常に血液回路や血液貯留部（以下、血液バッグ）と接触しており凝固が起こりやすいため、補充液に抗凝固剤としてクエン酸三ナトリウムを追加で添加し、その濃度を0, 6, 7, 8, 10 mMと変化させ、フィルタライフタイムを評価した。評価項目は、①実験モデルの安定性を確認するために実験中のヘマトクリット値（Ht）②蛋白除去性能として総蛋白濃度（TP）、③圧力の経時変化として、中空糸の細孔の目詰まりを評価するために膜間圧力差（TMP）と中空糸自体の詰まりを評価するためにフィルタの入口圧と出口圧の差（AV差圧）の経時変化、またTMPとAV差圧の1時間当たりの変化の値（dP/dt）、④ライフタイムとしてTMPが200 mmHgに達した時間とTMPのdP/dtが15 mmHg/h以上上昇した時間、AV差圧が200 mmHgに達した時間とAV差圧のdP/dtが15 mmHg/h以上上昇した時間とした。③構築したモデルを使用し、一頭から採取した血液を1 Lずつ3つに分け、同時に同条件にて実験を行った。フィルタには、中空糸内径200 μm 、膜面積1.0 m^2 のCH-1.0N、中空糸内径240 μm 、膜面積1.0 m^2 のCH-1.0W、中空糸内径240 μm 、膜面積1.8 m^2 の3種類を使用した。クエン酸三ナトリウム濃度は7 mMとし実験を施行した。それ以外の操作条件は②と同様な方法で実験を実施した。評価項目は②の項目に加え、②の蛋白除去性能として濾液中に含まれる総蛋白濃度、PMMA膜に吸着された総蛋白濃度を評価した。また、③圧力の経時変化として圧力が上昇せず安定している時のTMPとAV差圧の経時変化を評価した。

【結果】①新鮮血液に比べ購入血液は、TATが有意に高値を示した。また、新鮮血液に比べ購入血液がATIII、TAT、Total PAI-1の項目においてばらつきが大きくなった。一方、Dダイマーにおいては、購入血液に比べ新鮮血液でばらつきが大きかったが、両項目ともヒトの基準値以内であった。②実験中のHtは急激な低下がなく、TPはすべての実験において同じように経時的に低下した。TMPとTMPのdP/dt、AV差圧、AV差圧のdP/dtは循環開始から安定した圧力を数時間維持し、その後ほぼすべての結果で急激に上昇した。クエン酸三ナトリウムの濃度が高いほど、TMPが200 mmHgに達するまでの時間やTMPのdP/dtが15 mmHg以上上昇した時間、AV差圧が200 mmHgに達するまでの時間、AV差圧が15 mmHg/h以上上昇する時間が延長した。また、7 mM、8 mMのフィルタライフタイムは、TMPから評価したフィルタライフタイムがAV差圧か

ら評価したフィルタライフタイムに比べ有意に短かった。③実験中の Ht は急激な低下がなかった。TP は中空糸内径が太い CH-1.0W と CH-1.8W が、中空糸内径が細い CH-1.0N に比べ有意に低値を示した。濾液中に含まれる総蛋白量においては 3 種類のフィルタ間に有意な差はみられなかった。PMMA 膜に吸着された総蛋白量は中空糸内径が太い CH-1.0W と CH-1.8W が、中空糸内径が細い CH-1.0N に比べ有意に高値を示した。TMP と TMP の dP/dt、AV 差圧、AV 差圧の dP/dt は循環開始から安定した圧力を数時間維持し、その後ほぼすべての結果で急激に上昇した。TMP が 200 mmHg に達するまでの時間や TMP の dP/dt が 15 mmHg 以上上昇した時間、AV 差圧が 200 mmHg に達するまでの時間は膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N や CH-1.0W に比べ有意に延長した。AV 差圧が 15 mmHg/h 以上上昇する時間は、CH-1.8W が CH-1.0N に比べ有意に延長した。また、圧力が安定している時の TMP の経時変化は膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N や CH-1.0W に比べ有意に低値を示した。一方、圧力が安定している時の AV 差圧は、膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N や CH-1.0W に比べ有意に低値を示した。それに加えて、同じ膜面積でも中空糸内径が太い CH-1.0W が、中空糸内径が細い CH-1.0N に比べ有意に低値を示した。

【考察】①購入血液は新鮮血液に比べ凝固系が活性化している血液もあり、購入血液が新鮮血液よりもばらつきも多くあった。これに対する対応策として、1 頭から採取した血液を数種類に分け、同時に異なるフィルタや操作条件で実験を実施することや、実験開始時に凝固・線溶系マーカを測定し、凝固・線溶系が大きく亢進している血液は除外をする方法を実施することで、購入血液を使用してもフィルタライフタイムを比較検討することが可能であると考えられた。②クエン酸三ナトリウムの濃度が 0 mM と 6 mM のとき、血液バッグやチャンバなどフィルタ以外の場所で凝固が起り、フィルタライフタイムも短かった。血液凝固が起きやすい血液となっており、フィルタライフタイム評価に使用するのは難しいと考えられた。一方、10 mM ではフィルタライフタイムが 48 時間を超えており、溶血などが起り始めるため、フィルタライフタイムを評価することは難しいと考えられた。7 mM もしくは 8 mM のときの血液バッグやチャンバなので凝固が起らず、フィルタライフタイムが 48 時間を超えている血液も 8 mM の 12 回中 1 回のみであり、フィルタライフタイムを評価するモデルとして適していると考えられた。また、TMP から評価したフィルタライフタイムが AV 差圧から評価したフィルタライフタイムに比べ有意に短かったことから、本モデルは、フィルタ内の中空糸の細孔の目詰まりが起り、その後中空糸自体が詰まるモデルであると考えられた。③PMMA 膜に吸着された総蛋白量は中空糸内径が太い CH-1.0W と CH-1.8W が、中空糸内径が細い CH-1.0N に比べ有意に高値を示した。これは、中空糸内径が異なる中空糸では、細孔径分布など中空糸自体の構造が異なることで、中空糸の吸着特性が異なっている可能性が考えられた。また、フィルタライフタイムは膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N や CH-1.0W に比べ有意に高値を示した。これは、中空糸の膜面に形成される濃度分極層の膜面濃度が高くなるほど、中空糸の細孔の目詰まりが起きやすいと考えられており、実際にシミュレーションより計算したところ、膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N や CH-1.0W に比べ膜面濃度が有意に低値を示したことから膜面濃度の影響を受けたと考えられた。

【結語】購入したブタ血液を使用し、クエン酸三ナトリウムを 7 mM もしくは 8 mM で添加することで、一定条件下でフィルタライフタイムを評価可能な ex vivo CHF 実験モデルを構築できた。構築したモデルを用いて、3 種類の PMMA 膜のフィルタを比較したところ、フィルタライフタイムは、膜面積が大きい CH-1.8W が、膜面積が小さい CH-1.0N と CH-1.0W に比べ、有意に高値を示した。一方、血中総蛋白濃度は中空糸内径が太い CH-1.0W と CH-1.8W が、中空糸内径が細い CH-1.0N に比べ有意に低値を示した。