

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名 栗 原 佳 孝



論 文 題 目

「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」

指 導 教 授 承 認 印

山 林 弘 祐



# 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

氏名 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施行される治療法である。施行中に血液濾過器（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（ライフタイム）は重要な基礎性能である。臨床においては、患者の病態や治療条件が異なるため、基礎性能としての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、動物血液を使用し、同一条件下で、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数種類のフィルタのライフタイムを比較検討することを目的とした。

## **【方法】**

本研究では、実験Ⅰブタ血液を使用した持続血液濾過（CHF）を行いながら、ライフタイムを評価することが可能なモデルを構築、実験Ⅱ構築したモデルを使用し、3種類のフィルタのライフタイムを比較検討することとした。

## **血液の調整と実験共通事項**

実験で使用するブタ血液は東京芝浦臓器より購入（クエン酸三ナトリウムが 10 mM 添加済）した。血液内での細菌繁殖や腐敗を防ぐ目的として、抗生剤をブタ血液 1mL に対しペニシリン 100 Units、ストレプトマイシン 100  $\mu$ g (Penicillin Streptomycin, 15140-122 : Gibco) 加えた。その後、ブタ血液 0.8 L を腹水貯留バッグ（腹水濾過濃縮再静注用回路、FCB03 : 旭化成メディカル）に入れ、37 度に加温・振盪しながら実験を実施した。血液浄化装置には、急性血液浄化用装置 TR-525 または 55X（東レ）を、補液にはサブラッド BSG（扶桑薬品工業）を使用した。

## **実験Ⅰ：ライフタイムを評価することが可能なモデルの構築**

調整済みの血液を用いて、フィルタにポリメチルメタクリレート膜の CH-1.0N（東レ）を使用し循環実験を行った。循環実験は、血液流量 100 mL/min、補液・濾液流量 10 mL/min、抗凝固剤（メシル酸ナファモスタット（コアヒビター：エイワイファーマ）の注入速度を、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と接触しており凝固が起りやすいため、補液に抗凝固剤としてクエン酸三ナトリウム（クエン酸三ナトリウム二水和物、191-01785 : 富士フィルム和光純薬）を持続添加し、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測定するために適切な圧力変化を示す条件を比較検討した。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蛋白除去性能の評価

として、血中総蛋白濃度の経時変化、③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) の経時変化、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、④ライフタイムとして TMP が 200 mmHg に達した時間 (中空糸の細孔が目詰まりした時間)、AV 差圧が 200 mmHg に達した時間 (中空糸自体が詰まった時間) を評価した。実験は TMP もしくは入口圧が 400 mmHg に達するまでの時間を評価した。

#### **実験Ⅱ：構築したモデルを使用し、3種類のフィルタのライフタイムを比較検討**

実験①でライフタイム評価に適した、クエン酸三ナトリウムの濃度を用いて3種類のフィルタのライフタイムを評価した。3種類のフィルタは、中空糸内径や膜面積の異なる CH-1.0N (中空糸内径 200  $\mu\text{m}$ 、膜面積 1  $\text{m}^2$ ) と CH-1.0W (中空糸内径 240  $\mu\text{m}$ 、膜面積 1  $\text{m}^2$ )、CH-1.8W (中空糸内径 240  $\mu\text{m}$ 、膜面積 1.8  $\text{m}^2$ ) を用いた。循環実験には、調整済み血液を3等分し、同時に3種類のフィルタを用いて行い、血中総蛋白濃度や各種圧力の経時変化とライフタイムの比較検討を実施した。

#### **【結果】**

#### **実験Ⅰ：ライフタイムを評価することが可能なモデルの構築**

実験中の Ht はすべての実験において急激な低下がなかったことから実験モデルの安定性を確認できた。TP は濾過による除去と膜への吸着による除去ですべての実験において経時的に低下したが、各クエン酸三ナトリウム濃度間において差がみられなかった。TMP と AV 差圧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が延長した (0 mM: 2.1 $\pm$ 0.6 h, 6 mM: 10.4 $\pm$ 6.0 h, 7 mM: 16.5 $\pm$ 7.4 h, 8 mM: 26.1 $\pm$ 9.1 h, 10 mM: 42.9 $\pm$ 8.5 h)。AV 差圧が 200 mmHg に達するまでの時間も同様にクエン酸三ナトリウムの濃度が高いほど延長した (0 mM: 2.1 $\pm$ 0.6 h, 6 mM: 10.6 $\pm$ 6.1 h, 7 mM: 18.0 $\pm$ 7.6 h, 8 mM: 28.1 $\pm$ 9.0 h, 10 mM: 44.4 $\pm$ 8.9 h)。7 mM、8 mM のライフタイムは、TMP から評価したライフタイムが AV 差圧から評価したライフタイムに比べ有意に短かった (7 mM:  $p=0.0008$  (n=15)、8 mM:  $p=0.0182$  (n=12)、対応のある t 検定)。

#### **実験Ⅱ：構築したモデルを使用し、3種類のフィルタのライフタイムを比較検討**

実験Ⅱでは実験Ⅰの結果より、クエン酸三ナトリウムの濃度は 7 mM で検討を実施した。実験中の Ht は開始後急激な低下は発生せず、各フィルタ間にも有意差はみられなかったことから実験は安定して施行できた。実験中の TP はすべての条件において経時的に低下し、CH-1.0N に比べ、CH-1.0W と CH-1.8W が有意に低値を示した (n=15, CH-1.0N と CH-1.0W:  $p<0.05$ , CH-1.0N と CH-1.8W:  $p<0.01$ 、2元配置分散分析 Bonferroni 検定)。TMP と AV 差圧は実験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上昇した。また、実験開始から TMP が上昇するまでの TMP の値は、CH-1.8W が、CH-1.0N と CH-1.0W に比べ有意に低値を示した (n=15, CH-1.0N と CH-1.8W:  $p<0.01$ , CH-1.0W と CH-1.8W:  $p<0.01$ 、2元配置分散分析 Bonferroni 検定)。また、実験開始から AV 差圧が上昇するまでの AV 差圧の値は、CH-1.8W が、CH-1.0N と CH-1.0W に比べ有意に低値を示した (n=15, CH-1.0N と CH-1.8W:  $p<0.01$ , CH-1.0W と CH-1.8W:  $p<0.01$ 、2元配置分散分析 Bonferroni 検定)。また、CH-1.0W が、CH-1.0N に比べ有意に低値を示した (n=15, CH-1.0W と CH-1.8W:  $p<0.01$ 、2元配置分散分析 Bonferroni 検定)。TMP が 200 mmHg に達した時間は、CH-1.8W が、CH-1.0N と CH-1.0W に比べ有意に延長した (CH-1.0N: 16.5 $\pm$ 7.4 h, CH-1.0W: 17.4 $\pm$ 6.5 h, CH-1.8W: 21.9 $\pm$ 8.7

h) (n=15、CH-1.0N と CH-1.8W :  $p < 0.05$ 、CH-1.0W と CH-1.8W :  $p < 0.05$ 、Friedman 検定)。AV 差圧が 200 mmHg に達した時間も同様に CH-1.8W が、CH-1.0N と CH-1.0W に比べ有意に延長した (CH-1.0N :  $18.0 \pm 7.6$  h、CH-1.0W :  $18.8 \pm 6.5$  h、CH-1.8W :  $22.2 \pm 8.8$  h) (n=15、CH-1.0N と CH-1.8W :  $p < 0.01$ 、CH-1.0W と CH-1.8W :  $p < 0.01$ 、Friedman 検定)。

#### 【考察】

#### 実験 I : ライフタイムを評価することが可能なモデルの構築

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ーなどフィルタ以外の場所で凝固が起こり、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、フィルタの評価に使用するのには難しいと考えられた。一方、10 mM ではライフタイムが 48 時間を超えており、溶血などが起こり始めるため、フィルタの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 のときのライフタイムは臨床で報告されているライフタイムとも近い時間であり、フィルタ自体の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、本モデルでは、TMP から評価したライフタイムが AV 差圧から評価したライフタイムに比べ有意に短かったことから、まずフィルタ内の中空糸の細孔の目詰まりが起こり、その後中空糸自体が詰まるモデルであった。

#### 実験 II : 構築したモデルを使用し、3 種類のフィルタのライフタイムを比較検討

フィルタのライフタイムは膜面積が大きく、中空糸内径が太い CH-1.8W がほかの膜に比べ有意に延長した。同じ血液流量と濾過流量で使用する場合、膜面積が大きいほど、局所の濾過流束が小さくなるため、フィルタの目詰まりが起こりにくくなり、フィルタのライフタイムが長くなりやすかったと考えられる。またそれに加え、中空糸内径が太いほど、有効膜面積の低下が起きにくく、フィルタのライフタイムを長くなりやすかったと考えられる。

#### 【結語】

購入したブタ血液を使用しても、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。また、構築したモデルを用いて、中空糸内径や膜面積の異なる 3 種類のライフタイムを比較し、膜面積を大きくし中空糸内径を太くすることで、ライフタイムが有意に延長することを明らかにできた。