

膜分離法と遠心分離法の問題点 (血液有形成分に対する影響を中心に)

芝 本 隆

東京医科歯科大学医学部附属病院腎臓センター

1. は じ め に

血漿浄化治療は免疫疾患，神経疾患，その他の疾患の治療に広く行われている¹⁻⁶⁾。その治療方法も様々であり，単純に血漿を入れ換える単純血漿交換法から，分離した血漿を二次膜（血漿成分分離器）や吸着剤によって病因物質を選択的に除去する治療法も開発されている。これにより新鮮凍結血漿を含む血液製剤の使用を削減できるようになった。当然のことながら，これら治療法はあらかじめ患者の血液を血液有形成分と血漿成分に分離することからはじまる。

現在，血液から血漿を分離する方法には膜を用いて行う膜分離法と，遠心力により分離する遠心分離法の2種類がある。ここでは両方法の原理と代表的な問題点について整理した。

2. 膜分離法と遠心分離法

表1に膜分離法と遠心分離法の特徴を示した。膜分離法では遠心分離法などに比べ比較的手軽に治療が行えることとコストが安価であることが最大の長所である。遠心分離法では治療を行うための大血管へのブラッドアクセスの必要がないことや血液有形成分の損傷がないことが最大の長所である。

一方，膜分離法では血液有形成分損傷の可能性が否定できず，遠心分離法では血液有形成分の損失が起こる。さらに，膜分離法では透析療法などに用いる血液ポンプを準備することで，専用装置がない場合でも治療は可能である。遠心分離法では専用装置を使用して行う場合が多く，装置は大型となり価格も高価である。

キーワード：膜分離法(membrane plasma separation method)，遠心分離法(centrifugal plasma separation method)，血液有形成分損傷(blood cell injury)，血液有形成分損失(blood cell loss)，膜間圧力差(trans-membrane pressure; TMP)。

2.1 膜分離法での問題点・注意点

膜分離法での分離膜は人工腎臓に使われる透析器や濾過器と同じ形状であるが，人工腎臓に比べ膜構造が大きく異なる。したがって，使用に際しては十分に血漿分離膜特性を認識しなければならない。

血漿分離膜中空糸内では血液と分離膜が接触し血漿成分が膜を透過し血液より分離される。膜面では濃縮された血液有形成分が中空糸内を通過する。したがって，膜分離法では膜面と濃縮された血液有形成分とにより血液有形成分の損傷が起こる可能性は否定できない。この損傷の程度は血液有形成分中の赤血球が最も影響を受けやすい。すなわち，膜分離法では治療中の溶血が最大の問題となり，これをいかに防ぐかを考えなければならない。さらに，治療中の溶血を連続的に感知する方法が必要になる。

2.1.1 分離膜間圧力差(TMP: trans-membrane pressure)

基本的には血液透析における透析膜に作用する圧力と同じ考えである。しかし，血漿分離膜では分離された血漿側圧力が陽圧になるため，血液側圧力から分離血漿側圧力を差し引くことになる。膜型血漿分離での分離膜TMPは下記に示す式により求める。

$$TMP = \frac{P_i + P_o}{2} - P_p$$

P_i: 分離膜入口圧力

P_o: 分離膜出口圧力

P_p: 血漿側圧力

表1 膜分離法と遠心分離法の比較

	Membrane	Centrifugation
Blood access:	Essential	None
Injury of blood corpuscles?:	Moderate	Less
Loss of blood corpuscles?:	Less	Moderate
Machine size:	Small	Big
Treatment cost:	Cheap	Expensive

2.1.2 ブラッドアクセス

膜型血漿分離法では分離膜に流入する血液流量により濾過できる分離血漿量が決定される。したがって、分離膜により処理する総血漿量と治療時間から考えると、血液流量は最低でも 100 ml/min (この場合の分離血漿流量は 25 ml/min 程度となる) 必要になる。もちろん処理血漿量が少ない場合はこの限りではない。もし、3,000 ml の血漿処理を行うには血液流量 100 ml/min、分離血漿流量 25 ml/min の条件では 120 分の治療時間となる。この血液流量を得るためには上腕静脈では血液流量の確保が困難であり、鎖骨下静脈や大腿静脈を使用することになる。

また、治療中に血液流量の減少、すなわち脱血不良が起きると赤血球の破壊が起こる (後述)。したがって、治療中に脱血不良がないように監視することが重要である。

2.1.3 血液流量と分離血漿量

膜分離法では、分離膜に流入する血液流量と膜を通過する血漿量による TMP で溶血は決定される。血液流量、血漿濾過量、TMP の関係は図 1 のようになる。分離膜では血液流量を一定とした場合、TMP を 60 mmHg 以上かけても血漿濾過量は増加しない。したがって、TMP を無理に上昇させると分離膜が目詰まりを起こし、その結果、溶血事故などにつながる。さらに、高い TMP により治療を継続すると分離膜の分画分子量曲線 sieving coefficient (SC) も低下する。

膜分離法ではできる限り低い TMP (50 mmHg 以下) により治療を行う。血漿濾過量を増加するためには、必ず血液流量を増加する。そこで、血漿濾過量決定の目安は血液流量の 1/4~1/3 とする。

2.1.4 分離膜と血液有形成分

①白血球、補体

分離膜と血液中の白血球、補体の反応は、白血球では治療開始から 15~30 分後で開始時に比べわずかな減少がみられ、治療の終了時では開始時とほぼ同程度か若干低値を示すといわれる⁷⁾。白血球の減少は活性化補体のレセプターを持つ好中球の減少が主であり、リンパ球の減少は少ない。

補体ではセルロース系やポリビニルアルコール (PVA) 膜素材で膜内面により補体活性化作用がみられる。セルロース系膜による補体活性化の原因として考えられるのは、膜面の OH 基の関与が指摘されている⁸⁾。この活性化の程度は、セルロース系の透析膜に比べるとわずかである⁹⁾。活性化補体の C3a, C5a はアナフィラトキシンとしてリンパ球、顆粒球、マクロファージなどへ作用し、IL-1, エラスターゼの分泌を、また、それ自体に強い生物学的活性がある。一般に、体外循環による補体の活性化作用は生体内の免疫ネットワークに対して影響を与える。したがって、人工材料の生体適合性の指標となる。分離膜と血液の接触によっていつくかの生体反応が現れるが、このほとんどの現象は膜分離治療での副作用の原因となると考えられる¹⁰⁾。

②赤血球 (溶血)

血漿分離膜と赤血球の反応により、治療中に赤血球が減少したり増加することはない。ただし、分離膜の TMP が何らかの原因によって上昇した場合、赤血球膜が破壊され溶血を起こす危険性がある。赤血球の溶血が起こると赤血球内にあるヘモグロビンが血漿中に遊離し血漿が赤色に変化する。したがって、治療中肉

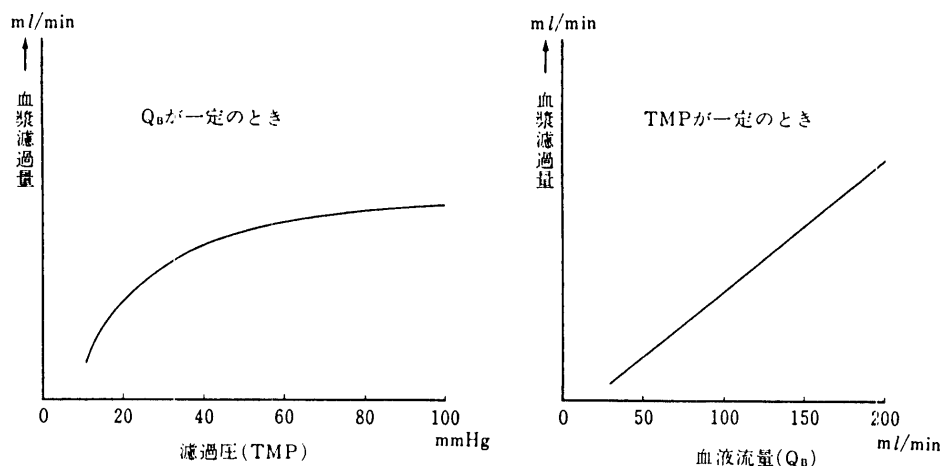


図1 血漿濾過量と濾過圧・血液流量との関係

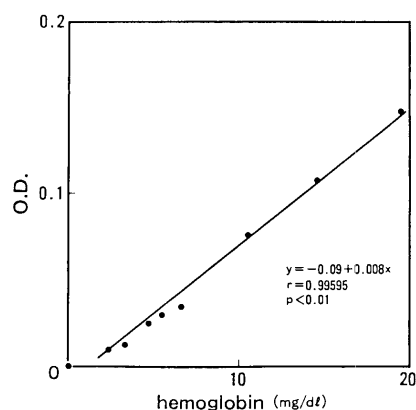


図2 ヘモグロビン濃度と420 nm 吸光度の関係
(血漿, 試験溶液)

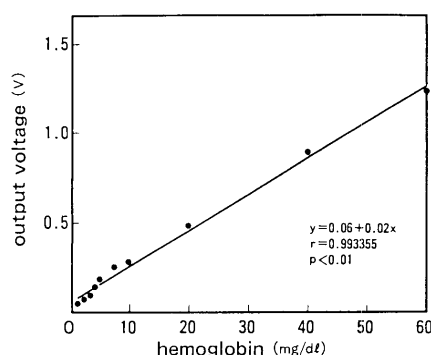


図3 ヘモグロビン濃度とヘモグロビン検出器出力電圧の関係

眼的に溶血を発見することは可能である。しかし、肉眼的なモニター監視ではその感度は後述するように異常に低い。また、高度の肝機能障害症例における治療では、黄疸による血漿色調の変化のため分離された血漿の色から肉眼的溶血を判断することは困難である。溶血を放置すれば術後の貧血の進行、腎障害など副作用を起こすことがあるので膜分離法では、溶血を早期に発見し対処しなければならない。

③ヘモグロビン吸光度モニターによる溶血の検出

そこで、我々は分離膜血漿のヘモグロビン吸光の連続監視による溶血の検出器を試作した¹¹⁾。ヘモグロビン濃度と吸光度の関係を図2に、出力電圧との関係を図3に示す。ヘモグロビン濃度と吸光度および出力電圧には正の比例関係がある。そこで、実際の膜分離法による治療における分離血漿中のヘモグロビン吸光度とTMPの関係について示す。

臨床でのヘモグロビン吸光度測定によるヘモグロビンの定量を図4に示した。さらに肉眼的に血漿の変色より判断できる限界を示した。溶血は肉眼的には判断

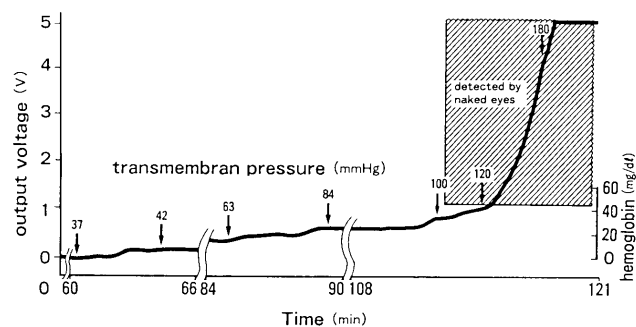


図4 血漿分離膜間圧力差とヘモグロビン検出器の出力電圧

のつかないTMPにおいて、既に発生していることが推測できる。このヘモグロビンによる溶血判定からその検出感度はヘモグロビン量として10~20 mg/dlである。

従来、献血など健常人よりの血漿分離採取の多くは遠心分離法により行われていた。最近では分離膜を用いて血漿を採取する方法も行われている¹²⁾。このドナーフェレーシスでは対象者がボランティアの健常人であるため、血漿採取にあたって溶血事故を決して起こしてはならない。そのためにも今後、溶血を連続的に監視する機構は必須である。

④血小板

血小板と分離膜との接触によって治療中に血小板数の変化はほとんどない。 β -TGやPF-4さらにはTXB₂などからみた血小板の活性化や損傷の程度は、治療に使用する抗凝固薬の違いによって異なる。メシル酸ナファモスタット使用時には通常のヘパリン使用時に比べ血小板活性の程度は小さい¹³⁾。

2.2 遠心分離法の問題点・注意点

市販される遠心分離装置は間歇的に分離する方法と連続的に分離する方法の2種類の装置がある。分離方法は血漿中の有形成分と血漿の比重差によって血液から血漿を分離する。したがって、遠心分離法では分離回転数を調整することにより白血球や血小板などを選択的に分離することも可能である。

2.2.1 ブラッドアクセス

分離血漿量25~30 ml/minを得るために膜分離法では100~120 mg/minの血液流量が必要となるが、遠心分離法では症例のヘマトクリット値が正常範囲とすれば、血液流量は分離血漿量の2倍程度で充分である。したがって、特別なブラッドアクセスを設けることなく上腕静脈に18G以上の針を留置することで治療を行える。さらに、脱血不良時においても溶血などの事

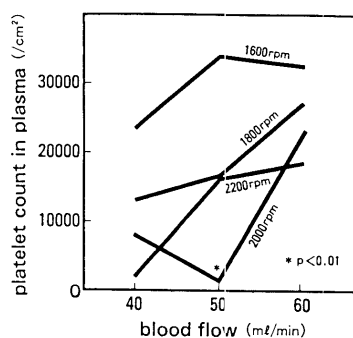


図5 血液流量と血小板の損失

故は少ない。

2.2.2 分離条件と有形成分

遠心分離法では血漿中の血漿を血液有形成分との比重差により分離するため、膜分離法と異なり、血液有形成分に対し損傷を与えることは少ない。前述のごとく遠心力によって分離するため比重の軽い物質は血漿中に含まれ処理血漿と一緒に廃棄される可能性がある。遠心分離法では血液流量と遠心分離回転数を分離除去する物質に合わせて最適な分離条件に設定しなければならない。

実際の血漿分離において最も損失を受けやすいのが血小板であり、ここでは血小板の損失と最適な血漿分離条件について検討した我々の成績を紹介する¹¹⁾。

遠心分離法での血小板損失に対する最適血漿分離条件の決定は、健康人血液を用い血液流量を30～70 ml/min、分離回転数1,400～2,400 rpmと変化させ、分離全血液中と分離血漿中に含まれる血小板数を測定し、損失量を%として表した。使用した分離器は連続遠心分離装置であるCOBE 2997は176 single-stage channelの組み合わせである。

①血液流量と血小板損失

血液流量と分離血漿中の血小板数は、血液流量40 ml/minでは血小板損失は回転数に依存し、高回転ほど血小板損失量は少ない。我々の検討では最も血小板損失量の少ない条件は血液流量50 ml/minという成績であった(図5)。

②分離回転数と血小板損失

回転数と血小板損失量の関係を図6に示す。血液流量40～60 ml/minでは分離回転数の上昇にともなって血小板損失は減少する。我々の成績では血小板損失の最も少ない条件は分離回転数2,000 rpm、血液流量50 ml/minであった。

図7は血小板損失量(%)と血液流量を各分離回転数別に比較した。分離回転数1,600 rpmで血小板損失

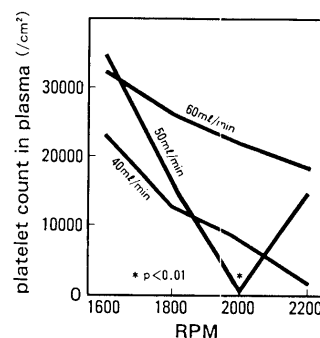


図6 遠心分離回転数と血小板の損失

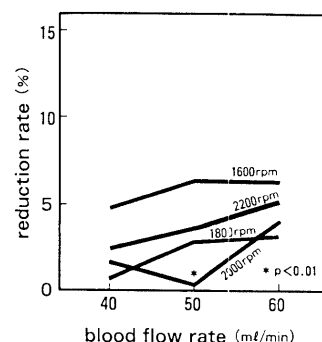


図7 遠心分離回転数の変化と各血液流量における血小板の損失

は大きく、血液流量40～60 ml/minで平均6%を認める。最も損失の少ない条件は分離回転数2,000 rpm、血液流量50 ml/minで1%以下であった。

最近では、遠心分離装置の評価として、血小板採取における白血球の混入などをフローサイトメトリーを用いて詳細に測定、評価されている¹⁴⁾。

3. 抗凝固薬

3.1 膜分離法

血液透析などの体外循環ではヘパリンが多く用いられる。膜分離法でのヘパリン持続投与量は血液透析に比べおよそ1.5倍で、実際には、1,000～1,500/時間である。手術後や出血巣を有する症例ではメシル酸ナファモスタット(FUT)も用いられる¹⁵⁻¹⁷⁾。この場合の持続投与量の決定は症例や血液流量および置換液の種類によって異なるが、目安としては30 mg/時間で開始し、全血凝固時間や体外循環回路の凝固状態により増減することが望ましい。通常置換液に新鮮凍結血漿を使用する場合ではアルブミン製剤使用時に比べ、FUTの投与量は減量可能である。

3.2 遠心分離法

一般に、献血などで血漿を得る場合にはACDや

CPD 液が抗凝固薬として用いられる。最近では、遠心分離法でも膜分離と同様にヘパリンを抗凝固薬として使用することが多い。ACD や CPD 液を抗凝固薬として使用する場合、その使用量は血液量に対し 9 対 1 比になる。この場合には血液中のカルシウムイオンが減少するため治療に際して注意しなければならない。

4. 置 換 液

単純血漿法では膜分離や遠心分離にて処理された血漿は廃棄され、等量のアルブミン溶液あるいは新鮮凍結血漿が置換液として使用される。アルブミン溶液使用時には溶液中の電解質を細胞外液と同様になるように調整する。

新鮮凍結血漿を置換液に使用する場合、新鮮凍結血漿中には抗凝固薬として添加されているクエン酸が残存するため血液中のカルシウムイオンと結合し治療の進行とともに低カルシウム血症をきたす。さらに、クエン酸そのものによる悪寒、嘔吐、振戦、不整脈などの中毒症状を呈することもある。したがって、置換液に新鮮凍結血漿を使用する際は血漿交換の後に血液透析を組み込むか、カルシウム製剤補充により血液中のカルシウムイオンを調整することが重要となる。したがって、神経筋伝達機能が障害されている神経疾患などでは特に注意を要す。

5. ま と め

以上、膜分離法と遠心分離法の問題点について整理した。両分離法が血液有形成分に与える影響はそれぞれの分離法の特徴に一致している。膜分離では血液流量や処理血漿量などから、TMP をできる限り低値に維持し、赤血球の損傷を防ぐことが最も重要となる。遠心分離法では、あらかじめ使用する遠心分離装置について、血液成分の分離特性と血液有形成分損失をなくす最適分離条件をあらかじめ確認しておくことが必要である。

どちらの治療を行うにしても、本治療は体外循環治療時の基本に立ち帰り、治療中は患者のバイタルサインを頻回にチェックしなければならない。

血圧低下時の処置としては、まずはじめに血漿分離を停止することである。その後、体外循環血液量の減

少に対する対策や昇圧剤を検討することになる。このような治療も、その効率を考える前に安全第一に行われることが基本であることをつねに銘記して治療に携わりたい。

文 献

- 1) Hamilton WAP, et al: Plasma exchange in SLE. *Lancet* **1**: 1249, 1980
- 2) Jones JV, et al: The role of therapeutic plasmapheresis in the rheumatic disease. *J Lab Clin Med* **97**: 589, 1981
- 3) Daw PC, et al: Plasmapheresis in multiple sclerosis: preliminary findings. *Neurology* **30**: 1023, 1980
- 4) Oosterhuis HJGH, et al: Antiacetylcholine receptor-antibodies in myasthenia gravis, part 2. Clinical and serological follow up of individual patients. *J Neurol Sci* **58**: 371, 1983
- 5) Weiner HL, et al: Immunoregulation in neurological disease. *Ann Neurol* **11**: 437, 1982
- 6) Thompson GR, et al: Assessment of longterm plasma exchange for familial hypercholesterolemia. *Br Heart J* **43**: 680, 1980
- 7) 岡 藤太郎, 他: Membrane Plasma Separator による補体活性. *人工臓器* **14**: 384, 1985
- 8) Murabayshi S, et al: Biocompatibility in membrane plasmapheresis; the necessity of global understanding. *Therapeutic Plasmapheresis* **6**: 311, 1987
- 9) 関口 孝, 他: 血液透析療法および血漿交換療法における活性化補体の動態. 膜素材および抗凝固法の影響. *日腎誌* **29**: 175, 1987
- 10) 金井福栄, 他: 血漿交換療法と生体反応. *外科治療* **55**: 152, 1986
- 11) Shibamoto T, et al: Hemolysis and platelet loss in plasma separation with membrane-separator and centrifugation methods. *Therapeutic Plasmapheresis* **12**: 761, 1993
- 12) Rock G, et al: Plasma collection using an automated membrane device. *Transfusion* **26**: 269, 1986
- 13) Koiwa F, et al: Evaluation of the activation of platelet, coagulation and fibrinolytic systems during membrane plasmapheresis. *Therapeutic Plasmapheresis* **9**: 509, 1990
- 14) Omokawa S, et al: Evaluation of various apheresis machines in platelet pheresis with special reference to leukocyte contamination in platelet concentrate measured by flow cytometry. *Jpn J Artif Organs* **23**: 518, 1994
- 15) 伊藤博夫, 他: プラズマフェレーシスにおける抗凝固薬としての FUT-175 の使用経験. ヘパリン非適応例に対する使用について. *透析会誌* **21**: 919, 1988
- 16) 山崎善弥, 他: 膜型血漿分離時の FUT-175 (FUT) 抗凝固法の薬物動態的検討. *人工臓器* **18**: 1392, 1998
- 17) 秋澤忠男: タンパク分解酵素阻害剤と体外循環. *臨床血液* **31**: 782, 1990