

総 説

アフェリシスに用いられている物理的原理

峰 島 三千男

東京女子医科大学腎臓病総合医療センター血液浄化部門

Physical Principles in Apheresis Therapies

Michio Mineshima

Division of Blood Purification, Kidney Center, Tokyo Women's Medical University

Summary Several kinds of apheresis therapies have been developed to remove pathogenic substances related to some diseases, such as an autoimmune disease. These therapies are based on technologies, centrifugation, membrane separation, and adsorption that have been utilized in blood purification therapies for renal failure patients. Membrane plasma separation strongly depends on the concentration polarization of formed elements, mainly erythrocytes. The erythrocyte polarization model, therefore, is often applied to explain the transport of some kind of proteins through the membrane of the plasma separator. Water permeability and separative properties of the membrane plasma fractionator, which is utilized as secondary filter in double filtration plasmapheresis (DFPP), are often explained by a gel polarization model. There is a limitation in the plasma fractionation between albumin and some immunoglobulins associated with toxins related to autoimmune diseases, because none of the currently available plasma fractionators has a strict cutoff property for these proteins.

Key words: centrifugation, plasma separation, plasma fractionation, adsorption, polarization model

患者血液を体外へ取り出し、血液中の病因物質や不要物質を除去したり、血中で不足している物質を補給したりする治療法を総称して血液浄化法という。表1に各種血液浄化療法とその主な適応疾患を示す¹⁾。当初は腎不全や薬物中毒の患者を対象にした人工腎臓治療として用いられていた。しかし、それら治療法に用いられていた膜分離や吸着の技術を拡大応用すること

により、免疫異常などの他の疾患患者に対しても適用できるようになってきている。これらを最近ではアフェリシス（ギリシャ語で分離という意味）療法と呼ぶようになってきている。そのアフェリシス療法の中で、患者血液をまず有形成分と血漿成分に分け、後者に含まれる病因物質（蛋白）を除去する治療法を、とくに血漿浄化という。ここでは、血漿浄化に用いられてい

表1 各種血液浄化療法と主な適応

血液浄化療法	人工腎治療		血液透析 (HD) 血液濾過 (HF) 血液透析濾過 (HDF) 直接血液灌流 (DHP) [腹膜透析 (PD)]	腎不全, 薬物中毒 腎不全, 薬物中毒, 肝不全 腎不全, 薬物中毒, 肝不全 腎不全, 薬物中毒, 肝不全 腎不全
	アフェリシス療法	全血浄化	全身洗い出し法 血液吸着	薬物中毒, 肝不全 肝不全
		細胞処理	リンパ球除去 顆粒球除去	免疫異常 免疫異常
		血漿浄化	全血漿交換 (Pex, PP) 二重濾過血漿分離交換 (DFPP) 冷却濾過血漿分離交換 塩析 特異的血漿吸着 非特異的血漿吸着	肝不全, 免疫異常 免疫異常 免疫異常 免疫異常 腎移植, 肝不全 免疫異常, 高脂血症

る物理的原理を概説する。

1. アフェレシス療法

血漿浄化に用いられている分離技術を表2に示す¹⁾。

まず、有形成分と血漿成分とを分ける血漿分離としては遠心分離法と膜分離法がある。前者は日本赤十字社や大学病院の輸血部等が行っている成分採血で広く利用されている技術である。遠心分離は高速回転して生じる遠心力の差を利用して溶質と粒子を分離するのに対し、膜分離は文字どおり、膜に開いている細孔より小さい成分を透過させ、大きい成分の透過を阻止することにより分離する。遠心分離は分離効率が高く、低血流量でも対応できる特長を持つ反面、連続運転がしにくい、比較的大きな装置を要することから、治療用血漿浄化の大半は膜分離を利用している。膜型血漿分離では血漿中に溶解している蛋白成分までを透過させ、それより大きい赤血球、白血球などの粒子（有形成分）の透過を阻止することにより分離が行われる。

血漿分離により得られた血漿から病因蛋白を除去する方法としては、表2に示したように3種の方法がある。

(1)全血漿交換：分離血漿をすべて廃棄し、新鮮凍結血漿（FFP）などの置換液と交換する方法である。コストがかかるとともに、ウィルス感染などの問題がある。

(2)分画血漿交換：分離血漿をアルブミン分画と病因蛋白を含むグロブリン分画とにさらに膜分離し、後者を廃棄する方法である。結局、血漿分離器と血漿成分分離器の2本の膜分離器を利用することから、二重濾過血漿分離交換法（Double filtration plasmapheresis, DFPP）と呼ばれる。全血漿交換に比べ置換液の使用量を大幅に削減できる特長をもつ。分画分離を4℃前後の冷却下で行う冷却濾過血漿分離交換法（Cryofiltration plasmapheresis, CFPP）では、病因蛋白を含むグロブリン分画が4℃前後で凝集しやすい性質を利用して効率よく分画分離を行うことができる。

表2 血漿浄化に用いられている分離技術¹⁾

分離目的	分離法
分離法	遠心分離 膜分離
治療法	全血漿交換 分画血漿交換（DFPP, CFPP, 塩析） 血漿吸着（特異的, 非特異的）

DFPP：二重濾過血漿分離交換, CFPP：冷却濾過血漿分離交換。

本法では置換液が不要である。また塩析は分離血漿に塩類を添加させグロブリン分画を選択的に沈殿させて効率よく除去する方法である。原理としては共同沈殿（co-precipitation）現象を利用している。しかし本法は、分画分離器としての沈殿除去フィルタ、分離後の電解質調整のためダイアライザも必要なため、システムが若干煩雑と言える。

市販されている膜型血漿分離器、血漿成分分離器の仕様を表3に示す²⁾。種々の膜材料が使われている。いずれも中空糸型で、外観は人工腎臓と類似しているが、膜に開いている細孔径が大きく異なる。すなわち、血漿分離器では有形成分と蛋白成分とを分離するため0.1 μ 、血漿成分分離器ではアルブミン分画とグロブリン分画とを分離するため0.01 μ のオーダーの細孔径が設定されている。しかし、現実には細孔径にも分布があり、大きな孔もあれば小さな孔も存在する。特に分離目標条件の厳しい血漿成分分離器ではシャープな分画は得にくい特徴をもつ。表4に各種血漿成分分離器の分画特性を示す³⁾。ふるい係数は血漿成分分離器の入口濃度に対する濾液濃度の比と定義され、その蛋白の分画器における透過率を表している。従って、アルブミンのふるい係数が1、病因蛋白を含むIgGなどのふるい係数が0であることが理想となるが、表中の値をみてわかるように実際は理想と大きくかけ離れていることがわかる。とくに、リウマチの病因蛋白を含むIgMとアルブミンの分離は比較的良好なものの、多くの自己免疫疾患の病因蛋白はIgGに位置するものが多く、これらとアルブミンの分離には限界があり、実際のDFPPではアルブミン自身の濃縮廃棄を見込んで、置換液アルブミン濃度を若干高濃度に設定する必要が生じている。さらに、表中の値はDFPP開始30分後の臨床データの平均値を示したものであるが、実際には治療が進むにつれ、分離膜に種々の血漿蛋白が付着し、これにより分離対象蛋白のふるい係数も経時的に減少する。図1に血漿成分分離器4Aにおける種々の蛋白のふるい係数の経時変化を示す⁴⁾。ほとんど0付近の値をもつ β リポ蛋白以外の蛋白ではふるい係数の経時減少がみられ、とくに分子の大きいIgGで顕著である。これは蛋白の膜付着によって膜構造が変化したことによると考えるべきである。

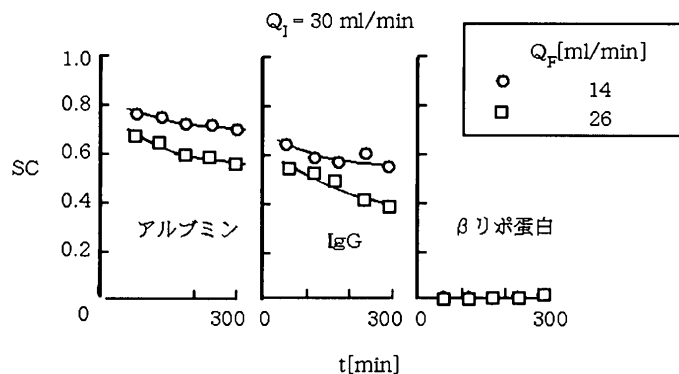
(3)血漿吸着：分離血漿を吸着カラムに灌流し、特異的もしくは選択的に病因蛋白を除去する方法である。一般に吸着は吸着材と被吸着物質（除去対象蛋白）との親和性を利用した分離法である。

表 3 各種血漿分離器、血漿分画器の仕様²⁾

メーカー	品名	型式	膜素材	膜面積 (m ²)	内径 (μm)	有効長 (mm)	膜厚 (μm)	孔径 (μm)	供給液側 充填量 (ml)	濾液側 充填量 (ml)	本数	滅菌法
血漿分離器												
旭メディカル	プラズマフロー	OP-02	polyethylene	0.20	340	140	50	0.3	25.0	30.0	1,600	EOG
		OP-05	polyethylene	0.50	340	220	50	0.3	50.0	80.0	2,200	EOG
		OP-08	polyethylene	0.80	340	200	50	0.3	80.0	120.0	3,600	EOG
カワスミ	プラズマセパレーター	KPS-02	polypropylene	0.20	330	180	140	0.6	23.0		1,100	AC
		KPS-03	polypropylene	0.30	330	180	140	0.6	34.0		1,700	AC
		KPS-04	polypropylene	0.40	330	240	140	0.6	46.0		1,700	AC
鐘淵化学	サルフラックス	FS-03	polysulfone	0.30	330	170	50	0.2	35.0		2,100	γ線
		FS-05	polysulfone	0.50	330	210	50	0.2	55.0		2,800	γ線
		FS-08	polysulfone	0.80	330	255	50	0.2	90.0		3,500	γ線
クラレ	プラズマキュアー	PS-0.3	polysulfone	0.30	320	160	65	0.2			1,900	γ線
		PS-0.6	polysulfone	0.60	320	200	65	0.2			3,000	γ線
	エバキュアー	EC-1 A	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.008	125		3,000	EOG
		EC-2 A	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.010	125		3,000	EOG
		EC-3 A	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.020	125		3,000	EOG
ニプロ	プラズマスター	EC-4 A	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.030	125		3,000	EOG
		PF-50 N	cellulose triacetate	0.50	285	160	60	0.4	55.0	80.0	3,500	EOG
		PF-75 N	cellulose triacetate	0.75	285	160	60	0.4	85.0	120.0	5,300	EOG
泉工医科	ダイヤクリスタル	MPS-60 TD	polyethylene	0.60	270	165	55		50.0	100.0	4,300	EOG
宇部興産	プロピレックス	PP-03	polypropylene	0.30	330	185	50	0.5	27.0	85.0	1,800	AC
		PP-05	polypropylene	0.50	330	185	50	0.5	48.0	136.0	3,000	AC
血漿分画器												
旭メディカル	カスケードフロー	AC-1730	cellulose diacetate	1.7	220	207	80	0.013	130	140	13,500	EOG
		AC-1740	cellulose diacetate	1.7	220	207	80	0.018	130	140	13,500	EOG
		AC-1760	cellulose diacetate	1.7	220	207	80	0.025	130	140	13,500	EOG
		AC-1770	cellulose diacetate	1.7	220	207	80	0.037	130	140	13,500	EOG
カワスミ, ク ラレ	エバフラックス	2 A-G	ethylene vinylalcohol	1.0	175	190	40	0.010	100		9,600	EOG
		4 A-G	ethylene vinylalcohol	1.0	175	190	40	0.030	100		9,600	EOG
		2 A-F	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.010	140		15,800	EOG
		3 A-F	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.020	140		15,800	EOG
		4 A-F	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.030	140		15,800	EOG
		5 A-F	ethylene vinylalcohol	2.0	175	230	40	0.030	140		15,800	EOG

表 4 各種血漿成分分離器のふるい係数³⁾

血漿成分分離器	膜	アルブミン	IgG	IgM	βリボ蛋白
旭メディカル AC 1730	CDA	0.501	0.314	0.077	0.015
旭メディカル AC 1760	CDA	0.710	0.517	0.166	0.039
クラレ 2 A	EVAL	0.526	0.267	0.075	0.011
クラレ 4 A	EVAL	0.632	0.602	0.268	0.043

図 1 血漿分画器 4A におけるふるい係数の経時変化⁴⁾

現在までに考案もしくは開発された主な吸着材を表 5 に示す (文献 5 を改変)。血漿吸着は、生物学的吸着と物理的吸着に大別される。前者は抗原抗体結合、補体結合などの比較的強い結合で特異的な吸着であるのに対し、後者は電氣的引力 (静電結合) や疎水結合など、比較的弱く対象蛋白と似たような性質をもつ蛋白も同時に吸着してしまうことが多い。それゆえ物理的吸着は非特異的吸着あるいは選択的吸着などとも呼ばれている。血漿吸着における吸着材はとくにリガンドと呼ばれ、通常担体と呼ばれる素材に固定化されて

表5 各種吸着療法（文献5を改変）

吸着原理	吸着様式		リガンド	被吸着物質	実用化吸着材
物理学的相互作用	静電結合	ポリアニオン	デキストラン硫酸 ポリアクリル酸	LDL LDL	リポソーバ LA
		陰イオン交換樹脂	スチレンビニルベンゼン共重合体	ビリルビン, 胆汁酸	ブラソーバ BR, メディソーバ BL
	静電結合+疎水結合		ポリミキシン B	エンドトキシン	PMX
	疎水結合		疎水性アミノ酸（トリプトファン, フェニルアラニン）	リウマチ因子, 抗DNA抗体, 免疫複合体, 抗Ach-R抗体	イムソーバ PH, イムソーバ TH
生物学的相互作用	抗原抗体結合	抗原	DNA 血液型糖鎖 抗Ach-R人工抗原	抗DNA抗体 抗血液型抗体 抗Ach-R抗体	バイオシンソルブ メディソーバ MG
		抗体	抗LDL抗体 抗AFP抗体 抗HBs抗体	LDL AFP HBs	
	補体結合 Fc結合		C1q プロテイン A	免疫複合体 IgG, 免疫複合体	プロソーバ

いることが多い。

特異的な吸着材の例としては、ABO 不適合移植における血液型抗体吸着材が挙げられる。一方、静電結合などの非特異的な吸着材としては、家族性高コレステロール血症や ASO に対する脂質吸着材、重症筋無力症などの自己免疫疾患に対する免疫吸着材のほか、肝不全患者に対するビリルビン吸着材やエンドトキシン吸着材などが実用化されている。なおビリルビン吸着には全血を直接吸着カラムに灌流させる方法もある。血漿吸着法の最大のメリットは置換液を必要としないことである。血漿吸着は発展途上の分野であり、今後新しいリガンド-担体の開発により種々の疾患に対して適用されるものと思われる。また最近では、患者血液を直接カラムに灌流できる直接血液灌流（direct hemoperfusion, DHP）吸着システムも増えてきている。

2. 膜型分離器の基本特性

以下に、臨床でもっとも利用されている膜型血漿分離器、血漿成分分離器の分離特性について言及する。

2.1 血漿分離器の性能

血漿分離器は、血漿蛋白以下の成分はすべて膜を透過させ、赤血球、白血球、血小板などの有形成分は膜で完全に阻止させるような分離が目標とされる。このような膜透過性を説明するモデルとして、限外濾過膜に対する濃度分極層モデルに準じたモデルが適用されるが、透過できない有形成分の大部分が赤血球であるため、「赤血球分極層モデル」と呼ばれる（図2）⁶⁾。

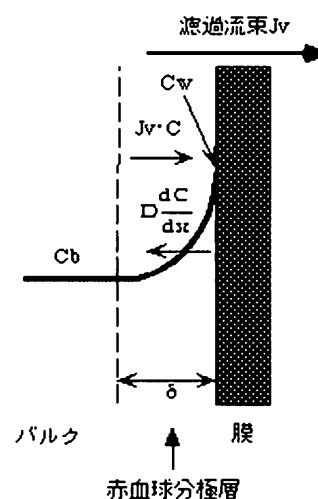


図2 赤血球分極層モデル（文献⁶⁾より引用）

図2で膜面左→右へ圧力がかかり濾過が開始されると、膜不透過物質は膜面で阻止され、膜面に近いほどバルク（本流）側濃度より高くなる。この濃度分布を濃度分極といい、定常状態では膜透過流束 J_v に運ばれる溶質流束と分極層で形成される逆拡散溶質流束がつりあい、次式の収支式が成り立つ。

$$J_v \cdot C = D \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

ここで、C：溶質濃度

D：拡散係数

x：濃度分極層内バルクからの距離

これを、 $x=0 \rightarrow \delta$, $C=C_b \rightarrow C_w$ の境界条件のもとに解くと、

$$J_v = \frac{D}{\delta} \ln\left(\frac{C_w}{C_b}\right) \quad (2)$$

ここで、 δ ：濃度分極層厚み

w, b ：膜面およびバルク

となる。 (D/δ) の値は濃度分極層内物質移動係数 k を意味し、管内層流に関する Leveque⁷⁾ の式を適用すると次式が得られる。

$$J_v = \alpha \left(\frac{D^2 \cdot \gamma_w}{y} \right)^{1/3} \ln\left(\frac{C_w}{C_b}\right) \quad (3)$$

ここで、 y ：分離器入口からの流れ方向の距離

γ_w ：膜面剪断速度

α ：係数

血漿分離膜で阻止される有形成分は溶質ではなく粒子であるため、濃度分極モデルは厳密にはあてはまらないが、Zydney ら⁸⁾ は有形成分を溶質に置き換えられると拡大解釈して上記の濃度分極モデルを適用した。この際、Eckstein ら⁹⁾ が報告した有形成分の拡散係数 D の値が膜面剪断速度 γ_w に比例するという結果を導入し、ヘマトクリット HCT を用い(3)式を以下のごとく書き直している。

$$J_v = \beta \frac{\gamma_w}{y^{1/3}} \ln\left(\frac{\text{HCT}_w}{\text{HCT}_b}\right) \quad (4)$$

ここで、 β ：係数

2.2 血漿成分分離器の性能

広い意味で血漿分画分離とは血漿タンパク成分のある分画と他の分画とを分離することを意味するが、アフレスシスの分野では病因タンパクを含む globulin 分画と患者にとって有用なアルブミン分画とを分離することを概ね意味している。ここでは、血漿成分分離器 (Plasma Fractionator, PF) の濾過機構、分画特性について述べる。

2.2.1 透水性

PF における濾過は、腎不全治療で用いられる血液濾過と同様、限外濾過 (ultrafiltration, UF) に分類され、UF における濾過機構は図 3 に示すゲル分極層モデルによって説明される^{10,11)}。

PF のように膜を透過できないタンパクが存在するとき、濾過とともにそのバルク (供給血漿) 側タンパク濃度は濃縮により膜面に近いほど高い濃度分布をもつようになる。これを濃度分極という。さらに濾過が続くとタンパク濃度はやがて飽和に達し、タンパクはゲル化するようになる。この状態になると、いくら膜に圧力差 (TMP) をかけても、ただゲル層の厚みを増すだけで濾過流束 J_v は変わらなくなる。この現象

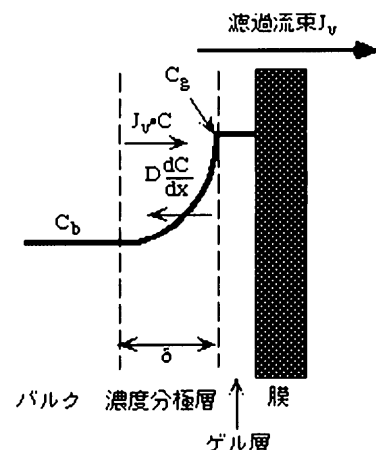


図3 ゲル分極層モデル (文献^{10,11)} より引用)

をゲル分極 (gel polarization) という。いま、膜をまったく透過できないタンパクについて考えてみると、その流束は濾過によって膜面へ運ばれる流束 $J_v \cdot C$ と濃度分極で生じた濃度差を推進力とする逆拡散流束 $D (dC/dx)$ とからなり、タンパクの膜への付着がなければ両者は等しくなるから、

$$J_v \cdot C = D \frac{dC}{dx} \quad (5)$$

が成立する。これを $x=0: C=C_b$, $x=d: C=C_g$ の境界条件のもとに解くと、

$$J_v = \left(\frac{D}{\delta} \right) \ln\left(\frac{C_g}{C_b}\right) \quad (6)$$

が得られる。ここで D はタンパクの拡散係数、 δ は濃度分極による境界層厚み、 C_b および C_g はバルクおよびゲル層内タンパク濃度である。 (D/δ) は物質移動係数 k と呼ばれ、バルク液側剪断速度 γ が大きいほど増大する。(6)式から J_v は k が大きいほど、 C_b が小さいほど高値を示すことがわかる。したがって γ を大きくするような分画器の仕様が望まれるが、同時に圧力損失も増加するため両者のかねあいで通常設計される。

2.2.2 分画特性

実際の PF の性能を考えた場合、透水性は操作可能な範囲の濾過が得られれば実質的に問題はなく、むしろタンパク分画間の分離が重要となる。膜を一部透過し、一部阻止されるようなタンパクを考えた場合、濾過に伴うタンパクの透過機構は図 4 に示した濃度分極層モデルにより説明される⁹⁾。すなわち、膜で阻止されたタンパクは濃縮により濃度分極を生じるが、このとき膜を透過するタンパク流束 J_s は、膜へ向かう流束 $J_v \cdot C$ から逆拡散流束 $D(dC/dx)$ を引いたものに

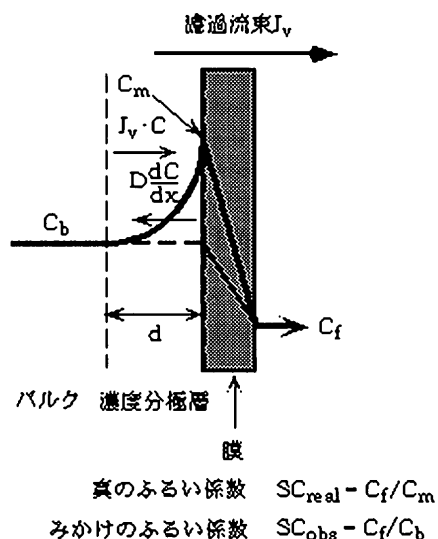


図4 透過タンパクに関する濃度分極層モデル
(文献⁶⁾より引用)

等しく、また濾過流速 $J_v \cdot C_f$ にも等しくなると考えられるから、

$$J_s = J_v \cdot C - D \frac{dC}{dx} = J_v \cdot C_f \quad (7)$$

の物質収支が成り立つ。

これを $x=0: C=C_b$, $x=\delta: C=C_m$ の境界条件のもとに解くと、

$$J_v = \left(\frac{D}{\delta} \right) \ln \left(\frac{C_m - C_f}{C_b - C_f} \right) \quad (8)$$

が得られる。ここで C_m および C_f は膜面および濾液側タンパク濃度である。

膜によるタンパクの透過の程度を表す指標としてふるい係数 (sieving coefficient, SC) がしばしば利用される。膜の両側濃度比で定義される真のふるい係数 SC_{real} は、

$$SC_{real} = C_f / C_m \quad (9)$$

のように実測不可能な C_m を含むため、通常実測可能な C_b を基準としたみかけのふるい係数 SC_{obs} が利用される。

$$SC_{obs} = C_f / C_b \quad (10)$$

さて、(9)、(10)式を(8)式に代入し、整理すると次式が得られる。

$$\ln \left(\frac{SC_{obs}}{1 - SC_{obs}} \right) = \ln \left(\frac{SC_{real}}{1 - SC_{real}} \right) + \frac{J_v}{(D/\delta)} \quad (11)$$

ここで、 (D/δ) は前述のゲル分極層モデル同様、濃度分極層の物質移動係数 k に等しく、剪断速度 γ すな

わちバルク液供給流量 Q_i の上昇とともに増大する。したがって、 Q_i を広範囲に変化させた時の SC_{obs} を測定し、上式の左辺と $(1/Q_i)^n$ の関係を求めその外挿値より SC_{real} を求めることが可能である。

膜固有のタンパク分離性能を表す指標としては Staverman の反射係数 σ がある。 SC_{real} と σ の間には不可逆過程の非平衡熱力学から次式が成り立つ¹²⁾。

$$SC_{real} = \frac{1 - \sigma}{1 - \sigma \exp[-Q_f(1 - \sigma)/(P_m A)]} \quad (12)$$

ここで、 P_m は溶質透過係数、 A は有効膜面積である。いま Q_f を限りなく大きくすると SC_{real} は $1 - \sigma$ に近づくことから、 $1 - SC_{real}$ と $1/Q_f$ の外挿値から σ の値を求めることができる。

3. おわりに

以上、アフェレシスに用いられている分離技術とその物理的原理について概説した。

文 献

- 1) 峰島三千男：プラスマフェレーシス。臨牀看護 23: 273-278, 1997
- 2) 峰島三千男：二重膜濾過血漿交換について。日アフェレシス会誌 13: 22-24, 1994
- 3) 峰島三千男：二重濾過血漿分離交換法—理論的考察、標的治療、阿岸鉄三編集、日本メディカルセンター、東京、1989、p. 17-24
- 4) Mineshima M, Agishi T, Hasuo Y, et al: Effect of membrane trapping in plasma fractionator on separative characteristics. Int J Artif Organs 11: 191-194, 1988
- 5) 山崎善弥：血漿（免疫）吸着法の技術的展望、血漿浄化療法、阿岸鉄三編集、医学書院、東京、1996、p. 54-58
- 6) Kimura S, Sourirajan S: Analysis of data in reverse osmosis with porous cellulose acetate membrane used. AIChEJ 13: 497, 1967
- 7) Leveque MA: Ann Mines 13: 201, 1928
- 8) Zydney AL, Colton CK: Continuous flow membrane plasmapheresis: Theoretical models for flux and hemolysis prediction. Trans Am Soc Artif Intern Organs 28: 408-412, 1982
- 9) Eckstein EC, Bailey DG, Shapiro AH: Self-diffusion of particles in a shear flow of a suspension. J Fluid Mech 79: 191, 1972
- 10) Michaels AS: New separation technique for the CPI. Chem Eng Progress 64: 31, 1968
- 11) Porter MC: Concentration polarization with membrane ultrafiltration. Ind Eng Chem Prod Res Dev 11: 234, 1972
- 12) Spiegler KS, Kedem O: Thermodynamics of hyperfiltration (reverse osmosis): criteria for efficient membrane. Desalination 1: 311-326, 1966