

## 総 説

## アフェレシス用膜型分離器の牛血系評価法

峰 島 三 千 男

日本アフェレシス学会技術委員会前委員長  
東京女子医科大学臨床工学科

## Performance Evaluation of Membrane Plasma Separators and Plasma Fractionators Using Bovine Blood

Technical Committee, Japanese Society for Apheresis  
Michio Mineshima, Former Chairman of the Committee

Tokyo Women's Medical University

**Summary** Several types of performance data for membrane plasma separators and plasma fractionators has been reported by manufacturer's catalogues and scientific presentations by clinical researchers during academic meetings. However, we cannot compare these data under same conditions because they were obtained by different methods and under different conditions such as flow rates.

From this viewpoint, performance evaluation using bovine blood was introduced in this study to evaluate the performance of membrane plasma separators and plasma fractionators under the same conditions, which were similar to clinical situations. For an example, a part of 5,000 ml of bovine blood in a tank was circulated at 100 ml/min and fed to the plasma separator. Both filtrated plasma at 25 ml/min of filtration flow rate and the retentate of the blood at 75 ml/min were returned to the original tank in a closed circuit. Samples at inlet, outlet and filtrated portions in the plasma separator were collected and tested for albumin, LDL, IgG, HDL, total cholesterol and total protein. Values for the sieving coefficient of the plasma separator were calculated from these data. A good correlation between clinical data and the experimental data was obtained within 1 hour because there was no serious membrane fouling. Bovine blood testing was effective for performance evaluation of membrane plasma separators and plasma fractionators.

**Key words** : performance evaluation, plasma separator, plasma fractionator, bovine blood, sieving coefficient

## 1. 緒 言

アフェレシス療法の適応拡大に伴い、種々のアフェレシス機器が開発され、臨床に用いられている。中でもアフェレシス用膜型分離器（血漿分離器・血漿成分分離器）はその使用頻度において大きな役割を果たしてきた。現在までのところ、これらアフェレシス用膜型分離器の基本性能はメーカーが自主的に公表したカタログデータやそれを使用した医療機関の学術報告によってのみ知ることができる。しかし、その評価方法は、使用した溶液、流量などの測定条件がまちまちであり、他の分離器との性能比較や条件を変更したときの性能予測が困難なケースがほとんどである。

このような背景の下、アフェレシス用膜型分離器の性能評価法を確立することは、それぞれの分離器の持

つ普遍的な基本性能を把握し、臨床での分離器選択の判断基準や安全な使用につながる点できわめて有用と考えられる。

## 2. 牛血系評価法

血液透析など、膜型腎不全治療に用いられる血液浄化器に関しては、1996年、佐藤らにより報告<sup>1)</sup>された「各種の血液浄化法の機能と適応。血液浄化器の性能評価法と機能分類」が学会レベルでコンセンサスを得ており、血液浄化器の基本的な性能評価法が確立されている<sup>2,3)</sup>。アフェレシス用膜型分離器についても基本的にはこの評価法に準じた考え方が適用できる。

膜型分離器の性能評価法としては、水系評価と臨床評価が考えられる。前者はタンパク分画特性、透水性といった基本的な性能を標準的な条件で厳格に評価す

ることが可能である。しかし、その結果は、血液系、血漿系のそれとは本質的に異なる。一方、臨床評価は臨床データを基本とする点で優位であるが、患者の個人差による影響を排除できない。ここでは、臨床に則した擬似的な評価法として牛血系評価法を導入することにした。臨床に比べ、より厳密かつ再現性のある評価が、牛血系 *in vitro* 評価法では可能と考えられる。今回、我々は牛血液を用いた性能評価基準（案）作成のための *in vitro* 実験を行い、臨床データと比較することにより、*in vitro* 実験による性能評価法の妥当性を検討した。

### 3. 実験方法

#### 3.1 評価対象モジュール

今回、評価対象としたのは血漿分離器 OP-05 W (旭化成メディカル社製)、血漿成分分離器 Evaflex-2 A (クラレメディカル社製) の 2 製品である。

#### 3.2 実験回路

##### 3.2.1 血漿分離器の性能評価

実験回路を図 1 に示す。約 5,000 ml の牛血液を用いた閉鎖循環回路とした。血流量 100 ml/min にて貯血槽より循環して血漿分離器に供給し、血漿流量 25 ml/min にて濾過した。圧力については、血漿分離器の入口圧、出口圧、濾過圧を各ポイントに設置したドリップチャンバを介し水銀マンオメータで測定した。また、測定時はチャンバを図 1 のように同一の高さとし、定常状態に達した時点で圧力値を測定した。サンプリングは、図 1 の太円で示した 3 ポイントから採液し、サンプリングによって流れに影響を与えぬよう緩徐に、慎重に採液した。また、相互の影響も排除するため採

液順を下流域から（図中の番号順）とした。

##### 3.2.2 血漿成分分離器の性能評価（排液再循環法）

実験回路を図 2 に示す。約 3,000 ml の牛血漿を用いた閉鎖循環回路とした。血漿流量 25 ml/min にて貯液槽より循環して血漿成分分離器に供給し、排液流量 5 ml/min にて分画分離した。圧力測定とサンプリングについては、3.2.1 と同様とした。

##### 3.2.3 血漿成分分離器の性能評価（部分排液法）

より臨床に近い回路構成として部分排液法にて評価した。実験回路を図 3 に示す。約 3,000 ml の牛血漿を用いた部分排液回路とした。血漿流量 25 ml/min にて貯液槽より循環して血漿成分分離器に供給し、排液流量 5 ml/min にて分画分離した。排液と同速度にてウシアルブミン溶液（10 w/v%）を置換液として回路内に注入した。圧力測定とサンプリングに関しては、3.2.1 と同様とした。

### 3.3 検査項目

今回は、表 1 に示す項目について検査した。家畜等動物の検体検査可能な十勝臨床検査センターにサンプルを凍結して郵送し依頼した。ウシの場合、脂質系データの一部にヒトよりかなりの低値を示す項目があり、検査不可となる場合がある。例えば、トリグリセライド (TG)、LDL などは 1 桁台 (10 mg/dl) の値を示す場合があり、注意を要する。

### 3.4 評価項目

血漿分離器、血漿成分分離器において、以下の項目について評価した。

#### 3.4.1 ふるい係数 (SC)

SC の算出には、次式を用いた。

$$SC = C_f / C_i \quad (1)$$

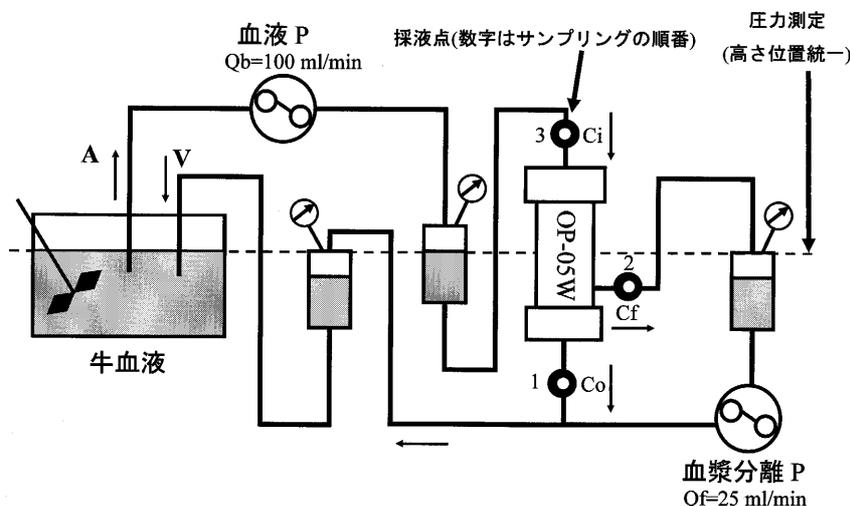


図 1 血漿分離器性能評価回路図

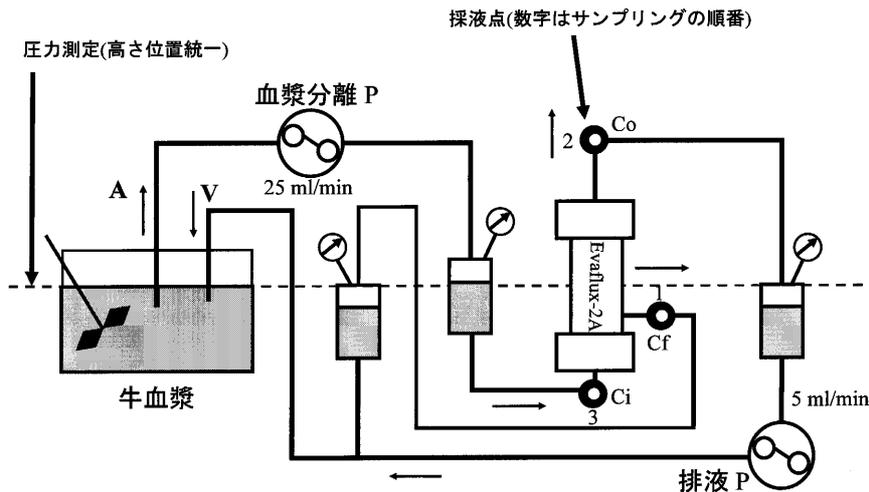


図2 血漿成分分離器性能評価回路図 (排液再循環法)

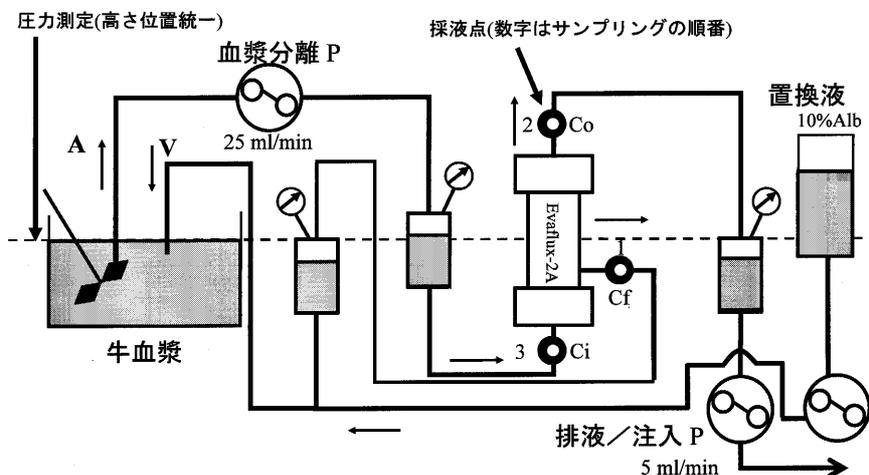


図3 血漿成分分離器性能評価回路図 (部分排水法)

表1 検査項目の一覧

対象溶質	検査方法
アルブミン (Alb)	BCG (Bromo Cresol Green) 法
LDL	酵素的測定法
IgG	抗ウシ IgG 抗体を用いた免疫比濁法
HDL	選択阻害法
総コレステロール (T-cho)	コレステロール酸化酵素法
総タンパク (T.P.)	Biuret 法

ただし, Cf: 濾液中の溶質濃度, Ci: モジュール入口の溶質濃度

### 3.4.2 濾過率 (FR)

濾過性能の指標である FR の算出には, 次式を用いた。

$$FR = 60 \times Q_f / TMP \quad (2)$$

ただし, Q<sub>f</sub>: 濾液流量 (ml/min), TMP: 膜間圧力差 (mmHg)。

膜間圧力差 (TMP) の算出には, 次式を用いた。

$$TMP = (P_i + P_o) / 2 - P_f \quad (3)$$

ただし, P<sub>i</sub>: モジュール入口圧, P<sub>o</sub>: モジュール出口圧, P<sub>f</sub>: 濾過圧

## 3.5 牛血液の取り扱い

### 3.5.1 牛血液の入手法

牛血液の入手は, 専門の牛解体業者 (東京芝浦臓器株式会社) より調達可能であった。近年, 狂牛病の問題により感染症の有無の検査に丸1日の時間が必要となり, 解体後牛血液が届くまで最短でも2日間の時間を要した。入手した牛血液には, 約15%の容量比でACD液が含有しており, 抗凝固化処理が施されている。一般に10L程度の牛血液を4,000円程度で入手可能である。

### 3.5.2 前処理

入手した牛血液を実験に使用する前に種々の混在物

をあらかじめ除去する必要がある。牛血液中には脂肪組織、血液凝固物、破壊された赤血球膜、フィブリンなどが混在しており、このままでは実験液として使用できない。

まず初めに、ストッキングなどの目の粗いネットを用いて血液を濾過し、比較的大きな混在物を取り除く。次に、微小凝集塊除去用フィルタ（著者らはポール輸血フィルタ SQ 40 s を使用）を用いて、2 度目の濾過を行い、比較的小さな混在物を取り除いた。この 2 段階の濾過を経て *in vitro* 実験に適当な試験用血液となる。

### 3.5.3 試験用血液の調整

上述した血液浄化器に関する性能評価法<sup>1)</sup>では、試験用血液の組成は、Hct=30±3%、T.P.=6.5±0.5 g/dl と定められている。今回、アフレスシスモジュールの性能評価基準（案）を作成するにあたって、これに準拠し Hct=30±3%、T.P.=6.5±0.5 g/dl を試験用血液および血漿の組成基準と位置づけた。

実際の調整作業は、T.P. の調整→血球と血漿の分離→Hct の調整の順で行った。まず初めに、T.P. と所定の範囲（6.5 g/dl 前後）に調整するために除水による濃縮か、もしくは補液による希釈を行った。次に、血漿分離器によって血球成分と血漿成分を分離した。当然のことながら血球成分側にも血漿成分は存在するものの、T.P. は 6.5 g/dl 前後に保たれ、T.P. が 6.5 g/dl の血漿中に血球が濃縮して存在する血球成分分画が得られた。これらの 2 溶液（血漿成分分画と血球成分分画）の混合比率を計算し、Hct が 30% となるように調整して、T.P.=6.5 g/dl、Hct=30% の試験

用血液を作成した。

## 4. 結 果

### 4.1 血漿分離器の性能評価

図 1 に示す回路による *in vitro* 実験と実際の臨床における SC と FR の推移を 1 時間ごとに 3 時間まで比較した。

#### 4.1.1 SC の比較

SC の結果を図 4 に示す。各溶質の 2 時間値までの SC は臨床データと実験データともに 0.9~1.0 の範囲内に保たれ、ほぼ一致していた。一方、実験系の 3 時間値になると SC 値が 0.8 まで低下する溶質がみられた。また、LDL に至っては大きく逸脱した値を示した。

#### 4.1.2 FR の比較

FR の結果を図 5 に示す。1 時間値の FR は、臨床データと実験データともに対象血液ごとに多少の差は認められるものの、160~210 ml/(mmHg・hr) の範囲内であり近似した値を示した。一方、2 時間値以降では実験データにおいて、FR の低下傾向がみられた。

### 4.2 血漿成分分離器の性能評価

図 2（排液再循環法）、図 3（部分排液法）に示す回路による *in vitro* 実験と臨床（部分排液法のみ）における SC の推移を時間ごとに 3 時間まで比較した。

#### 4.2.1 *in vitro*（排液再循環法）と臨床（部分排液法）における SC の比較

SC の結果を図 6 に示す。実験系データは臨床データに比べ、T.P.、Alb、IgG で低値を示し、さらに 2 時間値以降はその傾向が拡大した。

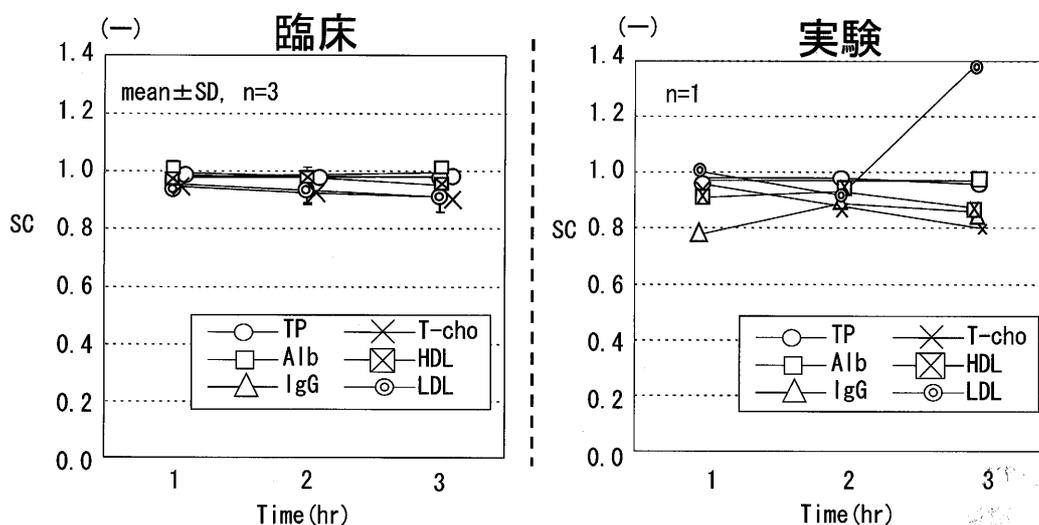


図 4 血漿分離器の SC 比較

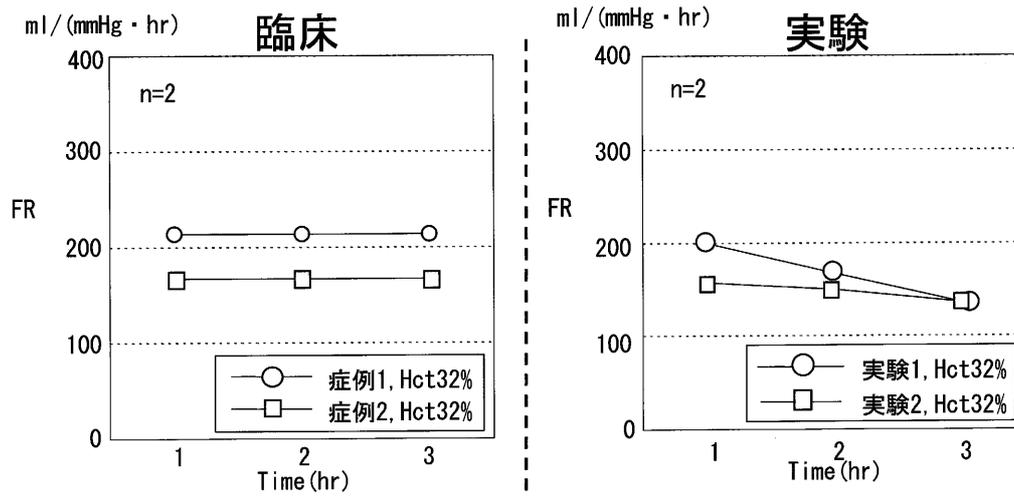


図5 血漿分離器のFR比較

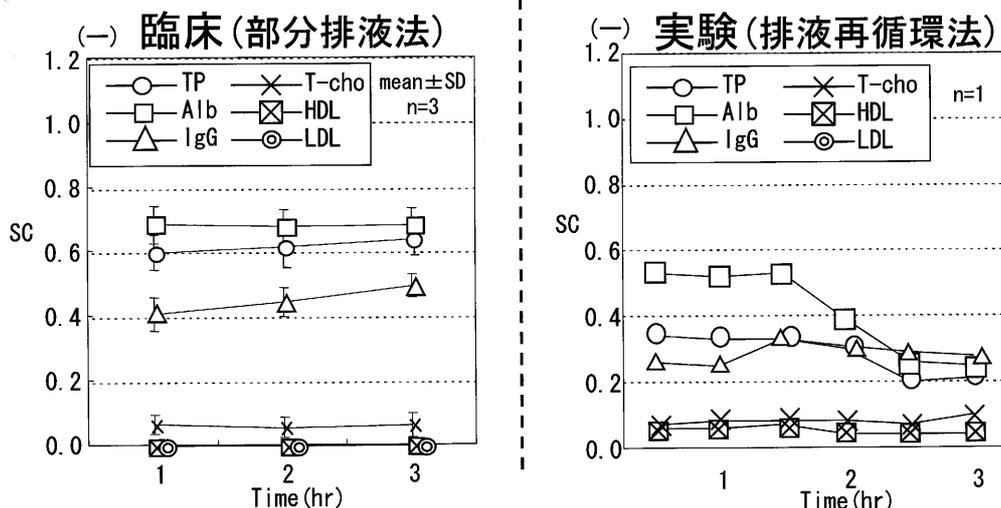


図6 血漿成分分離器SCの比較

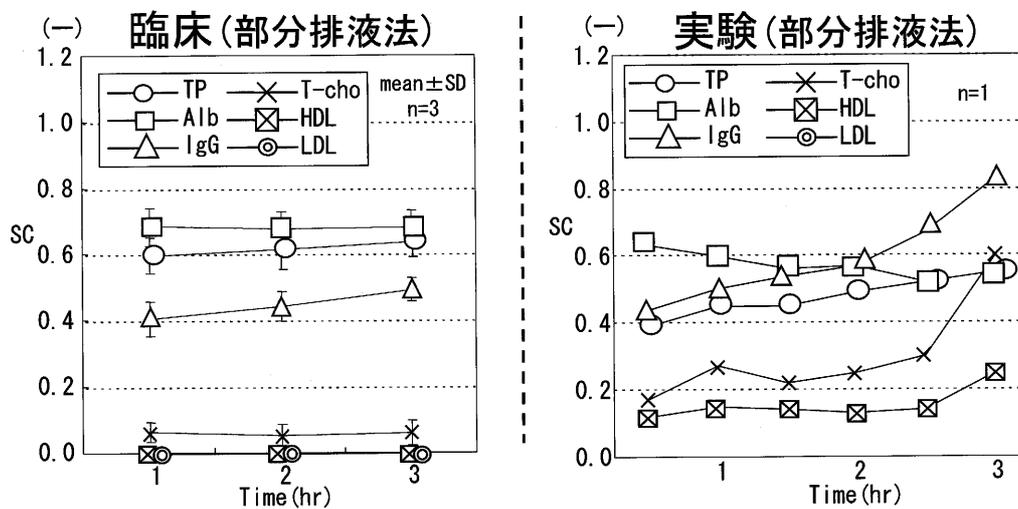


図7 血漿成分分離器SCの比較

一方、T-cho, HDL は臨床データと実験データともほぼ一致した値を示した。実験データの LDL に関しては、溶質濃度がかなり低値であり、正確な算出が困難であったため割愛した。

#### 4.2.2 *in vitro* (部分排液法) と臨床 (部分排液法) における SC の比較

SC の結果を図 7 に示す。Alb, IgG の 1 時間値までの SC は臨床データ、実験データともほぼ近似した値を示した。一方、2 時間値以降は SC が上昇する傾向がみられ、両者間の SC は乖離した。また、実験データの LDL に関しては低値を示し、SC 値の算出は困難であった。

### 5. 考 察

*in vitro* 実験データと臨床データとの比較に関する全体的な見解を述べると、1 時間値までのデータは相互に近似しており、牛血液を用いた実験系による性能評価法が概ね臨床状態を反映した妥当な評価法であることが確認された。個々の実験データに関する考察を以下に述べる。

血漿分離器に関しては、SC については 1~2 時間値まで、FR については 1 時間値まで臨床データと実験系データは近似していた。それ以降では、SC, FR ともに実験値が若干低値を示した。この原因は血漿分離膜の目詰まりによるものと思われる。すなわち、牛血液は採取後 2 日間を経過し、軟性バッグなどの人工物との接触や攪拌操作などにより、赤血球膜そのものが脆弱化し、破損しやすい状態であったものと思われる。破損した赤血球膜はモジュール中空糸内面に堆積し、目詰まりの原因となったものと思われる。

血漿成分分離器に関しては、排液再循環法の実験系の場合、血漿処理が進展しても高濃度の除去対象溶質が貯液槽中に存在するため、血漿成分分離器が目詰まりを起こしやすく、初めから SC は低めに算出されたものと思われる。さらにこの傾向は 2 時間以降でますます顕著となり、分画分離能が低下したものと思われ

る。

一方、ウシアルブミン溶液を置換液として使用した部分排液法の場合、より臨床の回路構成に近い場合、1 時間値までの SC は概ね近似した値を示すが、次第に貯液槽内がアルブミンに置換されるに従い、SC の上昇が認められた。一般に生体では、DFPP 時において循環血液量変化率 ( $\Delta BV\%$ ) は負に傾くことがヘマトクリットモニタ等で観察されており、血管内の水分が間質側へ移動して血液濃縮が生じる<sup>4)</sup>。この血液濃縮によって供給側の溶質濃度は上昇して血漿成分分離器に供給され続けるが、実験系ではこの濃縮作用が無い場合、次第に置換液アルブミンによって薄められたものと考えられる。一方、血漿成分分離器内の膜面上には各溶質の濃度分極が発達しており、それに伴い濾液中の溶質濃度も高値を示したものと思われた。従って SC は (1) 式で算出されるため、入口濃度 (分母) の低下、濾液濃度 (分子) の上昇により SC はみかけ上高値に算出されたものと思われた。

次に、LDL の SC 値に関して正確な値を算出できなかった理由について考察する。牛血液の調整前の検査データの一例を表 2 に示す。当然のことながら、血液を採取したウシは腎不全ではないので、 $\beta_2$ -MG, ミオグロビン,  $\alpha_1$ -MG など血液浄化器の性能評価の指標とされるマーカータンパクは検出限界以下である。さらに、LDL-C, TG などは 1 桁台の検査値であり、ウシとヒトの間に大きな差異がみられる。

ここで仮に、LDL の濾液濃度が 1 mg/dl から 2 mg/dl へわずかにずれた場合の SC 値への影響を以下にシミュレーションした。ヒトの場合、血中 LDL-C は 100 mg/dl 程度存在するため、入口濃度を 100 mg/dl とすると、

$$SC = (1 \sim 2) / 100 = 0.01 \sim 0.02$$

と限りなくゼロに近い値を算出する。一方、ウシの場合、血中 LDL-C は表 2 より 10 mg/dl 程度であるため、入口濃度を 10 mg/dl とすると、

$$SC = (1 \sim 2) / 10 = 0.1 \sim 0.2$$

表 2 牛血液検査データの一例

UN	18.5 mg/dl	$\alpha_1$ -MG	検出限界以下*2	HDL-C	99 mg/dl
Cre	1.0 mg/dl	Alb	3.2 g/dl	LDL-C	10 mg/dl*1
VB <sub>12</sub>	74 pg/ml	T. P.	5.6 g/dl	T-cho	105 mg/dl
$\beta_2$ -MG	検出限界以下*2	ウシ IgG	830 mg/dl	TG	8 mg/dl*1
ミオグロビン検出限界以下*2					

\*1 検査数値の有効桁の刻み幅が粗いため、計算上、SC に大きなバラツキを生じる。

\*2 腎不全ではないので、検出限界以下の溶質。

とヒトとは大きく異なる。従って、低濃度で分解能の低い溶質については、正確な SC を算出することは困難であり、LDL-C をモジュールの性能評価に使用するためには、別途、高濃度溶液（例：LDL アフェレシス廃液など）と混ぜ合わせる必要があると考えられた。

現在までのところ、LDL-C の低濃度の問題等が残るものの、他剤との混合などの配慮を行うことにより、*in vitro* 実験系は臨床を十分模擬したデータ採取を可能としており、モジュール性能評価法として概ね妥当であると思われた。臨床により近い部分排液法を適用し、1 時間値以内で評価することにより、十分評価基準値の策定が可能と考えられた。

## 6. 結 論

アフェレシス用膜型分離器の性能評価基準（案）を作成するにあたり、牛血液を用いた *in vitro* 実験による評価法を模索したところ、臨床データとの比較において概ね近似する結果が得られ、概略の妥当性が確認

された。

今後は、日本アフェレシス学会が中心となり製造メーカー側と密に連携して、評価基準値を策定する必要がある。

今回の論文をまとめるにあたって、牛血系 *in vitro* 実験を実施してくれた東京女子医科大学臨床工学部・坂上貴光、峰松佑輔、江口圭、海老沢秀夫氏に紙面をお借りして深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 佐藤 威, 斎藤 明, 内藤宗秀, 他: 各種の血液浄化法の機能と適応. 血液浄化器の性能評価法と機能分類. 透析会誌 **29**: 1231-1246, 1996
- 2) 川口良人, 斎藤 明, 内藤宗秀, 他: 血液浄化器の新たな機能分類. 血液浄化法: 適応との対応. 透析会誌 **32**: 1465-1470, 1999
- 3) 峰島三千男: 血液浄化器. 性能評価の基礎, 第 1 版, 78-93, 日本メディカルセンター, 東京, 2002
- 4) 江口 圭, 金子岩和, 峰島三千男, 他: アフェレシス関連モニタリング技術の最新の動向. 循環血液量 (BV) モニタのアフェレシスへの応用. 日アフェレシス会誌 **21**: 54-63, 2002