

原著論文

血漿成分分画器 Evaflux-5A の濾過分離特性に及ぼす温度の影響

金野好恵^{*1,*2}・江口圭^{*1,*2}・峰松佑輔^{*1,*2}・金子岩和^{*1,*2}
峰島三千男^{*3}・秋葉隆^{*2}

^{*1} 東京女子医科大学臨床工学部, ^{*2} 同腎臓病総合医療センター血液浄化療法科, ^{*3} 同臨床工学科

Effect of Temperature on the Separation Characteristics in a Plasma Fractionator

Yoshie Konno^{*1,*2}, Kei Eguchi^{*1,*2}, Yusuke Minematu^{*1,*2}, Iwakazu Kaneko^{*1,*2},
Michio Mineshima^{*1} and Takashi Akiba^{*2}

^{*1} Department of Clinical Engineering and ^{*2} Division of Blood Purification, Kidney Center, Tokyo Women's Medical University

Summary “DF thermo,” one of the modified DFPP therapies, was recently introduced to improve separation characteristics of the plasma fractionator through keeping the temperature around 37°C in plasma fractionation. The relationship between temperature and separation properties, however, has not yet been clarified.

In this project, an *in vitro* study was carried out to examine the effect of temperature on separation characteristics in a plasma fractionator, Evaflux 5A, Kuraray Medical Company Limited, using pooled human plasma harvested by several PE treatments for a patient. As a result, the accumulated amount of treated plasma and efficiency of separation between albumin and globulin fractions increased with the temperature in plasma fractionation. Albumin concentration in the filtrate in the plasma fractionator decreased with increasing transmembrane pressure due to membrane fouling mitigation. Monitoring of the transmembrane pressure of the plasma fractionator is important to maintain patient safety and separation properties.

Key words: plasma fractionator, DF thermo (DF Thermo Mode), SC (sieving coefficient), TMP (transmembrane pressure), temperature dependence

要 旨 近年, DFPP の一変法として新たに加わった DF サーモ法は, 再循環回路部内の血漿成分を加温し分画分離する特徴を有する。しかし, 加温の効果については, メカニズム等, 未だ不明な点が多い。

そこで今回, ヒト廃棄血漿を用いた *in vitro* 実験を通じ, 血漿成分分画器 Evaflux-5A の濾過特性に及ぼす温度の影響を明らかにすることを目的とした。その結果 20°C→30°C→40°C と加温すればするほど, 最大血漿処理量の増加と高い分画分離特性が示された。また, 血漿成分分画器の TMP が上昇するにつれ, 濾液中のアルブミン濃度が低下することから, TMP はアルブミン喪失にかかわる, 臨床上有用な監視項目と思われた。

1. 目 的

二重膜濾過血漿分離交換法 (double filtration plasmapheresis: DFPP) の変法の一つに DF サーモ法 (加温式リサキュレーション法) がある¹⁾。これは, 血漿成分分画器にアルブミン透過率の高い大孔径膜 (Evaflux-5A, クラレメディカル社製など) を用いて,

比較的小分子な分画 (アルブミン, HDL, IgG など) と大分子な蛋白・脂質分画 (LDL, IgM, フィブリノーゲン, TG など) を分別し, 前者を体内に再灌流させ, 後者を廃棄する治療法である。本法の特徴としては, 大孔径な血漿成分分画器の使用により, ①置換液としてアルブミン製剤が不要であること, ②廃棄血漿を再循環するシステムの採用により, 廃液が外部に生じないことが挙げられる。加えて, ③血漿成分分画器に供給する血漿成分を 42°C 程度に加温することに

2005 年 12 月 19 日受付, 2006 年 3 月 23 日受理。

より、分画分離性能の向上を目指している。しかし、これについては、そのメカニズムが未だ明らかにされていない。

そこで今回我々は、温度別にみた Evaflux-5 A の分画分離特性を調べる目的で、ヒト血漿系を用いた *in vitro* 実験を行い、血漿処理量や分画分離特性に及ぼす温度の影響について検討した。

2. 方 法

in vitro 実験の方法を以下に示す。実験回路図を図 1 に、使用器材を表 1 に示す。回路構成は基本的に臨床での DF サーマ法と同一とし、Evaflux-5 A も垂直に立てた状態で恒温槽に浸漬した。

実験溶液は、複数回の単純血漿交換で得られたヒト廃棄血漿 30 L (容量比 10% で 3.8% クエン酸 Na 溶液を含む) を準備し、同一組成となるよう十分混合した。混合後のヒト廃棄血漿の組成を表 2 に示す。

操作条件は、図 1 に示すように貯液槽より、流量 $Q_{in}=25$ ml/min で血漿を汲み上げ、再循環ポンプ流量 $Q_r=20$ ml/min と合流させ、45 ml/min にて Evaflux-5 A に供給した。Evaflux-5 A での分画分離操作は、濾液流量 $Q_f=25$ ml/min とし、残りの 20

ml/min は再循環ポンプにより供給側へ戻した。通常、臨床では濾液は体内に戻されるが、今回は Evaflux-5 A が目詰まりを起こすまでの経過を観察するのが目的であるため、濾液を貯液槽に戻さず、外部に破棄した。これによって、濃度が低下しない実験溶液が持続的に供給されるため、Evaflux-5 A の処理能力は必ず限界に到達することが予想された。

貯液槽は厳密に温度管理 (20, 30, 40°C) し、再循環回路内に挿入したサーミスタにより、回路内の血漿温度を確認した。

圧力測定は、透析器の性能評価法^{2,3)}に準拠し、図 1 のように高さ位置を統一して、各圧力測定 (供給圧 P_i , 濾過圧 P_f) を 15 分ごとに行った。さらにその測定値をもとに下記の (1) 式にて膜間圧力差 (transmembrane pressure: TMP) を求めた。

サンプリングは、3 ポイント (供給濃度 C_i , 濾過濃度 C_f , 廃液濃度 C_o) から 30 分ごとに行い、表 2 に示す各溶質の濃度を測定した。得られた検査値より、

表 2 *in vitro* 実験に使用したヒト廃棄血漿の組成

アルブミン	Alb	2.7	g/dl
総蛋白	TP	4.6	g/dl
総コレステロール	T-cho	120	mg/dl
低比重リポ蛋白コレステロール	LDL-C	68	mg/dl
高比重リポ蛋白コレステロール	HDL-C	41	mg/dl
フィブリノーゲン	Fib	158	mg/dl
グロブリン分画 G	IgG	818	mg/dl
グロブリン分画 M	IgM	69	mg/dl
トリグリセライド	TG	44	mg/dl

3.8% クエン酸 Na 溶液を容量比 10% で添加。

表 1 *in vitro* 実験の使用器材

装置	アフエリシス専用装置 KPS-8800 ce
回路	DF サーマ用専用回路 KPD-80 DT
血漿成分分画器	Evaflux-5 A
温度制御	恒温槽×2, サーミスタ
圧力測定	水銀マノメータ

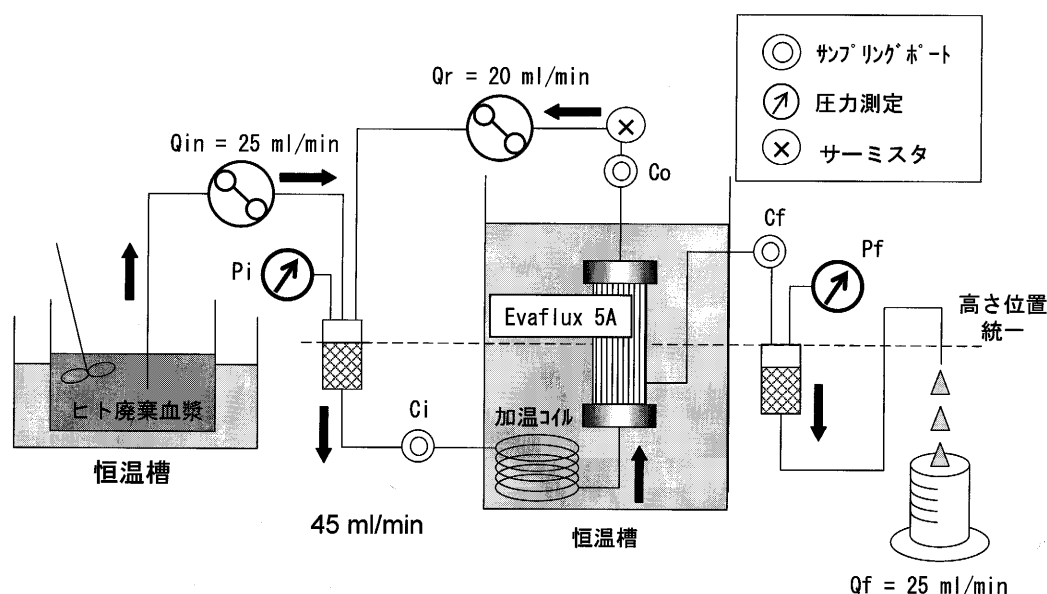


図 1 ヒト廃棄血漿を用いた *in vitro* 実験回路図

下記に示す(2)式より、ふるい係数 (sieving coefficient: SC) を求めた。

$$\text{TMP} = P_i - P_f \quad (1)$$

$$\text{SC} = C_f / C_i \quad (2)$$

3. 結 果

3.1 血漿処理量と TMP の関係

温度別にみた Evaflux-5 A での血漿処理量と TMP の関係を図 2 に示す。すべての温度条件下において、血漿処理量（操作時間）の増加とともに TMP は指数関数的に上昇した。さらに低温ほど早期に TMP が 500 mmHg に到達した。

ここで今、最大血漿処理量を TMP が 500 mmHg に到達するまでに施行できた血漿処理量と定義すると、各温度別の最大血漿処理量は 20°C: 4,750 ml, 30°C: 6,690 ml, 40°C: 7,980 ml であり、20°C と比較して 40°C では約 1.6 倍の血漿処理が可能であった。

3.2 血漿処理量と SC の関係

温度別にみた血漿処理量と各溶質における SC の関係を図 3 に示す。各溶質 Alb, HDL, LDL の温度 (20, 30, 40°C) 別にみた 4.5 L 血漿処理時の SC は、Alb (0.32, 0.74, 0.76), HDL (0.13, 0.39, 0.37), LDL (0.01, 0.01, 0.01) であり、20°C で早期に SC はゼロに近い値に集中した。この現象は溶質のふるい分けができていない状態であり、分画分離能の破綻を意味する。また、各溶質の挙動に比較し、Fib のみが異なる傾向を示したが、溶質の形状による差が SC に影響を及ぼしたものと思われた。

図 3 の結果をもとに、温度別にみた分画分離性能を

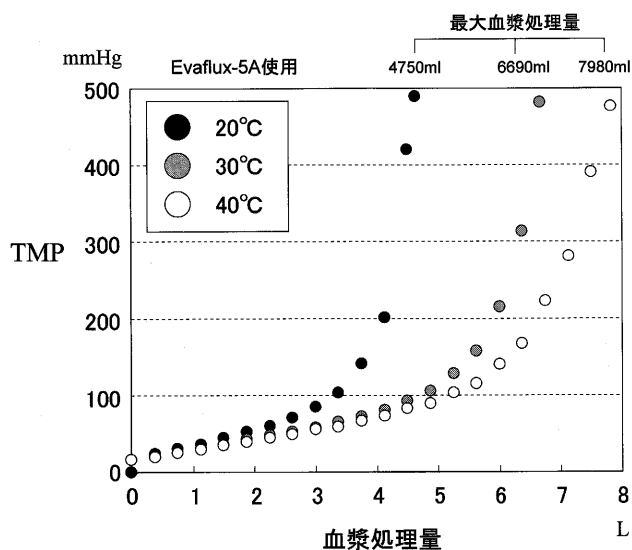


図 2 温度別にみた血漿処理量と TMP の関係

より明確化するべく、以下の(3)式を用いて Alb と LDL の SC 差を求め図 4 に作図した。

$$\text{SC}_{\text{Alb}} - \text{SC}_{\text{LDL}} \quad (3)$$

ここで(3)式が 1 の場合、Alb と LDL では完全な分離が行われており、0 の場合には、 SC_{Alb} と SC_{LDL} は同値、すなわち全くふるい分けができていないことを意味する。図 4 に示すように低温ほど $\text{SC}_{\text{Alb}} - \text{SC}_{\text{LDL}}$ は早期に 0 に近づき、分画分離は破綻することが分かった。

3.3 サンプルング部位別における濃度の推移

溶質 Alb, HDL, LDL におけるサンプルング部位別の濃度 (C_i , C_f , C_o) の推移を図 5 (A, B, C) に示す。部位別にみると C_i , C_o は再循環回路内部に位置する (図 1 参照) ので、血漿処理量の増加とともに膜面で阻止された溶質が濃縮するため、Alb, HDL, LDL のすべてにおいて濃度上昇を示した。当然のことながら、出口側に位置する C_o の方が濃縮の割合は顕著であった。LDL の C_i , C_o に限って後半に放物線を描いて濃度低下した理由は、過濃縮した血漿成分のサンプルングによる喪失の影響が加わったためと思われた。

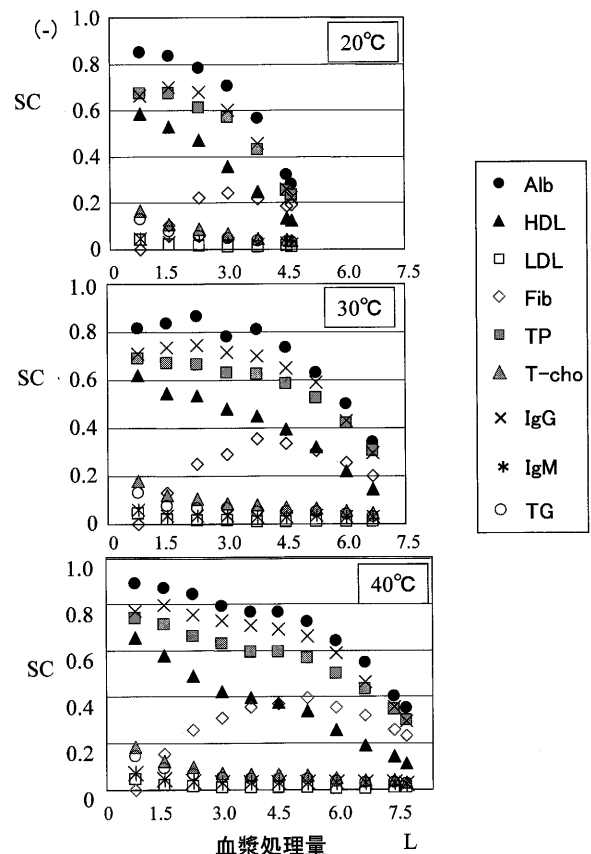


図 3 温度別にみた血漿処理量と各溶質における SC の関係

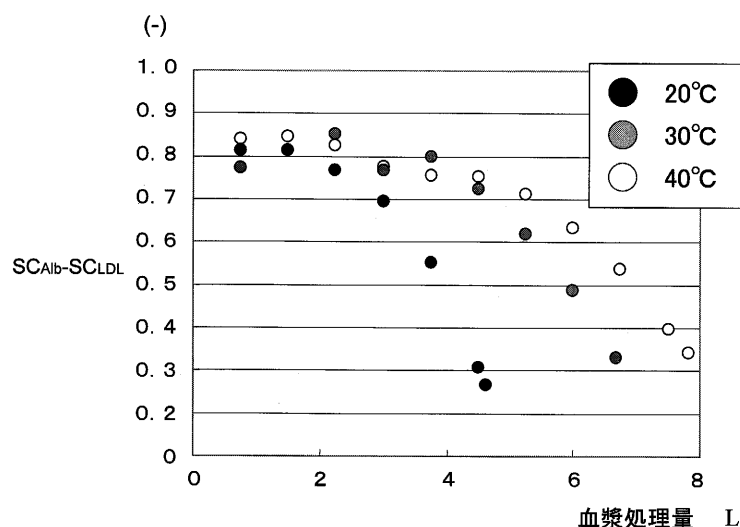


図4 温度別にみた血漿処理量と $SC_{Alb} - SC_{LDL}$ の関係

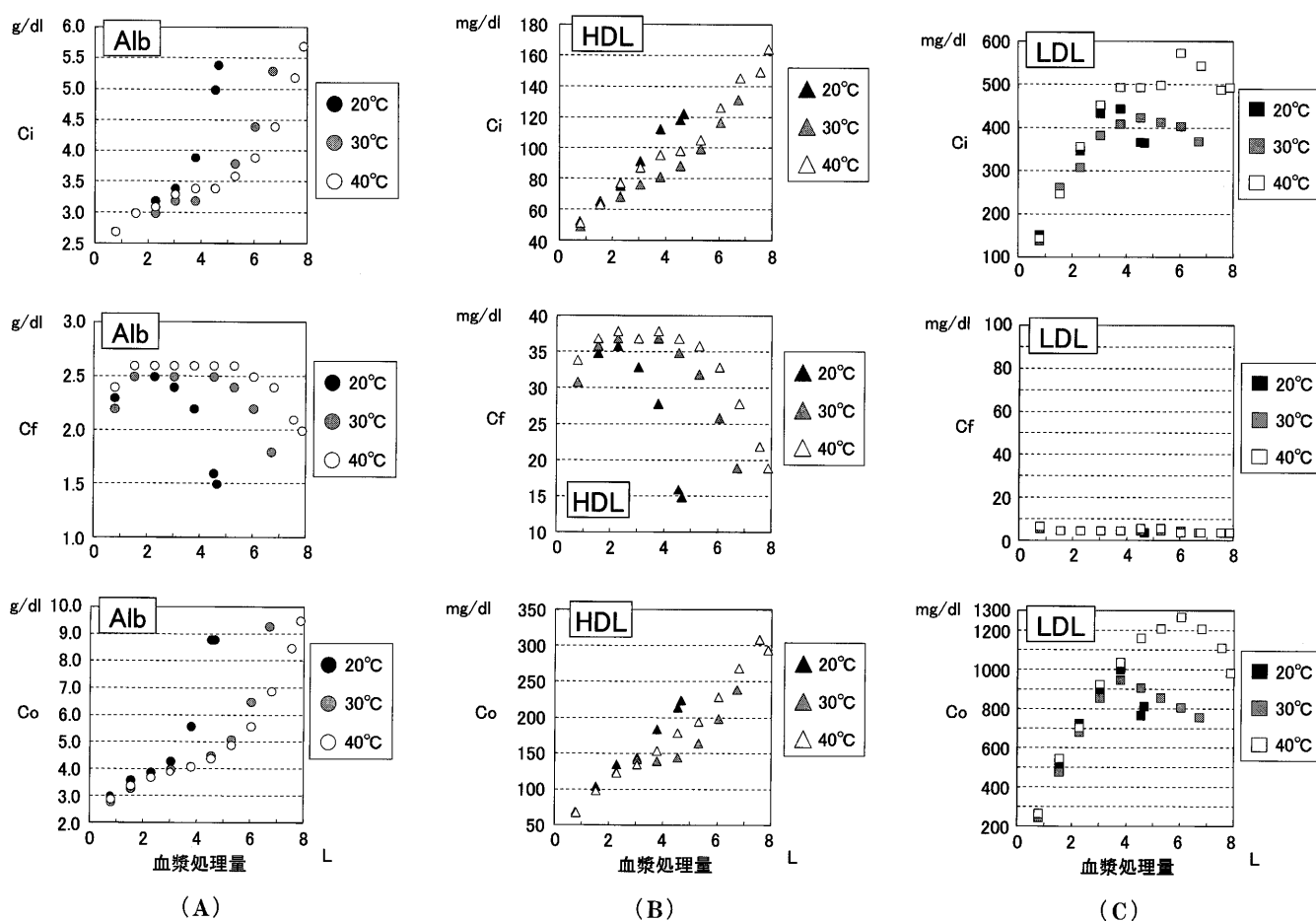


図5 サンプルング部位別における濃度の推移

一方、CfについてはAlb, HDLの場合、血漿処理の初期段階では濃度上昇がみられるものの、血漿処理量の増加とともにピークをむかえた後、下降に転じた。放物線を描く理由は、初期段階では膜面近傍での濃縮の影響が考えられ、その後は目詰まりの影響が支配的

となり、透過成分の低下によるものと思われた。次に、LDLの場合、膜をほとんど通過できないため、Cfはゼロ付近の値を維持した。

各溶質別にみると、膜面を通過しにくい大分子な溶質ほどCi, Coの濃縮が顕著であった。すなわち、

Alb<HDL<LDL の順に濃度の上昇率が高かった。

温度別にみると、Alb, HDL の場合、低温ほど早期に Ci, Co の上昇と Cf の低下が顕著に見受けられる。一方、ほとんど膜面を通過できない LDL の場合、これらの温度依存性は失われ、温度によらず Cf はゼロ付近の値を推移した。

4. 考 察

血漿成分分画器における加温の原点として、1985年にクリーブランドクリニックの能勢らは、回路全体を加温することにより、分画分離特性を向上させる試みから、サーモフィルトレーション法という新しい概念を提唱した⁴⁾。その後1986年に末岡、宮原らは、Evaflux-4 A の温度に関する全濾過法での基礎データを報告した⁵⁾。さらに、1994年に長野、岩本らは、Evaflux-5 A を用いた加温の効果を臨床にて調査・報告した⁶⁾。

いずれの論文も加温により、血漿処理量の増加と分画分離性能の向上が得られたと結論づけているが、血漿成分分画器 Evaflux-4 A 使用もしくは、濾過法（全濾過法、廃液高速再循環法）が異なり、今回の DF サーモ法での基本的濾過分離性能については不明点が多かった。

そこで今回、*in vitro* 実験を行った結果、図2に示すように血漿成分を40℃に加温して分画分離操作を行うと、TMP の上昇を軽度には抑えることができ、一本のモジュール（血漿成分分画器）でより多くの血漿処理を行えることが明らかとなった。具体的には、図2に示すように TMP が500 mmHg に達するまでの血漿処理量には温度に依存した大きな差異がみられ、DF サーモ法の特徴の一つである加温という行為が、通常の DFPP を上回る濾過特性の向上にもつながっているものと考察された。過去の文献⁷⁾では、供給側を加温しない一般の DFPP の血漿成分分画器内温度は30℃程度まで低下することが報告されており、供給側の血漿成分を加温する目的において、加温器の挿入の位置を一般の DFPP においても再検討する必要があるかも知れない。ここで TMP の上昇が加温により軽度には抑えられる理由としては、加温された血漿の粘度低下に起因した濾過抵抗の軽減によるものと思われた。

また、加温の効果は SC にも大きく影響することが、図3、4の結果から明らかとなった。優れた分画分離とは何かを考えてみると、Evaflux-5 A 使用の場合、

体内にとって有用な Alb, HDL などとはできるだけ回収し、一方、家族性高コレステロール血症や閉塞性動脈硬化症などの病因（関連）物質とされる LDL, Fib などには確実に阻止することが望まれる。また、それらの分画特性が、開始直後のみならず、治療全般にわたって安定していることが望まれる。この点において、血漿成分を加温して分画分離操作する DF サーモ法は、Alb の回収率が高く、LDL, Fib を確実に膜面で阻止できるふり分け操作を長時間にわたって持続できる点で優れた方式であると思われた。一方、濾過特性の向上がみられるのは、42℃程度までであり、45℃以上に加温すると Fib が熱変性を起こして析出することが報告されている²⁾。Fib の析出は目詰まりを誘発して逆効果となることが予測されるため、加温の上限は42℃までとするのが適当と考える。

次に、図3の結果から Alb, HDL, LDL について、横軸を血漿処理量から TMP に整理し直したものを図6に示す。図3では血漿処理量4.5 L時の Alb の SC のように温度別によって、大きな相違がみられたが、これを TMP で整理すると、温度別の SC のバラツキはなくなり、ほぼ一本の曲線上に分布する興味深い結果が得られた。図6から明らかなように、TMP

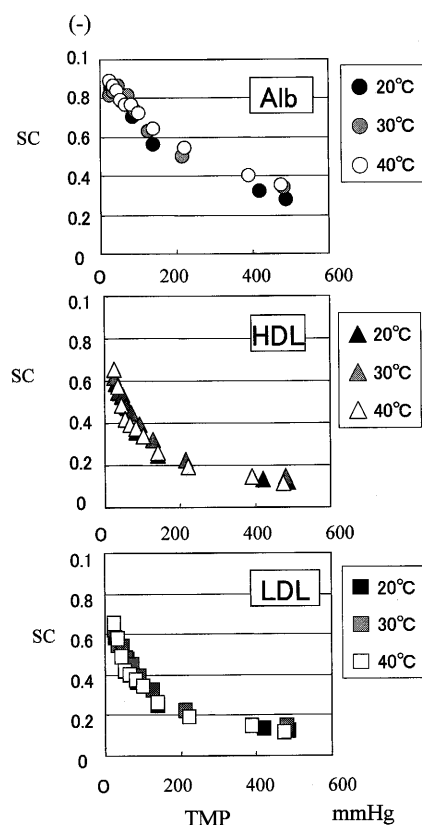


図6 温度別にみた TMP と各溶質における SC の関係

をモニタリングすることにより、血漿成分分画器の SC の低下、すなわち目詰まりの程度を監視することが可能となる。例えば、体内にとって有用な Alb の SC と TMP の関係を図 6 から読み取ると、TMP=0 mmHg 付近では、SC=0.8~0.9 程度と、Alb の回収率が高く安全な治療が行えている。一方、TMP=400 mmHg 付近では、SC=0.3 程度まで回収率が低下している。ここで注意しなければならないのは、SC は上述の(2)式により算出しているため、SC が低下したと言っても、分母である C_i が大きくなったのか、分子である C_f が小さくなったのか判別がつかない。

SC は血漿成分分画器そのものの性能を評価する指標として非常に便利であり、目詰まりの程度などに鋭敏に変化する。しかし、患者の適正血漿レベルを考えた場合、血漿処理後どの程度の Alb 濃度で体内に戻ってきたか、すなわち C_f の実濃度の推移が重要となる。Alb の C_f が治療開始時から一定の値を維持していれば、患者体内には一定量の Alb が常に回収されていたことになる。Alb の回収率の低下は、患者血中の Alb 濃度の低下を招き、低蛋白血漿による血圧低下の原因となる。

そこで Alb に関して、TMP と C_f の関係を図 7 に示した。温度別のバラツキは認められるものの全体的な傾向として、TMP<100 mmHg では C_f 値は高く維持され、Alb の回収率に優れた安全な治療が行えている。100<TMP<200 mmHg では、徐々に C_f の低下が認められる。TMP>200 mmHg では C_f はかなり低値となり、多くの Alb がロスしている状態がうかがえる。この場合、血液製剤による Alb の補充も

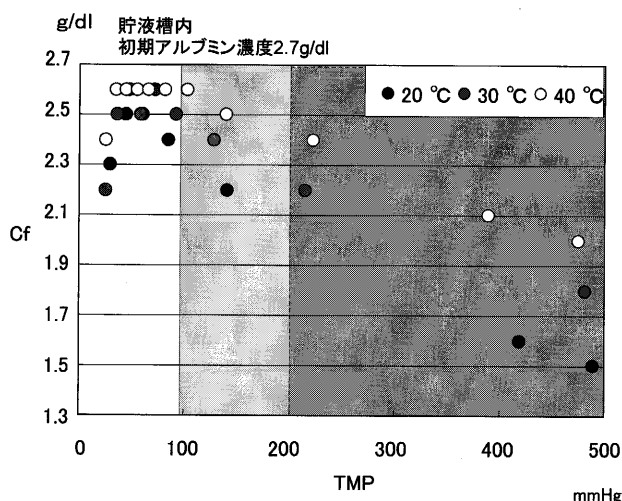


図7 アルブミンにおける TMP と濾液濃度 C_f の関係

しくは膜の交換、患者状態によっては、治療の中止を検討する必要があるものと思われる。これらの結果から、血漿成分分画器の分画分離操作において、TMP の監視は、Alb のロスを予測する上で、極めて重要であり、より安全な治療を実現するための必須な監視項目と思われる。溶血防止目的に監視している血漿分離器 TMP 同様、血漿成分分画器 TMP も監視項目に加えるべきである。

5. 結 語

ヒト廃棄血漿を用いた *in vitro* 実験において血漿成分分画器 Evaflux-5 A の濾過特性に及ぼす温度の影響を調査したところ、以下の結果が得られた。

1. 血漿成分を加温した条件下による分画分離操作は、血漿処理量の増加と長時間の安定した溶質のふるい分けを可能にした。
2. 血漿成分の加温は、40°C~42°Cが適当と考えられた。
3. 血漿成分分画器の TMP を監視することは、アルブミンの回収率の低下を予測できる点から、今後臨床での監視項目に加えるべきであると思われる。

文 献

- 1) 金野好恵, 江口 圭, 天野雄介, 他: 新しい二重膜濾過法(加温式再循環法)の使用経験. 吸着型 LDL アフェレシス療法との比較をふまえて. 日アフエレシス会誌 **22**(1): 44-50, 2003
- 2) 峰島三千男: 血液浄化器. 性能評価の基礎, 日本メディカルセンター, 2002, 78-93
- 3) 川口良人, 斉藤 明, 内藤秀宗, 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. 日透析医会誌 **32**(12): 1465-1469, 1999
- 4) Nose Y, Usami M, Malchesky PS, et al: Clinical thermofiltration: Initial application. Artif Organs **9**(4): 425-427, 1985
- 5) 末岡明伯, 宮原忠司, 鈴木考杉, 他: 二重濾過血漿成分分離器の濾過性能に及ぼす温度の影響. 人工臓器 **15**: 1587-1590, 1986
- 6) 長野武俊, 岩本ひとみ, 中園和子, 他: 血漿成分分離器 Evaflux-5 A の濾過法の検討. 日アフエレシス会誌 **13**(suppl): 74, 1994
- 7) 江口 圭, 金野好恵, 峰松佑輔, 他: 新しい二重膜濾過血漿交換法(加温式リサキュレーション法: DF サーモ)の性能と臨床効果. 日アフエレシス会誌 **24**(3): 264-270, 2005

連絡先: 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター血液浄化療法科 金野好恵 Tel. 03-3353-8111 (内線 36414) Fax. 03-5269-7368