

博士論文

(2017年12月15日提出)

論文題目

血液透析療法における向流操作と並流操作での尿毒症性物質除去性能に関する研究

指導教員 焼廣 益秀



補助教員 福永 信太郎



大学院

医療・福祉科学 研究科 医療工学 専攻

申請者氏名 櫻野 真



広島国際大学大学

目次：

第1章 研究背景	1
第2章 研究目的	6
第3章 実験方法	
1. 実験回路と使用した溶液	7
2. Cyt c の濃度測定	9
3. Cyt c 除去率と実験結果の解析	9
第4章 実験結果	10
第5章 考 察	13
第6章 結 語	15
謝 辞	15
参考文献	15

第1章 研究背景

慢性腎不全は、何らかの原因により数年から数十年かけて徐々に腎機能が不可逆的に低下した状態である。腎機能低下により、尿毒症性物質が体内に蓄積するだけでなく、電解質の調整や水分バランスの調整が出来なくなり、生体の恒常性を維持できなくなった状態である。これらを改善し健常人と同レベルの生活が維持できるようにする目的で血液透析療法が普及し始め、尿素（分子量 60）やクレアチニン（分子量 113）などの小分子量尿毒症性物質を中心に除去されていた。

血液透析療法の技術が進化して長期的に血液透析療法を受けている患者では長期透析合併症が問題となってきた。長期透析合併症の一つに透析アミロイドーシスがある。1985年 Gejyo らによって β 2-ミクログロブリン (β 2-M) が透析アミロイドーシスの原因物質に同定された¹⁾。 β 2-M は、ヒト白血球抗原 (HLA) のクラス I 分子の L 鎖として存在する^{2) 3)}。主にリンパ球で産生されると考えられているが、有核細胞からも産生される。また、体液中では遊離した形で細胞内液及び外液に存在している⁴⁾。透析アミロイドーシスは 10 年以上の長期にわたり血液透析療法を受けている患者の合併症であり、骨、骨膜や靭帯を中心にアミロイドが沈着する病態である⁵⁾。 β 2-M が透析アミロイドーシスの原因物質に同定されたことから、1985 年以降は、小分子量尿毒症性物質のみの除去から中分子量尿毒症性物質の除去も必要となった⁵⁾。尿毒症性物質の除去はダイアライザーを用いた血液透析療法やヘモダイアフィルターを用いた血液透析濾過療法で行われている。

血液透析療法は、図 1 に示すように、患者血液をダイアライザーへ灌流する血液側回路と透析液をダイアライザーへ灌流する透析液側回路により構成されている。血液側回路は、患者の血液を脱血しダイアライザーへ灌流する動脈側回路とダイアライザーから患者へ血液を送血する静脈側回路に分けられる。透析液側回路は、尿毒症性物質を含まない透析液をダイアライザーへ灌流する透析液供給側とダイアライザー通過後の透析液を排液する透析液排液側に分けられる。図 1 から分かるように、回路構成が単純で操作も容易であることから、多くの慢性透析患者に用いられている治療法である。2015 年末現在で慢性腎不全患者は 32 万 4 千人を超えているが、そのうち 79.5% の患者が血液透析療法を受けている⁶⁾。血液透析療法での尿毒症性物質除去の原理は、ダイアライザー内における透析膜を介した血液側と透析液側における尿毒症性物質の濃度勾配による拡散と圧力勾配による内部濾過である。

血液透析濾過療法は、血液透析濾過療法専用装置を用いて、血液透析療法の血液側回路と透析液側回路に追加で補液回路が必要となる。補液回路が増えることで、補液量を管理する操作も必要となる。血液透析濾過療法では、ヘモダイアフィルターで除水を行い、除水量に応じた補液を行っている。補液を行う部位は動脈側回路と静脈側回路から行う 2 種類があり、図 2 にオフライン血液透析濾過療法の回路図を示す。静脈側から補液する後希釈法が一般的に行われている。2012 年に透析液を補液として用いるオンライン血液透析濾過療法（図 3）が診療報酬として請求できるようになり、少しずつオンライン血液透析濾過療法を受ける患者が増加傾向にあり血液透析濾過療法は 2015 年末現在で全慢性腎不全患者のうち 17% の患者で行われている⁶⁾。オンライン血液透析濾過療法は、血液透析療法、

血液透析濾過療法に比べると回路構成が複雑になり、透析液の清浄化や補液量の管理が複雑になった。結果として、血液回路の接続ミスが発生し問題となる。2013年に日本透析医学会により行われた「平成25年度日本透析医学会医療事故調査報告⁷⁾」によれば、2013年1年間に血液側回路のセットミスが22件発生しており、そのうち15件がアクシデント事例であった。これらの事例はオンライン血液透析濾過療法装置の特殊性が関与していると報告されている。図3に示すオンライン血液透析濾過療法は大量液置換が可能な前希釈法である。

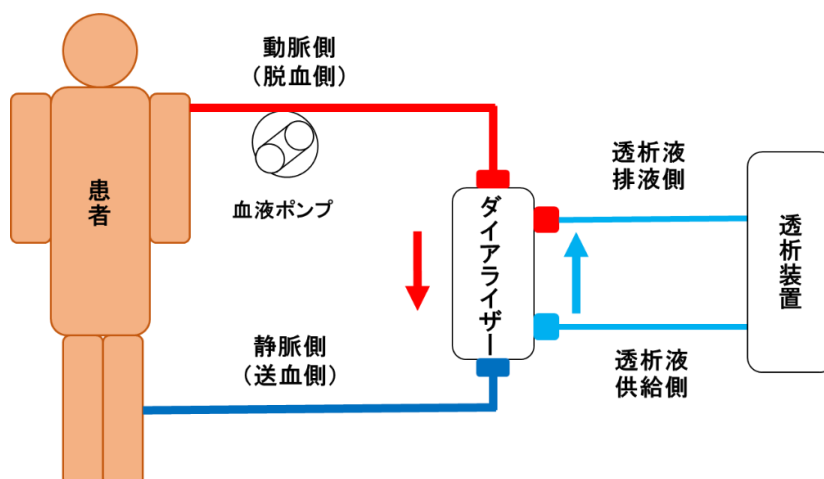


図 1 血液透析療法の回路構成図

血液側回路は、患者血液をダイアライザーへ灌流する動脈側回路を赤色で、ダイアライザー通過後に患者へ送血する静脈側回路を青色で示す。透析液側回路は、ダイアライザーへ透析液を供給する供給側と排水側を示した。矢印は各液の流路方向を示す。

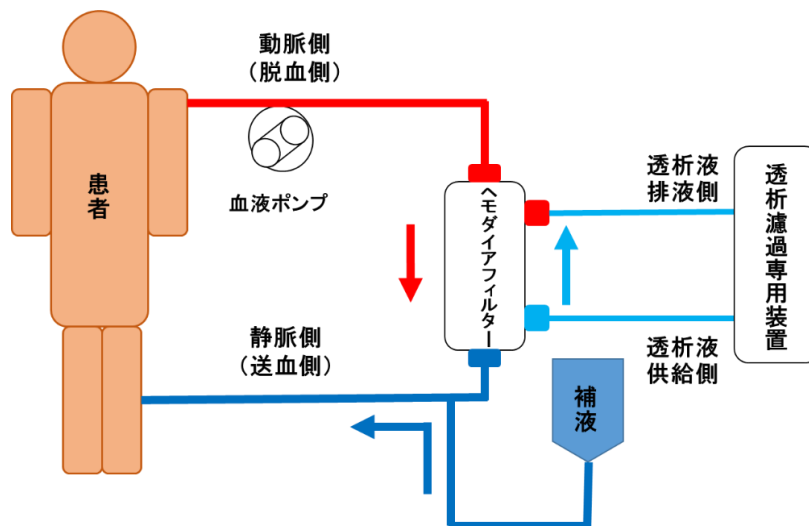


図 2 オフライン血液透析濾過療法の回路構成図

血液側回路は、患者血液をヘモダイアフィルターへ灌流する動脈側回路を赤色で、ダイアライザー通過後に患者へ送血する静脈側回路を青色で示す。図は補液回路を静脈側へ接続する後希釈法を示し患者血液と混合され患者に送られる。透析液側回路は、ヘモダイアフィルターへ透析液を供給する供給側と排水側を示した。矢印は各液の流路方向を示す。

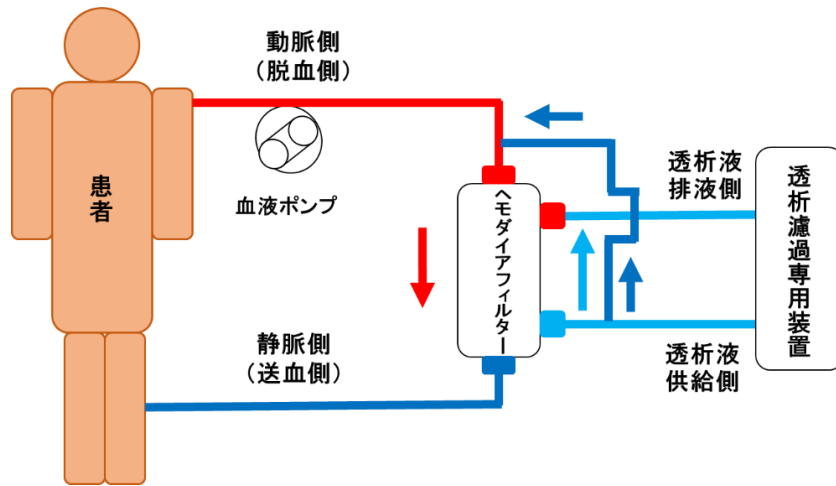


図 3 オンライン血液透析濾過療法の回路構成図

血液側回路は、患者血液をヘモダイアフィルターへ灌流する動脈側回路を赤色で、ダイアライザー通過後に患者へ送血する静脈側回路を青色で示す。図は透析液供給側回路からの補液ラインが動脈側回路へ接続してある前希釈法である。透析液を置換液として用いるため大量液置換が可能である。

血液透析療法におけるダイアライザーでの尿毒症性物質除去原理は、拡散と内部濾過である。図4にダイアライザー内での拡散の概略図を示す。拡散は半透膜を介して溶質がその濃度勾配にしたがい移動する現象である。ダイアライザーの場合には、図4に示すように、透析膜を介して尿毒症性物質濃度の高い血液側から尿毒症性物質を含まない透析液側へ、尿毒症性物質が移動することで除去される。

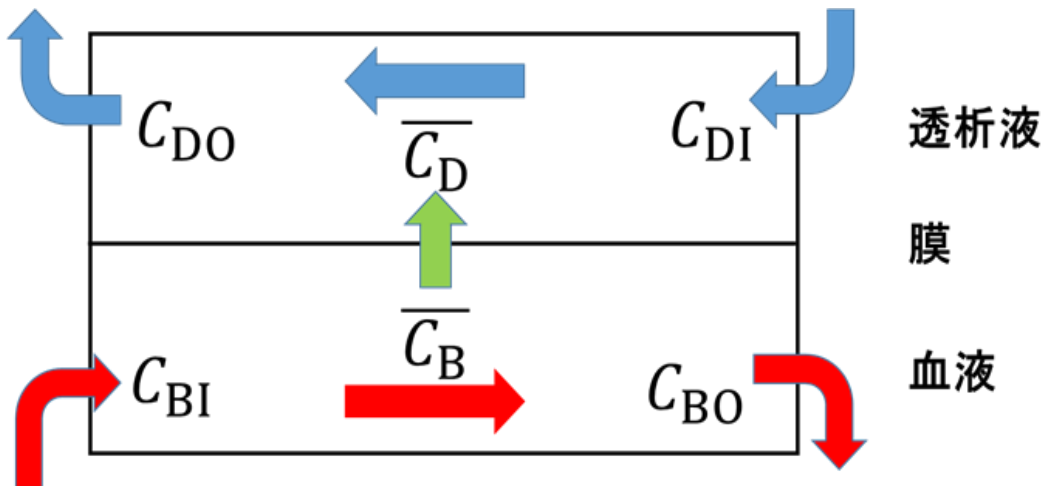


図 4 ダイアライザー内の拡散概略図

ダイアライザー内で拡散によって尿毒症性物質が透析液側に除去される様子を示す。赤矢印は血液の流路方向、青矢印は透析液の流路方向、緑矢印は尿毒症物質の移動方向を示す。 C_{BI} は血液入口溶質濃度、 C_{BO} は血液出口溶質濃度、 C_{DI} は透析液入口溶質濃度、 C_{DO} は透析液出口溶質濃度を示し、 \bar{C}_B は血液側平均溶質濃度、 \bar{C}_D は透析液側平均溶質濃度を示す。

濾過は、半透膜を介して圧力勾配にしたがい溶液が移動する現象である。この時、半透膜の細孔径を通過できる溶質は溶媒とともに移動する。ダイアライザーの場合、図5に示すように、血液入口付近では、中空糸内の血液側の圧力が透析液側の圧力よりも高いので、透析膜を介して血液側から透析液側へ尿毒症性物質を含む血漿が濾過される。これを正濾過と呼び、尿毒症性物質の除去は正濾過によって行われる。ダイアライザーの血液出口付近では、中空糸内の血液側圧力が低くなるため透析液側から血液側へ透析液の濾過が起こり、これを逆濾過と呼んでいる。

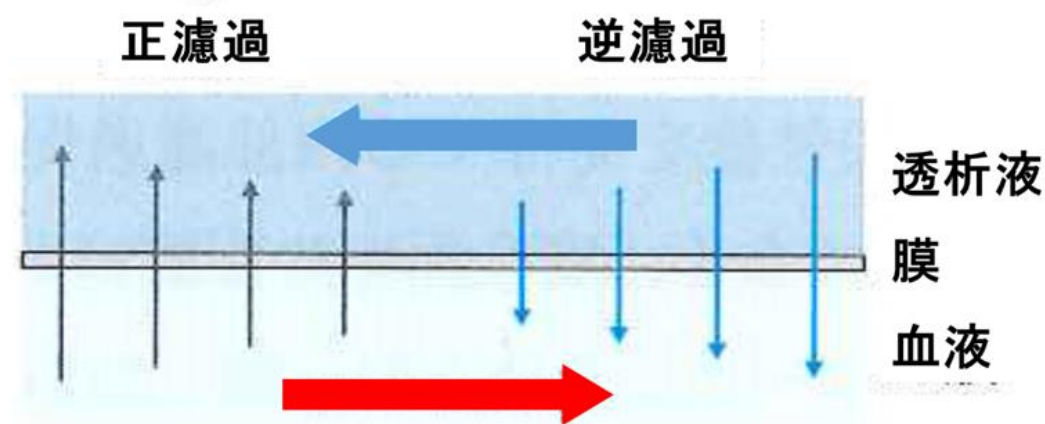


図5 ダイアライザー内の濾過概略図⁸⁾

ダイアライザー内で濾過によって血漿と透析液が膜を通過する様子を示す。赤矢印は血液の流路方向、青矢印は透析液の流路方向、上下の矢印は血漿と透析液の移動方向を示す。

尿素など小分子量の尿毒症性物質は拡散速度が速く拡散のみで十分に除去できる。一方、尿毒症性物質の分子量が大きくなるにつれて拡散速度が遅くなるので、拡散だけでは十分に除去できなくなる。したがって、中分子量尿毒症性物質の除去には、尿毒症性物質が透析膜を通過しやすくするため透析膜の細孔径を大きくしたダイアライザーが開発され使用されている。しかし、透析膜の細孔径を過剰に大きくすると生体にとって必要な物質、特にアルブミンが血液側から除去されるのでアルブミンが細孔径を通過できない程度の透析膜が使用されたダイアライザーが主流となっている。現行の保険診療におけるダイアライザーの機能区分は、日本透析医学会の血液浄化器（中空糸型）の機能分類 2013⁹⁾ を基にし β 2-M のクリアランス (CL) 70 mL/min を境にして低値の方を I 型、高値の方を II 型としている。さらに、アルブミンのふるい係数 0.03 を境にして低値の方を a 型、高値の方を b 型としている。したがって、 β 2-M の CL とアルブミンのふるい係数を組み合わせて、I a 型、I b 型、II a 型、II b 型に分類されている。また、特殊な機能を持つダイアライザーとして吸着性能を有するダイアライザーを S 型に分類している。2008 年の日本透析医学会による「図説 わが国の慢性透析療法の現況 2008 年 12 月 31 日現在¹⁰⁾」によれば、慢性腎不全にて透析療法を受けている患者のうち 80.3% で I a 型ダイアライザーが用いられている。

血液と透析液の流路方向について血液透析療法では、両者をダイアライザー内で反対方向に灌流する向流操作で治療が行われている。図6に向流操作と並流操作におけるダイアライザー内尿毒症性物質濃度分布の概略を示す。横軸は血液の流れる方向を示し、左から右へ流れることを示す。縦軸はダイアライザー内の尿毒症性物質濃度を示す。拡散による尿毒症性物質の除去は、向流操作の場合図6aに示すように、ダイアライザー内のどの場所においても透析膜を介して血液側と透析液側の間の尿毒症性物質濃度差が常に高いままに保たれるため効率的に拡散による尿毒症性物質の除去ができる^{8, 11, 12}。血液と透析液をダイアライザー内で同方向に灌流する並流操作では図6bに示すように、中空糸内を血液が流れていくにつれ、透析膜の血液側と透析液側の間の尿毒症性物質濃度差が小さくなり、血液出口付近では尿毒症性物質の濃度差がほとんどない状態になり拡散による尿毒症性物質の除去量が低下する。図7にダイアライザー内における圧力分布と内部濾過の概略図を示す。横軸は図6と同様に血液の流れる方向を示し、左から右へ流れることを示す。縦軸はダイアライザー内の圧力を示す。内部濾過によって除去される尿毒症性物質の除去に関しては図7aに示すように、向流操作では血液入口付近では正濾過が起こり、血液側に含まれる尿毒症性物質は血漿と共に濾過されて透析液側へ移動する。血液出口付近では逆濾過が起きるがダイアライザーに流入する透析液中には尿毒症性物質が含まれていないため尿毒症性物質の除去量には影響がない。並流操作の場合には図7bに示すように、血液入口付近は向流操作と同様に正濾過が起こり血漿と共に尿毒症性物質が透析液側へ移動する。血液出口付近では、向流操作と異なり、すでに血液側から移動してきた尿毒症性物質を含んだ透析液が逆濾過によって血液側に戻ってくるので、尿毒症性物質除去量が向流操作の場合よりも少なくなる。

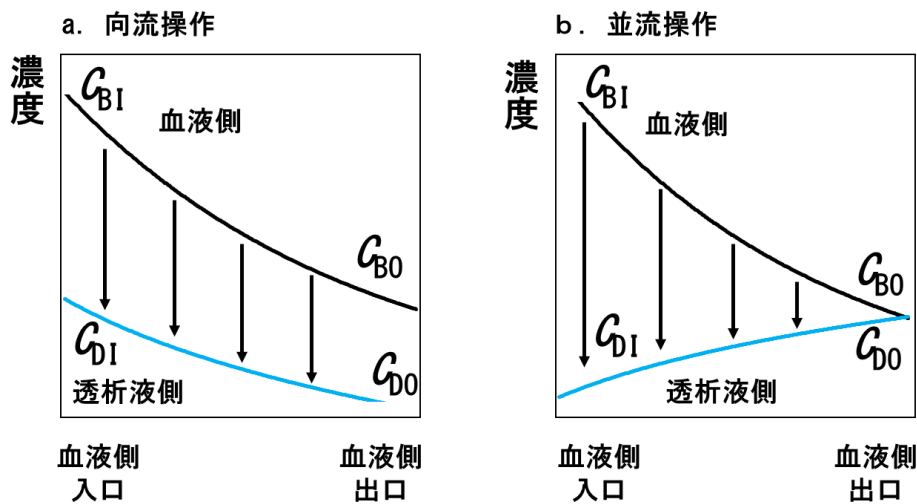


図6 向流操作と並流操作におけるダイアライザー内尿毒症性物質濃度分布の概略図

ダイアライザー内の濃度分布の概略を示す。aは向流操作時、bは並流操作時の尿毒症性物質濃度分布を示す。図中の矢印は、血液側から透析液側へ濃度勾配による尿毒症性物質の移動の方向を示す。向流操作は常に尿毒症性物質濃度を高く保ち、並流操作は血液側出口で尿毒症性物質の濃度差がなくなる。

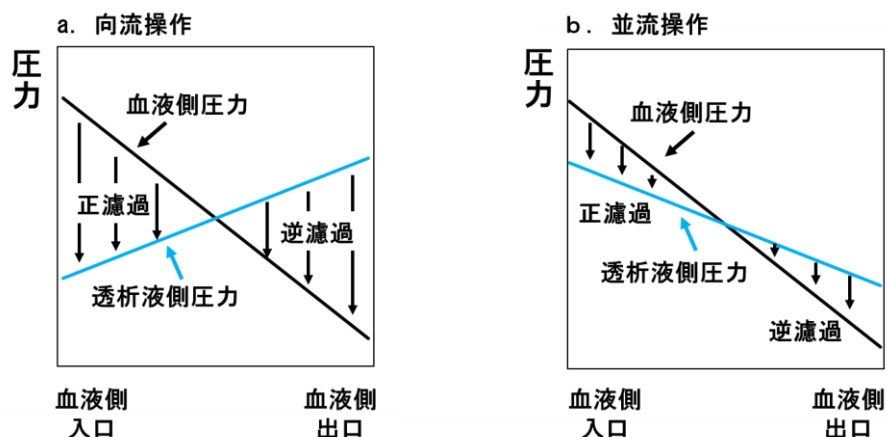


図 7 ダイアライザー内における圧力分布と内部濾過の概略図

ダイアライザー内の圧力分布と内部濾過の概略を示す。aは向流操作時、bは並流操作時の圧力分布と内部濾過の概略を示す。図中の矢印は圧力勾配による濾過の方向を示す。向流操作に比べ並流操作では圧力差が小さい。

血液透析療法は向流操作で行われるのが一般的であるが、臨床現場では、ダイアライザーとカプラの誤接続をしばしば目撃する。しかしながら、ダイアライザーとカプラの誤接続件数に関する具体的な統計データはみあたらない。ダイアライザーとカプラの誤接続により並流操作で血液透析療法が行われた場合の対応は、次の2つに大別できる。1) ダイアライザーとカプラの誤接続を修正しないまま終了する場合と 2) ダイアライザーとカプラの誤接続を修正して終了する場合である。いずれの場合も透析時間を延長する場合としない場合があり、これらの対応は各施設によってまちまちである。その理由として、並流操作で血液透析療法が行われた際にどの程度尿毒症性物質が除去できているのか明確でない事があると考えられる。

第2章 研究目的

臨床現場でしばしば目撃するダイアライザーとカプラの誤接続により並流操作で血液透析療法が行われた際に尿毒症性物質がどの程度除去できているのかを明確にし、どのような対応をすべきか決定する際の判断材料を提供することを目的とする。臨床現場では中分子量尿毒症性物質の除去が問題視されており、ダイアライザーの機能分類は中分子量尿毒症性物質である $\beta 2$ -M の CL により行われている。したがって本研究では、ダイアライザーにおける中分子量尿毒症性物質の除去に着目し、血液透析療法において多くの患者に使用されているポリスルホン (PS) 膜を用いたダイアライザーで、向流操作時と並流操作時におけるシトクロム c (Cyt c) の除去性能を比較する。向流操作時と並流操作時の除去性能を明確にすることで、ダイアライザーとカプラの誤接続に関する実態把握に繋がると期待できる。PS 膜は合成高分子膜で生体適合性の良い透析膜として長年にわたり使用されており、ダイアライザーの膜素材として多くの患者に使用されている。

第3章 実験方法

1. 実験回路と使用した溶液

向流操作及び並流操作における Cyt c 除去率 (Cyt c RR) を比較するために、水系実験を行った。図 8 で示すように、向流操作では血液側灌流液と透析液側灌流液をダイアライザー内で反対方向に灌流した。並流操作では図 9 に示すように、血液側灌流液と透析液側灌流液を同方向に灌流した。実験中、図 8 及び図 9 の血液側灌流液タンク内は常に攪拌していた。ダイアライザーは、PS 膜で有効膜面積 1.5m^2 の APS-15SA (旭化成メディカル社製) を用いた。このダイアライザーは、2006 年保険診療上の機能区分では IV 型、血液浄化器 (中空糸型) の機能分類 2013⁹⁾ では I a 型に分類されている。日本透析医学会による 2008 年の統計調査「図説 わが国の慢性透析療法の現況 2008 年 12 月 31 日現在¹⁰⁾」によると、慢性腎不全により血液透析療法を受けている患者の 80.3% で、この機能区分のダイアライザーが用いられている。

本実験の流量条件は、「血液浄化器の性能評価法 2012¹³⁾」の水系性能評価法に準拠し、血液流量 (Q_B) 200 mL/min 、透析液流量 (Q_D) 500 mL/min 、除水量 (Q_F) 0 mL/min とし、測定対象溶質として Cyt c を用いた。本実験では、中分子量尿毒症性物質の除去に着目して Cyt c (和光純薬製) の除去率を調べた。Cyt c は、ウマの心臓由来で分子量 $11,702$ ¹⁴⁾ であり β -2-M の分子量に近く、小久保らによれば PS 膜への吸着が遅く 300 min でも平衡状態に達しておらず吸着量が少ないと報告¹⁵⁾ していることから、本実験結果へ吸着の影響は少ないと判断し Cyt c を除去対象溶質とした。

血液側灌流液は、キンダリー透析剤 AF-2 号 (扶桑薬品工業社製) を用いて、Cyt c 濃度が 25 mg/dL となるように溶解し調整した。同じ Cyt c 溶液を用いてダイアライザーのプライミングを行った。血液側灌流液の総量はプライミングボリュームを含めて 1.2 L とした。プライミングボリュームは、ダイアライザー APS-15SA と血液回路 (日機装社製) を接続し、水道水を充填し充填量をメスシリンダーにて計測し 200 mL とした。プライミングの際はダイアライザー及び血液回路は洗浄せず Cyt c 溶液の充填のみを行った。透析液側灌流液はキンダリー透析剤 AF-2 号を用いた。血液側灌流液及び透析液側灌流液をダイアライザーへ灌流するための透析装置は、個人用透析装置 DBB-27 (日機装社製) を用いた。

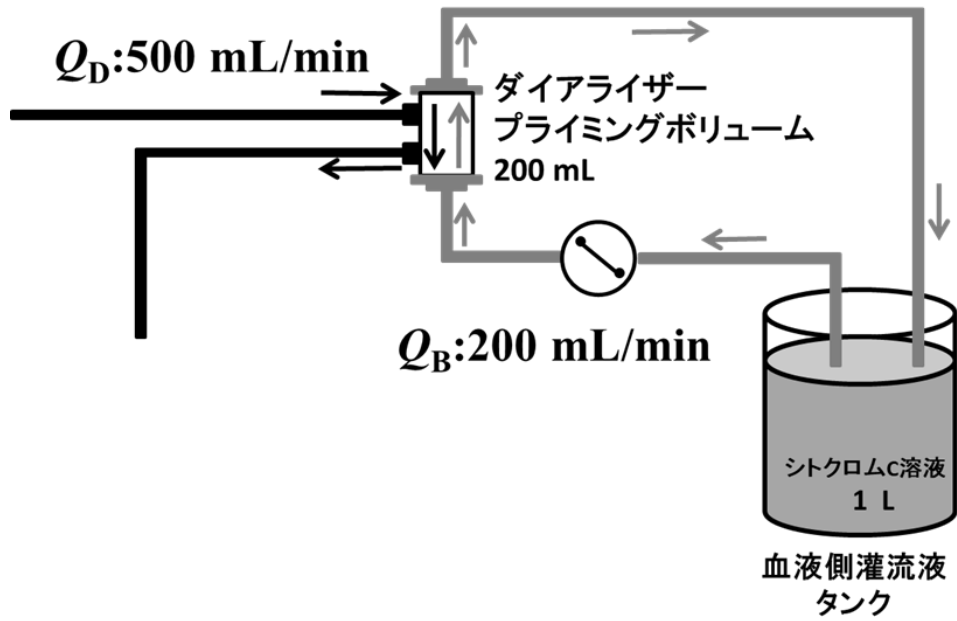


図 8 向流操作の実験回路図

血液側灌流液はキンダリー透析剤 AF-2 号に Cyt c を 25 mg/dL となるように溶解・調整した。血液回路内は、血液側灌流液と同じ Cyt c 溶液 200 mL でプライミングを行った。血液側灌流液タンク内は 1 L とした。実験中は血液側灌流液タンク内を常に攪拌していた。

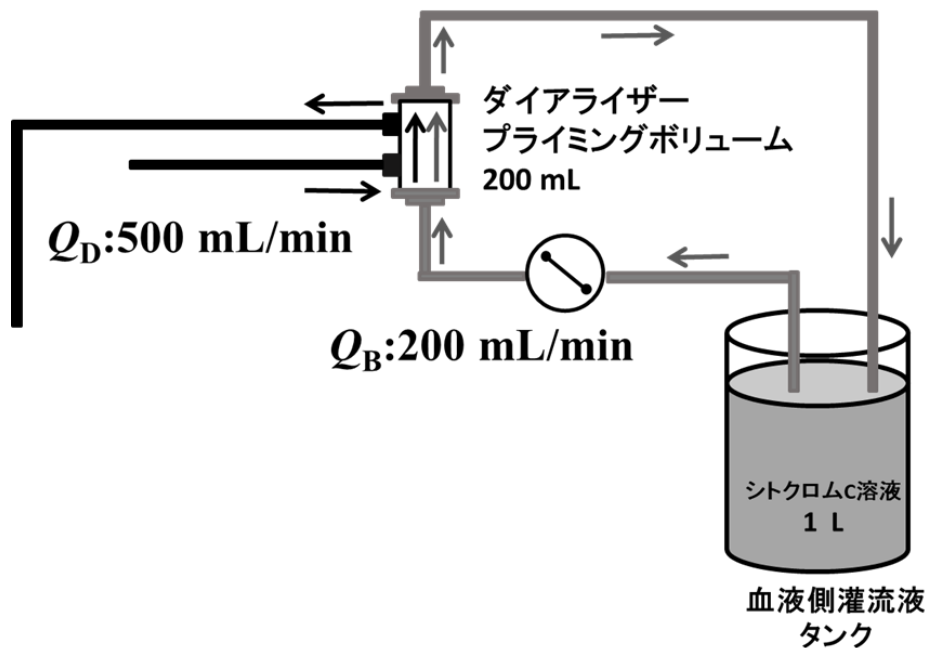


図 9 並流操作の実験回路図

並流操作は、向流操作時のダイヤライザーとカプラの位置を変えることで、血液側及び透析液側の流路方向を同方向にした。血液回路内は、血液側灌流液と同じ Cyt c 溶液 200 mL でプライミングを行った。血液側灌流液タンク内は 1 L とした。実験中は、血液側灌流液タンク内を常に攪拌していた。

2. Cyt c の濃度測定

血液側灌流液と透析液側灌流液を灌流し始めた時間を実験開始時 ($t=0$) とした。Cyt c 濃度は、0 min, 3 min, 6 min, 9 min, 12 min, 15 min と実験開始から 15 min までは 3 min 毎に、20 min, 25 min, 30 min と 15 min から 30 min までは 5 min 毎に、40 min, 50 min, 60 min と 30 min から 60 min までは 10 min 毎に図 8 及び図 9 の血液側灌流液タンク内からサンプルした血液側灌流液の Cyt c 濃度を測定した。また、1 回のサンプル量は 0.5 mL とし全サンプル量は 6 mL となり血液側灌流液総量 1.2 L の 0.5% である。Cyt c 濃度測定には、POLARstar OPTIMA (BMG LABTECH 社製) を用い波長 405 nm での吸光度を利用した。

3. Cyt c 除去率と実験結果の解析

実験開始から時間 t における血液側灌流液に含まれる Cyt c 質量を $x_B(t)$ としたとき、除水が無い場合の、ダイアライザーによる Cyt c 除去速度 ($dx_B(t)/dt$) は式 (1) で与えられる。

$$\begin{aligned}\frac{dx_B(t)}{dt} &= -CL \cdot C_B(t) \\ &= -CL \cdot \frac{x_B(t)}{V_B}\end{aligned}\quad (1)$$

ここで、 CL はダイアライザーのクリアランス、 $C_B(t)$ は時間 t におけるダイアライザーの血液側入口 Cyt c 濃度、 V_B はプライミングボリュームを含む血液側灌流液総量を表している。 $t=0$ で血液側灌流液内 Cyt c 量は $x_B(0)$ なので式 (1) を解くと、

$$x_B(t) = x_B(0) \cdot e^{-\frac{CL}{V_B}t} \quad (2)$$

$$= x_B(0) \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (3)$$

となる。ここで、 $\tau = V_B/CL$ は Cyt c 除去速度の時定数である。

時間 t における Cyt c の除去率 $RR(t)$ は式 (4) を用いて求めた。

$$RR(t) = \frac{(x_B(0) - x_B(t))}{x_B(0)} \times 100 \quad [\%] \quad (4)$$

また、式 (3) を式 (4) に代入すると、式 (5) を得ることができる。

$$RR(t) = \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right) \times 100 \quad [\%] \quad (5)$$

式 (4) を用いて実験的に求めた Cyt c RR に式 (5) を統計用ソフト EZR¹⁶⁾ の非線形最小二乗法を利用した nls 関数を用い当てはめ時定数 τ を求めた。

向流操作と並流操作における実験はそれぞれ 10 回行った。平均値の比較には Welch 検定を用い、 $p < 0.05$ で有意差有りとした。

第4章 実験結果

向流操作時と並流操作時の各測定時間における Cyt c RR (t) を表 1 にまとめた. 各測定時間において両者を比較すると, 実験開始から 6 min 以降で並流操作時の Cyt c RR が有意に低値であった.

向流操作における Cyt c 除去率 (Cyt c RR_{CF}) の変化を図 10 に示す. Cyt c RR_{CF} は, 実験開始から時間の経過とともに増加して 100% に近付いていった. 実験終了時の Cyt c RR_{CF} は実験 10 回の平均値で 96.4 ± 0.6 (mean \pm sd) % であった. 式 (5) を用いて時定数 τ を求めると 13.2 min であった. 求めた時定数をもとに Cyt c RR_{CF} を算出すると, Cyt c RR_{CF} 60% は 12.1 min, 70% は 15.9 min, 80% は 21.2 min, 90% は 30.4 min で得られる.

並流操作における Cyt c 除去率 (Cyt c RR_{PF}) の変化を図 11 に示す. 向流操作時と同様に時間の経過とともに増加して 100% に近付いていった. 実験終了時の Cyt c RR_{PF} は実験 10 回の平均値で 94.4 ± 0.4 (mean \pm sd) % であった. 測定値を向流操作時と同様に式 (5) を用いて時定数 τ を求めると 17.1 min であり, 向流操作時の 1.3 倍であった. 求めた時定数をもとに Cyt c RR_{PF} を算出すると, Cyt c RR_{PF} 60% は 15.7 min, 70% は 20.6 min, 80% は 27.5 min, 90% は 39.4 min で得られる. 時定数が 1.3 倍になったことに伴い, 並流操作時では向流操作時と同じ除去率を得るのに 1.3 倍の時間を要している.

時定数に基づいて算出した向流操作時と並流操作時の Cyt c RR の差 ΔRR を図 12 の実線で示す. ΔRR は実験開始から 1 min で 1.6% となり, 時間経過とともに両者の差が大きくなっていき, 15 min で ΔRR が 9.5% となった. この時, Cyt c RR_{CF} は 67.9%, Cyt c RR_{PF} は 58.4% であった. 15 min 以降は, ΔRR が徐々に少なくなり 60 min では 1.9% となった.

相対 Cyt c 除去率 (Cyt c $RR_R = \text{Cyt c } RR_{PF} / \text{Cyt c } RR_{CF} \times 100$) を図 12 の点線で示す. 時間の経過とともに Cyt c RR_R は増加し, 5 min で 80% を超え, 向流操作時と並流操作時の ΔRR が最も大きかった 15 min では 86.0% であった. その後, 24 min で Cyt c RR_R は 90% を超え, 60 min では 98.0% であった.

時間 t における向流操作時と並流操作時の Cyt c RR の関係を図 13 に示す. 時間 t における向流操作時の Cyt c RR_{CF} に対する同じ時間の並流操作時の Cyt c RR_{PF} を示している. 臨床データでは, 2008 年の「図説 わが国の慢性透析療法の現況 2008 年 12 月 31 日現在¹⁰⁾」によれば, β_2 -M 除去率は向流操作 240 min の血液透析療法で 61.8% であると報告されている. 本実験で向流操作時の Cyt c RR_{CF} 61.8% は 12.7 min で得られ, この時の並流操作時の Cyt c RR_{PF} は 52.4% であった (図中の黒丸).

表 1 向流操作時と並流操作時の各測定時間における Cyt c $RR(t)$ (%)

t (min)	3	6	9	12	15	20	25	30	40	50	60
向流操作											
mean	20.7	37.6*	50.8*	61.4*	68.8*	79.0*	84.9*	89.0*	93.4*	95.5*	96.4*
sd	3.7	3.7	4.8	4.0	3.2	2.4	1.5	1.2	0.8	0.6	0.6
並流操作											
mean	18.6	31.8*	41.9*	51.7*	58.9*	69.0*	76.0*	81.1*	88.1*	92.2*	94.4*
sd	3.0	3.3	2.6	2.8	2.5	1.7	1.7	1.4	0.9	0.7	0.4

*は、各測定時間における向流操作時と並流操作時の Cyt c $RR(t)$ に有意差があることを示す。

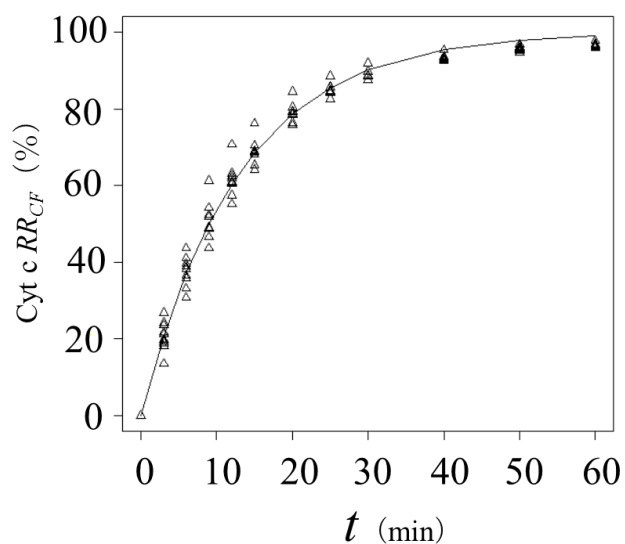


図 10 向流操作時の Cyt c RR_{CF} の推移

向流操作 10 回の Cyt c RR_{CF} 推移を示す。横軸は実験開始からの時間 (min)，縦軸は Cyt c RR_{CF} (%) を表している。実線は式 (5) に基づいて引いた。Cyt c RR_{CF} の時定数は 13.2 min だった。

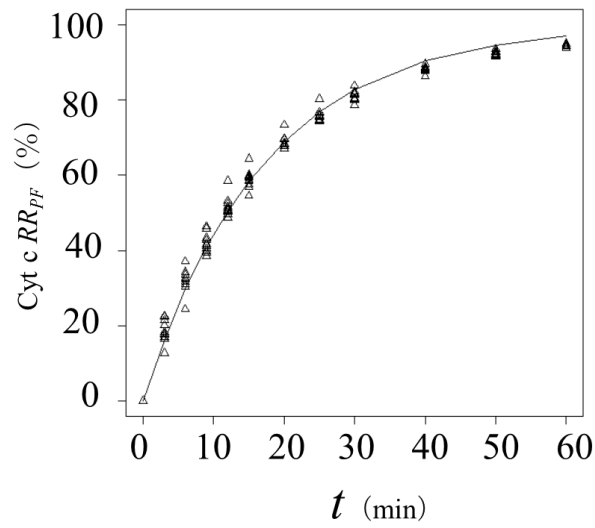


図 11 並流操作時の Cyt c RR_{PF} の推移

並流操作 10 回の Cyt c RR_{PF} 推移を示す。横軸は実験開始からの時間 (min)，縦軸は Cyt c RR_{PF} (%) を表している。実線は式 (5) に基づいて引いた。Cyt c RR_{PF} の時定数は 17.1 min だった。

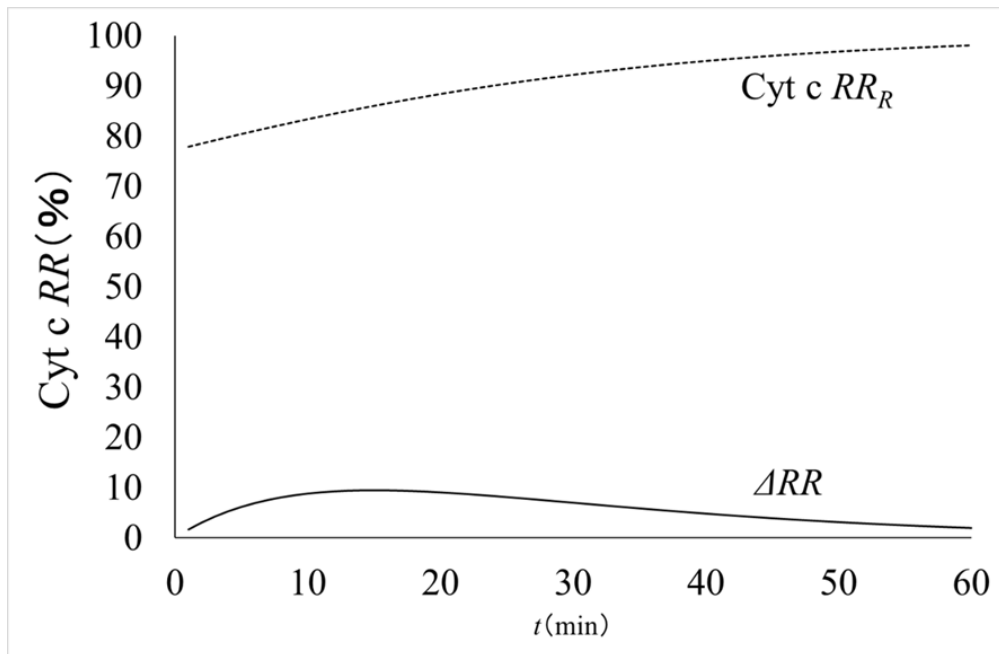


図 12 向流操作時と並流操作時の比較

向流操作時と並流操作時の Cyt c RR 平均値の差と Cyt c RR_R を示す。横軸は実験開始からの時間 (min)，縦軸は Cyt c RR (%) を示す。実線は向流操作時と並流操作時の差 ΔRR を示す。点線は Cyt c RR_R を示す。

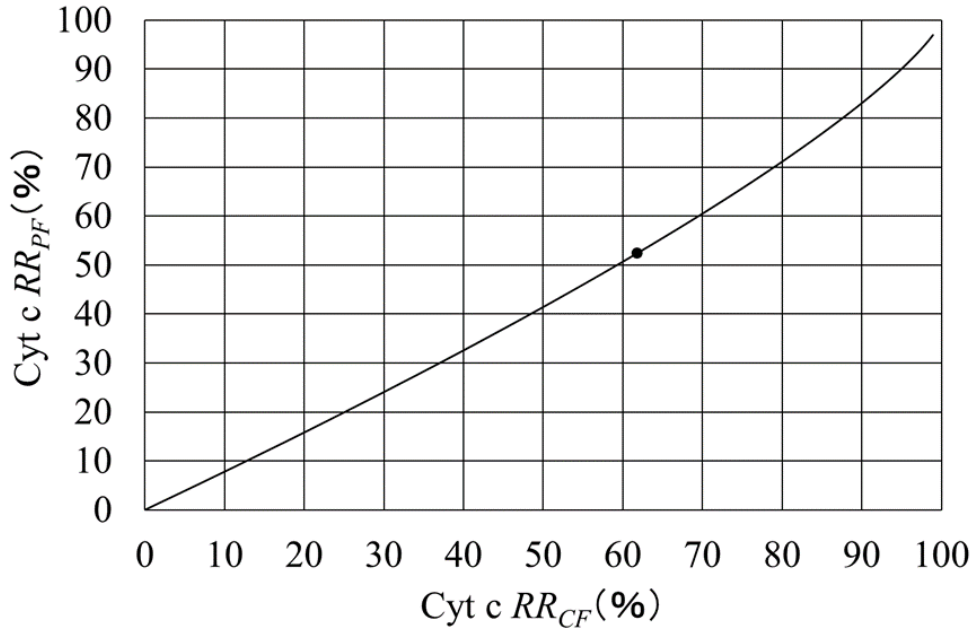


図 13 向流操作時と並流操作時の Cyt c RR の関係

横軸は向流操作時の Cyt c RR_{CF} を示す。縦軸は並流操作時の Cyt c RR_{PF} を示す。Cyt c RR は式 (5) に当てはめて求めた。実線は、ある時間における Cyt c RR_{CF} と同じ時間の Cyt c RR_{PF} との関係を示す。黒丸は、12.7 min の点を示す。

第 5 章 考察

本実験では、 $\beta 2$ -M を想定した Cyt c の除去率について、血液透析療法で一般的に行われている向流操作での Cyt c RR_{CF} と、ダイアライザーとカプラの誤接続により起こる並流操作で血液透析療法が行われた際の Cyt c RR_{PF} を比較した。向流操作時の Cyt c RR_{CF} が並流操作時の Cyt c RR_{PF} よりも有意に高値であった。これは、向流操作時において、ダイアライザー内で血液側灌流液と透析液側灌流液の間で常に高い濃度差を保ったことによる拡散の影響と、血液出口付近で Cyt c を含まない透析液側灌流液が逆濾過したことによるため、一般的に血液透析療法が向流操作で行われている理由を裏付けるものである。

成人の循環血液量（総血液量）は、4 から 5 L 程度であり、本実験の血液側灌流液量 1.2 L よりも多い。しかし、式 (2) より、時定数は V_B に比例している。また、向流操作時と並流操作時の時定数の比を取ると V_B が消去されて、ダイアライザーの CL の比となる。したがって、向流操作時と並流操作時の、溶質の除去に要する時間を比で表すとき V_B の影響は除かれる。さらに、除去される溶質量の比も V_B は影響しない。

臨床データにおける $\beta 2$ -M の除去率は、2008 年の「図説 わが国の慢性透析療法の現況 2008 年 12 月 31 日現在¹⁰⁾」を見てみると、本実験で行った条件に近い、 $Q_B 200$ mL/min、ダイアライザーの膜面積 1.4 から 1.6 m^2 、透析時間 240 min、透析膜素材 PS 膜、ダイアライザー機能区分 IV 型（現血液浄化器（中空糸型）の機能分類 2013⁹⁾ では I a 型）を使用しており、 $\beta 2$ -M の除去率は 61.8% であった。本実験で Cyt c RR 61.8% は、向流操作時では

12.7 min で得られているが、並流操作時での Cyt c RR_{PF} は 52.4%にとどまる。しかしながら、並流操作時でも向流操作時の 84.8%は除去されている。また、図 12 から分かるように、実験開始 5 min 以降は Cyt c RR_R が 80%以上であり、向流操作時と並流操作時の ΔRR が最も大きかった 15 min においても、Cyt c RR_R は 86.0%であった。したがって、誤接続により並流操作となった場合でも、向流操作時の 80%以上の中分子量尿毒症性物質が除去されていると推測できる。

$\beta 2$ -M が透析アミロイドーシスの原因物質に同定されてからは、 $\beta 2$ -M の除去率を増やすために工夫がなされ、血液透析濾過療法や血液吸着による $\beta 2$ -M の除去が行われるようになった。これらの治療には、専用装置が必要であること、血液回路が繁雑になり、操作が複雑になることなどから誤接続が増えるなどの問題点がある。したがって、多くの施設において専用装置が必要でなく、血液回路も従来のものが使える内部濾過性能の向上した高性能透析膜を用いたダイアライザーにより、 $\beta 2$ -M の高い除去率を目指した血液透析療法が行われている。維持血液透析ガイドライン：血液透析処方⁵⁾でも、血液透析療法前の血清 $\beta 2$ -M 濃度が 30 mg/L を達成できるように $\beta 2$ -M の除去を推奨している。しかし、 $\beta 2$ -M 除去率が生命予後にどの程度影響を及ぼすのかについて、 $\beta 2$ -M の除去量から治療効果を評価できるというエビデンスはない^{17, 18)}。また、Hoshino らの報告¹⁹⁾でも、 $\beta 2$ -M の除去率が 80%以上になるように治療条件を設定する方が治療効果に良い可能性はあるものの、 $\beta 2$ -M の除去率が 80%未満との比較では有意差は認められていないとしている。

これらの様に、ダイアライザーとカプラの誤接続を修正しないまま並流操作で血液透析療法を 240 min 行っても、向流操作時の 80%以上が除去されていると推測できる。また、 $\beta 2$ -M 除去率を高くすべきエビデンスがあまり見られないことから、血液透析療法前の血清 $\beta 2$ -M 濃度が著しく高くない患者では、毎回の血液透析療法で高い $\beta 2$ -M の除去率を得られなくてもただちに治療効果や生命予後に影響を与える可能性が低い。したがって、血液透析療法前の血清 $\beta 2$ -M 値が著しく高くない患者では、必ずしも時間延長が必要でない可能性がある。

血液透析治療前の血清 $\beta 2$ -M 濃度が高く、 $\beta 2$ -M の除去率を高くする必要のある患者では、時間を延長するか否かを判断する必要がある。その際に、図 13 の向流操作時と並流操作時の Cyt c RR の関係を参考にできる。向流操作時の尿毒症性物質除去率が分かれば、並流操作時の尿毒症性物質除去率が推測できる。慢性透析患者は定期検査により尿毒症性物質の除去率を求めることができる。そこで、ある患者の過去の定期検査結果から向流操作時の除去率が分かれば、ダイアライザーとカプラの誤接続により並流操作になった場合の除去率をある程度推測でき透析時間を延長するか否かの判断材料になると考える。血液透析療法の時間を延長する必要があった場合に、本実験の Cyt c RR の時定数を活用すると時間延長の目安にできる。Cyt c RR_{PF} の時定数は Cyt c RR_{CF} の 1.3 倍であるので、Cyt c RR_{PF} は Cyt c RR_{CF} の 1.3 倍の時間を要していた。したがって、血液透析療法で並流操作のまま時間を延長する場合には、向流操作時の最大で 30%時間を延長すれば、並流操作でも向流操作と同等の尿毒症性物質が除去できることになる。並流操作のまま 240 min 経過した場合には、最大で 72 min 延長すれば向流操作時と同等の除去効果が期待できる。

本研究の今後の展望として、ダイアライザーの膜素材、有効膜面積、血液流量、透析液流量などの違いやファウリングの程度によって向流操作と並流操作の尿毒症性物質の除去がどの様に変化するのかを明確にしたい。水系実験における除去対象溶質の除去性能、クリアランスの経時的変化や吸着量の変化を把握するためには測定ポイントを増やす必要がある。現状の方法では、サンプリングに時間差が生じるため測定誤差が増える可能性があり実験の精度が低下するため、同時に連続モニターするセンサーを用いることが望ましい。このセンサーを用いれば、血液側灌流液や透析液側灌流液をサンプルしなくても容易に溶質除去の程度が複数のサンプルポイントで同時に把握できる。さらにこのセンサーを臨床にも応用できることを視野に入れて開発したい。

第6章 結語

血液透析療法を受けている患者の80.3%が使用しているダイアライザーを用いて、血管内に存在している中分子量尿毒症性物質の除去特性について向流操作時と並流操作時の違いを明らかにした。並流操作時でも向流操作時の80%以上のCyt cが除去されていた。これにより、ダイアライザーにカプラを誤接続して並流操作で血液透析療法が行われた場合でも、本実験と同様にβ2-Mが向流操作時の80%以上除去出来ていると推測でき、血清β2-M濃度が著しく高くない患者では、ただちに治療効果、生命予後に影響する可能性が低いと考えられる。したがって、並流操作のまま誤接続を修正せず、時間延長もしないで血液透析療法を終了できる可能性がある。また、時間を延長する必要があった場合でも、最大で72 min 延長すれば、向流操作時と同等のβ2-M除去率が得られると期待される。

今後の展望として、流量条件、ダイアライザーの膜素材を変えた場合の尿毒症性物質の除去程度を明確にすると同時に、溶質除去をリアルタイムにモニターできるセンサーの開発を考えている。

謝辞

本研究を行うにあたり、Cyt c 定量のための吸光度測定に際し、吸光度計を快く貸与頂き、装置の操作方法についてご指導頂いた徳島文理大学香川薬学部助教 中妻章先生に感謝致します。統計学的解析で御指導頂いた徳島文理大学保健福祉学部教授 吉田知司先生に感謝致します。また、研究の全般にわたって御助言頂いた広島国際大学保健医療学部教授 焼廣益秀先生・福永信太郎先生に感謝致します。

参考文献：

- 1) Gejyo F, Yamada T, Odani S, et al : A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2-microglobulin, *Biochem Biophys Res Commun*, 129 (3), 701-706.
- 2) 猪子英俊, 辻公美 : HLA の基礎と臨床, 日本臨床免疫学会会誌, Vol.13 No.2, 103-119, 1990.
- 3) 小川公明 : HLA の基礎知識 1, *Major Histocompatibility Complex*, 23 (2), 115-122. 2016.

- 4) 下条文武, 特集 アミロイド関連血漿蛋白最近の進歩 β_2 -ミクログロブリン, 臨床化学, 26, 69-73, 1997.
- 5) 水口潤, 友雅司, 政金生人, 他: 一般社団法人 日本透析医学会 維持血液透析ガイドライン, 血液透析処方, 透析会誌, 46 (7), 587-632, 2013.
- 6) 政金生人, 谷口正智, 中井滋, 他: 図説 わが国の慢性透析療法の現況 2015年12月31日現在, 1-73, 一般社団法人日本透析医学会, 東京, 2016.
- 7) 篠田俊雄, 秋澤忠男, 栗原怜, 他: 平成25年度日本透析医会医療事故調査報告, 日本透析医会雑誌, Vol.30 No.1, 50-67, 2015.
- 8) 山本健一郎, 峰島三千男: ダイアライザ, わかりやすい透析工学 血液浄化療法の科学的基礎 (酒井清孝, 峰島三千男編), 85-102, 株式会社南江堂, 東京, 2012.
- 9) 川西秀樹, 峰島三千男, 友雅司, 他: 血液浄化器 (中空糸型) の機能分類 2013, 透析会誌, 46 (5), 501-506, 2013.
- 10) 椿原美治, 井関邦敏, 渡邊有三, 他: 図説 わが国の慢性透析療法の現況 2008年12月31日現在, 1-107, 一般社団法人日本透析医学会, 東京, 2009.
- 11) 森上辰哉: 透析用監視装置の操作に関する事故防止策, Clinical Engineering, Vol.26 No.10, 961-968, 2015.
- 12) 小林こず恵, 小久保謙一, 小林弘祐: 血液浄化器の形状とその特徴, 臨床透析, vol.31 no.3, 347-351, 2015.
- 13) 川西秀樹, 峰島三千男, 平方秀樹, 他: 血液浄化器の性能評価法 2012, 透析会誌, 45 (5), 435-445, 2012.
- 14) 日本化学会 編: 化学便覧基礎編 改訂4版, I-437- I-446, 丸善出版株式会社, 東京, 1993.
- 15) 小久保謙一, 黒田茂, 酒井清孝: 透析膜のタンパク質除去における吸着の影響, 人工臓器, 24 (3), 717-720, 1995.
- 16) Kanda Y: Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics, Bone Marrow Transplantation, 48, 452-458, 2013.
- 17) 政金生人: 適切な治療効果を得るための評価法, Clinical Engineering, Vol.26 No.6, 587-592, 2015.
- 18) Ward RA: Protein-Leaking Membranes for Hemodialysis: A New Class of Membranes in Search of an Application?, J Am Soc Nephrol, 16 (8), 2421-2430, 2005.
- 19) Hoshino J, Yamagata K, Nishi S, et al: Carpal tunnel surgery as proxy for dialysis-related amyloidosis: results from the Japanese society for dialysis therapy, Am J Nephrol, 39 (5), 449-458, 2014.