

イオン交換樹脂を用いるビリルビンの吸着

Removal of Bilirubin with Ion Exchange Resin

高 井 信 治*

Nobuharu TAKAI

1. は じ め に

慢性腎不全、肝性昏睡、急性薬物中毒等の治療を目的として、各種の吸着剤を用いた、Direct Hemoperfusion (以下DHPと略す)が有効であることが知られて以来多くの研究が行われてきた。中でもYatzids, Changらによって行われた活性炭を用いるDHPは、良い結果が得られたため、現在多くの治療例が知られている。

しかし、血中のたんぱくに結合されているビリルビンに関しての研究例は、血中の毒物除去などに比較して、使用例が少ない。

血中に存在するビリルビンは、現在血中アルブミンと強く結合していると考えられており、今までにDHP用に開発された、高分子吸着剤、マイクロカプセル吸着剤および各種活性炭などでは、それぞれ、吸着量は小さい。また、St-DVB系のゲル型イオン交換樹脂についても可能性は得られたが、吸着速度は、著しく遅い。そこで、新たに吸着速度の比較的早い吸着剤を設計したところ、ほぼ実用的には、満足できる結果が得られた。

すでに述べたように、St-DVB系のイオン交換樹脂は、ゲル型であるかぎり、孔径をある程度以上大きくすることは、機械的強度が弱く実用的には不可能である。

孔径が大きくて、比較的強度の強いイオン交換樹脂として、MR型のイオン交換樹脂がすでに良く知られている。そこで、このM型のイオン交換樹脂を多少アレンジして、吸着性が大きく、なお吸着速度の大きいものを設計した。

この試作したイオン交換樹脂はDHPの使用に充分耐えた。すなわち、カラムに充て込んで、血清または血しょうを流しても、実用範囲で大きな抵抗がかかることなしに、ある程度流量を確保できることが明らかとなった。また、吸着速度に関しては、マクロポーラスのほかに、架橋度についても検討を行った。

結果的に、マクロポアとミクロポアを併せて持つよう

*東京大学生産技術研究所 第4部

なイオン交換樹脂が良い性能を持つことが明らかになった。この研究の結果、生体液中の比較的大きい分子のものを除くのに良い性質があることがわかった。

2. 実 験 方 法

実験に使用した機能性高分子は、すでに述べたようにたんぱく質に配位しているビリルビンを効率的に吸着されるように設計されたもので、0.6mm~0.9mmのものをふるい分けて、1N-HCl, 1N-NaOHおよび、メタノールで良く洗浄し、最終的に、R-Cl型にして風乾した。このものは、球型で100mlビーカー中に0.5gを入れ、水50ml中でマグネチックスターラーでかくはんしても破碎は見られなかった。

a) in vitro試験

黄疸犬モデルの作成は、現在多くの手法が知られている。例えば、ニトロソアミン等の薬物の注入のほか、外科的な手法によっても種々の状態の黄疸犬を作ることが出来る。

ここでは外科的手法によって黄疸モデル犬を作成した。黄疸犬は、体重10~15kgの雑種成犬を使用し、ラボナール20mg/kg静脈内投与後、GOF麻酔化において、腹部正中切開し、総胆管結紮後、胆のう一後大静脈吻合を行い黄疸犬を作成した。

なおこのようにして得た黄疸犬は、血液検査を行い、黄疸が発症していることを確認しながら実験を進めた。

このようにして、黄疸が発症した、黄疸犬を脱血し、常法により血清を得た。

上記の方法により得た黄疸犬血清を用いて振盪試験を行った。

吸着剤は、0.5, 0.3, 0.2, 0.1g(110°C 2時間乾燥を行って、含まれている水分を除いた値)をフラスコにとり、20mlの黄疸犬血清と混和し、37°C, 120分振盪を行いながら吸着を行った。

サンプリングは、経時的に行い、アルカリアゾビリルビン法によりビリルビン濃度を測定した。

研 究 速 報
b) in vivo 試験

実験には, in vitro と同様の処置を行った黄疸犬を作成した。この場合 in vitro と同一犬ではないので, 黄疸の症状は多少異なることはやむをえない。

この黄疸犬にけい部動静脈間に, シリコン製外シャントを設置し, 術後 2 日目より, 1 日 3 時間の DHP を実施した。

血液流量は, 100ml/min とし, 経時的にサンプリングを行い, ビルビン, アルブミン, S-LDH, S-GOT, S-GPT, および血液有形成分を測定するとともに, DHP の吸着剤表面を SEM にて観察を行った。

また, DHP に用いた吸着剤は, おのおの 200ml を円筒型カラムに, 通常方法で充てんし, 滅菌後実験に使用した。

3. 結 果

ビルビン吸着を目的とした高分子吸着剤の結果を図 1 に示す。

実験に用いた, 黄疸犬血清のビルビンの初期濃度は総ビルビン 16.8mg/dl であり, この中で直接ビルビンは, 7.6mg/dl であった。吸着実験の結果, 振盪後, 約 20% 程度の吸着を示すことが明らかとなった。

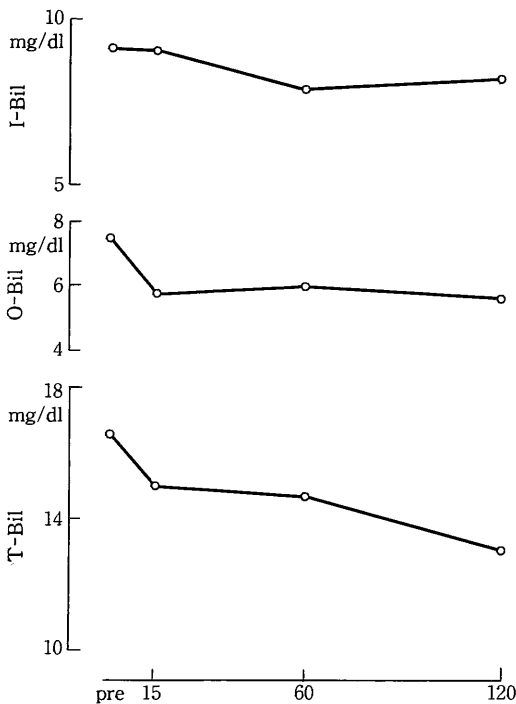


図 1 Changes in Total-Bilirubin Direct-Bilirubin and Indirect-Bilirubin during Batch Experiment

次に, 胆のう一後大静脈吻合を行い, 総胆管結紮により作成した黄疸犬における DHP の結果については, 総ビルビン除去率は, 前値平均 21.2mg/dl, 後値平均 11.0mg/dl, 最高 57%, 最低 40% の減少を示し, 平均除去率は約 49% であった。

直接ビルビン除去率は, 前値平均 15.3mg/dl, 後値平均 8.0mg/dl, 最高 56%, 最低 30%, 平均除去率 48% を示した。これらのことがらを図 2 に示す。

アルブミンに関しては, 同じ試料について測定したところ 20% 程度の減少を示すことが判った。結果を図 3 に示す。

さらに, GOT, GPT, LDH については, GOT 前値平均 277, 後値平均 212I.U. GPT 前値平均 288, 後値平均 224I.U. とそれぞれ, カラムの前後での変動は小さいことが明ら

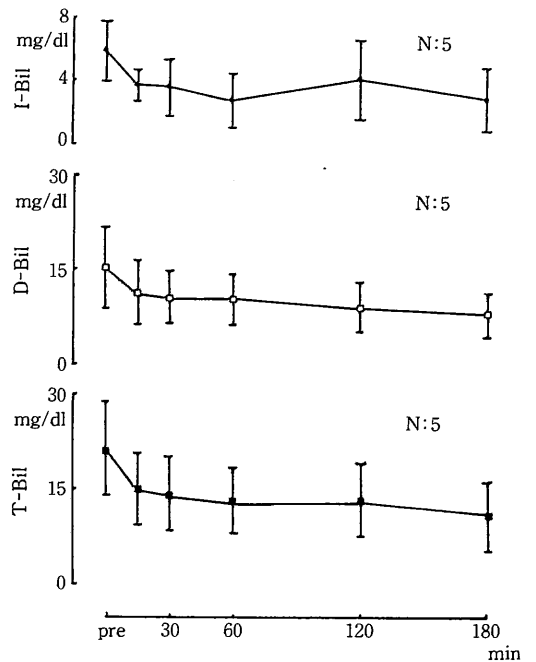


図 2 Change in Total-Bilirubin, Direct-Bilirubin and Indirect-Bilirubin Levels in Experimental Jaundice Canines during DHP with Polymergel

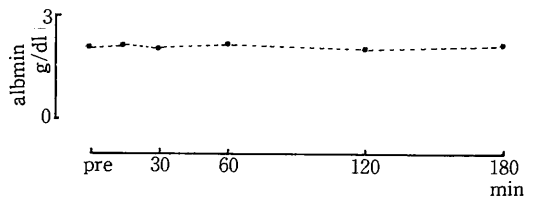


図 3 Change in Albumin Levels during DHP with Polymergel

研究速報

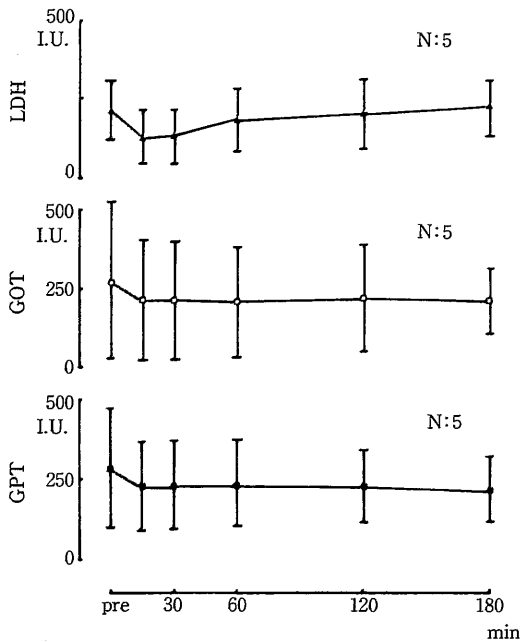


図4 Change in S-LDH S-GOT and during DHP with Polymer Gel

かとなった。これらの関係を図4に示す。

血液有形成分に関しては、白血球は、開始してから30分後、開始前の値の38%程度に減少するが、終了時には、68%程度まで回復をする。血小板は、60分後に50%程度まで減少するが、それ以降は、同値を保った。

4. 考 察

試作された機能性高分子吸着剤を用いる、DHPが腎不全により生成される物質、肝不全に基因する物質の除去に有効であることが明らかにされた。

これらの吸着傾向は、すでにYamazakiらがAR-1を使用して、in vitro試験において除去率53%と報告⁴⁾しており、ほかにSidemanも、同様の吸着剤を用いて50%以上の吸着があることを報告している。また浜口らもIon Exカラムを用いて49%の除去率があることを発表している。

また今回行った黄疸犬は総胆管結紮断後、胆のう後大静脈を直接吻合することにより、ビリルビン濃度が術後2日目より急上昇し、黄疸症状が発現すること、病態が不可逆であること、さらに無処置黄疸犬の死亡時における肝臓の病理所見からも、細胞浸潤および、中心静脈周囲への胆汁うっ帯が認められることなどからこの黄疸犬モデルを使用した。

以上のことから、今回試作したビリルビン吸着剤は、良い性質を持っていることが明らかとなった。

(1990年8月20日受理)

参 考 文 献

- 1) Yatzidis: A Convenient Haemoperfusion microapparatus over charcoal for The treatment of endogenous and exogenous and exogenous intoxications. Proc. Eur. Dial. Transplant. Assoc. 1 83 (1964).
- 2) Chang, T.M.S. and Malave, N: The development and first clinical use of Semipermeable micro-capsules (artificial cells) as a compact artificial Kidney. Trans Am. Soc. Artif. Intern. Organs., 16 141 (1970).
- 3) Z. Yamazaki, N. Inoue, T. Wada, T. Oda, K. Atsumi, K. Kataoka and Y. Fujisaki: Use of an AR-1 Resin Column to Reduce Bilirubin-Level. In Modified Ascitic Fluid., Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs. 25 480 1979.
- 4) 内間 大坪 堀内 栗田 渡辺 柳沢 山田 稲生 高井 高橋 恒次: 人口臓器, 9, 1103, (1980).