

血 漿 分 離 用 膜

Plasma separator membrane

高 井 信 治*

Nobuharu TAKAI

は じ め に

血漿交換（生体の血液を、血球成分たとえば赤血球、白血球、血漿板と非血球成分、アルブミン、各種グロブリン等の蛋白質や電解質を分離し、非血球成分のみを捨て、他に用意した血漿を新たに加えて体にもどす治療法）による治療法が、肝不全や自己免疫疾患、さらに腎移植後の急性拒絶反応を示した患者にたいして、その液体抗体を除去する目的で、幅広く臨床に応用される機運になってきている。

この方法として、従来から行われてきた遠心分離法は機械が高価であり、操作も複雑で、さらに装置内に残留する血液が多いため、これに代わる方法として、膜法による血漿交換が行われるようになってきた。

そこで、これらの目的に合う膜を開発する目的で、ポリプロピレンの中空糸を用いて、検討を行った。

ポリエチレンやポリプロピレンの中空糸は、現在2種類の方法が知られており、一つは乾式で中空糸を成型後延伸してスリット状の孔をあける方法ともう一つは、成型時に他の物質を混入させて後で加えた物質を除いて孔を得る方法が知られている。

ここで使用した中空糸は後者の方法で得たもので、加熱成型時にポリプロピレンに溶解し、冷却したときに分相させ、エチルアルコール等で抽出し孔を形成させたエンカ（西独）社のものを使用して、その性能を調べた。

実 験

この実験に使用したポリプロピレン膜は、中空糸型で血液の流れの方から見た膜の有効面積は、 0.5 m^2 である。モジュールの有効長（実際はもっと長く作られているが両端を接着剤で固定するために少し短くなる）は235 mm。

また中空糸の形状は、内径 $320\mu\text{m}$ 、膜厚 $120\mu\text{m}$ 、そして孔の最大径は、 $0.6\mu\text{m}$ である。

まず、ポリプロピレンの膜は、水および血液にたいしては、親和性が小さいので、最初に親和性の大きい溶媒で湿らした。実際には、70%のエチルアルコールを用い

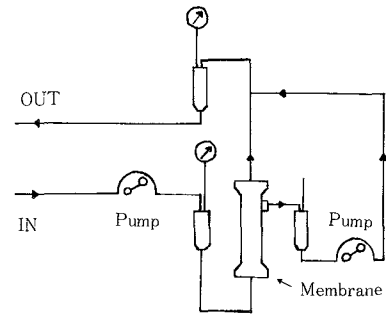


図1 血漿分離の回路

た、充分膜の表面に溶媒が行きわたった後、滅菌した生理食塩水に置換した。生理食塩水での置換は、パッチ法を繰り返しながらアルコールが存在しなくなるまで行った。

次に血漿分離実験は、10~15 kgの雑種健常犬を用いて行った（なお動物実験は東大医科研臓器移植研究室で行った）。

まず、実験を行い易くするために、犬の頸部の動脈と静脈との間に外シャントを造設した。この処置を行って、十分体が回復してから（約1週間を要する）、連続3時間の血漿分離実験を行った。実験の回路を図1に示す。

また、この実験は、健常犬を用いているので分離された血漿は全て静脈回路を経て、犬の生体系に戻すようにシステムを組んだ。

実験に際して、実験犬は1000 Uのヘパリンを注射し、全身のヘパリン化を行った。そして実験開始をしてからは1時間ごとに、動脈側から1000 Uのヘパリンを one shot で投与した。

そして、装置への血液の灌流中、経時的に採血と分離血漿の採取を行った。試料の採取は、全て回路中に採取箇所をもうけ、これを使用して行った。

このようにして得た試料について、両者の各血漿蛋白分画濃度により検討を行った。

また血液濾過性能を見る目的で、血液流量 (Q_B) を 50 ml/mm²~125 ml/min と変化させ、さらに各 Q_B 時に膜間圧力差 (Transmembran pressure <TMP>) を調整し、TRP と血漿濾過流量との関係を求めた。

* 東京大学生産技術研究所 第4部

研 究 速 報

さらにこのような、血液とふれる材料について重要な血栓等の影響を見るために、灌流実験後、生理食塩水を用いて、ファイバーを良く洗浄し、さらに2%グルタルアルデヒド溶液で、膜表面の物質を固定し走査型の電子顕微鏡で、膜表面の血球、血漿板などの付着状態などを観察した。

結 果

まず、図2に plasma separator の入口およびモジュール出口での分離された血漿中の各蛋白質の経時的な変化を示す。なお各蛋白質の定量は免疫電気泳法によって求めた。

この図から、アルブミンは、3時間の灌流実験中 Plasma separator の出口での値は、すでに知られている他の方法、遠心分離法で得られた値との間には、大きな差は見られず、膜を透過したアルブミンは、約90%以上濾過していることがわかった。

また同様にβグロブリンについても87~88%濾過率が安定して得られた。

さらにα₁,α₂およびγグロブリンの分画については前

のβグロブリンおよびアルブミンに比較して多少変動したが、これは、動脈側の濃度変動による効果が大い。しかし、3種類とも濾過された血漿中の濃度は一定の値を示し、たとえばγグロブリン分画は、実験開始から120分までは93~96%ときわめて高い濾過率を得ることができたこの結果を図3に示す。

これらの結果をまとめてA/G比の変動について調べた結果を図4に示す。このA/G比は、遠心分離法によって得られている結果に近い値を示した。これは、今まで膜による分離法が遠心分離法に比べて、グロブリンの除去が悪く一般にA/G比は大きい値となることがらとは異なった挙動を示した。

したがって、このA/G比で膜の濾過を評価するかわり、アルブミン、α₁, α₂, β, グロブリン程度の分子量では、特異性は認められず、他の血漿成分と共に濾過されることが判った。

次に、人工臓器のもう一つの重要なファクターである血漿濾過流量(Q_F)とTRPとの関係について図5に示す。

まずQ_Bを50 ml/min~125 ml/minまで変化させ、さら

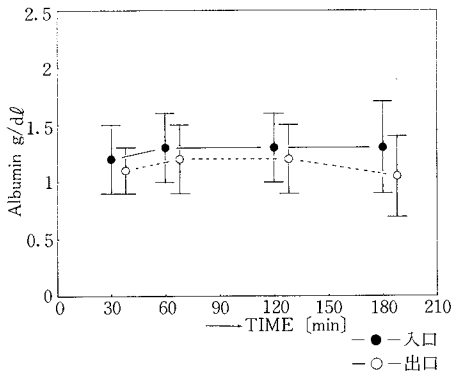


図2 モジュールの入口と出口での Albumin の濃度

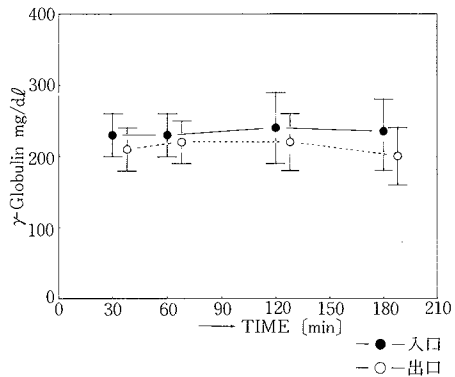


図3 モジュールの入口と出口での γグロブリンの濃度

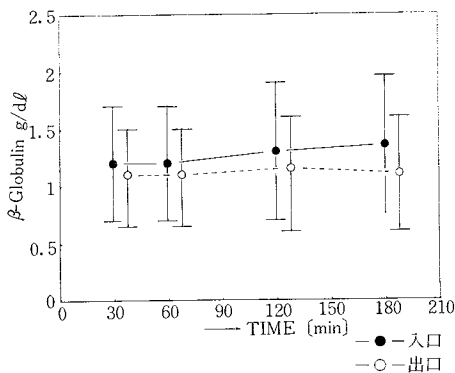


図2-2 モジュールの入口と出口での βグロブリンの濃度

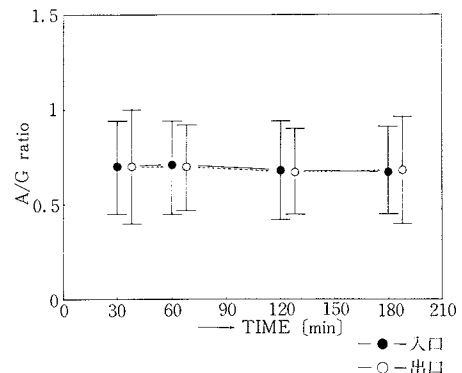


図4 A/G比の経時変化

研 究 速 報

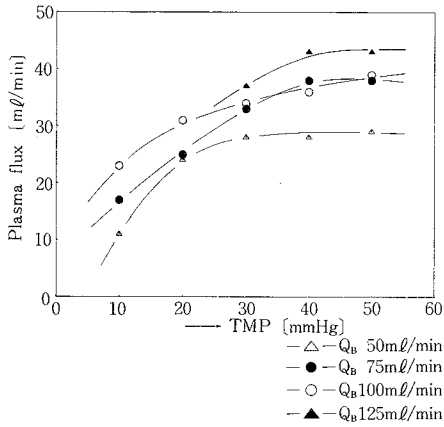


図 5 TMP と flux の関係

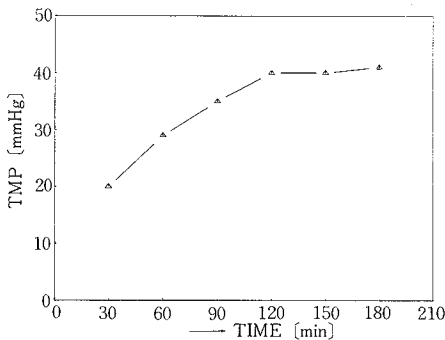


図 6 TMP と時間の関係

に各 Q_B 時における TMP を調整することによって得られた値を示したものである。ここでは Q_B の違いによって TMP の値は測定数が必ずしも同一でないで、おのおのの平均値でプロットした。

Q_B を 50 ml/min で流した場合には、TMP は 30 mmHg 以上で Q_F は 28 ml/min 以上のときに上昇曲線は一定の値を示した。

次に Q_B を 75 ml/min, 100 ml/min としたときには、TMP の低い範囲では、 Q_B が 100 ml/min の方が高い値を示し、TMP 30 mmHg の時点からは、両者の間に差は認められなかった。さらに TMP 40 mmHg では Q_F の上

昇は鈍り、 Q_B が 75 ml/min, 100 ml/min 共に Q_F は 3.9 ml/min で plateau になる傾向が見られた。

次いで、 Q_B を一定にして送血し、その間での TMP の上昇およびアルブミン、グロブリンの濾過率の変効について検討を行った結果を図 6 に示す。この時 Q_B を 100 ml/min に固定し、3 時間の灌流を行った。このときに TMP は開始 30 分後 20 mmHg から 120 分まで徐々に上昇したが、その後は 40 mmHg と安定した値を維持した。

また、その間のアルブミン、グロブリンの sieving-coefficient の影響は、アルブミンについては、実験開始後、120 分までは 0.99~1.01 であったのが、120 分以後では 0.95 に低下した。またグロブリンに関しては、3 時間の灌流中、0.98~1.00 の濾過率で、両者共に極端な低下はなく、比較的高い蛋白質の濾過機能を持つことが知られた。

血球成分については、ヘマトリット値の補正を加えて検討した結果、白血球、血小板ともに開始後 60 分くらいは低下したが、その後上昇し、3 時間後では血小板では、56%、白血球は 62% の回復をみた。しかし、これは他の高分子膜の挙動とよく似ている。

また、実験後膜面の観察を走査型の電顕で行ったところ少量の赤血球が pore に捕捉されていたが、血球破壊に至らず、溶血等は見られなかった。

考 察

血漿蛋白質分画から蛋白濾過能についての評価を行った結果、このポリプロピレン膜から作られたモジュールは、アルブミン、 α 、グロブリン分画で 90% 以上の濾過率を示し、この範囲で使用するかぎりきわめてよい性能を持つことが知られた。 α_2 グロブリン、 β グロブリンの分画の濾過率については、アルブミンに比較して少し低い値を示したが、これは α 、 β グロブリンの両分画において、分子量の大きさによる幅が広いためと思われる。しかし、IgG, A, M の存在する γ グロブリン分画において 95% 以上の分画率を持つことが知られたので、これからは、個々の血漿蛋白の濾過についても検討を行わなければならないと思われる。 (1983 年 5 月 12 日受理)