人工腎臓の性能評価およびその臨床への応用

酒 井 清 孝

早稲田大学理工学部応用化学科 〒160 東京都新宿区大久保 3-4-1

昭和54年12月8日 東京大学工学部にて講演

Evaluation of Artificial Kidney and Its Application to Clinical Dialysis Therapy Kiyotaka Sakai

Faculty of Science and Engineering, Waseda University, Sinjuku-ku, Tokyo 160

Hemodialysis was used as an initial artificial kidney in 1913 and since then this system has been prevailing remarkably for renal failure treatment. However, new systems, hemoperfusion and hemofiltration, have been developed along with accelerated scientific progress. These three systems are based on diffusion, adsorption and filtration, respectively.

In terms of the solute-separation mechanism, the idea to regard device and patient as one united system is required. Therefore, two approaches have been adopted in our laboratory for the determination of solute-removal efficiency. One is in-vivo estimation by gel chromatography and amino acid analysis. The other is by mathematical simulation on solute-transfer with body-fluid compartment model. The compartment model has been improved by the use of routine clinical data. When solute-transfer can be simulated accurately by the model, most comfortable therapy for each patient will be decided under computer program.

1. ま え が き

人工腎臓には、従来からの血液透析以外に、最近では、直接血液灌流、血液ろ過が出現しており、それぞれ、透析、吸着、ろ過といった物理化学的現象を医療に応用した血液浄化法であります。これらの血液浄化法を用いて、腎不全、あるいは、他のなんらかの原因で患者体内に蓄積した toxin を体外に除去している、いわゆる toxin の transport を行うのが人工腎臓の第一の仕事であります。人工腎臓ではさらに、water, acetate, bicarbonate, electrolyte などの transport も行っています。

血液透析では、血液と透析液が膜を介して接触しておりまして、両流体間の濃度差 ΔC を推進力として物質移動が起きます。この原理から、装置性能を表わすダイアリザンス D_B 、およびクリアランス C_L と、血液流量 Q_B 、透析液流量 Q_D 、透析膜面積 A などのあいだに関係式が導かれるのです。

一般に、濃度差 ΔC を推進力とする物質移動装置では、両流体の接触形式が、物質移動性能に影響を与えます。血液と透析液の接触形式は、コイル型ダイアライザーでは十字流、積層型および中空線維型ダイアライザーでは向流ですが、その他並流も考えられます。性能的には、向流、十字流、並流の順序で性能が低下しますが、たとえば、向流で操作するところを故意に性能を落として使いたければ、並流で操作することも可能なわけです。

人工腎臓を、実際に患者の治療に用いるときの *in vivo* での適正透析を考えていくには、人工腎臓と人体とをシステムとしてとらえていかなければなりません。

2. 液クロによる透析患者血清分析

透析患者血清中の M. M. の挙動をみるべく、以前より、高速ゲルクロマトグラフィーを用いた分析を試みてきましたが、M. M. が、単独ピークでは得られないため、正確な判断がしにくいという欠点があります。この M.

M. を含むピークは、BUN, クレアチニン, 尿酸と異なった除去率を示し、これら小分子量物質からみた除去性能よりも詳細なる検討を加えることが可能であります。そこで、今回、延べ 238 名の患者より得た透析前後の値の平均値と患者個々の値とを比較した透析指数なる値をもって、そのときの透析状態をみました。さらに、ピーク細分化の一手法として、アミノ酸分析を用い、M. M. のアミノ酸誘導体と思われるピークを得て、H. D., H. F. および H. D. F. の比較を試みました。

2.1 方法

血清は、生食にて倍希釈後、Amicon 社の CF-50 にて、1000 G 10 分間遠心し、その滲液 25 μ l をサンプルとしました。ゲルクロマトグラフィ固定相として東洋曹達の LS-170, 移動相には、リン酸 Buffer pH 6.40, 0.085 Mol/l を用い、40°C にて展開した。検出は、U. V. 254nm としました。透析患者の平均的なピーク値および臨床データ値は、外来患者のものを用いて得ました。透析状態をみる指標としての透析指数 (F_{HD}) は、式 (1)

$$F_{HD} = \frac{A_i}{\bar{A}_i} \times 100 \quad (1)$$

A_i : Peak area or clinical data of each patient

$\bar{A}_i$: Mean peak area or mean clinical data

としました。この平均値は、透析前後の F_{HD} を算出するために、透析前後に分けて決定しました。

アミノ酸分析の際の hemofiltration は、東レ B1-L を用いた Post Dilution 方式による 20l 置換、hemodialysis は CF-1500 を使用した Single Pass 方式、 $Q_D = 500\text{ml/min}$, また hemodiafiltration は RP-6 を用いた Rhodial 75 で、75l の閉鎖循環における 2l 置換としました。アミノ酸は、操作中に産出されると思われ、前後の血清における、必須アミノ酸濃度は、ほとんど変化が認められませんでした。そこで、hemofiltration の場合、約 20l の滲液をタンクにためて均一濃度にしました。hemodialysis は、透析液 30l ごとをタンクにため、均一攪拌後、その 100ml を採取、最終的にそれらを混合しました。hemodiafiltration は、75l の透析液と滲液とを混合攪拌後、採取しました。サンプルには、これら滲液、透析液と、除タンパク前血清を用いました。検出方法は、OPA を反応試薬とする蛍光反応方法 ($\lambda_{ex} = 340\text{nm}$, $\lambda_{em} = 455\text{nm}$) であります。

特異ピーク成分が何であるか確認していないので、定量的にとらえることはできません。そのため、操作前において、細胞内液と細胞外液の濃度が一定、総体液量は体重の 6 割で、比重が 1.0 であるという仮定のもとに除去率算出式を立てました (式 2)。

$$\text{Removal\%} = \frac{X_D \times D \times 100}{(2 \times X_B) \times (0.6 \times W) \times (1)} \quad (2)$$

ここで

D : All filtrate, all dialysate, or all filtrate and dialysate

W : Weight of patient

X_B : Peak area of deproteinized serum

X_D : Peak area of filtrate, of dialysate, or of filtrate and dialysate

臨床データは、Abbott 社の V. P. Bichromatic Analyzer により測定、データ処理は、North Star 社のマイクロコンピュータ Horizon (48 K メモリ, 540 K Diskette) を、また、面積計算には、島津 EI A を用いました。

2.2 結果

2.2.1 ゲルクロマトグラフィ

Fig. 1 に、LS-170 ゲルにおける分析のパターンを示

Fig. 1 Chromatograms on LS-170

しました。透析患者においては、全体的に高い面積値を提しますが、健康正常人においては、b および e ピークのみが認められました。この b ピークはクレアチニンを、また、e ピークは尿酸を多量に含むピークであります。尿素のピークは認められませんでした。M. M. は、Amicon 社の UM 05 膜を用いた結果、a ピークに含まれていることが判明しましたが、このピークは、小分子量物質も含んでいるために、透析による a ピークの減少率が、必ずしも M. M. の除去率を反映していません。

各条件における除去率をみると (Table 1), ピークからみた場合には、いずれにおいても有意なる差はないが、($P > 0.05$), BUN, クレアチニン, 尿酸においては、 $P < 0.019$ と有意なる差が認められました。ここで T_{QB} は、ダイアライザー内を通過した血液量で、血液量が、200ml/min, 5 時間透析ならば、 $T_{QB} = 60\text{l}$ となります。

Table 1 Removal ratio (%), T_{QB} and UFR

	N	a	b	c	d	e	BUN	Cr	U.A.	$T_{QB}(l)$	UFR (ml)
ALL	238	48.4	50.1	49.2	53.2	59.1	54.3	49.4	63.3	57.5	2868
MALE	159	48.7	49.2	49.3	53.8	58.3	52.7	48.0	61.9	57.9	2850
FEMALE	79	47.6	51.7	49.0	52.1	60.8	57.4	52.1	66.2	56.9	2905
$T_{QB}-39(l)$	7	43.5	47.4	43.5	56.4	53.5	55.7	48.8	62.1	34.1	2226
40-49	19	46.0	48.7	47.3	45.7	57.3	53.8	48.1	60.7	46.5	2556
50-59	63	49.2	50.4	52.3	57.9	60.6	54.9	48.7	63.4	55.2	2450
60-	149	48.4	50.2	48.3	52.1	59.0	54.0	50.0	63.6	61.1	3118
UFR-2(l)	44	49.5	49.4	52.3	54.8	59.6	53.6	48.4	63.0	53.8	1573
2-3	88	47.6	50.2	49.1	52.3	58.7	54.4	49.3	62.4	57.6	2481
3-4	83	47.0	50.0	46.6	51.2	58.9	54.3	50.2	65.0	58.6	3432
4-	23	53.6	51.0	52.2	59.2	60.0	54.9	49.1	62.3	60.8	4775

Table 2 Data of F_{HD} (n=238) $\bar{A}_i$

	Pre H.D. (Mean S.D.)	PostH.D. (Mean S.D.)
a ($\mu v\text{-sec}$)	17816 8490	9012 4698
b	26317 7926	13026 4268
c	9971 4824	5032 2572
d	3871 1862	1768 916
e	16295 5148	6576 2483
BUN (mg/dl)	75.4 15.45	34.3 8.43
Creat.	14.4 2.95	7.2 1.65
U.A.	8.6 2.15	3.1 0.94

Table 3 F_{HD} and disease

Disease	$F_{HD}(a) > 150^*$	$F_{HD}(a) < 150^{**}$
Anemia	6	7
Hypertension	2	1
Hypotension	2	4
Over hydration	2	1
Liver functional damage	3	0
Diabetes	1	2
Myocardial damage	1	1
Disequilibrium syndrome	1	0
Pruritus cutaneus	0	1
Other	4	3
Good condition	8	38

* F_{HD} of BUN, Cr, U.A. = 90~110** F_{HD} of BUN, Cr, U.A. < 110

また、このときの前後における各値をみますと、(Table 2)、クロマトグラムより得られるピーク面積値(a~e)が、

臨床データよりもかなり変動しています。すなわち、BUN、クレアチニン、尿酸は、あまり変動しませんが、そ

れ以外のクロマトグラムに現われている物質は、透析状態の影響を受けやすいことがうかがえます。そこで、84名の患者について透析指数を計算したところ、臨床データは、透析前後ともほぼ100近い値を示しますが、クロマトグラムより得られた各ピークは大きく異なりました。特に、臨床データによるが F_{HD} が安定していても、aピークによる F_{HD} が高い値を示す場合には、患者になんらかの異常が認められることが多いのです。Table 3に、臨床データの F_{HD} が、90以上110以下、かつ、aピークの F_{HD} が150を超えた患者、および臨床データの F_{HD} が100以下、aピークの F_{HD} が150以下の患者に分けたときの疾患等を示しました。肝炎であった患者のうち1名は、その後死亡しました。体重の多い患者、あるいは高齢者は、aピークの F_{HD} が150以上でも、良好なる状態にあるものがみられました。

2.2.2 アミノ酸分析

正常人血清と尿毒症患者血清との比較を行うと、尿毒症患者血清には、必須アミノ酸の他に、正常人血清中には認められない特異的なピークが現われました。これらのピークは、Tau 前および後、Lys 後、His 後に現われるもので、順次第1ピーク群、第2ピーク群、第3ピーク（単ピーク）および第4ピーク（単ピーク）としました。(Fig. 2) しかし、第2ピーク群は、微小なため、

Fig. 2 Chromatograms on Ion-X

ピーク面積値にかなり誤差が含まれている可能性が多いので除外し、残りのピークの特異的物質について、he-

modifiltration, hemodialysis および hemodiafiltration の比較を行いました。

UM 05 膜による低分子量物質を除去した除タンパク血清 (M. W. 約500~4,000) を分析したところ、第1ピーク群とはほぼ同溶出位置にピークが認められたことから、このピーク群には M. W. が存在するものと思われます。各方法による除去率を比較すると、第1ピーク群において、hemofiltration が他の2方法よりも除去率が高かったのです (Table 4)。このことから、M. M. の除去に関しては、hemofiltration が良いものと思われます。一方、第3ピークにおいては、これら3方法の間に差は認められませんでした。また、第4ピークに関しては、hemofiltration が、hemodialysis と比較して除去率が高いのですが、hemodiafiltration とは明確なる差は認め難いのです。ピーク間の除去率を方法別にみますと、hemofiltration では、他の2方法に比較して、ほぼ同一の除去率が得られました。このことから、hemofiltration は、分子量にあまり左右されず、物質の除去を行っていることがうかがえます。

2.3 考察

ゲルクロマトグラフィによる F_{HD} 値は、その時の患者の状態、あるいは透析状態を知る上でかなり有効であります。この値は、透析前後とも100を示した場合、平均的な透析がなされたというものであり、良好なる透析がなされたという意味ではありません。したがって理想的な値は100に近いものと解釈するべきでありましょう。 F_{HD} は、現在のところ、長期透析を受けている慢性腎不全患者に対して試みただけであります。急性腎不全患者あるいは透析導入期の患者に対しても、この F_{HD} 値は透析状態を知る一つの指標として活用することが可能と思われます。

アミノ酸分析により得られた、正常人に認められないピークは、ゲルクロマトグラフィ中のaピークに位置しており、ゲルクロマトグラフィよりもピークの細分化が可能でありました。特に、第1ピーク群は、除去率からみると明らかに M. M. と思われ、このピークに着目してダイアライザーの性能評価を行なうことも可能であります。しかし、このピーク群も単一ピークより成り立っているとは限らず、総合的な M. M. ピークとして把握することが望ましいのです。また、除去率の算出方法として、実際に除去されたアミノ酸量を体内に蓄積されていたと思われる量で割りましたが、正確なる体内蓄積量を知ることが不可能なため、得られた除去率は患者個人差を含んだものとなっています。さらに、体液の比重を

Table 4 Removal percentage (%)

Patient	Method	1st Peaks	3rd Peak	4th Peak
S.Y.	H.F.	52.18	52.96	52.05
	H.F.	65.01	87.68	52.24
K.T.	H.D.	35.21	68.33	39.54
	H.D.	38.70	66.50	40.18
J.M.	H.D.F.	17.84	53.48	41.30
	H.D.F.	30.48	70.52	61.25

1.0 としたため、真の除去率は全体的に増加あるいは減少することが予想されます。

3. 血液透析における uremic toxin の除去性能

人工腎臓を用いた血液透析の治療効果を定量的に評価するため、compartment モデルをはじめとする種々の数理的モデルが提出されています。これらのモデルの有効性は、患者個々の透析計画を設計できるだけでなく、新型 dialyzer の性能評価の判定や、薬物投与設計などにも応用できる点にあります。

しかし、透析治療において、compartment モデルを臨床へ応用している例は少なく、現行の透析計画は、患

者にとって必ずしも最適なものとは言えません。

そこで、compartment モデルを用いて simulation 解析を行い、透析指標の確立とその指針を検討しました。

3.1 理論

Bell, Dombeck らは、体液をいくつかの完全混合仮定の pool から成り立つとし、solute の移動機構を説明する compartment モデルを考案しました。

体液は、その形態上、細胞内液、組織間液、血液の 3 つの compartment に分類することが可能ですが、低分子量物質の場合、毛細血管壁や細胞壁の抵抗が比較的小さいことから、2-pool、または、1-pool モデルが適用されると考えられます。

各流動形式における 2-pool モデルの概略図を Fig. 3 に示します。2-pool モデルでは、solute は細胞内で生成し、細胞壁で抵抗を受け、細胞内外の濃度差を推進力として、拡散に依って細胞外へ移行し、次いで、透析により系外へ排泄されると仮定しております。

広義に、2-pool モデルを考えた場合、透析に依る溶質の移動が速かな部位と、比較的遅い部位とから成立し

Fig. 3 Compartment model**Table 5** Perturbation test

%	$T_D=1$	$T_D=5$
W	1~2	7
V/W	1~2	7
$V_C : V_B$	.8~.9	.3
V_D	10^{-3}	10^{-4}
K_C	.5~1	.1~.6
D_B or C_L	1~2	7
Q_D	.2	.7
X	1	5
Z	.2	.7
G	.1	.6
UF	.05	.1

10% Perturbation for C_B

ていると解釈することができます。

次に、このモデルに存在する parameter の透析曲線（経時的溶質濃度曲線）に及ぼす影響を調べました。Table 5 に、各 parameter に、 $\pm 10\%$ の perturbation を与えた時の透析開始 1 時間および 5 時間後における血液濃度 C_B に及ぼす変動を%で示しました。

これによると、 $W, V/W, C_L$ あるいは C_L の値は透析に大きく影響し、また、その度合も同程度であることから、透析効果を D_B/W あるいは C_L/W で検討すべきであることがわかります。一方、 G, UF, V_D, Q_D の影響はほとんどないことが理解でき、それゆえ後述の解析では G, UF の値を無視しました。また細胞壁における移動係数は、 $K_C = K_{BC} = K_{CB}$ と置いて整理しました。

3.2 解析

解析解を用いて臨床データの simulation 解析を行なえば、black box である生体における溶質の移動機構をある程度推測することができます。

臨床データは、慢性腎不全患者 30 名、透析例にして計 80 例に及びます。使用しました dialyzer は、MERA C-40, Travenol UF-II, CF 1500, Hospal RP-514, Gambro Optima, Asahi AM 10 の 6 機種で、BUN creatinine, uric acid について定量しました。透析中のサンプリング時間は、透析開始へ時間までは 15 分ごと、以後 1 時間ごとに計 9 点、血液および透析液濃度を測定しました。simulation は、こうして得られた臨床データの描く透析曲線に、先に求めた解析解を用いて、コンピュータにより、curve fitting を行ないます。この際、細胞壁クリアランス K_C について、次のような仮定をおきました。

今、細胞壁における solute permeability が、個体差や変動がないとすると、 K_C の値は、細胞壁の総表面積、すなわち、近似的に体重に比例すると考えられます。そ

こで、 K_C/W の値を、患者間で一定な溶質依存の parameter とし、 D_B あるいは C_L の値は、患者個々の透析により決定されるとしました。

Table 6 に、simulation 解析結果を示します。 K_C/W の値は、分子量の増加とともに減少しています。また BUN の値は、1.190 と大きく、ほぼ 1-pool とみなすことができます。

Simulation は、当初、細胞内外濃度比 X についても未知 parameter として扱いましたが、ほぼ 1 付近の値を取り、有意な溶質の蓄積は認められず、Dombeck の報告と異なる結果が得られました。

Table 6 には、透析終了時における血液濃度 C_B の臨床値と計算値との相対誤差も示しました。この結果は、ほぼ solute の分析精度に依存していると考えられます。

3.3 透析指標の確立

前述の解析手法では、透析効果として D_B あるいは C_L を求め、透析中について定量的評価を行いました。しかし、真の治療効果を測定する場合、患者の、長期にわたる uremic toxin の除去を考える必要があります。

Fig. 4 Maximum concentration in stable periods

Fig. 4 に示しましたように、ある患者に、dialyzer 操作条件 (Q_B, Q_D)、透析スケジュールを変えずに、一連の透析を継続した場合、ある安定な濃度レベルに達することが、モデルの解析解から容易に理解できます。今、この濃度レベルを“最大安定濃度 C_{SMAX} ”と定義し、透析指標として取り扱うことにしました。 C_{SMAX} の値は、体重 (W)、溶質生成速度 (G)、dialysance (D_B)、残存腎機能 (C_{LR}) の関数で、透析開始時濃度 (C_{B0}) に無関係であり、すなわち、患者と透析治療条件によって決定されます。

Table 6 Results of simulation

	BUN	Creat.	U.A.
X (—)	1.00	1.00	1.00 ₁
K_C/W (l/hr/Kg)	1.190	0.456	0.061
D_B/W (l/hr/Kg)	0.108	0.087	0.062
n=56	± 0.032	± 0.031	± 0.027
G (g/hr)	0.271	0.043	0.027
n=30	± 0.081	± 0.014	± 0.013
(C_B) cal. vs			
(C_B) cli. t=5	5.86	8.26	9.78
error (%)			

Table 7 Value of maximum stable concentration C_{SMAX}

Patient	W(kg)	BUN			Creatinine		
		D_B (ml/min)	G (g/hr)	C_{SMAX} (mg%)	D_B (ml/min)	G (g/hr)	C_{SMAX} (mg%)
K. S.	68.8	119.2	.271	65.8	92.8	.054	12.9
M. T.	62.6	121.9	.278	69.3	97.2	.043	17.8
I. K.	74.6	118.6	.368	85.9	92.0	.062	14.9
K. O.	61.8	121.4	.279	70.8	89.9	.048	8.2
K. S.	47.5	94.5	.191	67.3	79.0	.027	13.6
R. B.	43.4	86.6	.210	75.0	72.1	.032	14.7
F. Y.	57.4	101.6	.197	58.1	80.9	.043	15.2
H. S.	63.5	87.9	.349	109.6	81.2	.046	14.8

3.4 ノモグラムによる解析の簡易化

前述の simulation 解析法で治療効果を判定するためには、大量の血液サンプリングと大型計算機が必要となり、解析が非常に煩雑になってきます。そこで、ここでは、ノモグラムを用いて解析の簡易化を計りました。作成しましたノモグラムは次の2つに大別されます。

NOMOGRAM A……これは、透析開始時濃度 (C_{B0}) と、透析開始後 (t_D) 時間における濃度 (C_B) とか、 D_B あるいは C_L を求めるもので、一度 D_B あるいは C_L を決定すれば、次回からは経時的濃度変化も推算できます。

NOMOGRAM B……(A) で求めました D_B あるいは C_L と、推算しました G とから、透析指標である C_{SMAX} を求めるノモグラムです。

Fig. 5 に NOMOGRAM A, Fig. 6 に NOMOGRAM B を示しました。また、Table 7 に、実際の患者にノモグラムを使用した結果を示しました。各患者の透析治療効果を客観的に理解することができます。

なお、より正確な透析指標を確立するために、患者の

Fig. 5 Nomogram A (BUN, Single Pass)

Fig. 6 Nomogram B (BUN, Single Pass)

タンパクの摂取量と、その代謝速度を制御すべきことが望まれます。

4. 透析液濃度から血液濃度の推算

血液透析治療において、血液分析の代わりに、透析液

Fig. 7 RSP with UF (BUN, $t_1=120$ min)

Fig. 8 SP without UF
(BUN $t_1=120$ min)

Fig. 9 SP with UF
(BUN, $t_1=120$ min)

Fig. 10 Amount of solute removal (BUN)

の分析で代行できれば多くの利点があり、また透析中の患者血液を連続的にモニターすることも可能となります。ここでは、single pool model と AK (人工腎臓) とのシステムを考え、SP 方式 (積層型、ホローファイバー型)、RSP 方式 (コイル型) の別、限外濾過量の有無を、それぞれ考慮した場合について、透析液濃度から血液濃度を求めるための式を導き、臨床データへの適用結果を示したのが Fig. 7~10 です。

いずれも、治療の目安として満足できる結果を示していますが、RSP, SP とも UF を考慮した式を用いた方がより良い相関を示しています。

Fig. 10 は、血液濃度の推算結果を用いて算出した BUN の総除去量を、血液濃度の実測値から算出した値と比較した結果であります。図中の破線は、 $\pm 20\%$ の誤差範囲を示しています。この結果も満足できるものでありましょう。

しかし、ここに示しました方法による結果の良否は、透析液濃度の分析に依存するものと考えられます。透析液濃度は、特に SP の場合、血液濃度より低く、臨床検査の段階での誤差も大きくなりやすいのです。計算に必要な有効数字を確保するためには、分析精度の向上を図る必要があります。

総体液量をいかなる値とするかという点も問題となりましょう。ここでは、透析開始前の体重の65%という値を用いています。この値は、多数の患者の平均的な値という意味では、妥当な値ではありますが、患者個人個人によって多少異なる値を持っていると考えられます。体液量を、なんらかの方法によって定めることが望ましいのです。

Fig. 11, および Fig. 12 は、UF を考慮しない時の

Fig. 11 Nomogram for $C_{Bi}(0)$.

Fig. 12 Nomogram for $C_{Bi}(300)$.

single pass での $C_{Bi}(0)$ と $C_{Bi}(300)$ を推算する、ノモグラムであります。矢印の方向に定規で直線を引いていけば良いのです。

5. 汚過型人工腎臓の性能評価

最近、我が国でも注目を浴びている汚過型人工腎臓について、基礎的な研究およびその臨床への応用について検討を行うことは、これからの人工腎臓を考えていく上で社会的使命であると言っても過言ではありません。ここでは、人工腎臓の性能指標となるクリアランスの再検討、汚過型人工腎臓を考える上で問題となる sieving coefficient の正しい把握、透析型および汚過型人工腎臓の装置内濃度分布の化学工学的解析、それを応用した各装置の理論クリアランスの提出、および pool model との組み合わせによる理論計算結果と、*in vitro*, *in vivo* date との比較を行いました。

5.1 クリアランスの再検討

クリアランスという値は、体液がどれほど浄化されたかを示す性能指標であります。限外汚過を伴わない HD の場合は、拡散による効果のみで溶質が移動するため、従来のクリアランスの定義でそれほど支障はありません

Table 8 Clearance

Solute mg%	IN	OUT	C_L	C_L	$C_L \cdot C_{IN}$ $\frac{mg}{min}$
urea	C_w	100 40	C_{Lw}	96	96
			C_L	120	120
			C_{LS}	112.1	112
	C_B	95.25 51.42	C_{LB}	120	9.6
creat	C_w	10 4	C_{Lw}	96	9.6
			C_L	120	12.0
			C_{LS}	96	9.6
	C_B	9.20 3.68	C_{LB}	106.5	9.6
<hr/>					
	K_r	k_r	K_p	k_p	$Q_B=200ml/min$
urea	0.671	1	0	0	$UFR=0ml/min$
creat	0.505	0	0	0	$Q_0=500ml/min$

Ht=20 $\phi=6.5$ g/dl 0.0107

でした。しかし HF においては、対流による効果で、溶質は移動し、HDF においては、その両方の効果が同時に起こります。そのため、従来のクリアランスの定義では、装置の正しい評価にはなりません。また、血液中には、血球やプロテインも存在し、それらの中に存在または吸着されている溶質を考慮する必要があります。ゆえに生化学値であるプラズマウォーター濃度でクリアランスを計算する際に、これらの現象が問題となります。

$$\begin{aligned}
 & \text{mass balance} \\
 & (K_p \phi Q_{Bi} + K_r HQ_{Bi} + Q_{wi} - C_{LS}) C_{wi} \\
 & = K_p \phi Q_{Bi} C_{wi} - k_p (C_{wi} - C_{wo}) + (Q_{wi} - UF) C_{wi} \\
 & + K_r HQ_{Bi} (C_{wi} - k_r (C_{wi} - C_{wo})) \\
 & C_{LS} = \frac{C_{wi} - C_{wo}}{C_{wi}} Q_{so} + UF \dots \dots \dots (3) \\
 & Q_{so} = (1 - \phi - H + K_p k_p \phi + K_r k_r H) Q_{Bi} - UF \\
 & UF = 0 \\
 & C_L = \frac{C_{wi} - C_{wo}}{C_{wi}} Q_{Bi} \quad C_{Lw} = \frac{C_{wi} - C_{wo}}{C_{wi}} Q_{wi} \\
 & C_{LB} = \frac{C_{Bi} - C_{Bo}}{C_B} Q_{Bi} \quad Q_{wi} = (1 - \phi - H) Q_{Bi} \\
 & C_{LS} = \frac{C_{wi} - C_{wo}}{C_{wi}} Q_{Si} \\
 & Q_{Si} = (1 - \phi - H + K_p k_p \phi + K_r k_r H) Q_{Bi}
 \end{aligned}$$

Fig. 13 Solute clearance

そこで我々は、血液中に存在する全溶質の挙動に着目し、装置入口、出口の血液内に存在する溶質の物質収支を取りました。(Fig. 13). ここで、 K_r , K_p の値は、平衡時における血球、プロテイン中の溶質濃度と、プラズマウォーター中の溶質濃度との比、 K_r , K_p の値は、装置出口において、血球、プロテイン中の溶質が、プラズマウォーター内にどれほど移動したかを示した値で、移動速度が無限大だと K_r , K_p の値は1、移動速度が0だと K_r , K_p の値も0となります。さらに、Table 8で、このクリアランス (solute C_L : C_{LS} とします) と、従来のものと比較しました。クリアランスが装置性能評価の指標として用いられる以上、溶質除去量を正確に算出できなくてはなりません。そういう意味では C_{LB} が単純明解で、理解しやすいが、実際のところプラズマウォーター濃度を臨床値として使用している病院、施設が大部分であり、患者から血球を採るというのも問題があります。したがって、プラズマウォーター濃度をクリアランスの計算に使用する時は、 C_{LS} を用いるのが妥当でありましょう。

Table 9 Sieving Coefficient: creat *in vitro*

$$S_1 = \frac{C_F}{C_{w1}} \quad S_2 = \frac{C_F}{(C_{w1} + C_{wo})/2}$$

$$S_2 = \frac{C_F(z)}{C_w(z)} = 1 + \frac{\ln C_{wo}/C_{w1}}{\ln(1 - UF/Q_{si})}$$

No.	Q_{si}	UF	C_{w1}	C_{wo}	C_F	S_1	S_2	S_3
1	226.7	24.9	10.17	10.17	10.20	1.003	1.003	1.000
2	222.1	53.1	10.18	10.15	10.18	1.000	1.001	1.011
3	219.7	90.2	10.17	10.20	10.17	1.000	0.999	0.994
4	195.7	56.5	10.17	10.21	10.26	1.009	1.007	0.998
5	198.1	87.3	10.15	10.21	10.33	1.018	1.015	0.990
6	175.5	56.0	10.21	10.27	10.25	1.004	1.006	0.985
7	175.9	89.6	10.20	10.39	10.22	1.002	0.993	0.974
8	227.2	41.4	9.53	9.57	9.67	1.015	1.013	0.979
9	230.4	59.1	9.39	9.43	9.43	1.004	1.002	0.986
10	233.6	75.6	9.43	9.47	9.47	1.004	1.002	0.989
11	235.2	40.4	9.48	9.49	9.47	1.009	1.009	0.995
12	206.2	57.4	9.48	9.43	9.59	1.012	1.014	1.015
13	207.0	73.8	9.56	9.57	9.59	1.003	1.003	0.998
ave. $S_1=1.006$			$S_2=1.005$		$S_3=0.993$			

5.2 Sieving Coefficient : S の定義

クレアチニンの S の測定を *in vitro* で行うと、装置入口濃度より明らかに出口濃度が上昇するにもかかわらず、 S は 1 以上の値になってしまいます。この不可解な現象に疑問を抱き、 S の定義をもう一度検討してみました。Table 9 に示す、 S_1 , S_2 が従来のものでありますが、ここで新たな定義 S_3 を提示したいのです。これは、装置内各場所において、濃度比が一定であるとしたもので、実際の値を求める式は、5.3 で示す装置内濃度分布より逆算した式を使用しました。血流量を 180~220 ml/min, UF を 20~110 ml/min とし、RP-6 を用い、13 例のクレアチニンの S の測定の *in vitro* 実験を行った。(Table 9).

以上よりわかることは、 S_1 , S_2 では、1 以上になる溶質でも、実際は膜により阻止されている可能性もあり、正しい値は求められません。このことから、 S_3 の使用を推薦しますが、ただ $S_3 \neq f(z)$ の仮定を設定しており、これが今後の問題点となりましょう。

5.3 装置内濃度分布

血液濾過器、血液透析器の性能をより厳密に知るために、装置内濃度分布を知ることはきわめて重要であります。

まず、第一段階として、総括物質移動係数 K と、濾過量を有効膜面積で割った UF [ml/min · cm²] を、装

Fig. 14 Analysis of local conc.

置の各場所において一定と仮定したモデルを考えました。(Fig. 14). この関係式を用いると、装置内の濃度分布を知る事ができるばかりか、任意の装置を、任意の操作条件で用いた時に、その時のクリアランスも求められます。HDF の基本式に、 $UF=0$ を代入すれば、HD に

Fig. 15 C_{LS} vs UF Fig. 16 C_{LS} vs Q_{Bi}

も適用可能であります。操作条件を種々変化させることによって、装置性能すなわちクリアランスの変化を、HF, HDF, HD に対して、理論計算した結果が Fig. 15, Fig. 16 であります。モデル計算では、RP-6 を対象とし、溶質として BUN とイヌリンを取り上げました。

Fig. 15 は、 UF を変化させた時の装置性能の変化を示したものであります。HF の C_L は、BUN に関しても、イヌリンに関しても、 UF にかんがりの依存性のある

ことがわかります。次に、HDF を HD と HF の和であるという見方をした時、 $UF=0$ で HD のみ、 $UF \neq 0$ では HF の効果と言えます。BUN に関しては、 $UF=0$ の時の C_L を見てもわかるように、HD の効果が大きいので（全体の 8 割程度）、 UF を上げて HF に比べてその効果は小さいです。しかし、イヌリンでは、HD の効果が小さいので（全体の 4 割程度） UF を上げるとかなりの効果が出てきます。

理論計算からわかりましたことは、 $UF=70$ ml/min 程度で HF 治療を行うと、BUN では HD 治療に劣りますが、イヌリンなど、中分子量物質では C_L が倍以上にもなるということであります。さらに、HDF では小分子量物質は HD の効果、また、中分子量物質では HF の効果により、どの分子量の範囲であっても、他の 2 つの治療法より効果があります。

Fig. 16 は Q_B を変化させた時の装置性能の変化を示したものであります。BUN に関して、HD や HDF は Q_B の影響はありますが、HF ではまったくありません。ただし、 Q_B を変化させても、 UF を一定に保てると仮定しての結果であります。近い将来、さらに水抜けの良い膜が開発されれば、治療効果が落ちるという心配もなく、身体に無理のないように Q_B を落として HF を行うことも可能とならましよう。イヌリンに関しては物質移動係数が小さいので、HD や HDF でも、 Q_B は C_L にあまり影響しなくなります。ここにおいても、HF が Q_B のどの範囲でも HD よりイヌリンの除去効果が良くなっています。

Fig. 15, 16 を通じて、HDF の C_L が、HD と HF の C_L の和になっていません。これは、透析効果によって、装置内の濃度が出口へ行くほど落ち、 UF の効果がうすれてしまうことが原因であります。

5.4 臨床への応用

HF の *in vivo* data と理論値との比較検討を行いました。東レ B1 の 2 連と、RP-6 を使用しました。そして、治療 5 時間における BUN 濃度の経時変化を測定しました。一方、理論においては、フィルターの有効膜面積、有効長さ、ろ過量、血流量、置換液流量、患者の体重、 H_t 、プロテイン濃度、治療前の BUN 濃度を計算機に入れ、 $S=1.0$ とし、single pool model を仮定して計算しました。

体液にはいくつかの pool があり、厳密に考えれば、1 pool model や 2 pool model では問題はありますが、BUN に関しては、1 pool model でも十分良い結果を得ることがわかりました。(Fig. 17, 18, 19)

Fig. 17 BUN data and theoretical line

Fig. 18 BUN data and theoretical line

5.5 HDF の *in vitro* 実験

まず第1の HDF 実験として、通常臨床に用いられる程度の条件 ($Q_D=500\text{ml/min}$, 置換液量 6l 程度) の *in vitro* 実験および理論値を示しました。第2の HDF 実験として、通常の HD 相当の小分子物質の除去と、HF 効果による中分子物質の除去の2つの長所を同時に生かすという目的で、*in vitro* 実験を行いました。その結果、 $Q_D=250\text{ml/min}$, $UF=40\text{ml/min}$ (10l 置換) と通

Fig. 19 BUN data and theoretical line

常の半分の透析液および置換液でよいことが実験および理論計算により判明しました。第3の HDF 実験として、第2の目的に、さらに時間短縮の目的もつけ加えた場合、通常の操作、つまり、 $Q_D=500\text{ml/min}$, 置換液量 20l で1時間程度短縮可能なことが、*in vitro* 実験および理論計算で判明しました。(Fig. 20)

Fig. 20 HDF *in vitro*

6. 血漿タンパク質と血中溶質との結合

人工腎臓を用いた血液透析時の溶質除去性能に関して

はすでに多くの研究がなされていますが、生体内における種々の物質の分布や挙動は、非常に複雑で解明されていない点が多く、現在研究者の注目を集めています。すなわち、血漿タンパク質や赤血球等の高分子および有形成分には、多くの小分子量物質が結合していると言われており、これらの結合性が透析性能に及ぼす影響を検討することは重要であります。

本研究では、血漿 albumin と種々の溶質との結合率を測定し、その結合機構の解明、さらに溶質と albumin との結合～解離を考慮したモデルの解析を行い、若干の知見を得たので報告します。

6.1 理論

Albumin 等の血漿タンパク質が他の内因性物質や薬物（色素、脂肪酸イオン、抗生剤、睡眠剤、etc.）と結合するという現象は、以前から指摘されていましたが、透析によって除去されるのは、結合していない溶質（以下、遊離型）であり、結合機構が可逆的な場合には結合している溶質（以下、結合型）も遊離型として除去されるのです。そこで我々は、このような可逆的結合機構を物理的な吸着として捉え、次式に示すような物質の吸着解離平衡を提案しました。

ここで $m = n + \text{L}$

すなわち、albumin と除去対象溶質は常に結合～解離をくり返しながら平衡状態にあり、透析中、遊離型溶質 ($\text{L} \cdot \text{Solute}$) が体外に除去されることにより、平衡は右にずれると考えられます。

6.1.1 吸着式

すなわち、Albumin (P) と、溶質 (S) との結合に関して、次の前提条件を考えます。

- (ア) P と S との結合は、van der Waals 力、水素結合、疎水結合等によって生じ、その結合は可逆的であります。
- (イ) S と結合し得る各結合点は同じ親和性を有します。
- (ウ) 1つの結合点には、1つのSが結合し、各結合点の間には相互作用がないものとする。

以上の条件下で、次の吸着平衡式が成立していると考えます。

(4) 式において、吸着速度 v は、遊離型溶質濃度 C_f と、空席の結合点数 $(n-r) C_p$ の積に比例します。

$$v = k C_f (n-r) C_p \quad (5)$$

解離速度 v' は 吸着している結合点数 $r C_p$ に比例します。

$$v' = k' r C_p \quad (6)$$

平衡時には、 $v = v'$ であるから (5), (6) より次式を得ます。

$$r = n K C_f / (1 + K C_f) \quad (7)$$

ここで、 $K = k/k'$

(7) 式を変形しますと、

$$r/C_f = -K r + n K \quad (8)$$

よって、 r に対して r/C_f をプロットすれば、右下がりの直線が得られ外挿法により K, n が決定されます。

C_p : タンパク質濃度 (mol/l)

C_f : 遊離型溶質濃度 (mol/l)

K : 吸着平衡定数 (l/mol)

k : 吸着速度定数 (l/mol·hr)

k' : 解離速度定数 (1/hr)

n : タンパク質 1 分子当りの飽和結合点 (-)

r : タンパク質 1 分子当りに結合している溶質の分子数 (mol solu./mol prot.)

v : 吸着速度 (mol/l·hr)

v' : 解離速度 (mol/l·hr)

6.1.2 吸着～解離モデル

透析時における溶質の吸着解離の影響を定量的に評価する手段として、吸着～解離モデルを考案しました。

Fig. 21 Adsorption-desorption model

プロテイン

$$-\frac{dr}{dt} = -k' \{r - K C_f (n-r)\} \quad (9)$$

体液

$$V_2 \frac{dC_f}{dt} = k' \{r - K C_f (n-r)\} C_p V_1 + G - C_f C_L \quad (10)$$

6.2 実験方法

実験手法は、平衡時の遊離型溶質濃度を測定するため

に、直接濾過法と平衡透析法によりました。直接濾過法は、重力遠心法と、 N_2 Gas 圧による限外濾過法の2手法を用い、重力遠心の場合は Amicon 社製コーン型 FilterCF-50A ($C.S.5 \times 10^4$) および、CF-25 ($C.S.2.5 \times 10^4$) を濾過膜とし、1000G の重力場にて行いました。一方、

Fig. 22 Ultrafiltration by centrifugation

Fig. 23 Ultrafiltration by N_2 gas pressure

N_2 Gas 圧による限外濾過の場合は、Amicon 社製ダイアフローセル 52 型を用い、PM-10 ($C. S. 10^4$) の濾過膜にて行いました。

測定に用いました試料は urea, uric acid, creatinine, P.S.P., B.P.B., barbitol, phenobarbital, penicillin G potassium, salicylic acid の9種で、albumin は bovine serum albumin fraction V powder を用いました。溶媒は、リン酸〜クエン酸系buffer pH 7.4で、濃度測定は光電比色法 (日立 Model 100-10) および高速液クロ (ガスクロ工業 Model 500) にて行いました。

平衡透析法の装置はアクリル樹脂製のドラム回転式で、左右2槽の間に半透膜をパッキングする型式であります。

両槽の容積は、150.8 ml, 膜面積は 50.27cm² で、半透膜には Cuprophane (膜厚 13.5 μ) を使用しました。回転動力は、オリエンタルモーターPS425-201 (サーボ機構) を用いました。測定は、溶液にproteinを入れた場合と入れない場合について遊離溶質濃度の経時的变化

Fig. 24 Equilibrium Dialysis 法装置

を実測し、得られた濃度曲線から、protein への溶質結合率を求めました。

6.3 結果および考察

P.S.P. および Salicylic Acid (S. A.) に関する吸着

Fig. 25 Binding to bovine serum albumin (B.S.A.)

曲線を, Fig 25 に示しました. いずれも $r < 2$ の範囲では予想する直線が得られましたが, $r > 2$ では双曲線になっています. これは, 各吸着点の親和性が完全に一様ではないためであると考えられます. しかし実際問題として, 生体内においては, $r \ll 1$ の場合がほとんどでありますから, この範囲では (8) 式が成立しており, 直線近似によって K, n を決定しました.

次に各溶質の結合率(%)および吸着平衡定数 K (l/mol) を示しました. (Table 10).

Table 10 Binding To B.S.A.

Initial Conc.(mg%)		Binding(%)	Level	K (l/mol)
1	100	0		0
2	10	3-14		$2 \sim 9 \times 10^2$
3	10	0		0
4	3	97		3.96×10^4
5	7	96		1.97×10^4
6	40	5		1.5×10^3
7	50	18		5.0×10^3
8	67	34		1.0×10^3
9*	6.9	92		1.7×10^4

1 Urea	6 Barbital
2 Uric Acid	7 Phenobarbital
3 Creatinine	8 Penicillin G Potassium
4 P.S.P.	9 Salicylic Acid
5 B.P.B.	

Alb. Conc. 3g% pH 7.4 37°C
(* Room Temp.)

Table 11 Data for Calculation

V_1	2.5	l
V_2	32.5	l
K	123.08	l/g
k'	Parameter	1/hr
n	5.2×10^{-3}	—
G	0	g/hr
r_o	1.0881×10^{-3}	—
C_{ro}	2.15×10^{-3}	g/l
C_P	40	g/l
C_L	6	l/hr

urea, creat. には, 結合性が認められませんでした. また, uric acid に関しては, 3~14% (平均 8%) 程度の結合が認められましたが, この程度の値であれば透析性能に大きな影響はないでしょう.

P. S. P., B. P. B. 等の色素は, かなり大きな結合率を示しました. barbital 系の薬物 2 種は, 結合率, 平衡定数ともに開きがありますが, これは分子構造上の側鎖の違いによって分子間引力に差があるためと考えられます. また penicillin G, S. A. にも結合性が認められました.

Fig. 26, 27 は, 平衡透析法による P. S. P., および creat. の実験結果であります. 溶質の初期濃度はいずれも同じであります, P. S. P. のように結合性の高い物質は, 膜を介して反対側の槽への拡散速度が低下しています. (Fig. 26)

Fig. 26 Equilibrium dialysis method

Fig. 27 Equilibrium dialysis method

これは, 膜を介して反対側の槽への拡散速度が遊離型溶質濃度に依存しているためであり, creat. のように結

Fig. 28 Effect of k'

合性のない物質においては、純溶液、タンパク溶液ともに、ほぼ同一の拡散速度を示しています。(Fig. 27).

Fig. 28 は、血漿中における遊離型溶質濃度の変化を示したものでありますが、解離速度定数 k' によって除去率は非常に大きく変化します。一般に、タンパク質と溶質との結合解離は、すみやかに進行すると言われていますが、解離速度が透析による溶質除去速度に比較して遅い場合には、遊離型と結合型との間に非平衡状態が生じます。しかし、現在までのところ解離速度は実測されるに至っていません。

一方、Fig. 29 は、同じ条件での溶質の除去量を示し

Fig. 29 Effects of k'

ています。遊離型溶質の濃度レベルで見た場合には、 k' が小さい場合に除去率が著しく上昇しているように見えますが、除去量で見た場合には、さほど大きな変化はな

く、 k' が大きい場合に除去量が増大する傾向が見られます。結合率の高い物質の場合に、かなり多量の溶質(Fig. 28, 29 の場合 60.9%) がタンパク質と結合しており、タンパク質から遊離される結合型溶質の影響が大きいのです。

7. ま と め

血液浄化法の効果を物質移動の観点から評価するために、液体クロマトグラフィ、アミノ酸分析などを行って、*in vivo* での評価を行うと同時に、体液 pool モデルを用いまして、*in vivo* データのシミュレーション解析を行ってきました。人工腎臓を化学工学的に解析することにより、コンピュータを用いて体内の溶質移動の挙動をあらかじめ予測することが可能であります。これによって、至適治療条件を各患者に対して算出することもできます。このようなソフトウェアを充実させることができれば、血液透析だけでなく、直接血液灌流、血液ろ過、プラズマフェレーシスなどといった多様化した人工腎臓の性能を十分に引き出すことが可能となります。血液浄化法については、HF、HD の優劣について、現在論議されていますが、いずれは HF と HD の両者の長所と高いクリアランスを持つ HDF が、時間短縮の目的だけでなく、至適治療法として用いられることを期待します。

長時間ご清聴ありがとうございました。

中国からの便り

昨年10月末、膜学会事務局から中国上海の人からの私宛の手紙が回送されて来た。中を開けて驚いたのは、昨年9月10～11日に膜学会が主催した膜技術講習会「人工膜の性能評価法」の私の発表したもののテキストが欲しいとのことでした。驚いたのは、何故こんなに早く知れたのか、そして中国における膜についての関心があるということでした。不幸にして同講習会のテキストは事務局にも余分がなく、複写を送ると同時に4月に予定している特集号を送る約束をしました。同時に「膜」も何冊か送って上げたところ、2つの論文の複写を送って貰いました。1つは昨年10月発行の化学世界に載せた「超過濾の基理及应用」(Fundamental Principles and Applications of Ultrafiltration)と題する論文で、もつ一つは聚双酚 A-4,4'-双代二苯基砒树脂超過濾膜的研制(内容

からポリスルホン UF 膜の製造に関する研究)で、环境科学の一昨年の発表でした。

それらによりますと、中国では1970代初期から UF の研究が始まり、今では商品が出来上っているようです。

私達は仲々中国の科学技術の実状を知ることが出来ないのですが、一つの便りをきっかけにして、中国の研究者との交流が深まり、膜学会が日中の橋わたしに役買うと面白いと思い、敢て紹介しました。なお私と文通している人は

中華人民共和国、上海市宝庆路20号

上海市輕工業研究所

徐 協卿 工程師

という人ですから、関心ある方は直接ご連絡下さい。

(橋本光一)