原 著

順天堂医学 40 (2)
P. 183~188 (1994)

血漿交換療法におけるブラディキニンの変化

——血漿分離膜および抗凝固剤の影響——

Changes in bradykinin by membrane plasmapheresis

横 山 真 和* 津 田 裕 士*

MASAKAZU YOKOYAMA, M. D. HIROSHI TSUDA, M. D.

血漿交換療法 (PP) の副作用の中でよく起こる低血圧・ショック様症状の原因の一つにブラディキニン (BK) の関与が示唆されている。

われわれは RA 3 例・SLE 2 例について PP を行い、ポリエチレン (OP) とポリスルホン (PS・FS) 膜による BK の変化とともに、抗凝固剤としてヘパリン (HP) とメシル酸ナファモスタット (NM) の影響を調べた。その結果、HP 使用で15分間血液だけ循環させた時には、BK は PS・FS では著明に増加したが、OP では軽度であった。さらに血漿分離600 ml時では OP・PS・FS とともに BK の増加は軽度であった。また、分離血漿中の BK の変化は PS・FS で増加、OP で軽度増加であった。NM 使用時の BK は15分後、600 ml血漿分離後とも増加はみとめられなかった。膜分離法による PP は HP 使用時では、一次膜だけでも BK の増加が認められるが、NM では増加を認めなかった。

キーワード：血漿交換療法，ブラディキニン，メンブランフィルター，メシル酸ナファモスタット，抗凝固剤

Key words: plasmapheresis, bradykinin, membrane filter, nafamostat mesilate, anti-coagulant

緒 言

近年、血漿交換療法 (therapeutic plasmapheresis; PP) はその適応疾患が拡がるとともに、より安全で簡便な機器の開発により、広く行われるようになってきている。しかし、施行回数が増えるに従い、副作用の報告も増えている¹⁾。その中で多くみられるものに PP 施行中に起こる低血圧・ショック等があり、その原因は対外循環による循

環血液量の減少と考えられていた。しかし、近年このショックの原因の一つにブラディキニン (Bradykinin; BK) の関与を示唆する報告がある²⁾。そこで、われわれは PP 施行中の BK の変化について、各種血漿分離膜について検討するとともに、抗凝固剤の違いについても検討した。

対象および方法

1. PP を施行した患者は、当科入院中の慢性関節リウマチ患者3例・全身性エリテマトーデス患者2例とした (表-1)。併用薬には、BK の代謝に影響するアンギオテンシン変換酵素阻害剤の使用はなかった。

2. PP は、本邦で広く行われている膜分離による

* 順天堂大学医学部内科学教室膠原病内科学講座
Division of Rheumatology, Department of
Internal Medicine, Juntendo University School
of Medicine, Tokyo, Japan
〔Nov. 17, 1993 原稿受領〕 (Dec. 16, 1993 掲載決定)

表-1 対象患者

症例	年齢	性別	疾患名	投与薬剤
1. Y.K.	23歳	女性	SLE	ベタメタゾン アザチオプリン
2. S.H.	70歳	男性	SLE	プレドニゾン ニフェジピン
3. C.H.	56歳	女性	RA	プレドニゾン アザチオプリン D-ペニシラミン
4. Y.I.	53歳	女性	RA	プレドニゾン
5. K.O.	51歳	女性	RA	ベタメタゾン フロセミド

SLE：全身性エリテマトーデス RA：慢性関節リウマチ

表-2 抗凝固剤使用時の一次フィルターの種類

ヘパリン使用				メシル酸ナファモスタット使用			
症例	1	2	3	症例	1	2	3
Y.K.	FS	PS	OP	Y.K.	FS	PS	PS
S.H.	FS	PS	OP	S.H.	PS	FS	OP
C.H.	FS	PS	OP	C.H.	PS	FS	OP
Y.I.	FS	PS	OP	Y.I.	OP	OP	FS
K.O.	FS	PS	OP	K.O.	OP	PS	FS

FS：polysulfone-A
PS：polysulfone-B
OP：olefin

図-1 血漿交換療法の方法（単一膜法）

A, B, Cはそれぞれ採血点を示す

方法で行った（図-1）。すなわち、患者より連続的に採用された血液は抗凝固剤を加えられ、血漿分離膜に送られ膜通過後患者へ返す。今回の検討では、血流は毎分50mlで行い、血漿分離は血流の30%、すなわち毎分15mlで行った。

3. 血漿分離膜には、PP で一般に使われている三種類の膜を使用した。すなわちオレフィンによる膜（olefin；OP）、ポリスルフォンによる膜（polysulfone）で、後者は製造メーカーの異なる二種類 {polysulfone-A (FS)・polysulfone-B (PS)} について検討した。

4. 抗凝固剤には、対外循環に使用されているヘパリン（heparin；HP）とメシル酸ナファモスタット（nafamostat mesilate；NM）を使用した。

HP は開始時2000単位をワンショットで使用し、以後、1時間当たり1100単位使用した。一方、NM は一時間に40mg使用した。

患者への割り付けは、表-2のように行い、患者間での片寄りをないようにした。ただし、NM 使用時 Y. K 例では OP にて凝固してしまったので、PS を2回使用した。このため Y. I 例で OP を2回使用し、各膜の使用回数を各々5回づつとした。5. BK の測定（図-2）は、Ando ら³⁾の方法の変法にて radioimmunoassay (RIA) にて行った。検体については、全血は採血後直ちにインヒビター入りの専用容器に入れ、遠心分離し、その上清を凍結保存し測定した。PP により分離された血漿は、インヒビター入り専用容器に入れ凍結保存し、測定した。BK 測定のための採血は、まず抗凝固剤の影響のない脱血開始時に行った。次に初めの15分間は血漿分離を行わずに、血漿分離膜に血液を通し、血漿分離膜の前後で行った（図-1中のA、B）。分離血漿中のBKの測定は、一次フィルター内を洗浄した生食の混入が完全になくなる時（およそ450 ml）から、さらに10分後すなわち、血漿分離開始後600ml処理時（約40分後）に行い、同時に血漿分離膜前のBKも測定した（図-1中のA、C）。

結 果

1. PP 開始時のBK

抗凝固剤の影響のない、PP 開始時のBKは $11.9 \pm 8.5 \text{ pg/ml}$ （正常値 $9.0 \sim 21.0 \text{ pg/ml}$ ）であっ

図-2 血中ブラディキニンの測定法 (Andoらの変法³⁾)

た。

2. 血漿分離膜の内膜による BK の変化

抗凝固剤として HP を使用した場合 (表-3), 15分後では, 血漿分離膜前後の BK は OP では $31.9 \pm 17.6 \text{ pg/ml}$ から $41.1 \pm 13.5 \text{ pg/ml}$, PS では $26.4 \pm 7.5 \text{ pg/ml}$ から $366.9 \pm 357.8 \text{ pg/ml}$, FS では $30.7 \pm 12.6 \text{ pg/ml}$ から $1624 \pm 2033.8 \text{ pg/ml}$ へと増加していた。血漿処理600ml 時での血漿分離膜前後の BK は, OP では $55.3 \pm 4.6 \text{ pg/ml}$ から $46.2 \pm 13.4 \text{ pg/ml}$, PS では $22.5 \pm 3.9 \text{ pg/ml}$ から $31.4 \pm 6.6 \text{ pg/ml}$, FS では $13.9 \pm 1.9 \text{ pg/ml}$

表-3 ヘパリン使用時の一次膜の内膜による血漿ブラディキニン量の変化

一 次 膜		血漿ブラディキニン (pg/ml)	
		15 分後	分離血漿 600 ml 時
OP	前	31.9 ± 17.6	55.3 ± 4.6
	後	41.1 ± 13.5	46.2 ± 13.4
PS	前	26.4 ± 7.5	22.5 ± 3.9
	後	366.9 ± 357.8	31.4 ± 6.6
FS	前	30.7 ± 12.6	13.9 ± 1.9
	後	1624.0 ± 2033.8	24.2 ± 8.7

mean ± SD
OP : olefin
PS : polysulfone-B
FS : polysulfone-A

表-4 メシル酸ナフエモスタット使用時の一次膜の内膜による血漿ブラディキニン量の変化

一 次 膜		血漿ブラディキニン (pg/ml)	
		15 分後	分離血漿 600 ml 時
OP	前	17.7 ± 9.1	14.0 ± 1.8
	後	16.4 ± 6.1	14.8 ± 3.3
PS	前	15.2 ± 3.4	14.3 ± 3.5
	後	15.6 ± 4.1	12.1 ± 1.5
FS	前	14.5 ± 4.1	12.5 ± 3.3
	後	13.0 ± 3.2	11.9 ± 2.1

mean ± SD
OP : olefin
PS : polysulfone-B
FS : polysulfone-A

表-5 ヘパリン使用時の血漿分離600ml 時における分離血漿中ブラディキニン量の変化

一 次 膜		血漿ブラディキニン (pg/ml)
OP	前	55.3 ± 4.6
	分離血漿中	38.0 ± 11.7
PS	前	22.5 ± 3.9
	分離血漿中	30.5 ± 17.2
FS	前	13.9 ± 1.9
	分離血漿中	45.0 ± 23.1

mean ± SD
OP : olefin
PS : polysulfone-B
FS : polysulfone-A

から $24.2 \pm 8.7 \text{ pg/ml}$ であった。一方, NM を抗凝固剤として使用した場合 (表-4), 全ての膜において15分後, 血漿処理600ml 時でも膜の前後で増加は認めなかった。

3. 血漿分離による BK の変化

分離された血漿中 BK は, HP 使用時には (表-5), 血漿分離膜前と, 分離血漿中の BK は OP で

表-6 メシル酸ナファモスタット使用時の血漿分離600 ml 時における分離血漿中ブラディキニン量の変化

一 次 膜		血漿ブラディキニン (pg/ml)
OP	前	14.0±1.8
	分離血漿中	16.1±2.4
PS	前	14.3±3.5
	分離血漿中	13.1±2.3
FS	前	12.5±3.3
	分離血漿中	12.4±2.2

mean±SD
OP : olefin
PS : polysulfone-B
FS : polysulfone-A

は $55.3 \pm 4.6 \text{ pg/ml}$ から $38.0 \pm 11.7 \text{ pg/ml}$, PS では $22.5 \pm 3.9 \text{ pg/ml}$ から $30.5 \pm 17.2 \text{ pg/ml}$ へ, FS では $13.9 \pm 1.9 \text{ pg/ml}$ から $45.0 \pm 23.1 \text{ pg/ml}$ であった. NM を抗凝固剤として使用した場合 (表-6), OP・PS・FS とも BK の増加は認めなかった.

考 案

PP 施行中における各種の副作用の中で最もよくみられるものに, ショック・低血圧・アナフィラキシー様症状がある. これは体外環境施行による循環血液量の減少によると考えられていたが, その発症時期は体外循環開始直後とは限らず, 終了直前になってもみられることがあり, 種々の原因が考えられるが, 血液を処理することだけでも誘因になることや, 患者の個々の状態にも左右されると考えられる. その理由としては血漿アルブミンが希釈されることや γ -グロブリンの減少による膠質浸透圧の低下, それ等にとまっておこる水分の血管外移動による血液濃縮も考えられている⁴⁾. しかし, これらの原因が直接関与するとは考えにくい, すなわち, 体外循環量も少なく, アルブミン等のタンパク質の低下も認められない吸着法においてもみられるショックの原因は不明とされていた. Yamamoto ら⁵⁾は, これらの原因の一つに BK に関与を示唆し, LDL-アフェレシスにリガンドとして用いられているデキストラン硫酸は陰性荷電であり, これが BK の増加に関与している, と説明している.

BK は平滑筋を収縮させる作用をもち, 血圧低下・末梢血管の拡張・血管透過性の亢進などの作用をもっている. 臨床的には BK によってショック症状やアナフィラキシー様症状を呈することが知られている. BK は肺を一回通過すると約80%分解されるといわれている⁶⁾. これはアンギオテンシン変換酵素 (Angiotension converting enzyme; ACE) により行われる. また, BK はカリクレインにより高分子キニノーゲンから BK へ変わることが知られている. このカリクレインは活性化されたⅦ因子がプレカリクレインに作用し, 変換される. Ⅶ因子の活性化には血漿がガラスなどと接触する過程⁷⁾や陰性荷電の関与が原因の一つとなるとされている.

そこで, われわれは PP の血漿分離に使われる三種の膜について, BK がいかに変化するかについて検討するとともに, PP に用いられる二種類の抗凝固剤による BK の変化について検討した. われわれの結果では, HP 使用時には内膜に接触することで, 検討した全ての分離膜で BK の上昇することが認められたが OP では軽度であった. これは一つには, HP が陰性荷電を持っているためであり, さらに PS・FS のポリスルフォンや OP が, ともに合成高分子膜のために前述したような過程が活性化されて BK が生じたと考えられるが, 分子構造が異なるため, BK の産生に差が生じたと考えられる. しかし, さらに PP を続けて行い, 600ml血漿処理時点では15分後に増加の大きい, PS・FS を使用した群では増加の程度が低くなっている. さらに OP では, むしろ吸着されるのか低くなっている.

これは血漿中の物質が膜表面を安定化させるような作用により, 非刺激的となり BK の活性化が起きなくなったと考えられる (表-3). この点からみて, 臨床的に開始直後に起きるショック症状や, アレルギー症状の原因の一つに BK に起因するものもあり, 体外循環施行による循環血液量の減少だけによるものではないと考えられた. また, 分離血漿での BK の変化でも PS・FS 群が増加を認めた (表-5) が, 時間的に分離開始約40分

後であったため BK の増加が軽度になっていた可能性がある。

一方, NM を抗凝固剤に使った場合, 内膜だけによる変化および, 600ml 処理時分離血漿中も増加を認めなかった(表-4)(表-6)。これは NM が VII a 因子およびカリクレインの作用を抑えたため⁸⁾と考えられる。

PP のショックの原因の一つに関与している BK は本邦で広く行われている膜分離法に用いられる膜および, 抗凝固剤に HP を使うことによって増加が認められた。そのため, PP を行う患者へ ACE 阻害剤の投与は BK の分解を阻止し, BK を増加させるため禁忌である。またプロスタグランディンと PP との併用もまた BK の作用を増強させるため禁忌である。またプロスタグランディンと PP との併用もまた BK の作用を増強させる⁹⁾¹⁰⁾ため併用は避けるべきである。しかし, 抗凝固剤に NM を使うことで BK の増加は抑えることができた。BK に対する患者個々の感受性には差があり, 血中濃度とは比例しないと考えられるが, BK によるショック症状・アナフィラキシー様症状を呈する場合, NM の使用により防ぐことができることが示唆された。

結 語

1. 血漿交換療法施行中のショックの原因の一つとされているブラディキニン(BK)を血漿分離膜および抗凝固剤別に測定した。
2. 血漿分離膜では, 同じ合成高分子膜でありながらオレフィン素材にした膜が, ポリスルホン膜に比べ BK の増加が少なかった。
3. BK の増加を認めたポリスルホン膜においても, 開始55分後では BK の増加が減少していた。
4. 抗凝固剤についてはヘパリンでは BK は増加を認めたが, メシル酸ナファモスタット(NM)を使用すると BK の増加は認めなかった。
5. 血漿交換療法施行中, ショック症状やアナフィラキシー様症状を起こす患者に対し, BK の関与が考えられる場合, 血漿分離膜にはオレフィン膜

の使用が示唆され, 抗凝固剤では NM の使用が示唆された。

稿を終えるにあたり, ご指導・ご校閲を賜りました, 順天堂大学膠原病内科広瀬俊一教授, ならびに橋本博史助教授に深甚なる謝意を表します。また, 本研究を援助・協力して下さいました, 血漿交換療法室の各位に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 津田裕士: 副作用一般とその対策; プラスマフェレーシスマニュアル'93, 日本アフエリシス学会編, p.149~151, 中外医学社
- 2) Kojima, S. Harada-Shiba, M. Toyoya, Y. *et al.*: Changes in coagulation factors by passage through a dextran sulfate cellulose column during low density lipoprotein apheresis. *Int J Artif Organs*, **15**: 185~190, 1992
- 3) Ando, T. Shimanoto, K. Nakahashi, Y. *et al.*: Blood kinin measurement by sensitive kinin radioimmunoassay and its clinical application, Recent progress on kinins (ed, by Fritsch, H) p.222~226, Birkhausen Verlag, Basel, 1982
- 4) Hayashi, R. Yokoyama, S. Yamamura, T. *et al.*: Treatment of familial hypercholesterolemia with plasmapheresis using glass beads porbent. In: Therapeutic plasmapheresis (Ⅲ) (ed, by Oda, T) p.127~129, Schattauer Verlag, Berlin, 1983
- 5) Yamamoto, A. Kojima, S. Shiba-Harada, M. *et al.*: Assessment of the biocompatibility and long-term effect of LDL-apheresis by dextran Sulfate-cellulose column. *Artif Organs*. **16**: 177~181, 1992
- 6) Ferreira, S. H., & Vane, J. R.,: Half-lives of peptides and amines in the circulation. *Nature*, **215**: 1237~1240, 1967
- 7) Margolis, J: The interrelationship of coagulation of plasma and release of peptide. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, **104**: 133~145, 1963
- 8) 藤井節郎, 人見裕司: C₁Y, C₁エステラーゼ, トロニン, プラスミン, カリクレイン, 及びトッピンに

- 対する新合成阻害剤. 臨床化学, **10**: 248~252, 1981
- 9) Ikeda, K. Tanaka, K & Katori, M.: Potentiation of bradykinin-induced vascular permeability increase by prostaglandinE₂ and arachidonic acid in rabbit skin. Prostaglandin, **10**: 747~768, 1975
- 10) Vane, J. R.: Prostaglandins as mediators of inflammation. "Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research" Vol. 2. ed by Samnelson, B and Paoletti, R, p. 791~801 Raven Press, New York, 1976

Original Paper

Summary**Changes in bradykinin by membrane plasmapheresis**

Recently, there have been some reports that one of the causes of shock during plasmapheresis (PP) is bradykinin (BK). We examined BK during PP using membrane filters.

We treated five patients (rheumatoid arthritis: three patients, systemic lupus erythematosus: two patients) using single filtration PP and investigated the BK level at three points: pre-filter, post-filter, and in the filtrated plasma. We used three filters: polyethylene (OP), and two kinds of polysulfone filters (PS and FS). As an anticoagulant, we used heparin (HP) or nafamostat mesilate (NM). The initial dose of HP was 2000 units, and we used HP at 1100 units per hour during PP, while NM was used at 40 mg per hour during PP.

In the patients receiving HP, after 15 minutes, the BK level was increased slightly using OP, and was increased remarkably using PS or FS. After 600 ml of plasma filtration, the BK level was increased slightly using OP, PS, or FS. In the patients receiving NM, after 15 minutes and after 600 ml blood of circulation, the BK level was not increased.

We investigated the influence of anticoagulants on BK, which is suggested to be a cause of shock in PP. With HP, BK was increased remarkably post-filter. We considered that BK was activated by the filter when using HP, while BK was not activated by NM.

Key words: plasmapheresis, bradykinin, membrane filter, nafamostat mesilate, anti-coagulant

MASAKAZU YOKOYAMA, M. D. HIROSHI TSUDA, M. D.

*Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine,
Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan.*