吸着型人工腎臓の基礎的研究 (第 1 報) 吸着剤としての各種活性炭の性質の比較

高比良英雄, 寺戸国昭, 佐藤長保

エーザイ株式会社研究開発本部¹⁾

Development of an Artificial Kidney using Encapsulated Adsorbents. I. The Physicochemical Properties of Activated Charcoals from Different Origins as an Adsorbent

HIDEO TAKAHIRA, KUNIAKI TERATO and NAGAYASU SATO

Eisai Research Laboratories¹⁾

(Received April 12, 1978)

In order to develop an artificial kidney using encapsulated activated charcoal as the adsorbent, physicochemical properties of various kinds of charcoals prepared from different origins were examined.

A spherical granule charcoal (mean diameter of 0.53 ± 0.06 mm) from petroleum pitch, which has recently been developed by Kureha Chemical Co., Tokyo, was the most efficient in removing many kinds of solute, whose molecular weight is from 100 to 5000 daltons. Furthermore, the ash content and release of free particles by vibration were notably little compared to other charcoals of different origin, such as coconut, coal, coconut-coal and petroleum coke. By physicochemical tests on the petroleum pitch charcoal, it was proved to be satisfactorily safe for use as an adsorbent for an artificial kidney.

Keywords—artificial kidney; petroleum pitch charcoal; coconut charcoal; creatinine; uric acid; inulin

コロジオン膜で被覆したヤシガラ破碎炭を用いた吸着型人工腎臓が近年カナダの Chang²⁾ により考案され, その臨床価値も Chang³⁻⁵⁾ および Gazzard ら⁶⁾ により明らかにされている. この吸着型人工腎臓は従来の透析型人工腎臓に比べ, その膜厚が 1/100 以下であるため,^{3,7)} 従来の透析膜では十分な除去が困難であった中—高分子量の腎毒素⁸⁾ の除去が容易であり,^{7,9)} さらに血液透析時間を 2—3 時間に短縮できる^{3,7)} 利点を有している.

しかしながら, Chang らはヤシガラ破碎炭を吸着剤として用いているため, 炭塵の発生・流出を完全に防止することができず, 未だその実用化には至っていない. このため, 活性炭からの炭塵の流出を完全に防止し, しかも血液成分の非特異的な吸着を防ぐため, 活性炭の被覆化の方法およびその膜物質の検討が種々なされている.¹⁰⁻¹²⁾ しかし, 一般に活性炭の被覆化はその手法が繁雑であるばかりでなく, 形成される膜の不均一性, 被覆

- 1) Location: Koishikawa-4, Bunkyo-ku, Tokyo 112, Japan.
- 2) T.M.S. Chang, *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, **47**, 1043 (1969).
- 3) T.M.S. Chang, N. Malave, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **16**, 141 (1970).
- 4) T.M.S. Chang, A. Gonda, J.H. Dirks, N. Malave, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **17**, 246 (1970).
- 5) T.M.S. Chang, J.F. Coffey, C. Lister, E. Taroy, A. Stark, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **19**, 87 (1973).
- 6) B.G. Gazzard, B. Portmann, M.J. Weston, P.G. Langley, I.M. Murray-Lyon, E.H. Dunlop, H. Flax, P.J. Mellon, C.O. Record, M.B. Ward, P. Williams, *Lancet*, **1**, 1301 (1974).
- 7) T.M.S. Chang, *Pro. Eur. Dialysis Transpl. Assoc.*, **9**, 568 (1972).
- 8) N.K. Mann, B. Terlain, J. Paris, G. Werner, A. Sausse, J.L.F. Brentano, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **19**, 320 (1973).
- 9) T.M.S. Chang, M. Migchelsen, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **19**, 314 (1973).
- 10) J.D. Andrade, K. Kunitomo, R.V. Wagenen, B. Kastagir, D. Gough, W.J. Kolff, *Trans. Amer. Artif. Int. Organs*, **17**, 222 (1971).
- 11) 太田隆志, 吉島 博, 宇田光雄, 加藤哲臣, 吉田 智, 東間 紘, 阿岸鉄三, 太田和夫, 杉野 博, 杉原正泰, *人工臓器*, **3**, suppl., 26 (1974).
- 12) 末永松彦, 松井庸二, 中川成之輔, 越川昭三, 増沢英一, 中林宣男, 今井庸次, *人工臓器*, **2**, suppl., 13 (1973).

化による活性炭の吸着能力の低下、有機溶媒の残存、滅菌の困難さ、膜物質の溶解や剝離など、解決すべき多くの問題が残っている。

一方、活性炭の被覆化の研究に比べ、吸着型人工腎臓の基本となる活性炭そのものについての研究はあまりなされていない。我々は吸着型人工腎臓を実用化するためには、使用する活性炭が最も重要な因子であると考え、種々の活性炭につき、吸着能力、吸着特性、硬度（炭塵発生）、灰分含量、形などにつき検討を加えた。

その結果、最近クレハ化学により開発された石油ピッチを原料とし、熔融成形して得られるビーズ状粒状炭¹³⁾が、最も吸着型人工腎臓の吸着剤として適していることが明らかとなった。

実 験 の 部

活性炭 活性炭は、ヤシガラ破碎炭-A (12—32 mesh), 同-B (4—8 mesh), 石炭を原料とした粒状炭-C (12—32 mesh), 同-D (8—12 mesh), 石炭とヤシガラ炭を原料としたシリンドー状粒状炭-E (4—6 mesh), 同-F (8—12 mesh), 石油ピッチを原料としたコークス状粒状炭-G (8—12 mesh) およびビーズ状粒状炭-H (平均粒径 0.53 ± 0.06 mm, 約 30 mesh) を用いた。

その他の試薬 試薬特級または日本薬局方品をすべて用いた。

活性炭の前処理 活性炭の 5 倍容量の 1N HCl を加え、120 rpm で 3 時間振盪後、多量の蒸留水で洗浄し、酸可溶性成分の除去を行なった。ついで、0.5N NaOH で同様に処理し、アルカリ可溶性成分の除去を行なったのち、0.05N HCl を加え、pH を中性になるように調節しながら 2 時間振盪し、さらに pH の変動がなくなるまで十分に蒸留水で洗浄した。

酸・アルカリ処理した活性炭は、次に Chang²⁾ の方法に従い、流水中で炭塵の流出がほとんどみられなくなるまで十分に水洗したのち 80° で一昼夜通風乾燥した。

活性炭の灰分含量の測定 前処理活性炭約 g を正確に秤量し、ルツボ内で灰化後、その重量より灰分含量を求めた。

摩耗による炭塵発生量の比較 前処理活性炭 20 g を 300 ml の三角フラスコに入れ、0.22 μ ミリポアフィルターでろ過した蒸留水 100 ml を加え、減圧脱気したのち、120 rpm で 1 時間振盪し、その上清 20 ml をただちに 0.22 μ ミリポアフィルター (径 10 mm) でろ過し、フィルター上にろ取された炭塵量の多い順に +4—0 の 5 段階に分けた。

活性炭の吸着能の比較 各種の被吸着物質を 10 または 20 mg/dl となるように溶解した saline-phosphate buffer, pH 7.0, 100 ml に、あらかじめ少量の蒸留水中で減圧脱気しておいた前処理活性炭 1 または 2 g を加え、120 rpm で振盪し、30 分ごとに溶液中の被吸着物質の濃度を測定した。

活性炭の吸着速度の比較 容量の異なる 4 種のプラスチック製の円筒状チェンバー (Table I) に、あらかじめ減圧脱気したヤシガラ破碎炭-A または石油ピッチビーズ状粒状炭-H を充填し、蒸留水を満たしたものを用いた。これに被吸着物質を溶解した saline-phosphate buffer (pH 7.0), 4 l を定流量ポンプを用いて 250 ml/min の流速で灌流し、一定時間おきに灌流液中の被吸着物質濃度の減少を測定した。

同時に、活性炭による灌流液の内部抵抗を水銀マンノメーターにより測定した。

超音波処理による炭塵除去と走査電子顕微鏡による活性炭表面の観察 ビーズ状活性炭-H につき、上述した Chang の流水による炭塵の除去法以外に、超音波処理による方法を検討した。

酸およびアルカリ処理したビーズ状活性炭-H に対し、約 3 倍量の蒸留水を加え、これを solid-state 400 (超音波工業製) を用い、3 分間超音波処理を行なったのち、多量の蒸留水で洗浄する操作を 5 回くり返した。この活性炭を通風乾燥 (80°, 一昼夜) により十分乾燥したのち、その表面に常法により金蒸着をほどこし、走査電子顕微鏡 (日立 MSM-2 型) を用い、倍率 200—3000 倍で活性炭表面に付着している炭塵の有無および pore の状態を観察した。

TABLE I. Shunt Chambers used in Circulation Experiments as an Artificial Kidney

Chamber	Length × Diameter cm	Volume ml	Content of charcoal	
			Charcoal-A g	Charcoal-H g
A	7.0 × 5.0	140	55	66
B	16.5 × 5.0	320	120	130
C	16.5 × 6.0	470	180	—
D	16.5 × 7.0	640	250	—

13) 高橋良一, 和久正克, 上原庸夫, 天城康雄, Japan Patent, 4925117 (1974) および 5018879 (1975).

ビーズ状活性炭-H の溶出物試験 日本薬局方の“プラスチック溶出物試験”¹⁴⁾ および“人工心肺 ディスパーザブルセット基準”¹⁵⁾ に準じ、酸・アルカリ処理をしたビーズ状粒状炭-H の溶出物試験を行った。すなわち、活性炭 20 g を 200 ml の蒸留水に浸し、121°, 1 時間加熱後、その上清を東洋濾紙 No. 51 でろ過し、ろ液の pH、塩類および重金属類を測定した。なお、重金属の測定は原子吸光光度計（日立・パーキン 303 型）を用いて行った。

クレアチニンの定量 アルカリ性ピクリン酸法¹⁶⁾ により比色定量した。

尿酸の定量 リンタングステン酸法¹⁷⁾ により比色定量した。

尿素の定量 ジアセチルモノオキシムを用い比色法¹⁸⁾ により定量した。

ビタミン B₁₂ の定量 361 nm における吸光度により定量した。

イヌリンの定量 ジフェニルアミン法¹⁹⁾ により定量した。

色素類の定量 オレンジ 1 号は 477 nm、赤色 102 号は 508 nm における吸光度により比色定量した。

結 果

各種活性炭の灰分含量と摩耗度

それぞれの活性炭の灰分含量は Table II に示したごとく、石油系活性炭-G と H では 0.35—0.37% と一番低く、次いでヤシガラ炭-A と B: 0.64—0.93%, ヤシガラと石炭の混合炭-E と F: 1.29—7.95%, 石炭系炭-C と D: 3.82—21.3% の順に灰分含量は高く、活性炭の原料の違いにより灰分含量に大きな差がみとめられた。

また、これらの活性炭を蒸留水中で 120 rpm, 1 時間振盪後、摩耗により発生した炭塵をミリポアフィルター上にろ取し、その炭塵量を比較した。その結果、石油系ビーズ状活性炭-H は他の活性炭に比較して炭塵発生量は著明に低く、次いでその他の粒状炭 D—G であり、ヤシガラ破碎炭は最も炭塵量が多かった。

活性炭の吸着能の比較

灰分含量の著しく高い石炭系炭-Dを除いたその他の活性炭につき、その吸着能をクレアチニンとビタミン B₁₂ を用いて比較した。それぞれの活性炭 1 g につき、100 ml のクレアチニンおよびビタミン B₁₂ 溶液 (共に 10 mg/dl) をそれぞれ加え、その残存濃度を 2 時間にわたり測定した結果を Fig. 1-a および b に示した。

Fig. 1-a に示したごとく、クレアチニンの吸着は、石油系ビーズ状粒状炭-H, 次いでヤシガラ破碎炭-A の順に優れ、一方コークス状石油ピッチ炭-G, ヤシガラ・石炭混合炭-E および F は明らかにその吸着能力が劣っていた。

TABLE II. Comparison of Ash Content and Release of Charcoal Powder by Vibration, Among the Charcoals Prepared from Various Origins

Charcoal	Origin	Mesh	Form	Content of ash (%)	Release of free particles (grade)
A	Cocount	12—32	Ununiform	0.64	+++
B	Cocount	4—8	Ununiform	0.93	+++
C	Coal	12—32	Granule	3.82	+++
D	Coal	8—12	Granule	21.28	++
E	Coconut-coal	4—6	Granule	1.29	++
F	Cocount-coal	8—12	Granule	7.95	++
G	Petroleum coke	8—12	Granule	0.35	++
H	Petroleum pitch	20—40	Spherical-Granule	0.37	+

The pretreated charcoals (treated with acid and alkaline, followed by washing with tap water) were used in this experiment. Charcoal (20 g) suspended in 100 ml of distilled water was vibrated at 120 rpm for 1 hr and the supernatant (20 ml) was filtered through millipore filter (0.22 μ , ϕ =10 mm) to collect the free particles released from charcoal.

14) 日本薬局方, 第八改正第一部, 日本公定書協会, 広川, 1971, pp. 853—856.

15) 医療用機器基準解説, 薬事時報 1972, pp. 59—69.

16) J.H. Peters, *J. Biol. Chem.*, **146**, 179 (1942).

17) A. Kern, E. Stransky, *Biochem. Zeit.*, **290**, 419 (1937).

18) A.A. Ormsky, *J. Biol. Chem.*, **146**, 595 (1942).

19) H.W. Harrison, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **49**, 111 (1942).

Fig. 1. Adsorption Rate of Creatinine and Vitamin B₁₂ on Various Kinds of Charcoals in Batch Experiments

One gram of charcoal was added to 100 ml of creatinine or vitamin B₁₂ solution (10 mg/dl, pH 7.0), and vibrated at 120 rpm at room temperature.

The concentration of the solute in the supernatant was determined at 30 min intervals according to the method described in text.

○; coconut charcoal-A, ⊙; coconut charcoal-B,
△; coal charcoal-C □; coconut-coal charcoal-E,
■; coconut-coal charcoal-F, ●; petroleum charcoal-G,
●; petroleum charcoal-H.

Fig. 2. Adsorption Spectrum of Coconut Charcoal-A and Petroleum Pitch Charcoal-H

Various solutes with molecular weight of 60–5000 daltons were dissolved in phosphate-saline buffer, pH 7.0, to make the concentration of 20 mg/dl. Two gram of charcoal was added to 100 ml of the solution and vibrated at 120 rpm for 2 hr. And the concentration of each solute was determined at 0.5 and 2 hr.

○; coconut charcoal-A, ●; petroleum pitch charcoal-H
..... 0.5 hr, — 2 hr.

これに対し、分子量の大きいビタミン B₁₂ (MW. 1300) の吸着能は、Fig. 1-b に示したごとく、活性炭間に著しい差がみられ、石油系ビーズ状粒状炭-H が他の活性炭よりも明らかに優れていた。すなわち、石油系のコークス状粒状炭-G、ヤシガラ-石炭混合炭であるシリンダー状粒状炭-E および F ではほとんどビタミン B₁₂ は吸着されず、ヤシガラ破砕炭-A および B、および石炭系炭-C もビーズ状粒状炭-H の約 1/2 の吸着能を示すにすぎなかった。

Fig. 3. Comparison of the Adsorption Rate of Red 102 and Vitamine B₁₂ by Coconut Charcoal-A and Petroleum Pitch Charcoal-H in Circulation Experiments

(1) Coconut charcoal-A 55 g,
(2) Coconut charcoal-A 120 g,
(3) Coconut charcoal-A 180 g,
(4) Coconut charcoal-A 250 g,
(5) Petroleum pitch charcoal-H 66 g.

Four liter of the solution of Red 102 or VB₁₂ (20 mg/dl) was circulated into shunt chambers (see Table I) containing 55–250 g of charcoal at a flow rate of 250 ml/min.

ヤシガラ破砕炭は吸着型人工腎臓用にスクリーニングされた活性炭のなかで、最も吸着能が優れているといわれている。²⁾ そこで、上述の石油系ビーズ状粒状炭-H とヤシガラ破砕炭-A につき、その吸着特性を比較検討した。

その結果は Fig. 2 に示したごとく、分子量約 100 のクレアチニンから分子量約 5000 のイヌリンに至るまったく性質の異なる種々の物質をビーズ状粒状炭-H はよく吸着するのに対し、ヤシガラ破砕炭-A は、分子量約 1000 以下のクレアチニン、尿酸、オレンジ 1 号および赤色 102 号を前者と同様によく吸着するが、分子量 1300 のビタミン B₁₂ および分子量約 5000 のイヌリンの吸着能において明らかに劣っていた。

ヤシガラ破砕炭-A と石油系ビーズ状粒状炭-H の灌流実験による吸着能の比較

上述したごとく、石油系ビーズ状粒状炭-H は従来用いられてきたヤシガラ破砕炭に比し、その吸着能および吸着特性が人工腎臓の吸着剤として著しく優れていることが明らかとなった。そこで、血液灌流のモデル実験として、Table I に示した 4 種のプラスチックチャンパーに、ヤシガラ破砕

Fig. 4. Electron Microphotographs of Petroleum Pitch Charcoal-H ($\times 2000$)

a) Non-treated. b) Washed with tap water. c) Treated with sonification.

TABLE III. Physico-chemical Tests on Petroleum Pitch Charcoal-H According to the Method in Japan Pharmacopeia

Tests	Analytical results	Minimum values defined by J.P. on the plastic containers
Extracting medium	Clear without color	Same to the left column
pH	Δ pH from control < 1.0	Same to the left column
Foaming	Disappeared within 2 min	Same to the left column
Nonvolatile residue	< 1 mg	Same to the left column
KMnO ₄ consumption	< 1 ml	Same to the left column
Salts		
Cl ⁻	Less than the standard	Same to the left column
SO ₄ ²⁻	Less than the standard	Same to the left column
PO ₄ ²⁻	Less than the standard	Same to the left column
Heavy metals		
Pb	< 0.5 ppm ^{a)}	0.5 ppm ^{b)}
Cd	< 0.1 ppm ^{a)}	0.5 ppm ^{b)}
Hg	< 0.25 ppm ^{a)}	—
As	< 0.1 ppm ^{a)}	—
Zn	< 0.3 ppm ^{a)}	1.0 ppm ^{b)}

a) Determined by atomic absorption spectrophotometer.

b) Minimum value defined by J.P. on disposable artificial lung.

炭-A と石油系ビーズ状粒状炭-H を充填し、赤色 102 号とビタミン B₁₂ 溶液を灌流し、それぞれの吸着効率を比較した。

その結果は Fig. 3 に示したごとく、比較的活性炭に吸着されやすい赤色 102 号は、石油系ビーズ状粒状炭-H 66 g とヤシガラ炭-A 250 g とがほぼ同等の吸着能力を示した。しかし、ビタミン B₁₂ の吸着に関しては、石油系ビーズ状粒状炭-H は、少なくともヤシガラ破碎炭-A の 4 倍以上の吸着能力および吸着速度を有していることが明らかとなった。

なお、この時の両活性炭による灌流液の内部抵抗は、ヤシガラ破碎炭を充填したチェンバー A では 1.5 mmHg、B では 2.0 mmHg であり、ビーズ状粒状炭を充填したチェンバー A では 2.0 mmHg、B では 3.5 mmHg で、両

活性炭ともほとんど抵抗はみとめられなかった。

超音波処理による石油ピッチビーズ状粒状炭-H の炭塵除去

ビーズ状粒状炭-H の表面に付着している炭塵の状態を走査電子顕微鏡により観察した結果を Fig. 4-a, b, c に示した。Fig. 4-a は洗浄前、4-b は Chang の方法により水洗処理したもの、4-c は超音波処理を行なった活性炭表面のそれぞれの 2000 倍像である。

これらの写真より明らかなごとく、Chang²⁾ の流水による水洗処理では、表面に付着している炭塵はほぼ除去することができるが、pore 内の炭塵はほとんど除去されていない。これに対し、超音波処理をほどこしたものでは、pore 内の炭塵もほぼ完全に除去されており、超音波処理が炭塵除去に非常に優れた方法であることが明らかとなった。

石油ピッチビーズ状粒状炭-H の溶出物試験

石油ピッチビーズ状粒状炭-H が人工腎臓の吸着剤として使用され得るためには、当然、活性炭からの溶出物があってはならない。この目的のために溶出物試験をおこなった。その結果は Table III に示したごとく、日本薬局方の“プラスチック溶出物試験”¹⁵⁾ および“人工心肺ディスポーザブルセット基準”¹⁶⁾ と比較して、pH、塩類および重金属類はすべて基準値以下であり、人工腎臓の吸着剤として使用でき得るものであることが明らかとなった。

考 察

ヤシガラ破碎炭は、一般に他の活性炭に比し吸着能が優れており、重金属や灰分含量も低いため、血液中の代謝産物の吸着除去に適しており、Chang らはこれを吸着型人工腎臓の吸着剤として用いている。しかし、ヤシガラ破碎炭はその形状が不定で、しかも硬度が低いため、摩耗により炭塵が発生しやすい欠点を有しており、これを用いた吸着型人工腎臓の実用化は困難であると思われる。このヤシガラ炭の欠点をおぎなうため、活性炭の被覆化の方法や被膜物質の検討、たとえば、(1) ポリマーの希薄溶液に活性炭を加え、溶媒除去により被覆化する方法、³⁾ (2) 有機溶媒系での相分離により被覆化する方法、¹¹⁾ (3) 粉末活性炭をゼラチン等の結合剤で固定化し被覆する方法¹²⁾ などがなされているが、本質的な解決策は得られていない。

我々は工業的に生産可能な、すなわち実用可能な吸着型人工腎臓を開発するためには、まず用いる活性炭の選択が重要であると考え、種々の活性炭につきその性質を調べた。その結果、石油ピッチを溶融成形して得られるビーズ状粒状炭（クレハ化学）が、その吸着能、吸着特性、硬度、形状および含有夾雑物の全ての点で、現在入手しうる活性炭の中で最も優れていることが明らかとなった。すなわち石油ピッチ粒状炭は、硬度が他の活性炭よりはるかに優れている¹³⁾ ばかりでなく、完全な球形を呈しているため、摩耗による炭塵発生量はヤシガラ破碎炭より著しく少ない。さらにその吸着能においては、クレアチニンに関しては、ヤシガラ破碎炭の 4 倍、中一高分子量物質ではそれ以上であった。

以上のことから、ヤシガラ破碎炭に代り、この石油ピッチ粒状炭を用いることにより、(1) 活性炭の被覆化の方法が従来の複雑な方法に代り種々選択できること、(2) ヤシガラ破碎炭と同等の吸着能を有する人工腎臓を作るにはその 1/4 量の活性炭量ですむこと、(3) 使用活性炭量が少なくなることにより人工腎臓を小型化することができ、それにより体外循環血流量を小さくできること、(4) 中一高分子量の腎毒素の吸着除去効率をより高めることができること等々の大きな利点が期待できる。

しかし、吸着型人工腎臓においては、血球や血液成分の非特異的な活性炭への吸着を防止し、さらには血流中への炭塵の遊出を完全に防ぐため活性炭の被覆化が必要であり、この被膜物質の性質により、活性炭の吸着能、吸着特性および摩耗による炭塵発生量は大きく影響される。

第 2 報においては、この石油ピッチ粒状炭の被覆化および被覆化活性炭の吸着能、吸着特性さらに摩耗による炭塵発生数について述べる予定である。

謝辞 本研究遂行に当り、御指導下さいました元エーザイ K.K. 製剤薬理官尾興平および末永栄一両博士に深謝致します。また、活性炭の溶出試験に関し御助言いただいたエーザイ K.K. 分析研究所大前雅彦博士および田部井智三氏に感謝致します。

また、本研究の遂行ならびに発表の機会を与えて下さいましたエーザイ K.K. 山岸敦取締役はじめ研究開発本部の方々に感謝致します。