

## Continuous hemofiltration model using porcine blood for comparing filter life

\*<sup>1</sup>北里大学大学院医療系研究科, \*<sup>2</sup>北里大学医療衛生学部医療工学科臨床工学専攻,

\*<sup>3</sup>東京工科大学医療保健学部臨床工学科, \*<sup>4</sup>埼玉医科大学保健医療学部臨床工学科

栗原 佳孝\*<sup>1</sup>, 植木 駿一\*<sup>1</sup>, 小久保 謙一\*<sup>1,2</sup>, 小林 裕太\*<sup>1</sup>, 海老根 智代\*<sup>1</sup>,  
村上 佳弥\*<sup>1</sup>, 後田 洋輔\*<sup>3</sup>, 丸山 直子\*<sup>1,4</sup>, 塚尾 浩\*<sup>1,2</sup>, 小林 こず恵\*<sup>1,2</sup>,  
小林 弘祐\*<sup>1,2</sup>

Yoshitaka KURIHARA, Shunichi UEKI, Kenichi KOKUBO, Yuta KOBAYASHI, Tomoyo EBINE,  
Kaya MURAKAMI, Yosuke USHIRODA, Naoko MARUYAMA, Hiroshi TSUKAO,  
Kozue KOBAYASHI, Hirosuke KOBAYASHI



### 1. 背景・独創性

臨床におけるフィルタライフタイムは、治療開始時の患者の病態や治療条件などの要因により影響を受けるため、基礎性能としてのフィルタライフタイムを評価することは難しい。動物血液を使用して、基礎性能としてのフィルタライフタイムを評価することができるモデルがあれば、開発中のフィルタや操作条件の違いなどを評価可能であるが、フィルタライフタイムを評価する動物血液を使用したモデルは確立されていない。

実際に臨床で使用されているフィルタをそのまま評価することを考えると、数lの血液を使用する必要がある。そのため、食肉市場より供給される(市販されている)ブタもしくはウシの血液が使用しやすい。維持透析用の透析器の溶質除去性能の評価にはウシ血液が一般に使われているが、現在、ウシ血液は新鮮なものが手に入らないため、フィルタライフを評価するのは難しい。したがって、ブタ血液が候補となるが、食肉市場から供給される血液は、採取や移動の過程で、血液成分の凝固や活性化が亢進している可能性があり、フィルタライフを評価する実験系の確立にあ

たっては、その性質を確認する必要がある。

また、臨床における急性血液浄化では、抗凝固薬としてナファモスタットメシル酸塩が使用されているが、長時間 *in vitro* 実験モデルでは、血液は実験中、体内に戻ることはなく、常に異物と接触している状態となる。そのため、異なるタイプの抗凝固薬の併用が必要になると考えたが、その適切な使用量はわかっていない。

### 2. 目的

本研究では、長時間 *in vitro* 実験モデルを構築することを目的とし、食肉市場より供給され使用するブタ血液の性質を確認すること、continuous hemofiltration (CHF) 模擬実験において、抗凝固薬としてナファモスタットメシル酸塩に加え、クエン酸三ナトリウムを使用したときのクエン酸三ナトリウムの適正な濃度を明らかにすることを目的とした。

### 3. 方法

購入したブタ血液(購入血液)と麻酔下のブタより採血したブタ新鮮血液(新鮮血液)について、アンチトロンビンⅢ活性(ATⅢ活性)、Dダイマー、トロンビン-アンチトロンビン複合体(TAT)、組織プラスミノゲンアクチベータとプラスミノゲンアクチベータインヒビター1の複合体(total PAI-1)を比較した。

次に、購入血液を使用し、CHFを模擬した長時間 *in vitro* 実験を施行した。購入血液をソフトバッグに入れ、37度に加温、浸透させながら実験を行った。ヘモフィルタは東レ・

本受賞レポートの対象論文はJ Artif Organ誌に掲載されています。Kurihara Y, Ueki S, Kokubo K, et al. J Artif Organs 21: 332-9, 2018

#### ■ 著者連絡先

北里大学大学院医療系研究科  
(〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里1-15-1)  
E-mail. dm13016a@st.kitasato-u.ac.jp

表1 フィルタライフタイム

クエン酸三ナトリウム濃度 [mM]	6	7	8	10
TMPが200 mmHgに達した時間 [hr]	10.4 ± 6.0	16.5 ± 7.4	26.1 ± 9.1 <sup>**,+</sup>	42.9 ± 8.5 <sup>**,,,#</sup>
AV差圧が200 mmHgに達した時間 [hr]	10.6 ± 6.1	18.0 ± 7.6	28.1 ± 9.0 <sup>**,+</sup>	44.4 ± 8.9 <sup>**,,,#</sup>
dTMP/dtが15 mmHg/hr以上上昇した時間 [hr]	9.5 ± 5.7	14.7 ± 7.3	25.3 ± 9.0 <sup>**,,+</sup>	42.0 ± 9.3 <sup>**,,,#</sup>
dAV差圧/dtが15 mmHg/hr以上上昇した時間 [hr]	10.0 ± 6.0	15.8 ± 7.6	26.8 ± 9.2 <sup>**,,+</sup>	44.3 ± 9.0 <sup>**,,,#</sup>

Tukey検定

\*\*  $P < 0.01$  vs. 6mM, +  $P < 0.05$  vs. 7 mM, ++  $P < 0.01$  vs. 7 mM, ##  $P < 0.01$  vs. 8 mM

メディカル社製のヘモフィールCH-1.0N(ポリメチルメタクリレート), 補充液には扶桑薬品工業社製のサブラッドを使用した。血液流量は100 ml/min, 補液・濾液流量は10 ml/minとした。ナファモスタットメシル酸塩は, 初回ボーラス20 mg, 持続20 mg/hrで投与した。補充液に抗凝固薬としてクエン酸三ナトリウムを追加で添加し, その濃度を6, 7, 8, 10 mMと変化させて実験を行った。評価項目は, ヘマトクリットの経時変化, 圧力の経時変化, フィルタライフタイム(膜の細孔の目詰まりとして評価した膜間圧力差(TMP)と, 中空糸自体の詰まりとして評価した入口圧と出口圧の差(AV差圧)が200 mmHgに達した時間, TMPやAV差圧の1時間当たりの変化値(dTMP/dt, dAV差圧/dt)が15 mmHg/hr以上上昇した時間)とした。

#### 4. 結果

購入血液と新鮮血液を比較したところ, ATⅢ活性, TAT, total PAI-1では, 購入血液が新鮮血液に比べ値のばらつきが大きくなっていった。また, ATⅢ活性は新鮮血液に比べ購入血液には有意差はないものの若干低値を示した。Dダイマーには, 有意差はなかった。TATは新鮮血液に比べ購入血液が有意に高値を示した。Total PAI-1は新鮮血液に比べ購入血液には有意差はないものの若干高値を示した。

補液と濾液のバランスを確認するために評価した実験中ヘマトクリットは, 急激な変化がなかった。TMPやAV差圧, dTMP/dtとdAV差圧/dtは循環開始から安定した圧力を数時間維持し, その後ほぼすべての結果で急激に上昇し, クエン酸三ナトリウム濃度が高くなればなるほど, 圧力が上昇するまでの時間が長くなった。フィルタライフタイムは, すべての条件において, クエン酸三ナトリウムの濃度が高いほど延長した(表1)。また, 7 mMと8 mMのTMPから評価したフィルタライフタイムは, AV差圧から評価したフィルタライフタイムに比べ有意に短かった。

#### 5. 考察

購入血液は新鮮血液に比べ凝固系が活性化している血液があり, 購入血液のほうが新鮮血液よりばらつきも多く

あった。これは, 採取時の刺激や運搬中の刺激などにより, 凝固系マーカーが活性化している血液があることを示していると考えた。すなわち, 血液の凝固性については, ある程度の幅を持った血液となっていると考えられる。したがって, 購入血液を使用し基礎性能としてのフィルタライフタイムを評価する場合, プタ1頭から採取した血液を分けて, 同時に異なるフィルタや操作条件で実験する, もしくは, 実験開始時に凝固・線溶系マーカーを測定し, 凝固・線溶系が大きく亢進している血液は除外して, 血液の性状をそろえて実験することが必要と考えられた。

クエン酸三ナトリウムの濃度が6 mMの場合, 血液バッグやチャンバなど, フィルタ以外の場所で凝固が起こったため, 血液凝固が起きやすい血液となっていた。一方, 10 mMではフィルタライフタイムが48時間を超えており, 溶血などが起こり始めた。これより, 6 mMと10 mMはフィルタライフタイムを評価するには不適切な条件と考えられた。7 mMもしくは8 mMの場合, 臨床で報告されているフィルタライフタイムとも近い時間であり, フィルタ自体のフィルタライフタイムを評価するモデルとして適していると考えられた。また, TMPから評価したフィルタライフタイムが, AV差圧から評価したフィルタライフタイムに比べ有意に短かったことから, 本モデルは, まずフィルタ内の中空糸の細孔の目詰まりが起こり, その後, 中空糸自体が詰まるモデルであると考えられた。

#### 6. まとめ

購入したブタ血液を使用し, クエン酸三ナトリウムを7 mMもしくは8 mMで添加することで, 一定条件下でフィルタライフタイムを評価可能な *in vitro* モデルを構築できた。

#### 利益相反の開示

小久保謙一, 小林こず恵, 小林弘祐: 東レ・メディカル株式会社(研究費・寄附金)

その他の著者には規定されたCOIはない。