

## 1. 本邦での軌跡

### 3) 血液浄化器 — 生体適合性の軌跡

北里大学医療衛生学部

小久保 謙一

Kenichi KOKUBO



#### 1. はじめに

血液透析治療では、その臨床応用が始まって以来、長い間セルロース系の膜が主流であった。セルロース系素材の膜は、工業的には1920年代ごろから安定的に生産されるようになり、それらは尿素やクレアチニンといった小分子量物質を十分に除去できるものであったため、血液透析膜としても使用されていた。再生セルロース膜において、その膜素材に起因する補体活性化や一過性の白血球の減少についての機序が明らかにされ、生体適合性に優れた新しい膜の開発が望まれるようになっていた<sup>1)</sup>。また、1971年にBabbらにより中分子仮説が発表され<sup>2)</sup>、1985年には、分子量11,800の $\beta_2$ -ミクログロブリンが透析アミロイド症の原因物質として同定され<sup>3)</sup>、中・高分子量の物質を積極的に除去することができる膜の開発が必要と考えられるようになった。

1970年代後半にはポリアクリロニトリル(PAN)、ポリメチルメタクリレート(PMMA)といった合成高分子を素材とする透析膜が開発され、1980年代に入ると、ポリスルホン(PS)とそれに類似した構造の合成高分子も透析膜素材として開発された<sup>4)</sup>。また、セルロース素材の膜では、補体活性化の原因となっている水酸基(OH基)を酢酸化(アセチル化)することで、OH基をなくしたセルローストリアセテート(CTA)膜が開発された<sup>5)</sup>。さらに現在では、 $\beta_2$ -ミクログロブリン以外にも、分子量10,000~30,000程度のタンパク質やサイトカインも尿毒症物質として指摘されるようになり<sup>6)</sup>、それらの物質を除去するために、透析

膜の大孔径化がさらに進んでいる。

透析治療中に生体内で起こる反応にはさまざまなものがある。材料との接触が原因となっている反応、溶質除去による反応、透析液の組成・透析液の汚染が原因となっている反応などである<sup>1)</sup>。それらは、相互に影響を与えとともに、血液の流れや血液の濾過量や透析液の流入量によっても変化する。このように透析治療においては、さまざまな因子が透析治療中の生体反応に影響を与えている。

本稿では、透析膜の生体適合性について、特に材料との接触が原因となっている生体反応を中心に、その軌跡を振り返ってみたい。血液透析治療において、透析膜は最も血液との接触が多くなる場所であり、そのためさまざまな生体反応が起こる場となる。そこで、まず透析膜と血液が接触したときに起こる生体反応、透析膜の生体適合性について述べる。最近では、膜素材に加えて、膜の表面性状(ビタミンEによる修飾や使用される親水化剤の量や種類)なども生体反応に影響を与える因子として注目されており、近年の膜開発は、そこに視点が置かれていることも多い。それらについても簡単に述べたい。

#### 2. 透析膜と血液が接触したときの生体反応

透析膜の生体適合性については、現在までにさまざまな報告がある<sup>1)</sup>。古くは再生セルロース素材の透析膜が主流だったこともあり、再生セルロース素材の膜を使用したときに起こる白血球の末梢血からの一過性の減少や、補体第二経路(alternative pathway)を起点とした生体反応についての機序が検討され、補体活性化はセルロースにあるOH基と補体との接触により起こることが明らかとなった<sup>1)</sup>。そこで、OH基を酢酸により修飾したCTAが開発され<sup>5)</sup>、さらに、いくつかの合成高分子素材の膜が開発されている。例えば、PMMA、エチレンビニルアルコール共重合体

#### ■ 著者連絡先

北里大学医療衛生学部

(〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里1-15-1)

E-mail. kokubo@kitasato-u.ac.jp

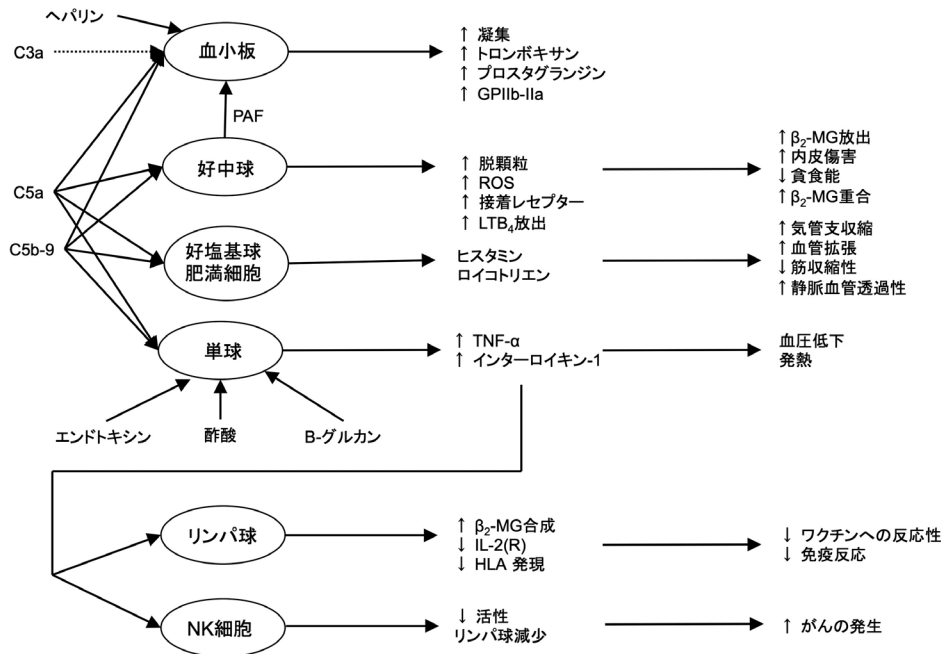


図1 補体活性化などを起因とする血球の反応 (文献1の図を基に作成)

GP, glycoprotein; HLA, human leukocyte antigen; IL, interleukin; LTB<sub>4</sub>, leukotriene B<sub>4</sub>; MG, microglobulin; NK, natural killer; PAF, platelet-activating-factor; ROS, reactive oxygen species; TNF, tumor necrosis factor.

(EVAL), アクリロニトリルとメタリルスルホン酸ナトリウムの共重合体 (AN69膜) 素材の膜や、ポリスルホン (PSf), ポリエーテルスルホン (PES), ポリエステル系ポリマーアロイ (PEPA) などの親水化剤としてポリビニルピロリドン (PVP) を用いるポリスルホン系の膜が開発され、現在使用されている。

合成高分子膜には、陰性荷電を有するものがある。陰性荷電膜は、補体活性化を引き起こす原因にもなるが、一方でそのメディエータである C3a や C5a や、また活性化に必要な complement factor D などを吸着するため<sup>7,8)</sup>、補体活性化を起点とした生体反応が起こりにくいという側面もある。また高透過性の膜、hemodiafiltration (HDF) のような高効率治療モードでは、サイトカインや complement factor D (分子量 24 kD) を効率よく除去することが可能であり、同様に膜と血液との接触による生体反応の一部を抑制することができると考えられる。そのため、多くの合成高分子膜では、治療中に起こる生体不適合な反応が減少した。

一方、強い陰性荷電が惹起する生体不適合反応として、血小板第Ⅻ因子を起点とし、ブラジキニンの産生を引き起こす反応が知られている<sup>9)</sup>。ブラジキニンは、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) により分解されるため、ACE 阻害薬を服用している患者に陰性荷電膜を使用すると、ブラジキニンの蓄積によりアナフィラキシー様ショックを引き起こすことがあり<sup>10)</sup>、AN69膜では、ACE 阻害薬との併用が

禁忌となっている。

透析膜と血液との接触においては、白血球、血小板などの血液細胞の活性化も起こる<sup>1)</sup>。血液細胞の活性化は、透析膜との直接の接触によるものもあれば、補体や凝固因子などの活性化から間接的に起こるものもある。補体活性化を起点とする血球の活性化は、1990年ごろには既に図1のようにまとめられている<sup>1)</sup>。現在も、基本的な考え方は大きくは変わっていないが、その後、血球間の相互作用も着目されるようになり、それぞれが相互にその活性化や抑制を制御していることなども明らかになっている。例えば、血小板と白血球では、直接<sup>11),12)</sup>、また間接的にお互いを活性化し、活性化を抑制している<sup>13),14)</sup>。透析膜と接触して活性化された血小板は、膜や血液回路に接着・凝集し、血栓を形成するだけでなく、白血球と結合して、それを活性化させる<sup>15),16)</sup>。また、白血球から放出された reactive oxygen species (ROS) は血小板を活性化する<sup>17)</sup>。血液透析治療では、抗凝固薬を用いているため、血液の凝固反応は抑えられているが、血小板の活性化は起こっている。血小板の活性化により他の血球の活性化や抑制を引き起こすことから、近年、血小板の活性化抑制は、生体適合性を向上させるための主要なターゲットになっている。

透析膜の生体適合性を評価する際には、それらの個々の血液細胞への影響や、それらの血液細胞の相互作用を考慮しつつ、全体像を理解できるような試験プロトコルを考え

る必要がある。その場合、1つの実験系で、すべてを評価することは不可能であり、いくつかの実験系 (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*) を組み合わせて評価することが有効な手段となる<sup>18)</sup>。

### 3. 近年新たに開発された透析膜、濾過膜

近年、長年にわたって使用経験のある膜素材をベースに、血液と接触する表面の性質を改善したいくつかの膜が新しく上市されている。また透過性能だけでなく、生体適合性の向上を試みた膜も開発されている。特に、血小板の活性化を起点とする生体反応を抑えることを目的として開発された膜が多いことが最近の特徴である。

現在使用されている膜では、スルホン基を有する膜 (PS, PES, PEPA) の使用量が最も多い。これらの膜は、細孔径の制御が比較的容易であるため、高透過性の膜を作りやすいという利点があるが、基本的に疎水性であるため、PVPによって親水化処理されている。これらの膜では、中空糸内表面をさらに改質することで、生体適合性の向上を目指した試みがなされている。例えば、ビタミンEをコーティングしたPSf素材の透析膜 (VPSシリーズ、旭化成メディカル)<sup>19)</sup>では、酸化ストレスを低減できることが報告されている<sup>20),21)</sup>。また、PVPに加えて、新しい親水性ポリマー (NVポリマー) を膜内表面に配置させた膜 (トレライトNV<sup>TM</sup>、東レ・メディカル) では、膜表面の親水性が増加し、フォン・ビルブランド因子やフィブリノーゲンの接着が減り、血小板の付着が少なくなったことが報告されている<sup>22),23)</sup>。膜との接触により、血小板は白血球活性化<sup>24)</sup>および好中球-血小板複合体の形成<sup>25)</sup>が抑制されていることが示されている。さらに、持続的腎代替療法 (CRRT) に用いられている濾過膜では、PVPポリマーの長さや配合量などを変化させて血小板の付着を抑制することで、膜のファウリングを少なくした膜<sup>26)</sup>も開発された。その後、さらにCRRT用の膜としても、NVポリマーを用いた膜から構成されるフィルタ (ヘモフィールSNV<sup>TM</sup>、東レ・メディカル) が上市されている。

PMMA素材の膜では、syndiotacticとisotacticな構造を有する2つのPMMAポリマーを用いて膜構造を制御している。それらの構造制御のうち、特に膜表面の構造を改質することで、膜表面への血小板や凝固系タンパク質のフィブリノーゲンの付着の少ない膜 (東レフィルトライザーNF、東レ・メディカル) が開発され<sup>27),28)</sup>、販売されている。

AN69膜では、正荷電を有するポリエチレンイミンで表面処理をすることで中空糸内表面を中性化したAN69-ST膜 (セプザイリス、バクスター) が上市されている<sup>29)</sup>。こ

の膜は、補体活性化やブラジキニン産生といった生体反応を低下させることが報告されており<sup>30)</sup>、日本では、CRRTに使用する膜として販売されている。

ファウリングの起こりにくいCTA素材の膜 (ATA<sup>TM</sup>、ニプロ) も開発されている。この膜は、従来の均質膜しかなかったCTAを非対称構造膜にしたもので、中空糸内面に緻密層を有する膜となっている<sup>31),32)</sup>。CTA素材の膜はもともとタンパク質の吸着量が少ない膜であったが、中空糸内面が緻密になったことで、内表面が平滑化され、さらにファウリングの起こりにくい膜になったと考えられる。まだ、販売されたばかりで、生体適合性についての報告は少ないが、中空糸内表面の構造変化があることから、生体適合性についても何らかの改善がみられる可能性がある。

現在までに、セルロース素材の膜について、膜表面の平滑性と血小板の接着<sup>33)</sup>が関連していることが報告されている。また他の素材の膜に対しても膜表面の平滑性とアルブミンの吸着力<sup>34)</sup>との関連が報告されている。PVPについては、混合するポリマーの種類や量によって材料表面の平滑さや柔らかさが変化する<sup>35)</sup>というように、物理的な特性も変化していることが知られている。コーティングや表面改質により、材料の化学組成の変化だけでなく、表面の物理的性質 (平滑性、柔らかさ) が変化し、それによって、血小板や白血球に与える影響が変化していることも十分に考えられる。今後は、血液接触面の化学的な性質に加えて、物理的な性質を変化させ、生体適合性の改善を目指すアプローチも進むと考える。

### 4. おわりに

本稿では、透析膜の開発の軌跡を生体適合性の観点から概説した。透析膜との接触によってさまざまな生体反応が起こる機序を明らかにし、それを抑制するための材料を開発するということが、繰り返し行われてきたことが分かる。今後は、透析膜の化学的性質だけでなく、物理的な性質にも着目しながら、膜開発が進んでいくものと考えられる。さらに良い治療が行えるようになるような膜開発が進むことを期待したい。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

### 文 献

- 1) Hakim RM: Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility. *Kidney Int* **44**: 484-94, 1993
- 2) Babb AL, Popovich RP, Christopher TG, et al: The genesis of the square meter-hour hypothesis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* **17**: 81-91, 1971

- 3) Gejyo F, Yamada T, Odani S, et al: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2-microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* **129**: 701-6, 1985
- 4) 越川昭三：ダイアライザ開発の歴史. *臨床透析* **16**: 843-56, 2000
- 5) Greca GL, Ronco C: Cellulose Triacetate - Evaluation of a Dialysis Membrane -. Witching Editore, Italy, 1994
- 6) Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, et al; European Uremic Toxin Work Group (EUTox): Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* **63**: 1934-43, 2003
- 7) Kandus A, Ponikvar R, Drinovec J, et al: Anaphylatoxins C3a and C5a adsorption on acrylonitrile membrane of hollow-fiber and plate dialyzer—an in vivo study. *Int J Artif Organs* **13**: 176-80, 1990
- 8) Pascual M, Schifferli JA: Adsorption of complement factor D by polyacrylonitrile dialysis membranes. *Kidney Int* **43**: 903-11, 1993
- 9) Tielemans C, Madhoun P, Lenaers M, et al: Anaphylactoid reactions during hemodialysis on AN69 membranes in patients receiving ACE inhibitors. *Kidney Int* **38**: 982-4, 1990
- 10) Verresen L, Fink E, Lemke HD, et al: Bradykinin is a mediator of anaphylactoid reactions during hemodialysis with AN69 membranes. *Kidney Int* **45**: 1497-503, 1994
- 11) Nagata K, Tsuji T, Todoroki N, et al: Activated platelets induce superoxide anion release by monocytes and neutrophils through P-selectin (CD62). *J Immunol* **151**: 3267-73, 1993
- 12) Peters MJ, Dixon G, Kotowicz KT, et al: Circulating platelet-neutrophil complexes represent a subpopulation of activated neutrophils primed for adhesion, phagocytosis and intracellular killing. *Br J Haematol* **106**: 391-9, 1999
- 13) Bazzoni G, Dejana E, Del Maschio A: Platelet-neutrophil interactions. Possible relevance in the pathogenesis of thrombosis and inflammation. *Haematologica* **76**: 491-9, 1991
- 14) Li N, Hu H, Lindqvist M, et al: Platelet-leukocyte cross talk in whole blood. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**: 2702-8, 2000
- 15) Bonomini M, Stuard S, Carreno MP, et al: Neutrophil reactive oxygen species production during hemodialysis: role of activated platelet adhesion to neutrophils through P-selectin. *Nephron* **75**: 402-11, 1997
- 16) Itoh S, Susuki C, Tsuji T: Platelet activation through interaction with hemodialysis membranes induces neutrophils to produce reactive oxygen species. *J Biomed Mater Res A* **77**: 294-303, 2006
- 17) Salvemini D, de Nucci G, Sneddon JM, et al: Superoxide anions enhance platelet adhesion and aggregation. *Br J Pharmacol* **97**: 1145-50, 1989
- 18) Kokubo K, Kurihara Y, Kobayashi K, et al: Evaluation of the Biocompatibility of Dialysis Membranes. *Blood Purif* **40**: 293-7, 2015
- 19) Sasaki M: Development of vitamin E-modified polysulfone membrane dialyzers. *J Artif Organs* **9**: 50-60, 2006
- 20) Clermont G, Lecour S, Cabanne JF, et al: Vitamin E-coated dialyzer reduces oxidative stress in hemodialysis patients. *Free Radic Biol Med* **31**: 233-41, 2001
- 21) Satoh M, Yamasaki Y, Nagake Y, et al: Oxidative stress is reduced by the long-term use of vitamin E-coated dialysis filters. *Kidney Int* **59**: 1943-50, 2001
- 22) 上野良之, 菅谷博之：ポリスルホン膜人工腎臓の抗血栓性技術. *膜* **40**: 161-4, 2015
- 23) Oshihara W, Fujieda H, Ueno Y: A New Poly(Methyl Methacrylate) Membrane Dialyzer, NF, with Adsorptive and Antithrombotic Properties. *Contrib Nephrol* **189**: 230-6, 2017
- 24) Koga Y, Fujieda H, Meguro H, et al: Biocompatibility of Polysulfone Hemodialysis Membranes and Its Mechanisms: Involvement of Fibrinogen and Its Integrin Receptors in Activation of Platelets and Neutrophils. *Artif Organs* **42**: E246-58, 2018
- 25) Koga Y, Meguro H, Fujieda H, et al: A new hydrophilic polysulfone hemodialysis membrane can prevent platelet-neutrophil interactions and successive neutrophil activation. *Int J Artif Organs* **42**: 175-81, 2019
- 26) Kokubo K, Kurihara Y, Tsukao H, et al: Effects of increased surface coverage of polyvinylpyrrolidone over a polysulfone hemofilter membrane on permeability and cell adhesion during continuous hemofiltration. *J Artif Organs* **18**: 257-63, 2015
- 27) Serizawa T, Yamashita K, Akashi M: Cell-adhesive and blood-coagulant properties of ultrathin poly(methyl methacrylate) stereocomplex films. *J Biomater Sci Polym Ed* **15**: 511-26, 2004
- 28) 高橋 博, 上野良之, 藤枝洋暁, 他：血小板付着を抑制した新規PMMA膜人工腎臓フィルトレーザ—NFの創出. *腎と透析* **75**別冊ハイパフォーマンスマンブレン'13: 22-5, 2013
- 29) Thomas M, Moriyama K, Ledebro I: AN69: Evolution of the world's first high permeability membrane. *Contrib Nephrol* **173**: 119-29, 2011
- 30) Chanard J, Lavaud S, Randoux C, et al: New insights in dialysis membrane biocompatibility: relevance of adsorption properties and heparin binding. *Nephrol Dial Transplant* **18**: 252-7, 2003
- 31) 春原隆司：ATA膜ダイアライザの基礎特性. *腎と透析* **83**別冊ハイパフォーマンスマンブレン'17: 131-3, 2017
- 32) Maduell F, Ojeda R, Arias-Guillén M, et al: A new generation of cellulose triacetate suitable for online haemodiafiltration. *Nefrologia* **38**: 161-8, 2018
- 33) Tsunoda N, Kokubo K, Sakai K, et al: Surface roughness of cellulose hollow fiber dialysis membranes and platelet adhesion. *ASAIO J* **45**: 418-23, 1999
- 34) Namekawa K, Fukuda M, Matsuda M, et al: Nanotechnological characterization of human serum albumin adsorption on wet synthetic polymer dialysis membrane surfaces. *ASAIO J* **55**: 236-42, 2009
- 35) Hayama M, Yamamoto K, Kohori F, et al: Nanoscopic behavior of polyvinylpyrrolidone particles on polysulfone/polyvinylpyrrolidone film. *Biomaterials* **25**: 1019-28, 2004