

博士学位論文

題 目

血液透析療法における透析排液成分及び透析膜洗浄成分の
紫外光計測に関する研究

担当指導教員名 海本浩一 印

申請年月日 2019年 1月 24日

申請者専攻名 医療福祉工学専攻

学 生 番 号 DL17A001

氏 名 島本佳昌 印

博士学位論文

血液透析療法における透析排液成分及び透析膜洗淨
成分の紫外光計測に関する研究

2019年3月

大阪電気通信大学大学院
医療福祉工学研究科
医療福祉工学専攻

島本佳昌

目次

第1章	序論	6
第2章	血液透析療法に関する知見	8
2.1節	諸言	8
2.2節	腎不全とその病態	8
2.3節	血液透析療法の原理	11
2.4節	本研究に関連した血液透析技術における問題点	14
2.5節	結言	17
第3章	透析排液成分及び透析膜洗浄成分の分析 (分光光度計 / 生化学分析装置)	18
3.1節	諸言	18
3.2節	吸光度とランバート・ベールの法則	18
3.3節	分光光度計について	19
3.4節	生化学分析装置について	21
3.5節	結言	23
第4章	尿毒症性低分子物質を対象とした透析排液成分モニタ リング	24
4.1節	諸言	24
4.2節	尿毒症性低分子量物質について	25
4.3節	透析排液成分モニタの原理	26
4.4節	尿毒症物質の紫外光吸光スペクトルとその性質	28
4.5節	尿毒症物質の排液実測濃度と排液推測濃度の相関性	29

4. 6 節	透析治療経過時間と透析排液溶質濃度の関係	34
4. 7 節	重回帰分析を用いた吸光度解析	35
4. 8 節	結言	37
第 5 章	透析膜洗浄排液成分モニタリング	39
5. 1 節	諸言	39
5. 2 節	PVP と生体への影響	40
5. 3 節	PVP と PS 膜ダイアライザとの関連	42
5. 4 節	ダイアライザから溶出する PVP 測定法 I (Müller 法)	44
5. 5 節	ダイアライザから溶出する PVP 測定法 II (UV-s 法)	46
5. 6 節	透析膜洗浄排液成分モニタで使用する場合を 想定した UV-s 法について	48
5. 7 節	透析膜洗浄排液成分モニタについて	50
5. 8 節	各種 PS 膜ダイアライザを用いた 透析膜洗浄排液成分モニタの検証実験	51
5. 9 節	血液回路からの可塑剤について	60
5. 10 節	結言	63
第 6 章	結論	64
	謝辞	68
	参考文献	69
	研究業績	80

図目次

第 2 章

図 2.1	血液透析療法の基本構成	11
図 2.2	ダイライザの構造	13
図 2.3	透析治療中における血中尿素濃度と透析時間の関係	15

第 3 章

図 3.1	ランバート・ベールの法則	19
図 3.2	分光光度計 UV-1700	20
図 3.3	Cr を用いた検量線の例	21
図 3.4	富士ドライケム 3500	22

第 4 章

図 4.1	透析排液成分モニタ	26
図 4.2	尿毒症性物質の UV 吸光スペクトル	28
図 4.3	実際の透析排液の UV 吸光スペクトル	31
図 4.4	波長 236 nm での Cr と UA の吸光度比較	32
図 4.5	波長 236nm での実吸光度と (Cr + UA) 吸光度の相関	33
図 4.6	透析経過時間と透析排液濃度の関係	34

第5章

図 5.1	PVP の化学構造	40
図 5.2	PS 膜の化学構造	42
図 5.3	PVP の呈色反応	44
図 5.4	Müller 法に用いる検量線 (PVP K90)	45
図 5.5	PVPK90 の UV 吸光特性と検量線	46
図 5.6	Müller 法と UV-s 法の相関関係	47
図 5.7	PVP 濃度が 10mg/L 以上での吸光度と濃度の関係性	48
図 5.8	PVP 濃度 0mg/L の検体を用いた UV-s 法と Müller 法での PVP 濃度の比較	49
図 5.9	透析膜洗浄排液成分モニタの概要	50
図 5.10	実験に用いた PS 膜ダイアライザ	52
図 5.11	透析膜洗浄排液成分モニタに関する実験モデル	53
図 5.12	PSU を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果	54
図 5.13	APS を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果	55
図 5.14	血液回路だけを洗浄する場合を想定した実験モデル	56
図 5.15	実験に用いた血液回路からの溶出物	57
図 5.16	γ 線滅菌による UV-s 法への影響を検証するための実験	58
図 5.17	FX を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果	59
図 5.18	血液回路溶出物	62

表目次

第2章

表 2.1	Seldin 分類	9
表 2.2	血液透析導入のタイミング	10
表 2.3	我が国における「透析患者数」「死亡者数」「新規導入患者」の推移	10
表 2.4	透析液の組成	12
表 2.5	ダイアライザの機能分類	13
表 2.6	各種血液浄化膜の種類	14

第4章

表 4.1	検量線の式	30
表 4.2	排液実測濃度と排液推測濃度の相関関係	31
表 4.3	重回帰式と r_p 値の解釈	36
表 4.4	重回帰分析の結果	36

第5章

表 5.1	実験に用いた PS 膜ダイアライザの仕様	52
-------	----------------------	----

第1章 序論

腎臓は腹腔後部に左右1個ずつ存在する器官であり、血液から尿を生成し、身体の水分量や電解質の調整及び酸塩基平衡などに関与する重要な臓器である。

腎臓の機能が著しく低下した状態を慢性腎不全（CKD：Chronic kidney disease）というが、このような状態となれば尿生成機能の低下により、体内老廃物の除去や水分量、電解質の調整なども困難となるため、生命維持に重大な影響を与える。

また、腎臓は造血ホルモンであるエリスロポエチンや骨代謝に関係する活性型ビタミンDの生成も行っていることから、CKDによる腎性貧血や骨粗しょう症なども問題となる。

現在、CKD患者が生命維持するために血液透析療法（HD：Hemodialysis）を代表とする血液浄化療法が行われ、本邦での透析患者数は約32万人¹⁾を超えた。

透析治療は、人工腎臓（ダイアライザ）に透析患者の血液を通し、体内の老廃物や過剰な水分を拡散及び限外濾過の原理で除去すると同時に透析液中のカルシウムイオン（ Ca^{2+} ）や重炭酸イオン（ HCO_3^- ）などの透析患者に不足する成分を透析液側から血液側に補うことで、全体として体液の調整を行う体外循環による治療である。

本邦における透析療法は1960年代頃から導入し始め、数々の問題（医療保険制度など）を抱えながらも、ダイアライザや透析装置などに多くの改良が行われ、各種透析関連技術や透析患者の生活の質（QOL：Quality Of Life）は向上してきた。その中で我々は、本研究の題目を「血液透析療法における透析排液成分及び透析膜洗浄成分の紫外光計測に関する研究」として、紫外光（UV：Ultraviolet）を用いたリアルタイムモニタリング技術について言及し、更なる血液透析装置の開発を目指すものである。

今回、研究の評価対象として、ダイアライザを通過後の透析排液中に含まれる尿毒症性物質やダイアライザ自身から溶出する親水化剤ポリビニルピロリドン（PVP：Polyvinylprolydone）に着目した。これらは、UVを吸光する性質を持つため、吸光光度法の原理により吸光度だけで簡易的な計測が可能と考えられる。

本研究の論点は、UVによる吸光光度分析を透析治療効率評価のための透析排液成分モニタやダイアライザ洗浄中に溶出するPVPをリアルタイムで計測する透析膜洗浄排液成分モニタへの応用へ繋げることである。

透析排液成分モニタは、透析治療効率を評価するために、透析排液中の尿素を透析治療中にモニタリングする技術で既に実用化されているものの、尿素は UV を吸光する特性をほとんど持たないことが分かっている。本研究では、尿素と同じ窒素化合物であり、腎機能の指標として利用されているクレアチニン(Cr : Creatinine) と尿酸(UA : Uric acid)に UV 吸光特性があることから、これらの小分子を指標(マーカー)と考え、尿素の透析排液成分モニタについて詳しく解析すると同時に Cr と UA を用いた新規透析排液成分モニタを検討する。

また、ダイアライザで使用される透析膜にはPVPを代表とする配合材料が透析治療中に溶出することがあり、それが原因により血圧低下や頭痛・嘔吐などの症状を助長させ、安全な透析治療が困難となることがある^{2),3)}。

一般的に透析治療前には、このような危険性を防止するためにダイアライザを洗浄するが、この洗浄段階でどの程度の溶出物が除去できたかを評価するモニタリング技術は存在しない。

従って、本研究では吸光光度法を利用した新しい透析関連の排液モニタリング技術として「透析膜洗浄排液成分モニタ」についての検討を試みた。

最後に、本論文の基本的な構成について述べる。

第2章では、血液透析治療の原理や本邦における透析医療の現状について述べた後、第3章では本研究を遂行するうえで必要な吸光光度分析法に関する理論と透析排液成分モニタに関する研究で使用する実験装置である生化学分析装置の原理について述べる。第4章においては、尿毒素である Cr, UA, 尿素の UV 吸光特性とその透析排液成分モニタリングについて言及する。

第5章では、透析膜にPVPが配合されている各ダイアライザから溶出したPVPを対象に透析膜洗浄排液成分モニタリングの実用化に向けて実施した研究結果について述べる。

第2章 血液透析療法に関する知見

2.1 節 諸言

本章では、血液透析療法の概要について、2.2 節で腎臓の機能と腎不全の病態について述べ、2.3 節では血液透析の原理やダイアライザの構造、透析膜及び透析液について説明する。2.4 節については、本研究に関連する血液透析技術の問題点について述べる。

2.2 節 腎不全とその病態

泌尿器系は、腎臓、尿管、膀胱などからなり、体内の余分な老廃物や水分を排泄するための器官系である。特に腎臓は血液を濾過し、尿を生成する重要な臓器である。腎臓内では、大動脈から分岐した細い動脈(輸入大動脈)が固まりを形成し、糸球体を形成する。さらに、糸球体を覆う袋状の構造である糸球体嚢(ボーマン嚢)と合わせて腎小体と呼ぶが、腎小体内部において糸球体血管壁とボーマン嚢内腔の間に血液中の老廃物や水分が血圧の力により濾過され、原尿を作る。1日に作られる原尿の量は1日に180L分に相当するが、アミノ酸やグルコースなどの体内に必要な成分も多く含まれており、これらの成分はボーマン嚢に続く尿細管において血液中に再吸収される^{4),5)}。再吸収されなかった成分は尿として排出され、血液を含む体液全体がこの機構により浄化されて体液全体の組成も調整される。さらに、腎臓の働きとして血液中の水素イオン濃度(PH)を一定値に保つ役割を有する⁶⁾⁻⁸⁾。生命活動に必要な代謝反応により、体内に過剰な酸が生成された場合には、血液中の緩衝剤である重炭酸イオン(HCO_3^- : 腎臓で生成)により中和され、水と二酸化炭素が生成される。水は腎臓で、二酸化炭素は肺により体外に排出されるために体液全体が酸性に傾くことなく、中性付近(およそPH7.4前後)に安定できる。一般にこの機構は、重炭酸緩衝系と呼ばれている。

これら以外にも、腎臓には造血ホルモンであるエリスロポエチンや活性型ビタミンDの生成によるリン・カルシウム代謝にも深く関与している。従って、腎不全となった場合には、これらの調整機構が正常に機能しなくなるため、尿毒症や貧血さらには代謝性アシドーシスを呈することになる。

腎不全の病態については極めて複雑である。腎不全には急性腎不全と慢性腎不全の2つに大別される。急性腎不全には、腎前性、腎性、腎後性があり、急激に腎機能は低下するが、原因を取り除けば腎機能の回復は見込める⁹⁾。

慢性腎不全については、数か月から数十年かけて腎機能が悪化するため、初期段階においては自覚症状がほとんどなく、腎機能の回復は見込めない。

慢性腎不全の定義は次の①②のいずれか又は両方が3か月以上持続する場合とされ、慢性腎不全の病期分類(ステージ)として Seldin 分類がある⁹⁾(表 2.1)。

<慢性腎不全の定義>

- ①蛋白尿, 画像診断, 血液検査, 病理などで腎病変が明らかである場合
- ②糸球体濾過量(GFR)が 60ml/min/1.73m²未滿

表 2.1 Seldin 分類

病期	分類名	GFR
第1期	腎臓予備能の低下	< 50
第2期	腎臓機能障害	30 - 50
第3期	腎不全	10 - 30
第4期	尿毒症の発症	< 10

慢性腎不全と判断され且つ表 2.2 に示すような血液透析導入のタイミング¹⁰⁾を満たす場合には、本格的に透析治療が開始となる。表 2.3 は、日本透析医学会が毎年実施している統計調査「わが国の慢性透析療法の現況」による 2010 年度以降の「透析患者数」「死亡者数」「新規導入患者」の推移である¹¹⁾。

表 2.2 血液透析導入のタイミング

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ① 臨床症状，栄養状態，腎機能検査，年齢，日常生活の障害程度などから総合的に判断。 ② 血清 Cr 濃度が 8.0mg/dL 以上且つ Cr クリアランスが 10mL/min 以下。 ③ 重篤な症状が出現する以前に導入を目指す。 ④ 糖尿病性腎症の場合は，血清 Cr が低値の場合でも，心不全症状が出やすい場合に早めの透析開始が必要。 ⑤ 尿毒症症状を発症した場合には，血清 Cr 濃度が 8.0mg/dL に達していなくとも血液透析の開始を考慮する。 |
|--|

表 2.3 我が国における「透析患者数」「死亡者数」「新規導入患者」の推移

西暦 (年)	透析患者数 (人)	死亡者数 (人)	新規透析患者数 (人)
2010	298,252	28,882	37,512
2011	304,856	30,743	38,613
2012	310,007	30,710	38,055
2013	314,438	30,751	38,095
2014	320,448	30,707	38,327
2015	324,986	31,068	39,462

統計調査によれば、透析患者は 2005 年度までは年間 1 万人ずつ増加してきたが、近年では、年間死亡者数は 30 万人前後であり、新規透析導入患者も年間 30 万人前後であるために透析患者の全体的な増加は鈍化傾向にあり、年間 4000 人前後の増加となっている。総透析患者数は 2011 年から約 30 万人を超え、2015 年度には 324,986 人となっている。

2.3 節 血液透析療法の原理

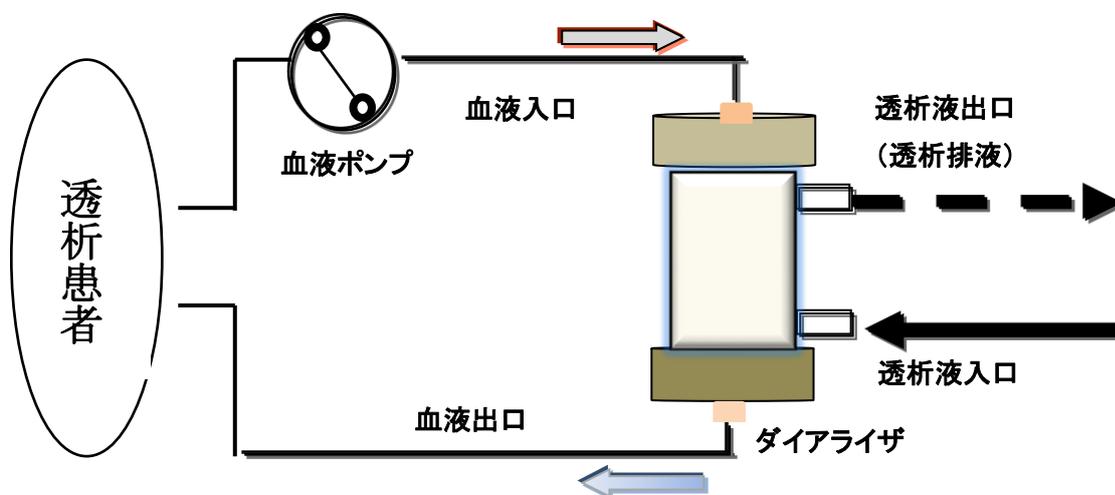


図 2. 1 血液透析療法の基本構成

血液透析療法の基本構成を図 2. 1 に示す。血液を血液回路によって体外へ取り出し、人工腎臓であるダイアライザへと導き、浄化された血液を再び体内に戻す体外循環による治療法である。1 回の治療で所要時間は約 4 時間ほどであり、時間をかけて徐々に血液を含む体液全体を浄化していくことになる。この時、ダイアライザの種類(透析膜面積や透析膜素材など)や血液流量などの条件により透析治療効率が決定する。血液流量は毎分 150 から 250mL ほどの血液を体外へ取り出すが、これだけの高流量を治療中に維持するために動脈と静脈をつなぎ合わせたシャントを作成しなくてはならない。

ダイアライザ内部では、血液と同時に透析液が流れているが、治療効率向上のために血液と透析液が対向流で流れる。透析膜を介して血液と透析液の濃度差による拡散現象にて患者体内の老廃物が除去されるが、半透膜である透析膜細孔を通過できる物質だけが除去されることとなり、小分子である Cr, UA, 尿素は十分にその領域に入る。逆に透析患者に不足する成分は透析液側から血液側への逆拡散により患者の血液に入り、不足成分が補われる。

一方で、透析装置内では除水ポンプにより発生するダイアライザ内での限外濾過を推進力として、透析患者体内の過剰な水分が透析液側へ濾し出され、これを除水

と呼んでいる。除水により透析患者体内の水分量は調整され、毎治療ごとの除水量は、患者ごとに定められた体重（ドライウェイト：DW）からの水分蓄積による体重増加量によって決定される。除水をする水分量によっては、透析治療中に血圧低下を招くことがあり、そのような場合には、除水を停止あるいは生理食塩液などを補液するなどの処置が必要となる。

表 2.4 透析液の組成

組成	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	HCO ³⁻	CH ₃ COO ⁻	ブドウ糖	浸透圧
単位	mEq/L							mg/dL	mosm/L
濃度	140	2.0	3.0	1.0	110	30	8.0	100	298

透析液はNa⁺、Cl⁻、K⁺などの電解質や代謝性アシドーシスを是正の為のHCO³⁻、更には透析液自体のPHを調整するための酢酸などが配合された水溶液である(表 2.4)。

透析患者の中で酢酸不耐症を呈する患者については、透析液中の酢酸により血圧低下を来すこともあり、このような症例は酢酸を含まない透析液（アセテートフリー透析液）の使用が有効である。また、ダイアライザ内で血液より除去された尿毒症性物質はダイアライザ通過後の透析排液として排出される。

従って、透析排液中の拡散によって除去された尿毒素を検出することで、透析治療中の尿毒素の除去動態及び透析治療効率が評価できるはずである。

本研究テーマの一つである「透析排液成分モニタ」は、透析排液中の尿毒症物質（主に尿素）を測定することで透析治療効率を評価するものであり、これについては第4章にて論ずることとする。

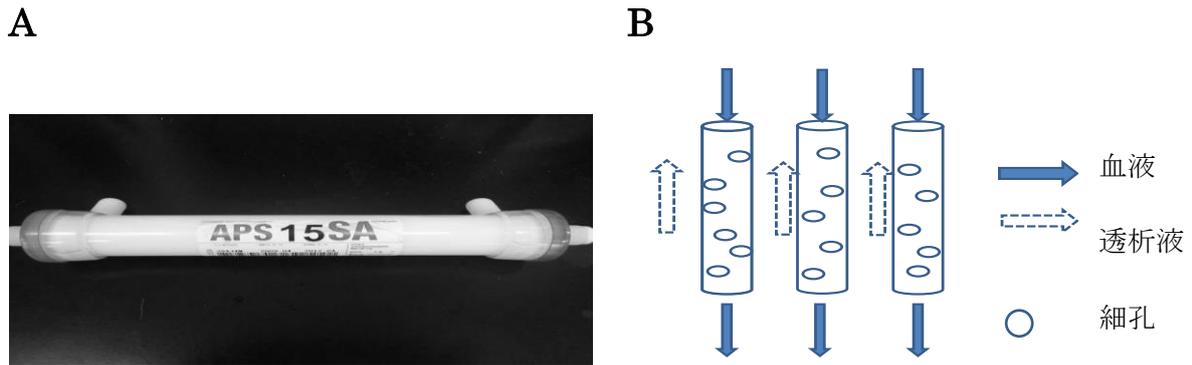


図 2.2 ダイアライザの構造 (A : 外観, B : 中空糸透析膜)

ダイアライザの構造は図 2.2 に示すように中空糸状 (内径は約 $200\ \mu\text{m}$) の透析膜が約 1 万本充填され, 中空糸の内部を血液が, 外側を透析液が流れる。

透析膜の種類や膜面積の大きさにより, ダイアライザにおける物質の除去能力を表すクリアランス (K) や除水に関連する透水性能を表す濾過係数 (L_p) などのダイアライザとしての全体的な性能は大きく変化する。

近年では, 透析アミロイドーシスの原因物質である $\beta 2$ ミクログロブリン ($\beta 2\text{-MG}$) の除去を中心に比較的孔径の大きな透析膜 (ハイパフォーマンス膜) を使用する傾向がある。臨床において使用されるダイアライザは診療報酬上では, $\beta 2\text{-MG}$ のクリアランスにより表 2.5 のような機能分類 (5 つの形式) がある。

また, $\beta 2\text{-MG}$ のクリアランスである $70\text{mL}/\text{min}$ を境にダイアライザを I 型と II 型に分類, それぞれの I 型と II 型に関して, アルブミン (A1b) のふるい係数が 0.03 を境に蛋白非透過・低透過型 (a 型) と蛋白透過型 (b 型) に細分類する機能分類もある。

表 2.5 ダイアライザの機能分類

機能分類	$\beta 2\text{-MG}$ クリアランス
I 型	10 mL/min 未満
II 型	10 - 30 mL/min
III 型	30 - 50 mL/min
IV 型	50 - 70 mL/min
V 型	70 mL/min 以上

表 2.6 各種血液浄化膜の種類

	膜素材	膜構造	保存状態	PVPの有・無	滅菌法
セルロース系	再生セルロース(RC)	中空糸	Dry	無	γ線
	セルローストリアセテート(CTR)	中空糸	Dry	無	γ線
合成高分子系	ポリスルホン (PS)	中空糸	Dry・Wet・M	有	γ線・ AC
	ポリエーテルスルホン (PES)	中空糸	Dry	有	γ線
	ポリエステル系ポリマーアロイ (PEPA)	中空糸	Wet	有	γ線
	ポリメチルメタクリレート (PMMA)	中空糸	Wet	無	γ線
	ポリアクリロニトリル (PAN)	平膜	Dry	無	γ線
	ポリビニルアルコール (EVAL)	中空糸	Wet	無	γ線

<滅菌方法> γ線：γ線滅菌, AC：高圧蒸気滅菌

<保存状態> Dry：ドライタイプ, Wet：ウェットタイプ, M：モイストタイプ

透析膜の種類は表 2.6 に示す通りに、セルロース系膜と合成高分子系膜に大別されており、特に合成高分子膜では、スルホン基(-SO₂-)を有するポリスルホン(PS)を膜素材とするPS膜ダイアライザがよく使用される¹²⁾。ただし、PS膜は疎水性が強く、血液中の蛋白質などの吸着が起こりやすくなるため、親水化剤としてPVPが使用される¹³⁾⁻¹⁶⁾。その他、ダイアライザに使用される配合材料にビスフェノール A や透析膜の保護材としてグリセリンなどがあるが、臨床においてダイアライザを使用する場合には、これらの配合材料を洗浄・除去する目的で、透析治療前に中空糸内側を生理食塩液あるいは透析液などでダイアライザを洗浄することになる。

2.4 節 本研究に関連した血液透析技術における問題点

透析患者の QOL 改善や合併症の予防に務めるのも透析医療従事者の果たす重要な役割である。従って、それぞれの透析患者が十分な透析治療を受けているかを定期

的に評価する必要があり、Kt/V 値がその判断基準として用いられる。

Kt/V 値は、体内での尿素を指標とする溶質除去動態を数理モデルで表した数式である。一般に尿素を用いる理由は、分子量が 60 と極めて小分子であり、体内に均一に分布していると考えられるためである。

尿素容積分布 V mL の透析患者体内での尿素がダイアライザのクリアランス K (mL/min)によって透析治療中に除去される際に、尿素濃度の時間的変化量 $C(t)$ と透析時間 t (min)の間に数学的な動態モデルとして変数分離型の微分方程式が成立する。

ただし、透析治療中の体液量 V を一定と考え、尿素生成も無視できると仮定する。

$$V \frac{dC(t)}{dt} = -KC(t) \quad \dots \text{式 2.1}$$

式 2.1 の微分方程式を解法し、Kt/V 値を表すと 2.2 式に示す通りとなる。

$$\frac{Kt}{V} = \log_e \left(\frac{C_{pre}}{C_{post}} \right) \quad \dots \text{式 2.2}$$

ここで、 C_{pre} は透析前血中尿素濃度を C_{post} は透析後血中尿素濃度を表す。

式 2.2 より、一般に透析経過 t (min)時の血中尿素濃度 $C(t)$ は式 2.3 で表され、透析時間(min)と血液中尿素濃度(mg/dL)の関係性は図 2.3 のように示される。

$$C(t) = C_{pre} \times \exp \left(-\frac{Kt}{V} \right) \quad \dots \text{式 2.3}$$

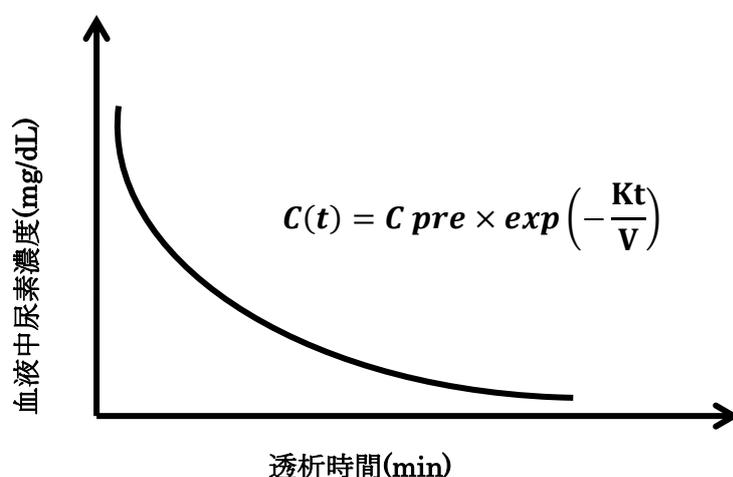


図 2.3 透析治療中における血中尿素濃度と透析時間の関係

式 2.2 に示すように、Kt/V 値は基本的に透析治療前後の血液中尿素濃度の比較により算出されるが、実際に Kt/V 値を算出する場合には、除水量や透析治療後の体重などを考慮した数式 (Daugirdas の式)¹⁷⁾ が用いられる (式 2.4)。

$$\frac{Kt}{V} = -\log \left(\frac{Ct}{C0} - 0.008t \right) + \left(4 - 3.5 \times \frac{Ct}{C0} \right) \times \frac{\Delta BW}{BW} \dots \text{式 2.4}$$

C0: 透析前血液中尿素濃度 t: 透析時間 BW: 透析後体重

Ct: 透析後血液中尿素濃度 ΔBW: 除水量 k: ダイアライザクリアランス

Kt/V 値は、「K×t」で表される透析量を尿素容積分布 V で除すことにより透析量を標準化させた数値であり、他の患者と比較することが可能である。

Kt/V 値は、「ダイアライザの変更(透析膜の種類変更や膜面積を大きくするなど)」、「血液流量を上げる」、「透析時間を延ばす」などの治療条件を変更することで大きく改善される。仮に Kt/V 値が 1.0 の時は、総体液量の 100% が浄化されたことを表すが、体内の尿素濃度がゼロになるわけではない。細胞内液中の尿素は、間質液を介して血漿へと移動するための時間差が生じるためであり、実際には Kt/V 値は 1.0 以上が必要であり、日本透析医学会の統計調査では Kt/V 値は 1.4 以上を推奨している¹⁷⁾。式 2.4 で示すごとく Kt/V 値の算出は、透析治療前後の血液検査の比較により実施されるため、血液検査の費用などを考えた場合に頻回に Kt/V 値を評価することは困難であるが、近年開発された透析排液成分モニタを用いることで透析治療中に Kt/V 値を透析排液レベルで評価することが可能な時代となった。

透析排液成分モニタは、Kt/V 値算出のために透析排液中の尿素測定を中心に設計されてきた。しかしながら、透析排液には Cr や UA などの小分子も含まれているに関わらず、これらの小分子を反映させた透析排液成分モニタは普及していない。Cr は筋力量を反映し、栄養状態の評価としても有用とされる小分子であり、透析排液中 Cr 量をモニタリングする意義はある。また、UA についても虚血性心疾患や脳血管障害の危険因子として高 UA 血症が取り上げられており¹⁸⁾、これらのリスクを予防する上で透析排液中 UA 量をモニタリングする意義はある。従って、これらの小分子を透析治療中にモニタリングできれば、「治療効率」「栄養評価」「動脈硬化の評価」という多方面で患者を評価できるシステムが設計できるはずである。

さらに、ダイアライザだけに着目した場合には、透析膜からの溶出物にも注意が必要である。特に、PS系の透析膜に配合されている親水化剤PVPは水溶性であるために膜表面から溶出しやすくなり、透析治療中の患者血液に流入する可能性がある。

PVPは血圧低下やアナフィラキシーショック、搔痒感などのリスクと深く関係しているとの指摘があり¹³⁾⁻¹⁵⁾、透析治療前にダイアライザを洗浄する段階でどの程度のPVPが除去できたかを瞬時にモニタリングする技術は存在しない。このようなダイアライザ洗浄中の溶出物を対象としたモニタリングが可能となれば、体内へのPVPを含む溶出物の侵入を低減でき、溶出物に対する副作用を回避できるものと期待できる。

2.5 節 結言

本章では、研究の背景となる血液透析治療全般について、2.2節では腎臓の働きと腎不全の病態について示すと同時に2.3節では、血液透析治療の原理や透析液さらにはダイアライザについて説明した。また、2.4節では本研究を実施するうえで重要となる期待される将来への血液透析技術の展望を述べた。

本研究は吸光度による透析治療に関するモニタリング技術を主軸とし、既に存在する透析排液成分モニタ技術をより進化させ、且つ透析膜洗浄排液成分モニタという新しい技術の構築を目指すものであると改めて強調しておきたい。

第3章 透析排液成分及び透析膜洗浄成分の分析 (分光光度計 / 生化学分析装置)

3.1 節 諸言

本章では、実験に使用した測定装置について述べる。3.2 節では、吸光光度法に関するランバートベールの法則を中心とした物質に対する光の吸収理論について述べ、

3.3 節においては、吸光度を測定する場合に必要な分光光度計の仕組みなどについて説明する。3.4 節では、第4章「尿毒症性低分子物質を対象とした透析排液成分モニタリング」において、透析排液中の生化学検査の際に使用する生化学分析装置に関する測定原理などの基本的な動作原理について解説する。

3.2 節 吸光度とランバート・ベールの法則

光は電磁波であり、電波と磁場が互いに交差しながら伝わる波である。光の波動性を示すために「波長」という言葉が用いられ、波長によって遠紫外光(波長 100～200nm)、可視光(波長 400～700nm)などの電磁波に分類される。本研究で用いる紫外光(UV)は、主に波長 200～400nm の電磁波に分類される。

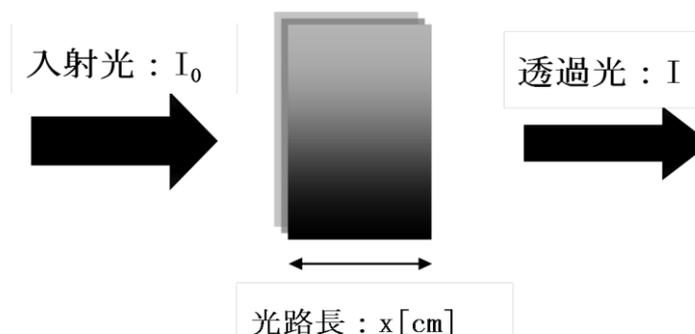
また、光は“粒”としての性質もある。1905年に、アルバート・アインシュタインは「光は波長に応じたエネルギーを有する粒」とし、それを光子(フォトン)と呼んだ。

光の基本的な性質として、ある物質に光が当たる際には、「吸収」「透過」「散乱」「反射」などの基本的な現象を示すことが挙げられる。

本研究においては、目的となる分子に対して紫外あるいは可視光領域の電磁波を照射した際の電子遷移に由来する「吸収」を測定することで、物質の特定(定性)や濃度測定(定量)を行なう吸光光度法の理論が中心となり、微量成分の定量法として広く用いられている方法である。ただし、定量を行う場合には予め既知濃度の試料を用いて濃度と吸光度の関係を検量線(Calibration curve)として表す必要がある。

ここで、ある物質に光を照射した時に測定される吸光度(Absorbance)については、ランバート・ベールの法則(Lambert-beer Law)¹⁹⁾に従い、強度が I_0 となる入射光が水

溶液内を進み、距離 x だけ進む間に物質が光を吸収して透過光が I になった場合に 3.1 式で表される無次元数である (図 3.1) .



$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) = \epsilon c x \cdots \text{式 3.1}$$

図 3.1 ランバート・ベールの法則

ランバート・ベールの法則とは、式 3.1 より吸光度はモル濃度 (mol/L) と光路長 x (cm) 及び試料分子の光の吸収のしやすさを表すモル吸光係数 ϵ の積で表され、入射光 I_0 と透過光 I の比の対数値に等しいという概念である。この法則によって波長に対する吸光度の変化を示したものを吸光スペクトル (absorption spectrum) と呼び、分子中の基底状態にある電子が UV を吸収し、励起状態に至る現象を示している。吸光スペクトルの形状や極大吸収波長 (λ_{\max}) の位置は分子構造によって異なるため、調べたい有機化合物の官能基や構造の特定 (定性分析) をすることができる。UV を吸収する有機化合物には、C=C や C=O などの多重結合を持っていることが多く²⁰⁾、透析排液中の Cr, UA, 尿素あるいはダイアライザに含まれる PVP などはこれに値する。

3.3 節 分光光度計について

吸光度や吸収スペクトルを測定するための分光光度計は、光源や試料部及びデータ処理部などから構成され、試料に対する照射方式によって「シングルビーム方式」と「ダブルビーム方式」の2つの方式がある。

本研究で使用した紫外・可視分光光度計 UV-1700(島津制作所)の測定方式はダブルビーム方式を採用している(図 3.2, A 及び B).

この方式は, 同じ光源からの光をビームスプリッターによって2つに分け, 一方は試料溶液を透過すると同時に参照用の溶媒を通過する. 両透過光は検出器に入り, 強度比が算出される. 算出された強度比率は吸光度に変換され, 各波長ごとに記録されることによってスペクトルが測定される.

光源は重水素ランプ(紫外域;180~400nm)とハロゲンランプ(可視域;320~3000nm)の2種類を用いている. ダブルビーム方式は, ビームスプリッターによる光の分割などの機構を含むために, シングルビーム方式に比して装置内部の構造は複雑となる.

吸光度を測定する場合には, 測定検体を専用の光学セルに入れて測定しなければならない. 光学セルは試料溶液の光路長を一定に保たれた容器であり, セルの材質には石英製とガラス製の2つがあり, 光学セルを使用する場合には, 測定波長領域の光を吸収しない材質が望ましい. 特に紫外部の測定には石英セルを使用しなければならない. ガラスセルは紫外部では使用できないので注意が必要である.

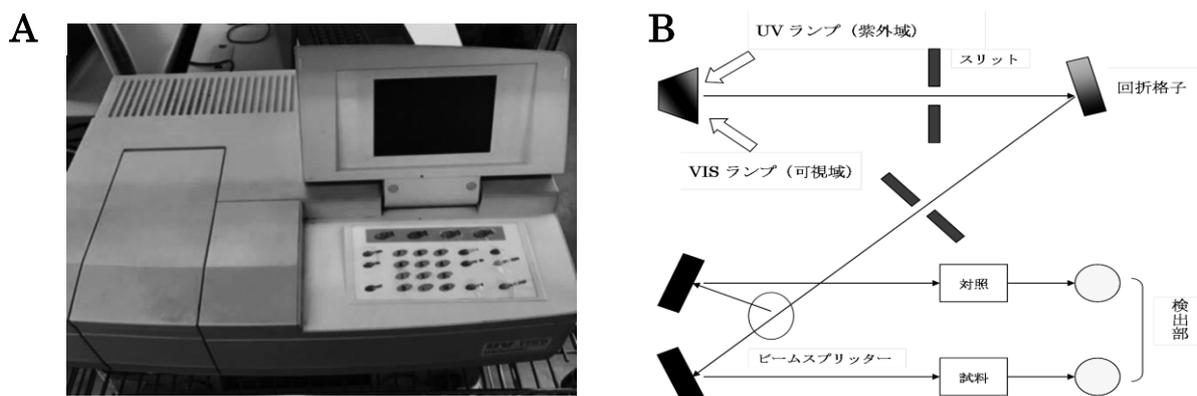


図 3.2 分光光度計 UV-1700 (A: 装置全体, B: ダブルビーム方式)

吸光度法による定量分析においては, 最初に標的物質の λ_{\max} 値を基準とした吸光度と溶質濃度の関係を表す検量線を作成することになる.

図 3.3 は検量線の例として, Cr の試薬 (富士フィルム和光純薬: 旧 和光純薬) を透析液に溶解し, 濃度が 4.0, 3.0, 2.0, 1.0, 0.5mg/dL となる既知濃度の水溶液を作成後に分光光度計 UV-1700 にて測定した Cr の λ_{\max} 値である 236nm での UV 吸光度と既知濃度の関係を表したものである.

UV 吸光度と Cr 濃度間に有意な正の直線性があることを確認後に、未知濃度の検体を定量する際には検量線の式である $y = 0.5919x + 0.0847$ (y: 吸光度, x:濃度) に測定した吸光度を代入することで定量分析が可能となる。

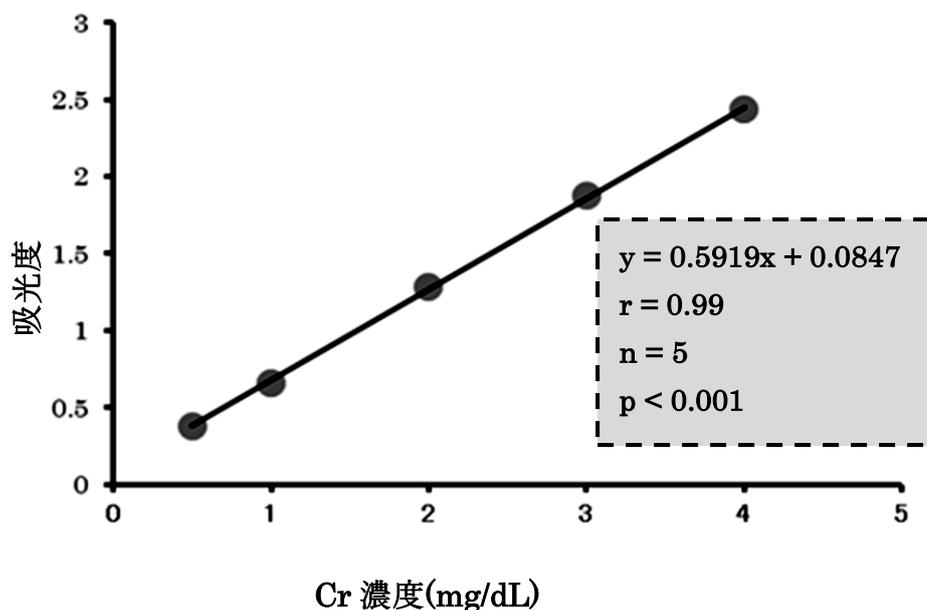


図 3.3 Cr を用いた検量線の例

3.4 節 生化学分析装置について

第4章で透析排液中の尿毒症性物質濃度を測定する際に生化学分析装置である富士富士ドライケム 3500 (富士フィルム社) を使用した (図 3.4, A)。

本装置は、ディスクリット方式の一種であるドライケミストリーを採用しており、測定したい試料を精密に計量した後に特定の試薬と反応させることで生じる発色量を比色分析し濃度に換算する方式である。

富士ドライケム 3500 の基本原理は酵素法による測定手法である。専用の試薬はドライケムスライドに塗布されており、装置内で計量された検体をスライドチップに点着させることで試薬と反応させる。

試薬となる酵素はある特定の物質のみに反応するタンパク質であり、酵素と結合することで生成物を形成する。さらに、この生成物が酸塩基指示薬と反応することで生じる色素変化量を濃度に変換する。例えば、UA を測定する場合、スライドチップ内でウリカーゼと呼ばれる酵素により加水分解されることで生じる過酸化水素がジアリールイミダゾールロイコ色素を青色変色させる。

尿素については、スライドチップ内で酵素ウレアーゼによって尿素がアンモニア (NH_3) と二酸化炭素 (CO_2) に分解する際に生じた NH_3 がブロムクレゾールグリーンと反応させることで緑色色素となる。Cr についても同様に、酵素クレアチニンデイミナーゼの働きにより Cr が分解されて NH_3 が発生する。この NH_3 がブロモフェノールブルーを青色変色させる。

ドライケムスライドは図 3.4, B に示すような層状の構造体であり、測定項目によってスライドチップ内の層の数は異なるが、展開層では、点着された検体を均一に分布させ、下の層へ順番に酵素などで生じた成分やガスを透過させ、検出層に到達した青色や緑色の色素を吸光光度法による比色分析によって濃度に変換後に分析装置本体に内蔵されたプリンタに測定結果が出力される。

A



B

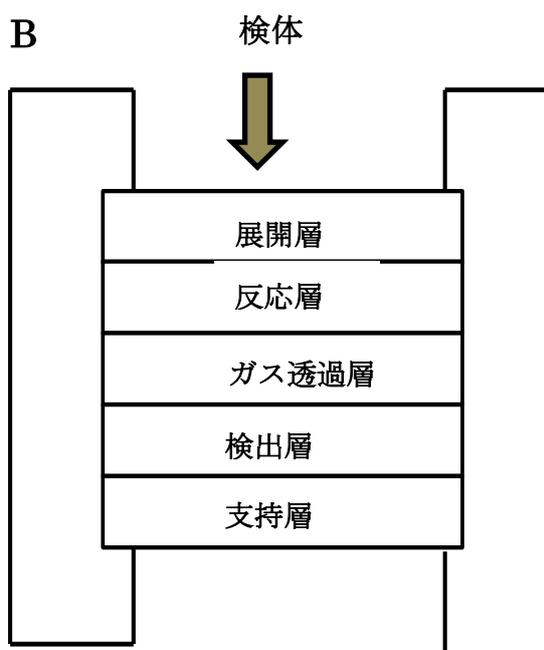


図 3.4 富士ドライケム 3500 (A: 装置本体, B: ドライケムスライドの構造)

3.5 節 結言

本章では、3.2 節で研究に必要となるランバート・ベールの法則と吸光度を取り上げた。吸光光度法では、吸光度と濃度の関係を示す検量線を用いて物質を定量し、波長と吸光度の関係である吸光スペクトルから有機化合物の構造などを特定できることを説明した。3.3 節においては、これらを測定するために必要な分光光度計の仕組みについて述べた後で、吸光光度法によって標的物質の定量を行う場合には、初めに物質固有の λ_{\max} 値を調べると同時に吸光度と濃度の関係を検量線で表す必要があることを述べた。

吸光光度法は、分光光度計や試薬などがあれば比較的安易に取り扱うことができ、低コストで行える分析法と言える。

また、複数の物質を含む多成分系である水溶液を対象とした場合に測定される吸光度は複数成分の足し合わせ(加成性)となるために、吸光スペクトルを用いた定性分析においては、目的となる物質以外の不純物の存在も解析できる可能性がある。

従って、第 5 章「透析膜洗浄排液成分モニタリング」に関して、ダイアライザ洗浄成分中に含まれる PVP 以外の血液回路からの不純物も解析できる可能性がある。

さらに、生化学分析装置は血液や尿などの体液成分を測定する装置であり、近年では健康診断や治療効果の判定などで使用されており、現代医療では欠かせない分析装置の一つである。3.4 節では、実験で用いた生化学分析装置である富士ドライケム 3500 について、酵素法に準じた測定方法を採用し、酵素反応の結果として最終的に生じた発色色素量を吸光度に変換することで定量していることを説明した。

第4章 尿毒症性低分子物質を対象とした透析排液成分モニタリング

4.1節 諸言

血液透析治療の主たる目的は、第2章で述べた通りに除水と老廃物除去であると言える。除水に関する吸光度を利用した光学的な技術には、赤外光領域を用いたものに血液量モニタがある²¹⁾。除水による透析治療中の循環血液量の変化率を非観血的・連続的にモニタする装置であり、除水による血管内水分変化量の監視により治療中の血圧低下を予測することができ、現在では除水管理やDWの評価に役立っている。

さらに、透析装置内部にも透析膜の破損（リーク）による透析排液中の漏血の有無を調べる際の漏血計も赤外光による吸光度を利用した技術である。

このように、吸光度を利用した透析技術は数多く存在する中で、UV領域の吸光度を利用した透析関連技術には透析排液成分モニタがあり、透析排液のUV吸光度変化からKt/V値あるいは尿素除去率(URR：Urea Removal Rate)をモニタリングする装置である²²⁾。

本章においては透析排液成分モニタに関する研究を主題に、4.2節で代表的な尿毒症性小分子であるCr, UA, 尿素についての説明をした後で、4.3節と4.4節で透析排液成分モニタの原理と各小分子物質のUV吸光スペクトルとその性質を示す。

4.5節及び4.6節においては、透析排液中溶質濃度の実測値とUV吸光度より算出した推測値との相関関係や透析治療経過時間との関連を調べた。

さらに、4.7節では、多変量解析の一つである重回帰分析を利用して、UV吸光度と各種小分子溶質濃度の関連を詳しく解析した。

4.2 節 尿毒症性低分子量物質について

透析治療中に積極的に除去すべき尿毒症性物質は、小分子から大分子までその数は多岐にわたる。特に小分子領域(500 ダルトン以下)においては、Cr, UA, 尿素が代表的な尿毒素として挙げられる。

一般に、透析治療効率を評価するうえで重要視される小分子は尿素であるが、その理由は分子量が 60 と最も小さく、体内での細胞膜を自由に通過できるために全身体液に等しく分布していると仮定できるためである。尿素は、体内で蛋白質が分解された際の窒素(N)により生じるアンモニア(NH₃)が肝臓により無毒化された最終産物である。血液検査で尿素を測定することがあるが、尿素分子の中の窒素を調べるために尿素窒素(UN)という項目で表される。尿素は腎機能の悪化により上昇することから、古くから腎機能評価として用いられている。同様に、腎機能悪化により上昇するのがCrであり、筋肉由来の最終産物である。Crの生成量は、性別、年齢、栄養状態などによって大きく変化する。また、Crは腎臓で再吸収されない特性を利用して、腎糸球体濾過量(GFR)の測定に用いられることがある。また、尿素と同じく栄養を評価できるためにUNをCrで除した値(UN/Cr比)は、過剰蛋白質摂取や体蛋白質異化亢進などで有意に上昇する。

体内に蓄積されることで痛風を引き起こす原因となるUAは、プリン体から生成される尿毒素である。プリン体は細胞の代謝による最終産物であり、一部の食品にも含まれる成分である。生活習慣病などにより、体内でUAが蓄積されると高UA血症となり、やがて痛風の危険性が高まる。また、高UA血症と死亡率を調査した報告によれば、血清UA値が6.5mg/dL以上の群では、5.0 - 6.4mg/dL群に比較して有意に死亡率が高く、8.5mg/dL以上の群では腎不全で7倍の死亡率を認めている¹⁸⁾。

UAは痛風発作だけではなく、虚血性心疾患の発症にも関与していると米国の調査にて報告されており^{23~25)}、腎不全患者の死亡率や虚血性心疾患のリスクを考えれば、透析排液成分モニタでUAモニタリングを行う有用性は十分にあると考える。

4.3 節 透析排液成分モニタの原理

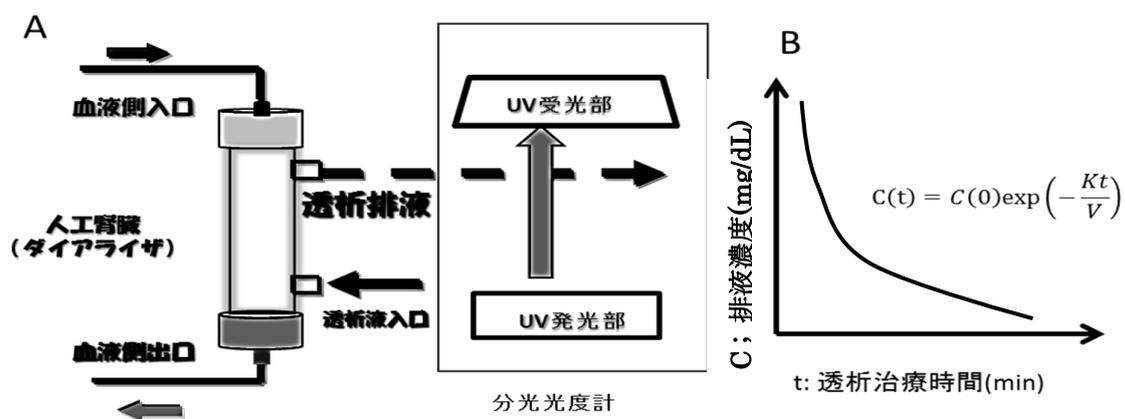


図 4.1 透析排液成分モニタ

A: 透析排液成分モニタの原理, B: 透析時間と透析排液溶質濃度の関係

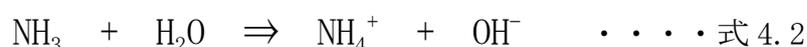
(K : ダイアライザクリアランス , t : 透析時間 , V : 尿素分布容積)

血液透析治療において透析治療効率(Kt/V 値)を評価後に、ダイアライザの種類や透析時間などの治療条件を検討することは患者の生命予後を改善する上で重要となる。

Kt/V 値の算出は Daugirdas の式により、透析治療前後の採血が必要であるために患者への負担やコストを考えた場合に毎治療ごとに Kt/V 値を評価することは困難とされたが、近年開発された透析排液成分モニタ(図 4.1)によって、透析治療中の Kt/V 値のモニタリングや治療後の Kt/V 値を採血を必要とすることなく調べることができるようになった^{26~29)}。また、透析治療中におけるダイアライザ内での血液凝固や脱血不良時の際には瞬間的に治療効率が下がる考えられるが、透析排液成分モニタでこれらの治療中のトラブルを瞬時に検出できる特性も有するとされる²²⁾。

透析排液成分モニタは、本邦では日機装社製の透析装置で透析量モニタ (DDM : Dialysis Dose Monitor) という名称で臨床使用されている。透析排液成分モニタは血液を用いる代わりに、透析排液中の尿素を用いて Kt/V 値及び URR を推測しているが、これまで透析排液中の尿素測定には尿素ウレアーゼ法が考案された経緯がある³⁰⁾。尿素ウレアーゼ法は、式 4.1(ウレアーゼ反応)と式 4.2 に示すように尿素(N_2H_4CO)と

ウレアーゼ酵素を反応させ、生じる NH_4^+ (アンモニウムイオン) をイオン選択性電極で検出後に尿素濃度に変換する手法である。



この手法は費用面などの理由により実用化に至らなかったが、近年、UV-LED (紫外光領域の発光ダイオード) が開発されたことで吸光度法の原理を利用して、透析排液中の溶質濃度変化を透析排液成分モニタにより簡易的にモニタリングすることが可能となり³¹⁾、透析排液の UV 吸光度から血中尿素濃度を推測することで Kt/V 値や URR を算出できるようになった。

この透析排液成分モニタは図 4.1A に示すように、透析排液ライン間に UV 発光素子と UV 受光素子を配置し、透析治療中の透析排液に対して波長 280 nm 帯の UV を照射した際の UV 吸光度を連続的に測定することにより、透析排液中の組成変化をモニタリングする仕組みである³²⁾。透析排液には、ダイアライザ通過後の透析膜を介して除去された尿毒症性物質が含まれ、その溶質濃度は透析治療の初期段階で大きく、治療が経過するにつれて薄くなるために、透析治療時間と溶質濃度の関係は指数関数で表されることになる³³⁾ (図 4.1B)。UV 波長 280 nm から 320 nm の UV 吸光度は、尿素を含む小分子量物質を測定する場合に適しているとの報告があるものの³⁴⁾、特に 280nm 帯の波長では尿素がほとんど UV 吸収しないことが確認され^{31,32)}、我々も UV 波長全体を通して尿素の UV 吸収が著しく微小であることを確認した。³⁵⁾ 従って、透析排液中の尿素成分の直接的な吸光度測定は困難であり、それに伴う尿素を指標とした透析排液成分モニタが可能である根拠は明らかではなく、実際には尿素に近い小分子を測定していることになる。透析排液成分モニタは、これまで尿素を主体として研究・開発に着手され実用化へと進展した。透析治療中に積極的に除去すべき尿毒素は Cr や UA も含まれるはずであるが、これらを対象とした透析排液成分モニタは実用化に至っていない。本研究では、尿素に近い小分子である Cr と UA を対象とした新規透析排液成分モニタを検討すると同時に、これらの小分子が尿素を指標とする透析排液成分モニタに与える影響について明らかにしていく。

4.4 節 尿毒症物質の紫外光吸光スペクトルとその性質

過去に透析排液成分モニタはフーリエ変換赤外分光計 (FTIR) を用いた方法が提案されたことがあるが³⁶⁾, 一般的には UV 領域の波長で普及に至っている.

従って, 透析排液成分モニタで測定を可能とする物質は UV を吸光することが望ましく, 分子構造中に $>C=O$ (カルボニル基) を有する物質は UV を吸光する性質を示す²⁰⁾.

本節では, 尿毒症性低分子量物質且つ, $>C=O$ を有する Cr (分子量 113) と UA (分子量 168) の UV 吸光特性を尿素 (分子量 60) と比較するため, 透析液 (キンダリー AF 2 号, 扶桑薬品) に Cr と UA 及び尿素の各試薬 (富士フィルム和光純薬: 旧 和光純薬) を溶解し, Cr と UA の溶質濃度がそれぞれ 1.0 mg/dL 及び 3.0 mg/dL, 尿素は 10mg/dL 及び 40mg/dL となる水溶液を作成後に UV 吸光スペクトル測定と極大吸収波長 (λ_{max} 値) の比較を行った.

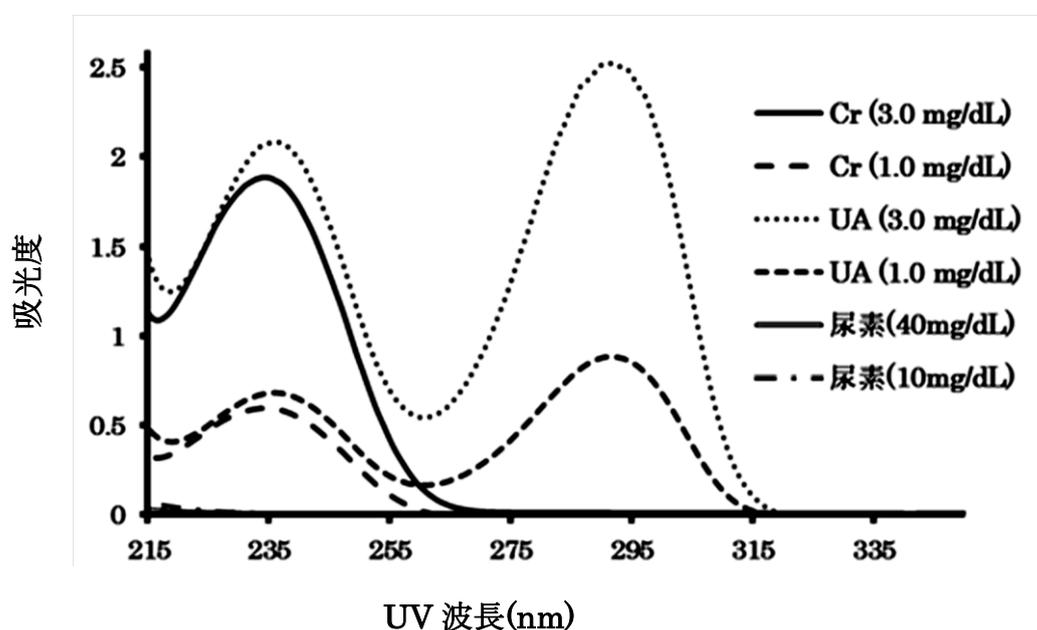


図 4.2 尿毒症性物質の UV 吸光スペクトル

Cr, UA, 尿素有各試薬を成分別に透析液に溶解し (単成分系), 分光光度計 UV-1700 を用いて UV 吸光スペクトルを比較した. Cr と UA は波長 236nm 付近で最も UV を吸収しやすく, UA はさらに波長 290nm 付近も吸収しやすい特性があることが分かる. 尿素は 230nm 付近に微小な UV 吸収を認めた.

Cr と UA の両者は共通して UV 波長 236 nm に λ_{\max} を示し、UA はさらに UV 波長 290 nm にも λ_{\max} 値を示す UV 吸光スペクトルを認めた(図 4.2)。尿素は 280nm の前後で UV 吸光を認めなかったが、230nm 付近に微小な UV 吸収を示すことが確認された。

UV 吸収を示す物質は $>C=O$ を持つものだけではなく、環状骨格に由来する場合もある¹⁹⁾。尿素は Cr や UA と異なり環状骨格を持たないために、UV 吸収が微小であると考えられる。透析排液成分モニタは、透析排液中の尿素を測定するために UV 波長 280nm 帯の UV 吸光度が使用されているが、実際にこの波長帯を強く吸収する小分子は UA だけであることは明らかであり、少なからず UA が透析排液成分モニタに強く影響を与えることが考えられた。

4.5 節 尿毒症物質の排液実測濃度と排液推測濃度の相関性

第2章では、透析排液には尿素を代表とする多くの尿毒症性物質が含まれていることを示した。本章 4.4 節においては、Cr と UA は明らかな UV 吸収を認めた一方で、尿素はほとんど UV 吸収を認めないが、既存の透析排液成分モニタは UV 吸光度で尿素モニタリングを確実なものとしていることを述べた。この根拠は 4.7 節で述べる。

本節では、実際の透析排液中の Cr、UA、尿素の各実測濃度と UV 吸光度により算出した推測濃度の相関関係を中心に解析を試みた。

実際の透析現場より、治療開始 5、60、120、180、240 分目の透析排液を採取した。これらの透析排液に対して Cr と UA の λ_{\max} 値である 236nm と 290nm の UV 波長及び既存の透析排液成分モニタで使用されている 280nm での UV 波長にて吸光度をそれぞれ調べ、これら UV 波長を基準とした各種溶質での検量線より排液推測濃度を算出し、生化学分析装置ドライケム 3500 により測定した排液実測濃度との相関関係を調べた。

なお、透析排液の採取は、透析排液ラインのサンプルポートより透析患者 6 名を対象に行った。ただし、排液推測濃度を算出する場合に用いる検量線は実際の透析排液を用いなければならず別途、検量線作成用の透析排液として透析患者 3 名分の透析排液を使用した。

各波長(236nm, 280nm, 290nm)を基準として, Cr, UA, 尿素の検量線は表 4.1 に示す通りとなった. 全ての検量線は吸光度(y)と溶質濃度(x)の間に有意な正の相関を示すことを確認した(p < 0.001).

表 4.1 検量線の式

UV 波長	溶質	検量線の式(y:吸光度, x:溶質濃度)	r 値	p 値
236nm	Cr	$y=1.4715x + 0.1056$	0.91	< 0.001
	UA	$y=1.2894x + 0.7795$	0.93	< 0.001
	尿素	$y=0.1341x + 0.6367$	0.95	< 0.001
280nm	Cr	$y=0.7245x - 0.1237$	0.90	< 0.001
	UA	$y=0.6650x + 0.1807$	0.96	< 0.001
	尿素	$y=0.0644x + 0.1538$	0.91	< 0.001
290nm	Cr	$y=0.8215x - 0.1738$	0.90	< 0.001
	UA	$y=0.758x + 0.1678$	0.97	< 0.001
	尿素	$y=0.0704x + 0.1662$	0.89	< 0.001

検量線の式は, 切片が 0(原点通過)になるのが理想となるが, 今回調べた検量線式は厳密には原点を通過していない. 吸光度法において, 検量線の切片はブランク(0mg/L)での吸光度の平均値であるとされ³⁷⁾, 上記の式に対して実吸光度(y)を代入すると濃度(x)を求める際に自動的にブランク吸光度で補正されることになることから, 表 4.1 の各検量線式を採用した.

それに関連して, 実際の透析排液の UV 吸光スペクトルを測定した場合には(図 4.3), 多成分系であるが故に波形は複雑な形となり, その λ_{max} 値は 230nm と 280nm 付近で認めた. 吸光度法にて検量線による定量分析を行う場合には, 物質固有の λ_{max} 値を基準にする場合が多く, 透析排液成分モニタにおいては透析排液の λ_{max} 値の一つである 280nm 帯を採用する理由が納得できる.

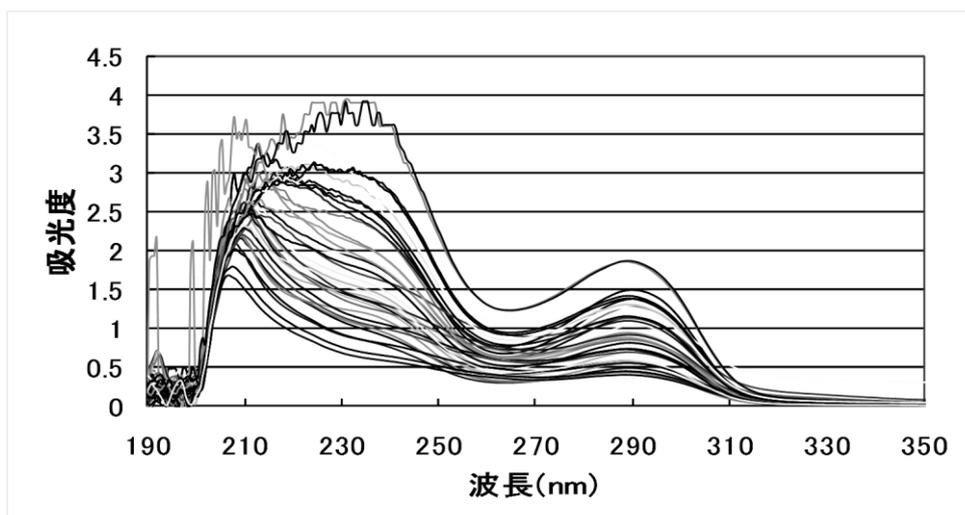


図 4.3 実際の透析排液の UV 吸光スペクトル

実際の透析排液は、Cr, UA, 尿素がすべて含まれている為に、その UV 吸光スペクトルは複雑な形となる。特に、270nm から 310nm での UV 波長は UA の吸光スペクトルを大きく反映していることが分かる。

ここで、表 4.2 で Cr, UA, 尿素の排液実測濃度と排液推測濃度の相関係数の比較を各 UV 波長別に示す。ただし、全ての排液実測濃度と排液推測濃度で正規性の検定を実施した結果、正規分布であることを確認したため、統計解析として相関係数 (r 値) にはパラメトリック検定であるピアソンの積率相関係数 (Pearson's product-moment correlation coefficient) を採用した。

表 4.2 排液実測濃度と排液推測濃度の相関関係

UV 波長 (nm)	尿毒症性 低分子量物質	r 値	P 値
236nm	Cr	0.96	< 0.001
	UA	0.88	< 0.001
	尿素	0.78	< 0.001
280nm	Cr	0.92	< 0.001
	UA	0.97	< 0.001
	尿素	0.87	< 0.001
290nm	Cr	0.89	< 0.001
	UA	0.99	< 0.001
	尿素	0.91	< 0.001

すべての相関関係について、 r 値は 0.5 以上かつ p 値が 0.05 未満である場合を統計学的に有意な相関関係と判断した。

その結果、Cr は UV 波長 236nm にて最も r 値は高く $r = 0.96$ ($n = 27$, $p < 0.001$) と UV 波長 280nm と 290nm における r 値に比し高い相関関係を示し、低波長ほど r 値が高くなる傾向を示した。

UV 波長 290nm を基準とした場合は、UA ($r = 0.99$) と尿素が $r = 0.91$ ($n=27$, $p < 0.001$) と UV 波長 236nm と 280nm に比し高い相関関係を示した。

UV を吸光しない尿素で r 値の大小はあるもののすべての UV 波長で有意な正の相関を認め、特に UA の λ_{\max} 値である 290nm で尿素の r 値が最高となったことから、UA によって示される吸光度値と透析排液中の尿素がよく相関するものと思われた。

さらに、Cr と UA は互いに波長 236nm に λ_{\max} 値を有することから、236nm の吸光度値は Cr と UA が干渉している可能性が示唆された。そこで、排液実測濃度を用いて波長 236nm での Cr と UA のそれぞれの吸光度値 (median (25-75 percentail)) を求め、ウィルコクソンの符号付順位和検定 (Wilcoxon signed rank test) により比較したところ、Cr が 0.79 (0.62 - 1.15)、UA が 0.57 (0.39 - 0.91) と Cr が与える吸光度が有意に高値 ($p = 0.0002$) を示していた (図 4.4)。

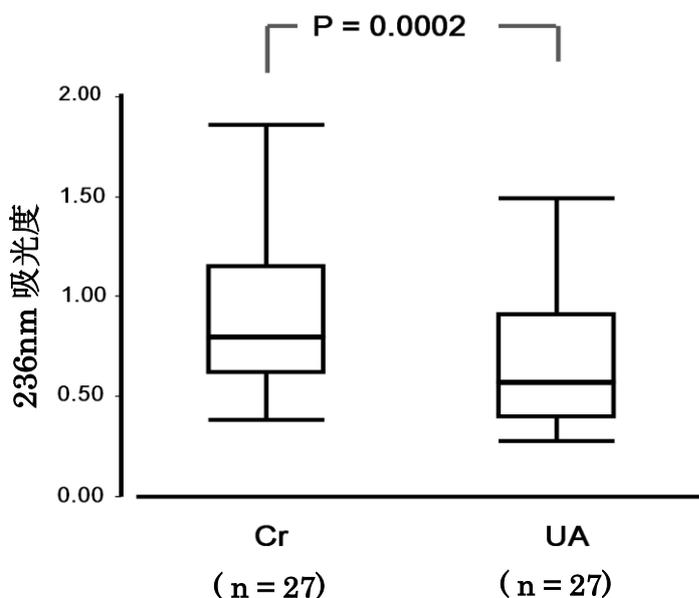


図 4.4 波長 236 nm での Cr と UA の吸光度比較 < box plot >

Cr と UA の排液実測濃度を用いてそれぞれの濃度を与える 236nm 吸光度値を算出し、ウィルコクソンの符号付順位和検定により比較した結果、236nm の UV 吸光度は UA よりも Cr が大きく影響していることが分かる。

また、この分析で求めた Cr 吸光度と UA 吸光度を合計した吸光度 (Cr + UA 吸光度) と 236nm での実吸光度の相関関係を調べたところ、 $r = 0.96$ ($n=27$, $p<0.001$) と有意な相関を認めた (図 4.5)。これは、236nm での実吸光度は Cr と UA が干渉していることを表す結果である。従って、波長 236 nm での吸光度を用いた場合には Cr と UA による干渉を受けるものの、図 4.4 の結果から UA よりも Cr で優れた透析排液成分モニタが可能であると推察された。

干渉という点に着目すれば、Cr や尿素は UV 波長 280nm や 290nm (UA の λ_{max} 値) で UV 吸収を認めないことから、これらの波長は UA において 236nm の場合に比し良好になったものとする。

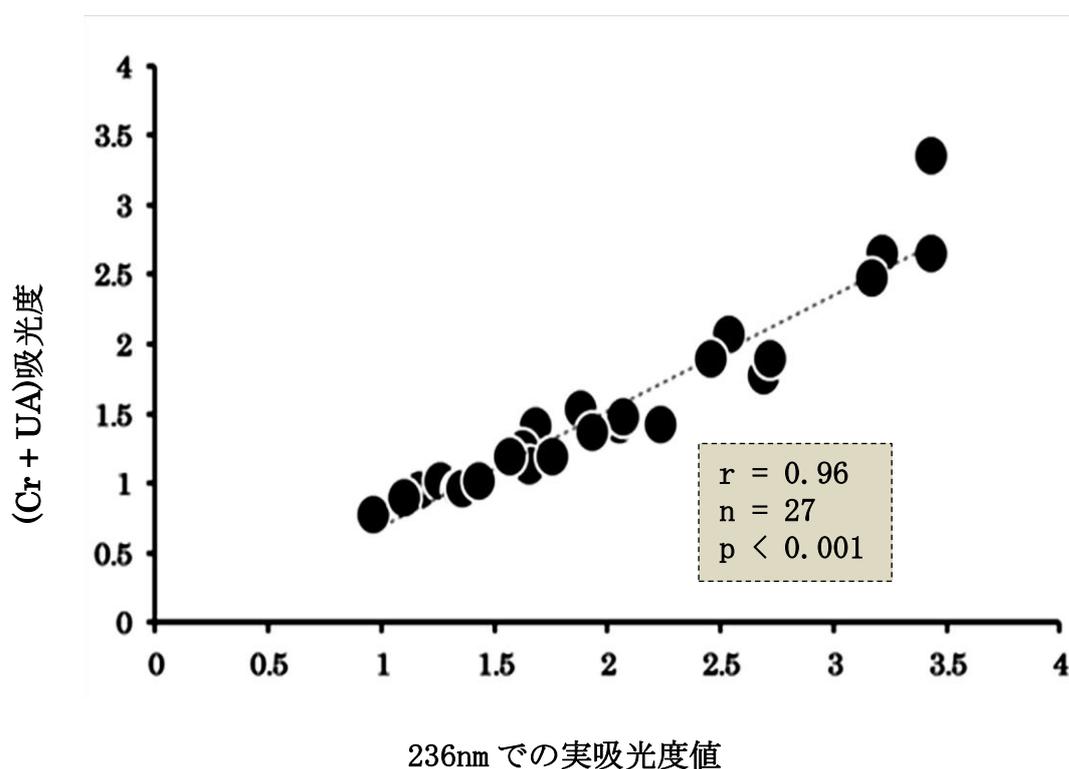


図 4.5 波長 236 nm での実吸光度と (Cr+UA) 吸光度の相関

透析排液の UV 波長 236nm での吸光度と実測濃度より逆算して求めた Cr と UA の吸光度を合計した値との間に有意な正の相関を認めた。これは、波長 236nm での透析排液の吸光度は、Cr と UA の干渉を受けていることを表す結果である。

4.6 節 透析治療経過時間と透析排液溶質濃度の関係

本節では、4.5 節で求めた排液実測濃度と排液推測濃度の相関関係に関して、相関係数(r 値)が高値となった UV 波長を基準(Cr は 236nm, UA と尿素は 290nm)として、各溶質別の透析経過時間 (min) に対する排液実測濃度と排液推測濃度の関係を近似曲線と指数関数式で表し比較検討した。

なお、実測及び推測濃度のデータ分布が正規分布であることから、各治療時間経過時の溶質濃度を mean ± S.D. で表した。

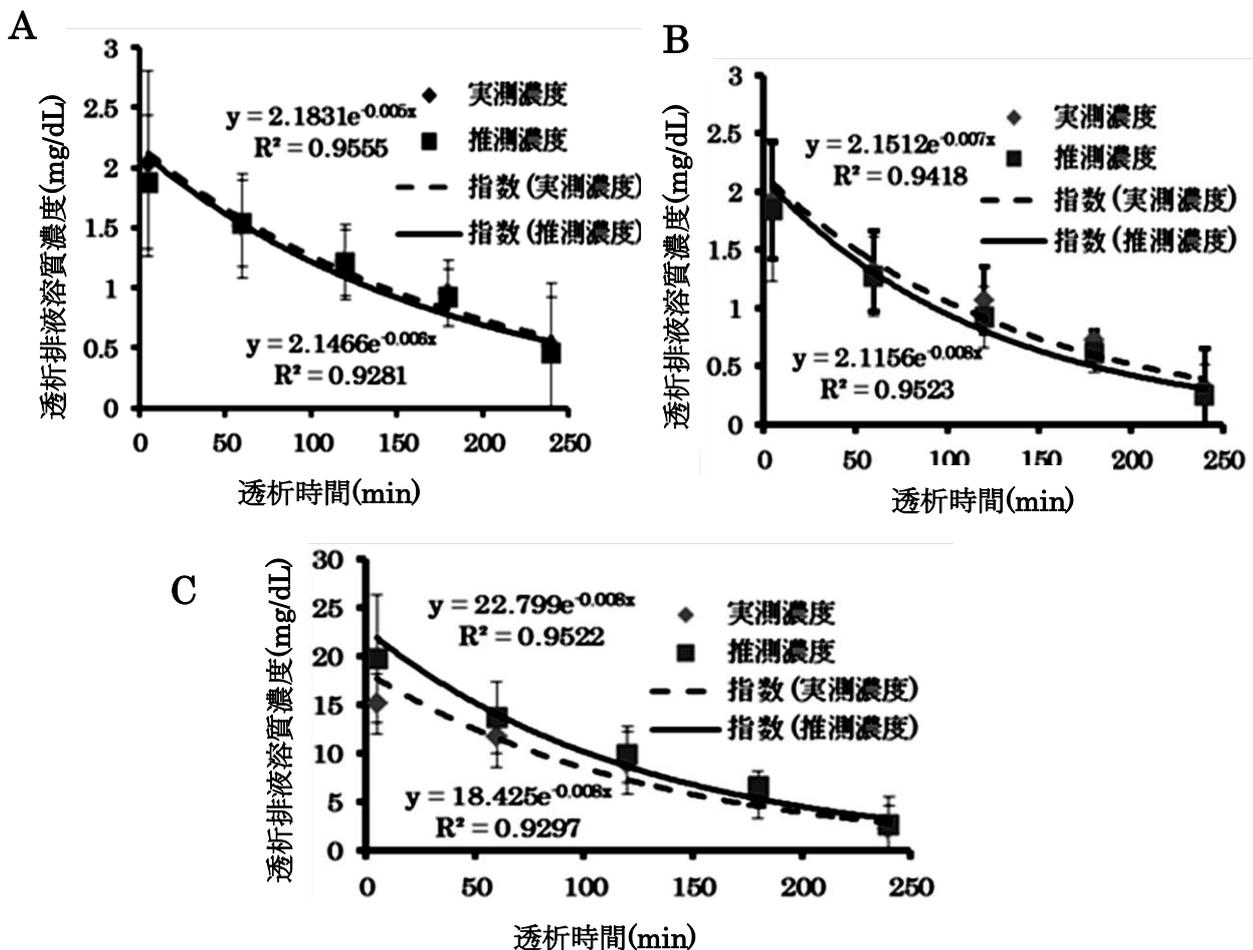


図 4.6 透析経過時間と透析排液濃度の関係
(A: Cr [236 nm], B: UA [290 nm], C: 尿素[290 nm])

横軸に透析時間、縦軸に溶質濃度を表す。すべての溶質で実測濃度と推測濃度の時間的な推移はよく近似していることが分かる。

透析経過時間と透析排液濃度の関係を実測・推測濃度の近似曲線と指数関数式を用いて比較検討した結果を図 4.6 に示す(y : 濃度, x : 透析経過時間).

波長 236 nm を基準に Cr の濃度と透析経過時間の関係を表す指数関数式は, 実測濃度で $y = 2.18\exp(-0.005x)$, 推測濃度で $y = 2.14\exp(-0.006x)$ と互いの近似曲線は極めて近似していた(図 4.6, A). UA については, 波長 290 nm を基準とした場合で実測濃度は $y = 2.15\exp(-0.007x)$, 推測濃度は $y = 2.11\exp(-0.008x)$ と表され, 互いの関係は近似しており(図 4.6, B), 同様の波長を基準に尿素の実測濃度は $y = 18.4\exp(-0.008x)$, 推測濃度については $y = 22.7\exp(-0.008x)$ となり, 特に治療後半時点から実測濃度と推測濃度が近似する傾向を示した(図 4.6, C).

これらの結果より, Cr と UA は透析治療の最初から最後まで, 実測濃度と推測濃度の近似曲線は極めて重なっており, 尿素よりも精度の高い透析排液成分モニタが可能であると推察された.

4.7 節 重回帰分析を用いた吸光度解析

透析排液成分モニタは吸光度から溶質濃度を求めるため, 濃度算出時には各波長を基準とした検量線を用いなければならない. しかしながら, 4.4 節で記した検量線は多成分系である実際の透析排液を用いて作成しているために, 各波長での吸光度は Cr, UA, 尿素が合計されたものとなる. このような場合には, 実測濃度と推測濃度の相関性を調べる際に疑似相関(Spurious correlation)と呼ばれる新たな問題が発生することになる. 疑似相関とは, 実際には2変数間で相関が無いにも関わらず, 見かけ上は相関が出てしまう場合や r 値の過大・過小評価にも直結する現象を表し, 他の3つ目以降の変数が本来調べたい2変数間の相関に影響を与えているのが原因とされている. このように, 相関分析を実施する場合には疑似相関の危険性を疑うべきであるが, ピアソンの積率相関分析ではそれを判断できない.

そこで本節では, 重回帰分析を用いて吸光度と溶質濃度の間の偏相関係数(Partial correlation coefficient, r_p 値)を調べ, 表 4.2 で示した透析排液実測濃度と推測濃度の相関関係における信頼性について検討した.

表 4.3 重回帰式と r_p 値の解釈

重回帰式	
吸光度 = $A \times (\text{Cr 濃度}) + B \times (\text{UA 濃度}) + C \times (\text{尿素濃度}) + \text{定数項}$	
*A, B, C : 偏回帰係数	
r_p 値の解釈	
①	Cr の r_p 値 : UA と尿素の影響を取り除いた時の吸光度と Cr 濃度との相関係数
②	UA の r_p 値 : Cr と尿素の影響を取り除いた時の吸光度と UA 濃度との相関係数
③	尿素の r_p 値 : Cr と UA の影響を取り除いた時の吸光度と尿素濃度との相関係数

表 4.4 重回帰分析の結果

UV 波長 (nm)	測定物質	偏回帰係数	P 値	r_p 値
236nm	Cr	0.86	< 0.001	0.87
	UA	-0.15	0.486	-0.15
	尿素	0.33	0.047	0.40
280nm	Cr	0.33	< 0.001	0.75
	UA	0.73	< 0.001	0.77
	尿素	-0.03	0.747	-0.07
290nm	Cr	0.23	< 0.001	0.65
	UA	0.74	< 0.001	0.80
	尿素	0.05	0.544	0.12

重回帰式と r_p 値の解釈を表 4.3 に、表 4.4 に重回帰分析を実施した結果を示す。重回帰式とは、ある UV 波長での吸光度は Cr, UA, 尿素の各実測濃度に対して A, B, C という偏回帰係数を乗じて全て加算することで値が予測できることを表す式である。

偏相関係数を表す r_p 値は、通常相関係数と同様、「-1(負の相関)」または「1(正の相関)」に近いほど優れた相関関係を表すことになる。

表 4.4 より、 r_p 値が最も優れていたのは、Cr は 236nm ($r_p = 0.87$) であり、UA は 290nm ($r_p = 0.80$) の時であった。 r_p 値は大きいほど、吸光度と溶質濃度の関係性は強いと考えられ、当然ながら、実測濃度と推測濃度の相関関係もそれに応じ

て優れることになる。表 4.2 で示したように、Cr と UA の実測濃度と推測濃度の相関関係は概ねそれらの UV 波長で最も優れた結果を認めていることから、Cr は 236nm で UA は 290nm を透析排液成分モニタで用いる根拠として正しいと考えられた。

一方で、尿素の r_p 値は 236nm ($r_p = 0.40$) で最も高値を示した。これは、図 4.2 の各小分子の UV 吸光スペクトルにおいて、尿素は 230nm 付近でわずかに UV 吸光を認めていることが分かる。つまり、透析排液に対して 236nm の UV 吸光度を測定した場合には、Cr と同時に尿素的微量な UV 吸光を検出しており、結果として尿素の r_p 値が他の 2 波長よりも良好な結果を示したと推察された。さらに、尿素の r_p 値は 280nm 以上で著しく低値を示し、Cr や UA はこれらの波長で高い r_p 値を示すことから、280nm 以上の UV 波長は小分子領域では、Cr と UA が中心的に働いていることが推察された。従って、290nm にて尿素の実測濃度と推測濃度の r 値が高値を示した理由として、Cr と UA によって与えられた疑似相関であることが重回帰分析の結果により明らかとなった。4.4 節にて、実測濃度と推測濃度の r 値で Cr は低波長ほど、UA は高波長ほど改善する傾向を認めた(表 4.2)。これは r_p 値においても同様の傾向があることが確認できた。

4.8 節 結言

本章では、尿毒症性低分子量物質である Cr, UA, 尿素的の 3 種を対象にそれぞれの透析排液成分モニタについての分析や比較検討を試みた。透析排液成分モニタの利点は、毎透析治療時の Kt/V や URR を採血を必要とすることなく評価できる点が挙げられ、在宅透析への応用が期待できる。しかしながら、 Kt/V や URR を評価するために必要な指標である尿素的に近似する物質を用いた透析排液成分モニタは既に実用化に至っているが、尿素的自体が UV をほとんど吸光する特性を持たないことから、透析排液成分モニタにより本来、尿素的を指標とした Kt/V や URR のモニタリングが可能である根拠は不明である。本研究では、Cr と UA を用いた新たな透析排液成分モニタの可能性及びそれらの小分子を指標として、尿素的の透析排液成分モニタについての分析を中心に検討を試みた。4.2 節では、主な尿毒症性低分子量物質として Cr, UA, 尿素的を取り上げ、4.3 節で透析排液成分モニタは透析排液中の尿素的成分を UV 吸光度による連

続的な測定により、透析治療中に Kt/V 値や URR をモニタリングする装置であることを述べると同時に、尿素には UV 吸光特性はほとんどなく、Cr や UA を対象とした透析排液成分モニタは実用化していないことを説明した。4.4 節では、各小分子の UV 吸光スペクトルを比較した結果、Cr と UA の UV 吸光スペクトルは吸光度が 0.1 以上と大きく、共通して λ_{\max} 値となる UV 波長が 236 nm であることも明らかにし、4.5 節及び 4.6 節では波長 236nm にて Cr と UA の透析排液成分モニタを検討した際には、透析排液中の実測濃度と推測濃度の相関関係は Cr で優れた結果を認め、この波長を用いた Cr の透析排液成分モニタが可能であることを確認した。UA に関しては、UV 波長 290 nm にも λ_{\max} 値を認めるが、この波長を基準とした場合には UV 吸光を認めない Cr と尿素による干渉がないために実測濃度と推測濃度の相関関係は最も優れた結果を示すとともに、この波長を用いた UA の透析排液成分モニタが可能であることを認めた。

尿素に関しては、4.7 節で各 UV 波長での吸光度と溶質実測濃度を用いた重回帰分析による偏相関係数 (r_p 値) を各波長で比較した結果、透析排液成分モニタで使用されている 280nm 帯の UV 吸光度の大きさは Cr と UA で成り立っており、これら 2 成分による吸光度により UV 吸光を示さない尿素での透析排液成分モニタが可能であることを明らかにした。さらに、重回帰分析の結果で明らかとなったのは、尿素の r_p 値は 236nm にて高値であったこと、つまりは UV 吸光度と透析排液中の尿素濃度の関係はこの波長にて深く、将来的に透析排液中の Cr, UA, 尿素を成分別に分けることができた際には、透析排液中尿素測定に 236nm を用いるべきであることを示唆する結果であった。透析排液成分モニタは、UV 領域の発光ダイオード (UV-LED) が構成部品として必要となるが、現在は波長が 250nm から 400nm の範囲内のみでしか製品化されていない。透析排液成分モニタを設計する際に適した波長範囲が 290 nm から 330 nm であるとの報告があり³⁴⁾、製品化された UV-LED は十分にその範囲内に適しているが、Cr を評価対象に入れるならば、さらに低波長での UV-LED の開発が望まれる。また、透析排液成分は小分子だけでなく、中大分子領域の成分も含まれており、それらの成分にも UV を吸光する物質は存在する。過去に低分子タンパク領域としてアルブミン (Alb) を用いた透析排液成分モニタの分析及びその影響を記した報告によれば、Alb は 280nm の UV 波長を吸光するが、その影響は少ないとしている^{31,38)}。従って、透析排液成分モニタで計測される UV 吸光度に及ぼす影響は小分子領域が大きいと考える。

第 5 章 透析膜洗浄排液成分モニタリング

5.1 節 諸言

PS 膜ダイアライザを用いて血液透析を実施した際に、多くの生体反応を来す症例が多く存在し、この要因の一つとして、PS 膜に配合されている親水剤 PVP の関与が指摘されている³⁹⁻⁴²⁾。また、実際の体外循環時に PS 膜表面から溶出した PVP が血液中へ負荷されていることを示唆する報告もあり⁴³⁾、事前に透析治療を行う前に必ずダイアライザを洗浄するが、洗浄液中に PVP が検出される⁴⁴⁾。

さらに、PVP は UV を吸光する特性を有することから、透析排液成分モニタの原理を応用して、PS 膜ダイアライザ洗浄中の排液に対する UV 吸光度から洗浄液中に溶出した PVP 量を評価できる可能性がある。

そこで本章では、血液透析における新たな排液成分モニタ技術として、UV 吸光度を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ技術を中心に、5.2 節では PVP の特性と生体反応について示すとともに、5.3 節においては、PVP と PS 膜ダイアライザとの関連を述べる。5.4 節及び 5.5 節では、PVP 測定法として Müller 法と UV 吸光スペクトル波形から PVP を測定する手法について述べ、両者の測定精度の比較を 5.6 節に示した。

5.7 節では、透析膜洗浄排液成分モニタの概要について説明後に、5.8 節で透析膜洗浄排液成分モニタの検証として、種々の PS 膜ダイアライザを用いた水系実験による研究結果を示し、5.9 節で可塑剤を中心とした血液回路からの溶出物について検討した。

5.2 節 PVP と生体への影響

PVP は化学式 $(C_6 H_9 NO)_n$ で示される合成高分子化合物であり，その構造式は図 5.1 の形式で表される。

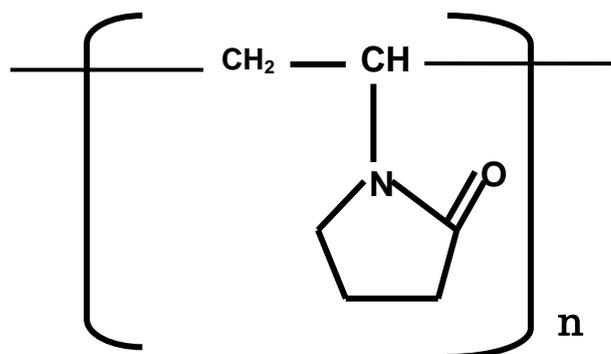


図 5.1 PVP の化学構造

1-ビニル-2-ピロリドンによって PVP が合成され，分子構造中に親水性と疎水性の両方を併せ持つポリマーであり，別名ポピドンと呼ばれることもある。

物理化学的性質として，PVP は白色の粉末で吸湿性があり，水やアルコール類，クロロホルム，ピリジンなどに溶けるがアセトンには溶けにくく，ベンゼンや四塩化炭素などにはほとんど溶けないとされる⁴⁵⁾。

PVP は 1-ビニル-2-ピロリドンの重合体であるが，分子量が異なる複数の製品が販売され，分子量が 40,000 程度の低分子量品から 360,000 程度の高分子量品まであり，これらは K 値によって分類される。PVP が水に溶けた場合には，粘稠性を示す水溶液となるが，加工セルロース類よりも粘性度は極めて低い⁴⁶⁾。

PVP の一般的な使用例について，本邦では医薬用錠剤の結合剤，皮膜形成剤，分散剤やクリームやスプレーなどの結合剤などに用いられることがある⁴⁶⁾。

食品分野においては，欧米ではビタミン・ミネラル錠剤の結合剤や合成甘味料錠剤の結合剤，ビタミン・ミネラル液体濃縮物の安定剤などで使用されることがあり，米

国においても白ワインや果実ジュース、食酢などの色調安定剤として使用が許可されている⁴⁶⁾。

本来、PVP は第二次世界大戦時に Hecht⁴⁷⁾らによってドイツで合成された代用血漿剤として用いられていた高分子である。すなわち、PVP の分子量にもよるが、特に中分子PVPは火傷、失血、脱水症などのショック状態時に大量に血液を失った場合の血液量維持のために使用されていた。PVP の代用血漿剤としての効果について、若干の血漿維持効果はあるという Ballman らの報告に対し⁴⁸⁾、Ah-nefeid⁴⁹⁾らは、大きな効果は期待できなかつたと述べている。PVP による代用血漿剤投与後に重要となるのが、体内での PVP の代謝や排泄である。Ravin⁵⁰⁾らは、PVP は体内では分解せずに主に腎臓による尿への排泄であると述べている。さらに、PVP は腎臓での尿細管による再吸収は行われないとされることから、積極的にPVP 溶液を体内に注入し、腎糸球体膜透過性の研究に応用されるようになった経緯がある⁵¹⁾。

次に、PVP の生体へ及ぼす影響について述べる。体内へ投与された PVP の半分程度は組織内に蓄積される傾向があり、Hartman⁵²⁾らは、主に PVP は血管壁、肝臓や腎臓などで、Ravin⁵⁰⁾らのラットによる実験結果においては肝臓や皮膚、骨格筋及び肺などに蓄積することを認めている。

しかしながら、PVP の体内蓄積による目立った影響は見られないとの報告が多数存在する。例えば、外科手術を受ける患者に対して、PVP 溶液を投与した報告では肝機能に影響はなく、Loeffler⁵³⁾らにおいても肝臓や腎臓などに障害を認めなかつたとされる。ただし、網内系機能には影響を認めた報告があり⁵⁴⁾、小島⁵⁵⁾らにおいても全身の網内系細胞に PVP が蓄積された場合に細胞は腫大化し、PVP 投与量が 200g を超えた段階で泡沫化すると述べている。

その他、PVP に関してはアレルギー反応やアナファラキシー様反応を認めなかつた報告⁵⁶⁾や、PVP 自体に抗原性を認めなかつたとする報告がある⁵⁷⁾。

以上に示すように、PVP の生体への作用は数多く報告され、代用血漿剤としての PVP の使用は 1971 年に禁止された⁵⁸⁾。しかし、PS 膜ダイアライザに PVP が使用されている以上は、透析患者にとっては PVP を付加されている可能性が高く、このような状況を見過ごすわけにはいかない。

5.3 節 PVP と PS 膜ダイアライザとの関連

1982 年にドイツのフレゼニウス社によって開発された合成高分子膜が PS 膜であり、今日の透析治療において圧倒的なシェアを誇る透析膜である⁵⁹⁾。

透析膜の材質の中で PS 膜あるいは PES 膜などは疎水性であることから、この状態でダイアライザに血液を充填した場合には、血液中のタンパク質や血小板などが透析膜表面に付着しやすくなり、血液凝固や透析治療効率低下などのトラブルを招く原因となる。また、透析膜は除水のためにある程度の透水性が必要であるが、疎水性の強い PS 膜は極めて透水性が低い膜素材といえる。

一般に、疎水性の強い材質にある種の添加剤を加えることで親水性に変えることが可能であり、その添加剤として PVP が用いられる。

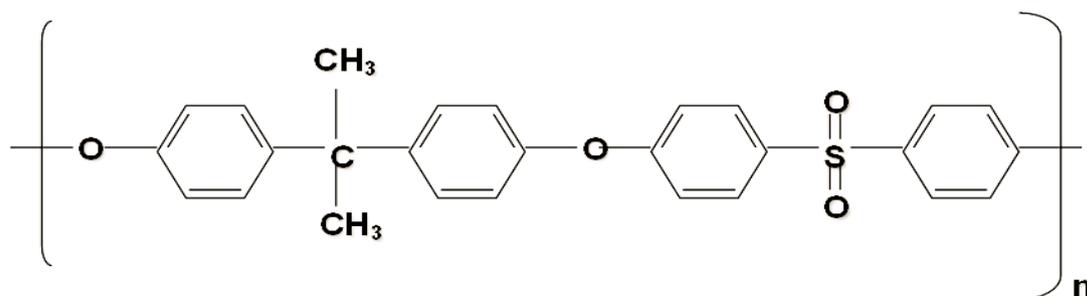


図 5.2 PS 膜の化学構造

PS 膜は、スルホン基 (-SO₂-) とエーテル基 (-O-) を含む繰り返し構造を持った合成高分子化合物である (図 5.2)。PS 膜は、ビスフェノール A とジクロロジフェニルスルフォンを原料に用いたポリマーで、中空糸内面の血液側緻密層から外表面に向けて多孔性の支持層を有するグラジエント構造であり、高い溶質除去性能と透水性を有する。PS 膜は製造が比較的容易であること、安定性や生体適合性に優れており、長期透析患者の合併症の一つである透析アミロイドーシスの原因となる β_2 -ミクログロブリン (β_2 -MG) も除去することが可能であり、アルブミンの漏出がほとんど無い透析膜である。

PS 膜が疎水性を持つ理由は図 5.2 に示すように、ベンゼン環が多く存在するためである。一方で、PVP は図 5.1 のように親水基と疎水基の両方を有しており、PS 膜と PVP の両者の疎水基が結合することにより、PS 膜表面に PVP がコーティングされる形で PS 膜全体が親水化される。PVP の PS 膜に対する効果は、タンパク質や血小板などの吸着抑止だけでなく、膜表面の開孔剤としての役割も果たしていると言われる⁶⁰⁾。

しかしながら、PVP は易水溶性であるために透析治療中に PVP が膜表面から溶出し、透析患者血液に混入することで種々の生体反応を招くこととなる。

従って、透析膜表面の PVP に関する研究や PVP 自体の溶出低減を目指した研究が繰り返行われてきた。透析膜表面の親水性や生体適合性に関しては、PVP により血液中のタンパク質や血小板の吸着が抑制された報告⁶¹⁾、生体適合性の評価には、血液中の補体活性を表す C3a 量から調べたところ、PVP 添加量が多いほど C3a の濃度変化が大きいとの報告があった⁶²⁾。

透析膜表面からの PVP 溶出のメカニズムには、ダイアライザ内の血液流動に伴う膜表面との摩擦によって生じるずり応力が PVP をさらに溶出させると考えている⁶³⁾。

また、PVP 溶出防止のための報告も数多く存在する。ダイアライザの滅菌で用いられる γ 線は、PVP どうしあるいは PS 膜と PVP が架橋する結果、PVP の溶出が抑えられるという⁶⁴⁾。さらに、PS 膜ダイアライザには抗酸化作用を目的として、ビタミン E (Vit. E) でコーティングされたものが販売されているが、宮田ら⁶⁵⁾は膜表面の Vit. E によってずり応力が軽減されることで PVP 溶出が防止できることを見出している。

ダイアライザ洗浄時においては、PVP が水溶性であるが故に洗浄液中に多量に PVP が溶出する^{15), 66)}。ただし、ダイアライザの滅菌法や洗浄流量などの条件により、洗浄中の PVP 溶出量は異なる。また、ダイアライザ保管時にはウェットタイプのダイアライザであれば充填液中に既に PVP が溶出していることが確認されている¹⁵⁾。

これまでの多くの PVP 関連の研究は、PVP を「溶出をいかに防止するか」を目的に PVP 溶出制御やダイアライザ洗浄法などの視点から PS 膜ダイアライザの安全性を高めてきた経緯がある。本研究での目的は、ダイアライザ洗浄中に「どの程度 PVP が溶出したか」を吸光光度法によって評価する新たな試みであり、透析患者への PVP 流入を最小限に抑えることで PS 膜ダイアライザへの安全性を担保することである。

5.4 節 ダイアライザから溶出する PVP 測定法 I (Müller 法)

これまで、PVP の生体への影響や PS 膜ダイアライザに親水剤として PVP が用いられ、溶出する PVP によって透析患者への危険性が懸念されることを述べてきた

本節では、PS 膜ダイアライザから溶出する PVP 定量の方法とその実際について示す。一般に、PS 膜ダイアライザから溶出する PVP の定量には Müller 法⁶⁷⁾が広く用いられている。これは、1968 年に Müller 氏によって提案され、PVP にヨウ素が強く結合する性質を利用している。PVP 溶液にヨウ素を添加した場合には、図 5.3 に示すように PVP 量に応じて赤く変色する。

つまり、Müller 法とは 2.5mL の PVP 検体に対して、試薬として 0.2mol/L クエン酸水溶液 1.25mL と 0.006 規定ヨウ素溶液 0.5mL を加え攪拌し、10 分間放置後に分光光度計 UV-1700 にて 470nm の吸光度を計測後に、既知の PVP 濃度から作成した検量線(図 5.4)から PVP 濃度を算出する方法である。本研究では、Müller 法での検量線の作成に PVPK90(平均分子量：360,000)を用いた。



図 5.3 PVP の呈色反応

PS 膜ダイアライザから溶出する PVP 定量の多くは Müller 法を用いる一方で、過去に実施された PVP による腎糸球体膜透過性の研究では、血液中あるいは尿中の PVP を Levy - Fergus の方法により PVP 定量を行っていた⁶⁸⁾。Levy - Fergus の方法は、Müller 法と同様にクエン酸やヨウ素を使用しており、その添加量が異なるだけで Müller 法と基本的に変わりはない。

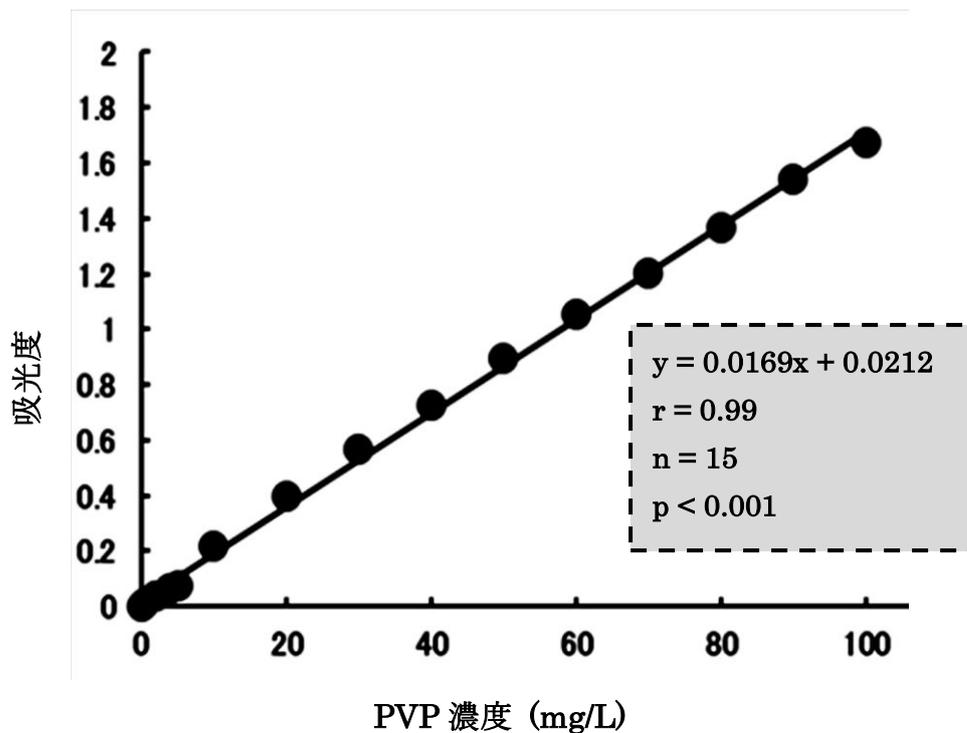


図 5.4 Müller 法に用いる検量線 (PVP K90)

Müller 法は、PVP 試料 2.5mL に対して 0.2mol/L クエン酸水溶液 1.25mL 及び 0.006 規定ヨウ素水溶液 0.5mL を添加した 10 分後に分光光度計による波長 470nm の吸光度から PVP 濃度を定量する手法である。

5.5 節 ダイアライザから溶出する PVP 測定法 II (UV-s 法)

Müller 法は、PVP 定量時にクエン酸やヨウ素などの試薬を加えることから、測定結果を得るまでに時間がかかる。一方で、PVP の構造は図 5.1 に示すごとく、UV を吸光するための発色団として $>C=O$ を有しており、実際に PVP の UV 吸光性を示唆する報告がある⁶⁹⁾。図 5.5, A は、生理食塩液に PVPK90 試薬(富士フィルム和光純薬：旧 和光純薬)を溶解し、濃度が 10.0, 5.0, 4.0, 2.0mg/L となる調整水溶液に対して UV 吸光スペクトルを測定したものである。PVP の λ_{max} 値は 201.3nm であることが分かり、PVP 濃度と λ_{max} 値となる UV 吸光度の関係性を予め検量線として作成しておくことで、簡易的な PVP の測定が可能となるはずである。本手法は、PVP の UV 吸光スペクトル波形を利用して PVP 定量を行うために、本研究では紫外光スペクトル法(UV-s 法)と呼称し、UV-s 法の有用性を調べるために Müller 法と併用して PVP の解析を進めていくこととなる。なお、UV-s 法の検量線については図 5.5, B に示すように、UV 吸光度と PVP 濃度の間に有意な正の相関性があることを認めている。

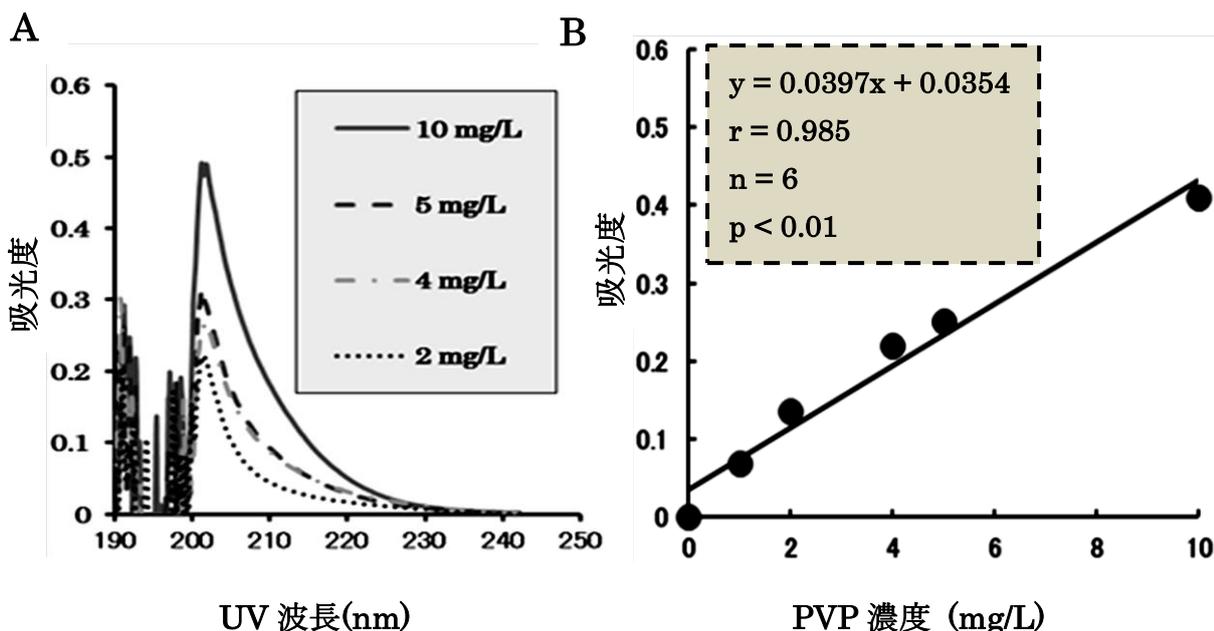


図 5.5 PVPK90 の UV 吸光特性と検量線

A : UV 吸光スペクトル , B : UV-s 法に用いる検量線

PVP の UV 吸光スペクトルは λ_{max} 値が 201.3nm となり、PVP に UV 吸光特性があることを認めた(図 A)。また、PVP 濃度と UV 吸光度の間には有意な正の直線性がある(図 B)。

次に、UV-s 法と Müller 法の関係性について述べる。PVP K90 試薬を生理食塩液に溶解し、PVP 濃度が 10mg/L 以下となる水溶液を作成後に、各 PVP 溶液中の PVP 濃度を Müller 法と UV-s 法で定量後に両者の測定法の相関関係を調べたところ、ウィルコクソンの順位相関係数(r_s)が $r_s = 0.99$ ($p = 0.0006$, $n = 13$)となる有意な正の相関があることが明らかとなった(図 5.6)。

UV-s 法は、Müller 法のように試薬を用いることなく UV 照射だけで PVP を簡易的に定量できる手法であり、UV 吸光スペクトルを調べることで PVP 自体を検出する能力を備えた測定法と言える。

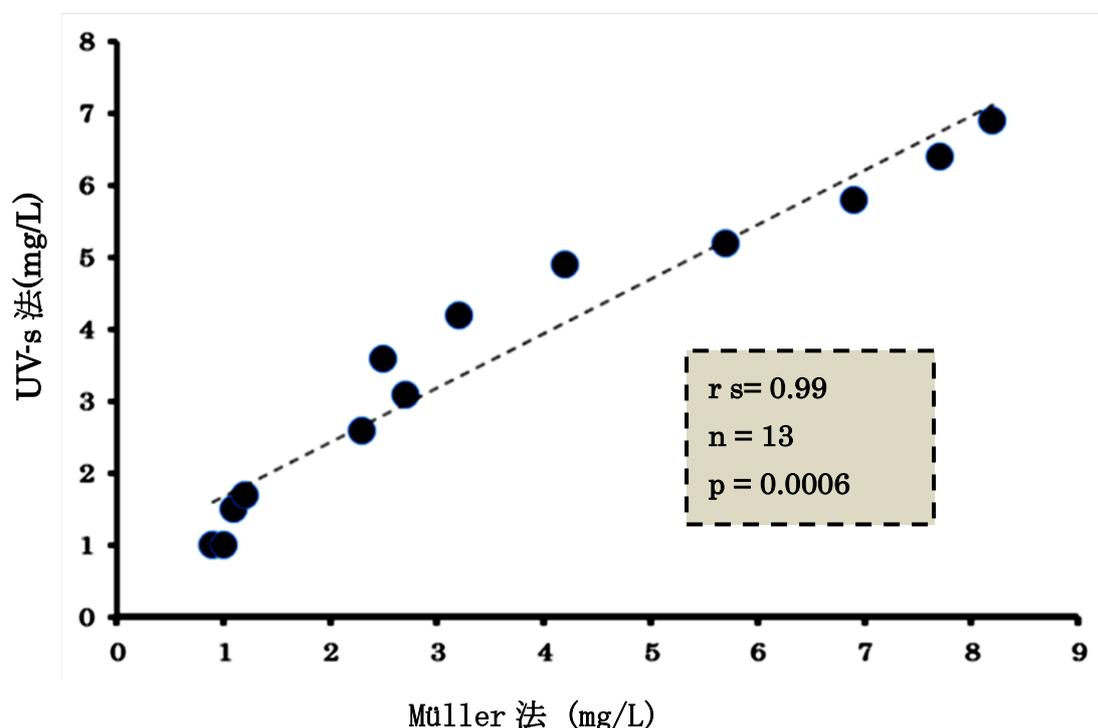


図 5.6 Müller 法と UV-s 法の相関関係

PVP 濃度が 10mg/L 以下の濃度で調整した水溶液に、Müller 法と UV-s 法で PVP 濃度をそれぞれ定量後に両者の相関を調べた。両者の測定法間に有意な正の相関性があり ($r_s = 0.99$)、UV-s 法によって、UV 照射だけで簡易的に PVP 定量できることを示している。

5.6 節 透析膜洗浄排液成分モニタで使用する場合を想定した UV-s 法について

5.5 節では、UV-s 法は Müller 法と比較して試薬などを用いることなく、UV 照射だけで PVP の検出や定量ができる可能性を示した。

PS 膜ダイアライザの種類によっては、洗浄の初期段階で高濃度の PVP が溶出することが想定される。しかし、吸光度法の基本理論であるランバート・ベールの法則は、試料濃度が濃くなるに従い、吸光度と濃度の直線性は保つことができないことから、最大でどの程度の PVP 濃度まで測定できるかを調べる必要がある。

図 5.7 は、生理食塩液に PVPK90 試薬を 100mg/L から 10mg/L ずつ濃度を減じて作成した各 PVP 水溶液に対して UV-s 法によって求めた λ_{\max} 値となる UV 吸光度と PVP 濃度の関係を示したものである。

PVP 濃度が 70mg/L までは PVP 濃度と吸光度の直線性は保たれているが、PVP 濃度が 80mg/L 以上の PVP 濃度では直線性が低下する傾向にあることが分かった。

従って、UV-s 法で計測できる最大の PVP 濃度は 70mg/L 前後と考えられる。

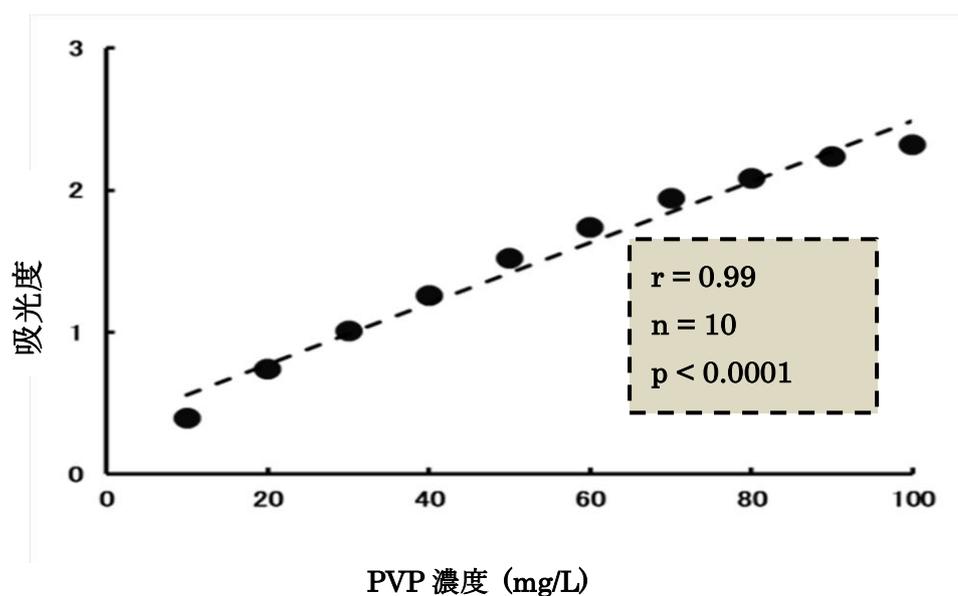


図 5.7 PVP 濃度が 10mg/L 以上での吸光度と濃度の関係性

PVP 濃度が 10mg/L 以上となる水溶液を用いて、UV 吸光度と濃度の関係性を調べた場合に約 70mg/L 以上となると吸光度と濃度の直線性が低下することが分かる。

後述する5.7節において、透析膜洗浄排液成分モニタを構築する際にダイアライザ洗浄時にPVPが溶出しない時点(濃度0mg/L)をUV-s法で認識できる能力が問われる。

そこで、PVP濃度を0mg/Lに調整した水溶液(n = 11)をUV-s法とMüller法でPVP濃度を測定後に、Wilcoxon signed rank testを用いた統計分析では、両者の測定法間に有意差を認めなかった(p = 0.833) (図5.8)。

また、実際に算出したPVP濃度は、使用する石英セルや分光光度計の特性上、多少のずれが生じることがあり、必ず測定値が0mg/Lとならないことがある。しかし、PVP濃度0mg/Lに調整した11試料の内、Müller法は6試料でUV-s法では7試料がPVP濃度0mg/Lに近似する値で検出できた。つまり、PVP濃度0mg/Lとしての検出力は、Müller法で55%、UV-s法で64%となることから、わずかにUV-s法がより精度の高い測定法であると考えられた。

さらに、UV-s法で定量した11試料のPVP濃度の平均を調べたところ、0.5mg/Lであったことから、UV-s法にてPVP定量を行った場合には0.5mg/L前後の誤差が生じる可能性があるが、図5.8よりUV-s法はMüller法と測定精度が同程度であると考えられ、簡易的なUV-s法が有用であることは言うまでもない。

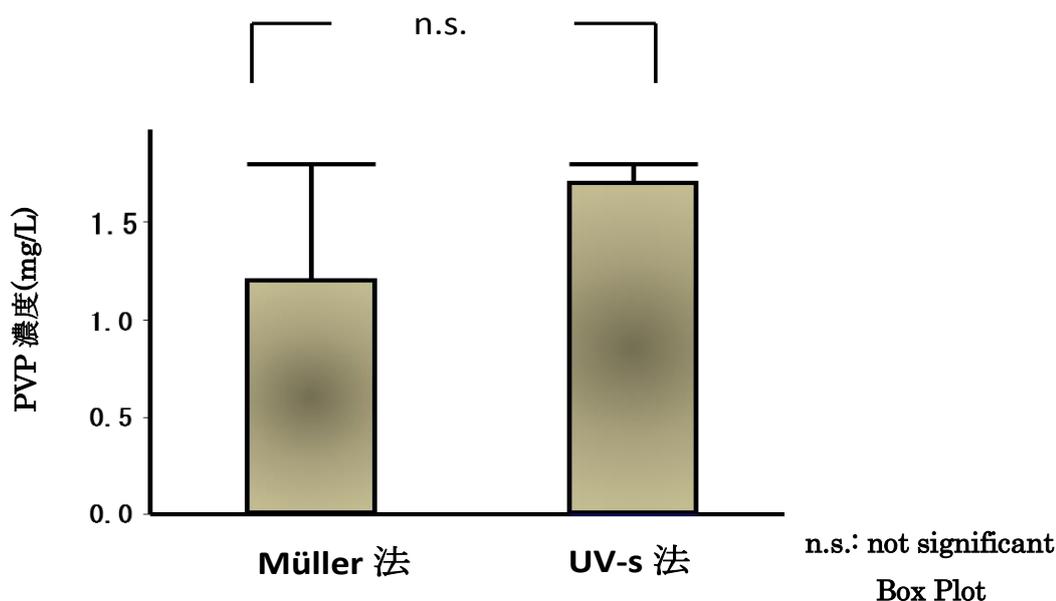


図5.8 PVP濃度0mg/Lの検体を用いたUV-s法とMüller法でのPVP濃度の比較

PVP濃度が0mg/Lとなる水溶液11検体を用いて、UV-s法とMüller法でPVP濃度の違いを比較した。両者の測定法で統計的な差を認めず、UV-s法はMüller法とPVP検出感度は同程度であると考えられた。

5.7 節 透析膜洗浄排液成分モニタについて

PS 膜ダイアライザを安全使用するためには、PVP が「どの段階で」「どのようなメカニズムで」「どの程度溶出するか」などの PVP の溶出特性を知る必要がある。

特に、「どの程度溶出するか」については、毎回の透析治療前に行われるダイアライザ洗浄時に洗浄排液中の PVP をリアルタイムに測定することが可能となれば概ね PVP 溶出量は判断できると考える。たとえ同一のダイアライザであっても、PVP 配合量が異なる上に、洗浄する条件によっても PVP 溶出量が変化するために、毎治療ごとに PVP 溶出を迅速的に評価できることが望まれる。

本節では、透析膜洗浄排液成分モニタと称して、ダイアライザ洗浄時の排液に UV を照射後に UV-s 法による PVP のリアルタイムモニタが技術的に可能であるかの検討を行った。

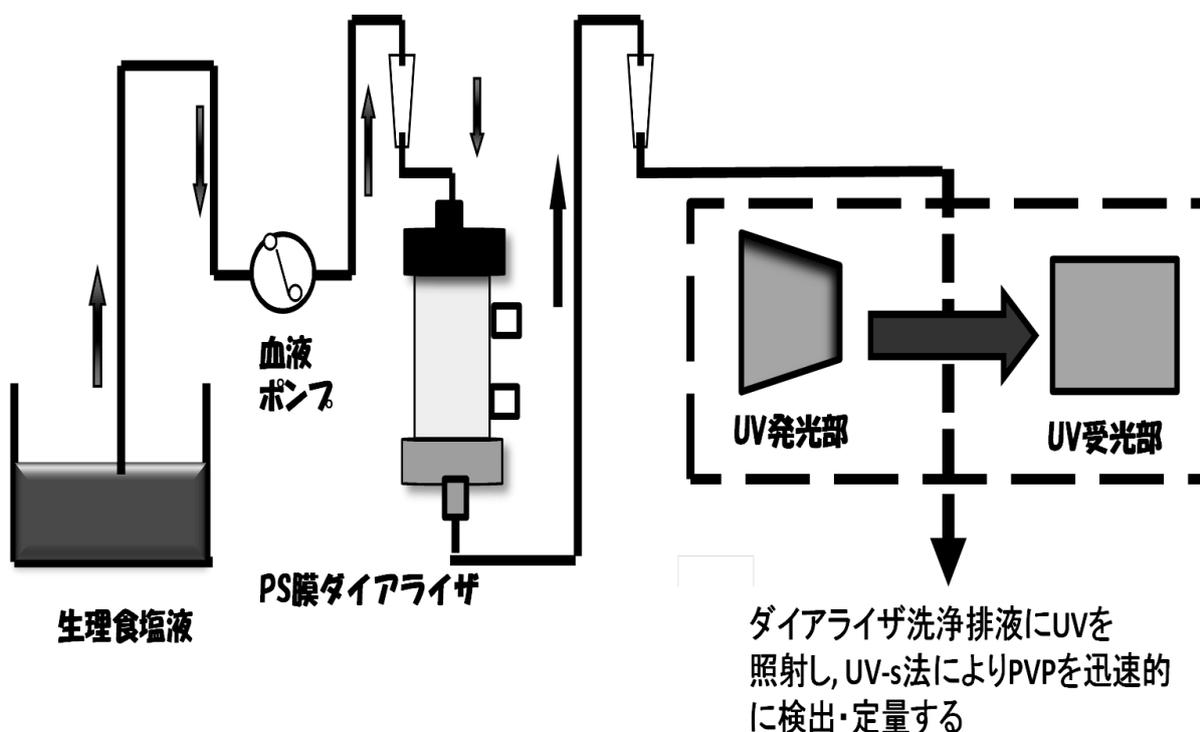


図 5.9 透析膜洗浄排液成分モニタの概要

臨床においてダイアライザを洗浄する時には、使用するダイアライザに血液回路を装着後に、生理食塩液 1.0L 程度を透析装置に付属する血液ポンプを用いて 100ml/min から 200mL/min ほどの流速で、ダイアライザ血液側(中空糸内)を洗浄する。ダイアライザだけでなく、血液回路内部の洗浄も兼ねているために洗浄された最終的な排液には、ダイアライザと血液回路の両方の不純物が含まれることとなる。使用するダイアライザが PS 膜であれば、ダイアライザからの不純物として PVP が含まれることになる。

透析膜洗浄排液成分モニタ(図 5.9)は、ダイアライザ洗浄後の排液ラインに UV 発光部と受光部を設けて、連続的な UV 照射による UV-s 法を用いた PVP の迅速的な検出及び定量を行う仕組みである。これは第4章で取り扱った透析排液成分モニタの原理を利用しており、毎治療ごとに事前に PVP 洗浄量が評価され、PVP 濃度が最小となった時点で治療を開始すれば、透析患者への体内への PVP 流入を最小限に防止できることを期待するものである。

5.8 節 各種 PS 膜ダイアライザを用いた透析膜洗浄排液成分モニタの 検証実験

本節では、保存形態や滅菌方法などが異なる PS 膜ダイアライザを対象とした透析膜洗浄排液成分モニタの検証実験を試みた。

本研究で用いた PS 膜ダイアライザ仕様を表 5.1 に外観を図 5.10 に示す。実験で使
用したダイアライザはウェットタイプで滅菌法が異なる APS-15SA(旭化成メディカル,
APS)と PS-1.6UW(川澄化学, PSU)を各 5 本ずつ(n = 5)及びドライタイプである
FX-180(フレゼニウス, FX)を 6 本(n = 6)の 3 種を用いた。

ウェットタイプのダイアライザは、中空糸の内側と外側の両方に充填液が満たされてお
り、ダイアライザ保管時に既に充填液中に PVP が多量に溶出していることから、
比較的洗浄の初期段階で大半の PVP が洗い流せる。ドライタイプは、中空糸内外に充
填液が満たしておらず、洗浄液が透析膜に接触した瞬間から PVP 溶出が始まる。従っ
て、ドライタイプの場合は PVP が溶出するまでに時間を要することになる。

表 5.1 実験に用いた PS 膜ダイアライザの仕様

銘柄	透析膜	滅菌法	保存形態	膜面積 (m ²)	中空糸内径 (μm)	中空糸膜厚 (μm)
PS-1.6UW	PS	高圧蒸気	ウェット タイプ	1.6	200	40
APS-15SA		γ線		1.5	185	45
FX-180		インライン 高圧蒸気	ドライ タイプ	1.8	185	35

A



B



C



図 5.10 実験に用いた PS 膜ダイアライザ

A : PS-1.6UW (川澄化学) , B : APS-15SA (旭化成) , C : FX-180 (フレゼニウス)

次に、実験の構成について述べる。図 5.11 に示す通りに、各種 PS 膜ダイアライザに血液回路 (NV-Y617P, 日機装株式会社) を接続し、生理食塩液 1.0L を流速 100mL/min でダイアライザ血液側を洗浄した 0.5L と 1.0L 洗浄時点の排液をサンプリングした。サンプリングした排液中の PVP を Müller 法と UV-s 法の両方で定量後に両者の結果を比較した。また、UV-s 法については、洗浄排液の UV 吸光スペクトルを測定し、PVP の定性検査を試みた。

統計解析については、各ダイアライザから溶出した PVP 溶出量の分布を Box Plot で表し、溶出した PVP 濃度の数値は median (25 - 75th percentile) で示した。

また、Müller 法と UV-s 法での比較検討には Wilcoxon signed rank test を使用し、P 値が 0.05 未満を統計学的有意差ありとした。

なお、Box Plot とは、データ分布を「最大値」「最小値」「中央値」「四分位数」の各統計量を用いて表現したグラフであり、データの中心や分布の歪みが確認できる。

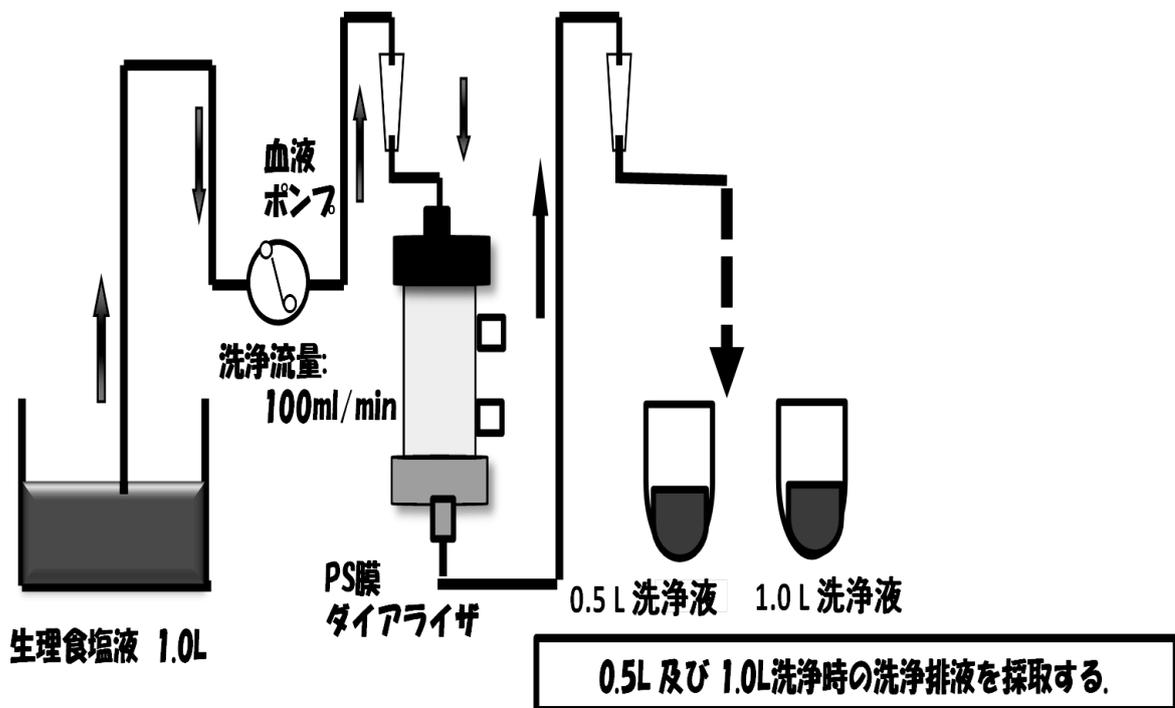


図 5.11 透析膜洗浄排液成分モニタに関する実験モデル

PSU から溶出した PVP 濃度と洗浄液の UV 吸光スペクトルは図 5.12A 及び図 5.12B の通りとなった。洗浄液中の PVP 濃度は、Müller 法で 2.0 (1.18 - 4.85)mg/L, UV-s 法で 3.35 (2.38 - 4.23)mg/L となり、両者の測定法で統計学的な差を認めなかった ($p = 0.235$)。また、PSU 洗浄液の UV 吸光スペクトルは λ_{max} が 201.0nm 近辺で示し、PVP の検出は可能であったことから、PSU を用いた透析膜洗浄排液成分モニタの実現は可能であると推察された。

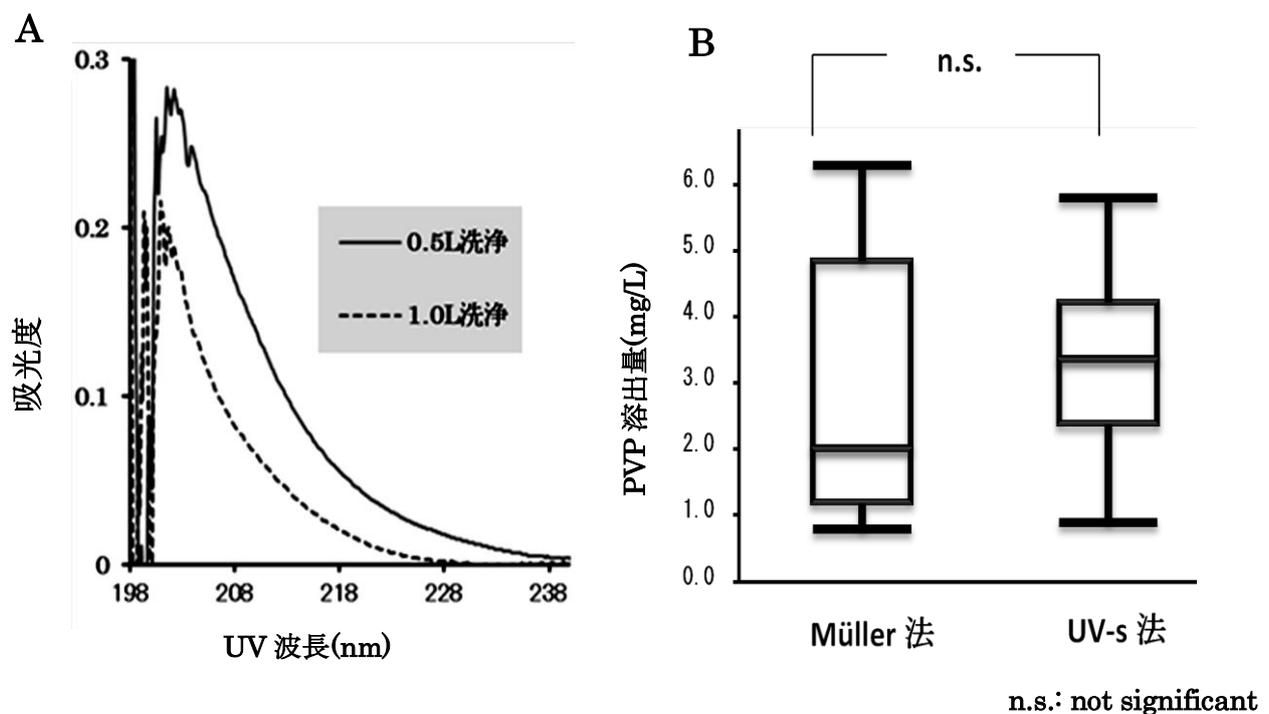


図 5.12 PSU を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果
 A: 洗浄液 UV 吸光スペクトル, B: Müller 法と UV-s 法の PVP 定量比較 (n=10)
 [Box Plot]

ダイアライザ PSU を洗浄した際の洗浄液の UV 吸光スペクトルは(図 A), λ_{max} が 201.0nm となり、本来の PVP の λ_{max} 値と近似していることから溶出物として PVP を検出していることが分かる。また、洗浄液中の PVP を定量した場合には、Müller 法と UV-s 法で統計学的な差を認めなかった(図 B)。

図 5.13, B では, APS を対象とした場合での洗浄液中の PVP 濃度を表すが, Müller 法で 0 (0 - 0.35)mg/L, UV-s 法で 0.95 (0.45 - 2.58)mg/L と統計学的に有意に UV-s 法で高値を示す結果となり ($p = 0.008$), これは Müller 法では PVP はほとんど検出されなかったが, UV-s 法では 1.4mg/L 前後で PVP を検出されたことを表している.

APS のように γ 線滅菌されたダイアライザについては, PVP の PS 膜への架橋と同時に PVP 分解も生じており, Müller 法では PVP は検出できないとの報告がある⁷⁰⁾.

本研究においても, APS 洗浄液中の PVP を Müller 法では検出できなかったが, 定性検査として UV 吸光スペクトルを見た場合(図 5.13, A)は, λ_{max} 値が 201.0nm 付近となる PVP が検出され, Müller 法と UV-s 法で結果が乖離する結果は興味深い.

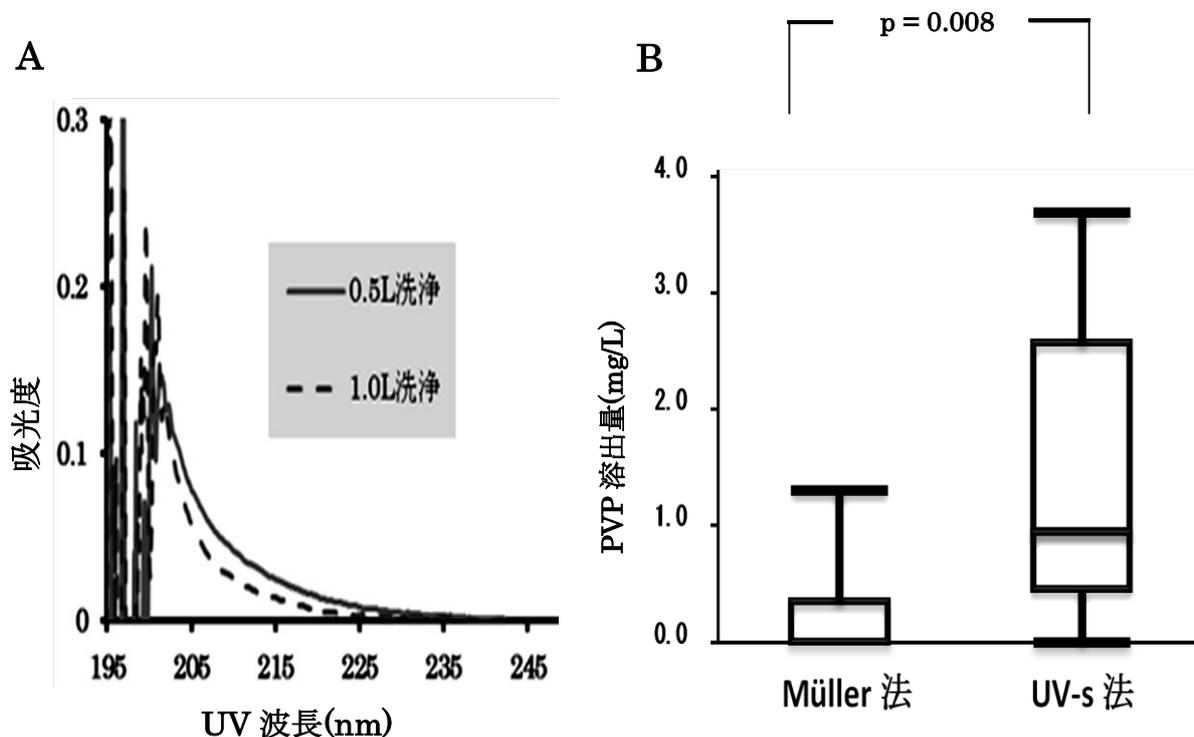


図 5.13 APS を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果
A: 洗浄液 UV 吸光スペクトル, B: Müller 法と UV-s 法の PVP 定量比較 (n=10)
[Box Plot]

ダイアライザ APS を洗浄した際の洗浄液の UV 吸光スペクトルは(図 A), λ_{max} が 201.0nm となる PVP を検出したが, 図 B より溶出 PVP 濃度は両者の測定法で乖離を示した.

ダイアライザ洗浄後の排液には、血液回路からの溶出物も含まれることに着目した場合に回路溶出物が UV で検出可能であれば、UV-s 法による PVP 検出そのものに影響を与えることになる。そこで、ダイアライザを使用せずに血液回路だけを洗浄する場合の実験モデル(図 5.14)を組み、血液回路洗浄後の排液に対する UV 吸光スペクトルを確認したところ、 λ_{\max} 値が 201.9nm となる溶出物が検出され、PVP と同波長帯に UV 吸収を示す血液回路からの溶出物が存在することが明らかとなった(図 5.15)。

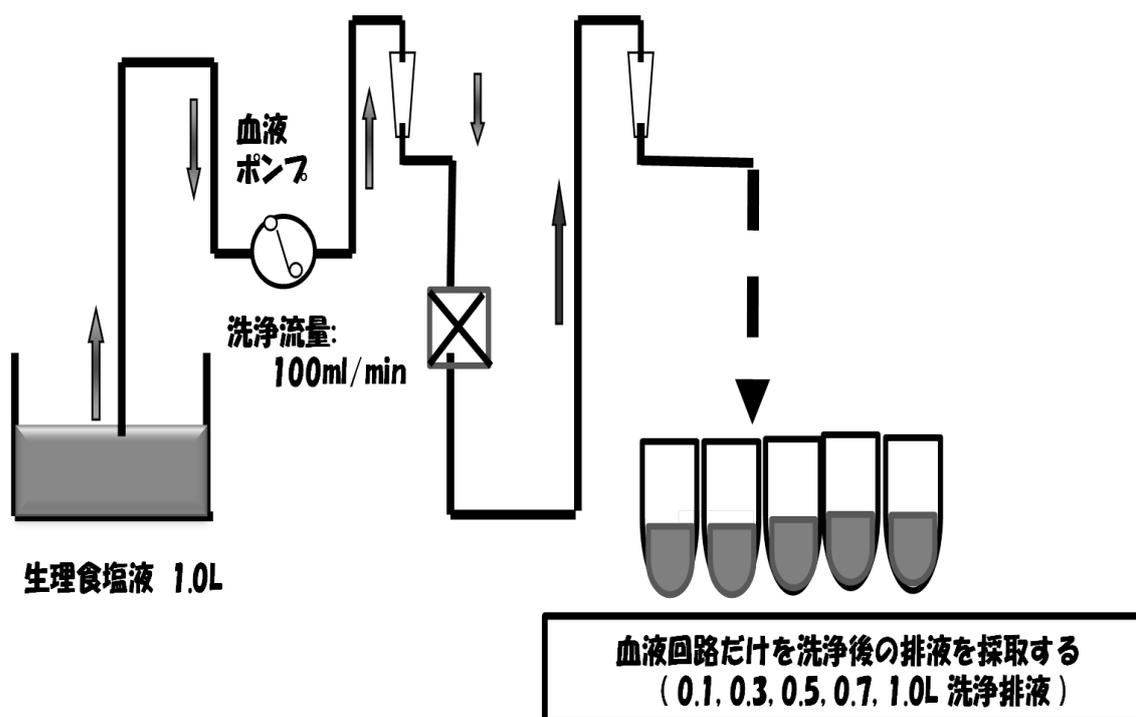


図 5.14 血液回路だけを洗浄する場合を想定した実験モデル

血液回路からの溶出物が UV-s 法による PVP 定量に与える影響を調べるために、ダイアライザを用いずに血液回路だけを生理食塩液で洗浄した排液の UV 吸光スペクトルを測定することで、血液回路からの溶出物の存在を確認する。

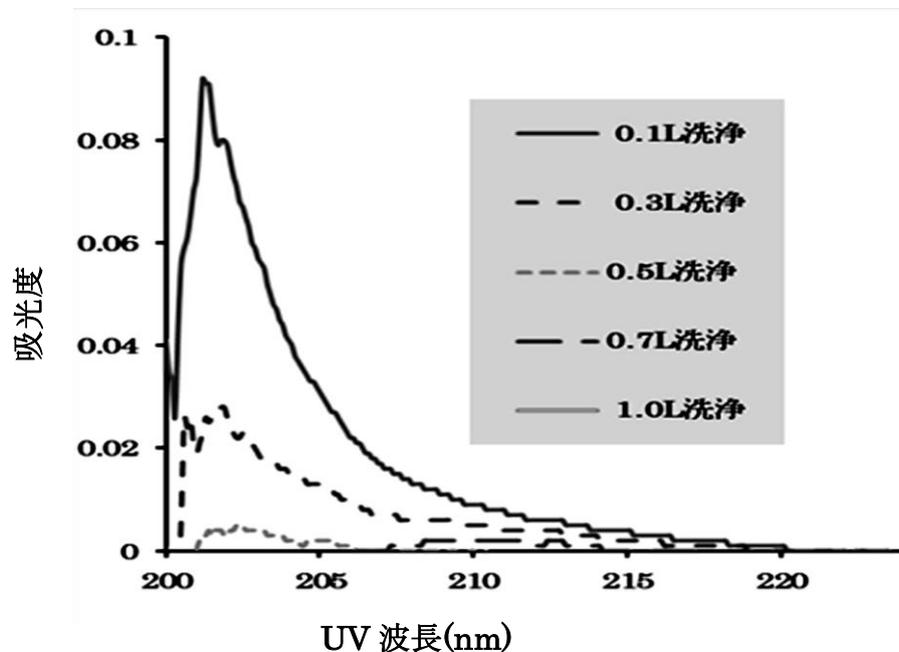


図 5.15 実験に用いた血液回路からの溶出物

血液回路からは λ_{\max} 値が 201.9nm となる PVP と近似する溶出物を検出した。

しかし、図 5.15 より血液回路からの溶出物は洗浄後半(0.5L 以上)で、その吸光度は 0.03 以下と極めて小さく、UV-s 法に与える影響は低いと考えられる。

さらに、Müller 法では γ 線によってその測定値に影響を与えるとすれば、UV-s 法では PVP の UV 吸光スペクトルの波形に何らかの変化を与えるはずである。

図 5.16, A の通りに、血液回路を使用せずに直接 APS を生理食塩液で洗浄(洗浄流量 100mL/min)した時の洗浄排液の UV 吸光スペクトルを測定し、PVP 分解の影響を検討した。なお、血液回路を使用しないのは、回路からの成分を除くためである。

その結果、0.1L と 0.5L 洗浄時に溶出した成分は PVP とは異なる波形を検出し(λ_{\max} 値:206.0nm)、PVP 分解の影響が UV-s 法にもあることが確認された(図 5.16, B)。

ここで、UV 吸光スペクトルによる定性検査においては、目的とする成分と波形が近似していても λ_{\max} 値が大きく異なる場合には違う物質(別の物質に変化した)と判断するが、1.0L 洗浄時では λ_{\max} 値が 201.0nm 付近に示したことから、PVP を検出していると判断でき、UV-s 法でも APS からの PVP を検出できる余地があることを示した

(図 5.16, C). さらに, この実験で 1.0L 洗浄時に溶出した PVP 溶出量を UV-s 法で算出した場合には平均 4.1mg/L であったが, Müller 法では PVP 濃度が 0mg/L に近似する値であった. これは, Müller 法で検出できない PVP を UV-s 法で検出していることを表していることから, UV-s 法は Müller 法よりも検出感度が高い可能性が示唆された.

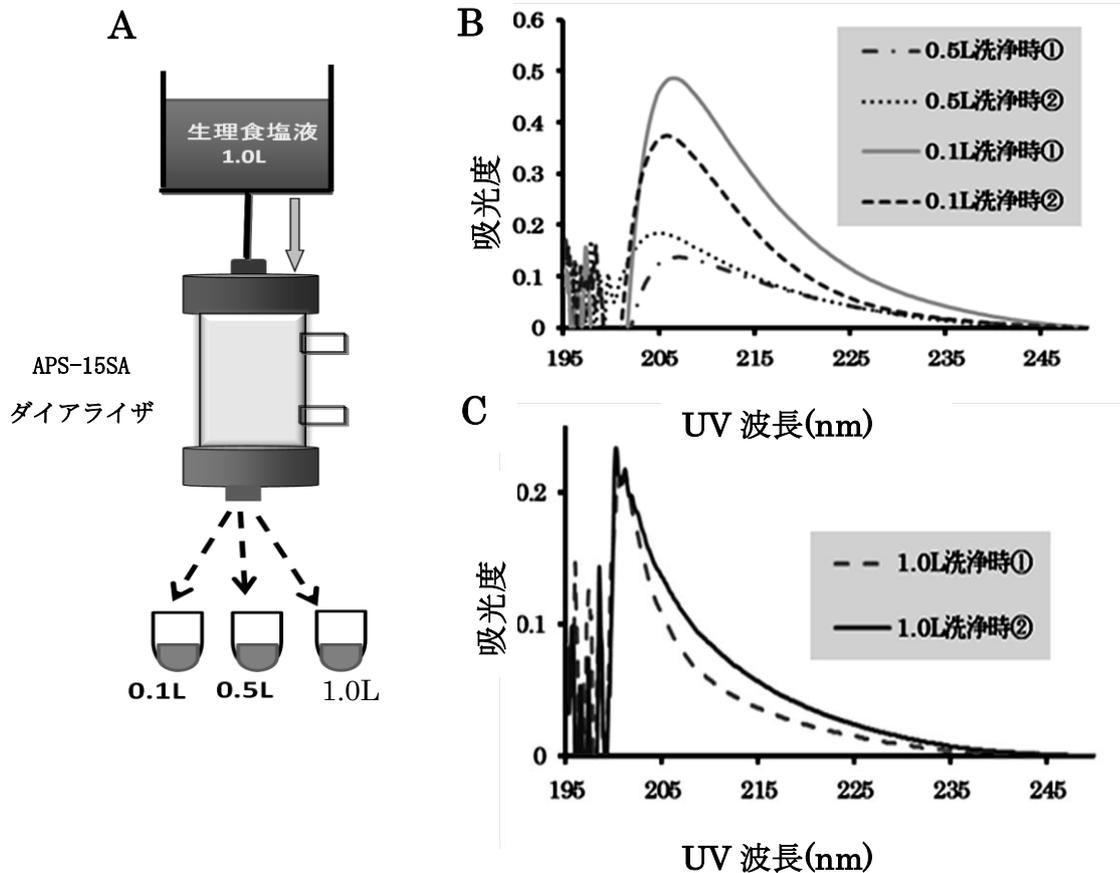


図 5.16 γ 線滅菌による UV-s 法への影響を検証するための実験

A: ダイアライザのみ洗浄, B: 0.1L 及び 0.5L 洗浄時スペクトル, C: 1.0L 洗浄時スペクトル

ダイアライザ APS に関して, γ 線による PVP 分解が UV-s 法に与える影響を調べるために, APS を直接生理食塩液で洗浄後の排液 UV 吸光スペクトルを測定した(図 A). その結果, 0.1L 及び 0.5L 洗浄時では PVP 分解の影響が UV-s 法にも見られたが(図 B), 1.0L 洗浄時点においてはその影響を認めなかった(図 C).

図 5.17A 及び B には、PS 膜ダイアライザ FX を用いた場合のダイアライザ洗浄液の UV 吸光スペクトル波形と PVP 溶出量の結果を示す。

FX 洗浄液の UV 吸光スペクトルの λ_{\max} 値は 201.0nm 付近で認め、FX からの溶出物として PVP を検出した(図 5.17, A). 溶出 PVP 濃度(図 5.17, B)は Müller 法で 0.3 (0.2 - 0.6)mg/L, UV-s 法で 1.9 (0.7 - 2.2)mg/L と UV-s 法において有意に高値を示した ($p = 0.0032$).

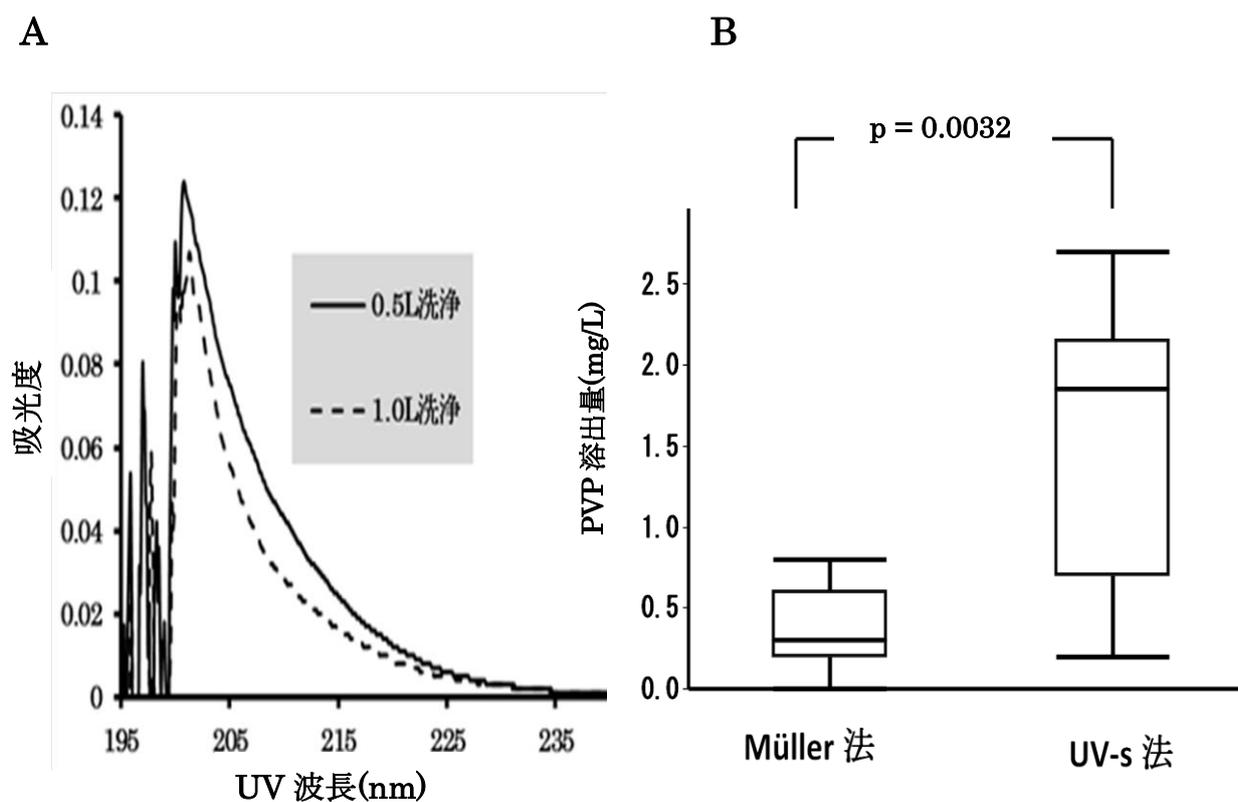


図 5.17 FX を用いた透析膜洗浄排液成分モニタ実験結果
A: 洗浄液 UV 吸光スペクトル, B: Müller 法と UV-s 法の PVP 定量比較 (n=12)
[Box Plot]

ダイアライザ FX を洗浄した際の洗浄液の UV 吸光スペクトルは(図 A), λ_{\max} が 201.0nm 付近となる PVP を検出したが、図 B より溶出 PVP 濃度は両者の測定法で乖離を示した。

FX の滅菌法であるインライン蒸気滅菌は、フレゼニウス社が開発した独自の滅菌法であり、PVP の溶出が低減されるとの報告がある⁷¹⁾。

本研究においても、Müller 法での PVP 濃度は平均で 0.4mg/L であり、同じ高圧蒸気滅菌である PSU の場合と比較してもかなり PVP 溶出量は低値を示しており、インライン蒸気滅菌の PVP 溶出低減の効果が表れた結果と見られる。ただし、FX はドライタイプであり、洗浄液となる生理食塩液に接触した瞬間から PVP 溶出する特性のために、1.0L までの洗浄量では十分に PVP が溶出できていないために低値を示しただけの可能性もある。いずれも場合であっても、UV-s 法では平均で 1.5mg/L は PVP が溶出しており、Müller 法との間に約 1.0mg/L の差が生じた。図 5.17, A の UV 吸光スペクトルで示した通りに FX 洗浄液中の成分には確実に PVP が含まれていることや、前述で示したように血液回路からの溶出物の影響も無視できることを考えれば、PVP 溶出量の数値としては UV-s 法の方がより確実性があると考えられる。したがって、ダイアライザ FX においても UV-s 法を用いた PVP の迅速的な測定は可能であると推察された。

また、インライン蒸気滅菌法に関する PVP 溶出は Müller 法を基準とした場合には、確かに PVP 溶出は低減されていると判断できるが、実際にはそれよりも約 1.0mg/L 程度は PVP が多く溶出していると考えられるべきである。

5.9 節 血液回路からの可塑剤について

5.8 節において、血液回路からも不純物が溶出し、PVP と同波長帯に UV 吸収を示す物質があることを説明した。

一般に、血液回路はポリ塩化ビニル(PVC : Polyvinyl chloride)樹脂製で硬質であるために、柔軟性を持たせるために可塑剤が使用される。主な可塑剤には、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP: Di(2-ethylhexyl)phthalate)があり、血液バックや輸液回路、人工心肺回路にも使用されている。これらの医用材料からの DEHP の溶出により、精巣萎縮や肝臓腫瘍などの生体への毒性が報告されていることから⁷²⁾、より毒性の低い可塑剤であるトリトメット酸トリス-2-エチルヘキシル(TOTM : Tris(2-ethylhexyl) trimellitate)が用いられる傾向がある。

DEHP は疎水性であり、血液中の中性脂肪やコレステロールなどの脂質成分に触れ

た時に溶出する特性がある⁷³⁾。本研究で用いた血液回路は可塑剤として TOTM を使用しているが、一概に血液回路からの溶出物は可塑剤とは限らず、血液回路自体が非常に多くの化学物質から構成されており、実験で使用した血液回路からの溶出物(図 5.15)がどのような成分であるかを特定することは困難である。しかし、PVP と同波長帯に血液回路からの何らかの UV 吸光を示す成分があることを明らかにし、UV-s 法に影響を与える可能性があることを見出すことができた。

本節では、血液回路からの溶出物として DEHP に着目し、DEHP が配合された血液回路と配合されていない(非配合)血液回路を用いて、DEHP の溶出性について検討した。

DEHP 配合と非配合の血液回路として、ニプロ社製シュアフローN(DEHP 配合及び非配合)の2種を使用した。なお、実験回路モデルは図 5.13 の通りに実施し、生理食塩液 100mL/min にて血液回路洗浄後の排液 UV 吸光スペクトルを測定後に DEHP 配合と非配合での血液回路からの溶出物の違いを調べた。

図 5.18, A に DEHP 配合血液回路を、図 5.18, B に DEHP 非配合血液回路での UV 吸光スペクトルの結果を示す。DEHP 配合と非配合の両方で UV 波長 200nm 付近にスパイク状の波形が見られたが、これは 200nm 以下の波長では雑多ノイズが入っており、その一部が 200nm 付近に被っているものと思われ、血液回路からの溶出物ではない。

さらに、辻らは DEHP 自体が UV 領域の光を吸光し、 λ_{\max} 値の一つが 226nm であるとしている⁷⁴⁾。図 5.18 に示す通りに、波長 226nm 付近で UV 吸光を示す物質は両者の血液回路で検出されておらず、DEHP 非配合は当然であるが、DEHP 配合回路からの DEHP 溶出はないと考えられる。DEHP は疎水性であり、血液中の中性脂肪やコレステロール等の脂質成分と接触した際に溶出する特性があることを述べたが、仮に DEHP 配合血液回路を用いて PS 膜ダイアライザを生理食塩液(脂質成分を含まない)で洗浄した場合に DEHP が溶出する可能性が低いことを表し、DEHP 配合血液回路を用いた PS 膜ダイアライザ洗浄時に UV-s 法による PVP の定性や定量を実施したとしても DEHP が影響を与える可能性はないと考えられる。一方で、TOTM は DEHP よりも毒性は低く、血液中へ溶出しにくい特性を持ち⁷⁵⁾、耐水性であるために実験で用いた血液回路(TOTM 配合)も同様に、ダイアライザ洗浄中に溶出する可能性は極めて低く、図 5.15 で得られた血液回路溶出物は TOTM 以外の化学物質であると示唆された。また、PS 膜には PVP 以外にビスフェノール A(BPA)が配合されており、BPA の λ_{\max} 値は 230nm 付

近に示す報告がある⁷⁶⁾。今回、得られた3種のダイアライザ洗浄排液のUV吸光スペクトルのすべてで230nm付近にスペクトルが見られなかったことから、洗浄排液中にBPAの溶出はないと考える。

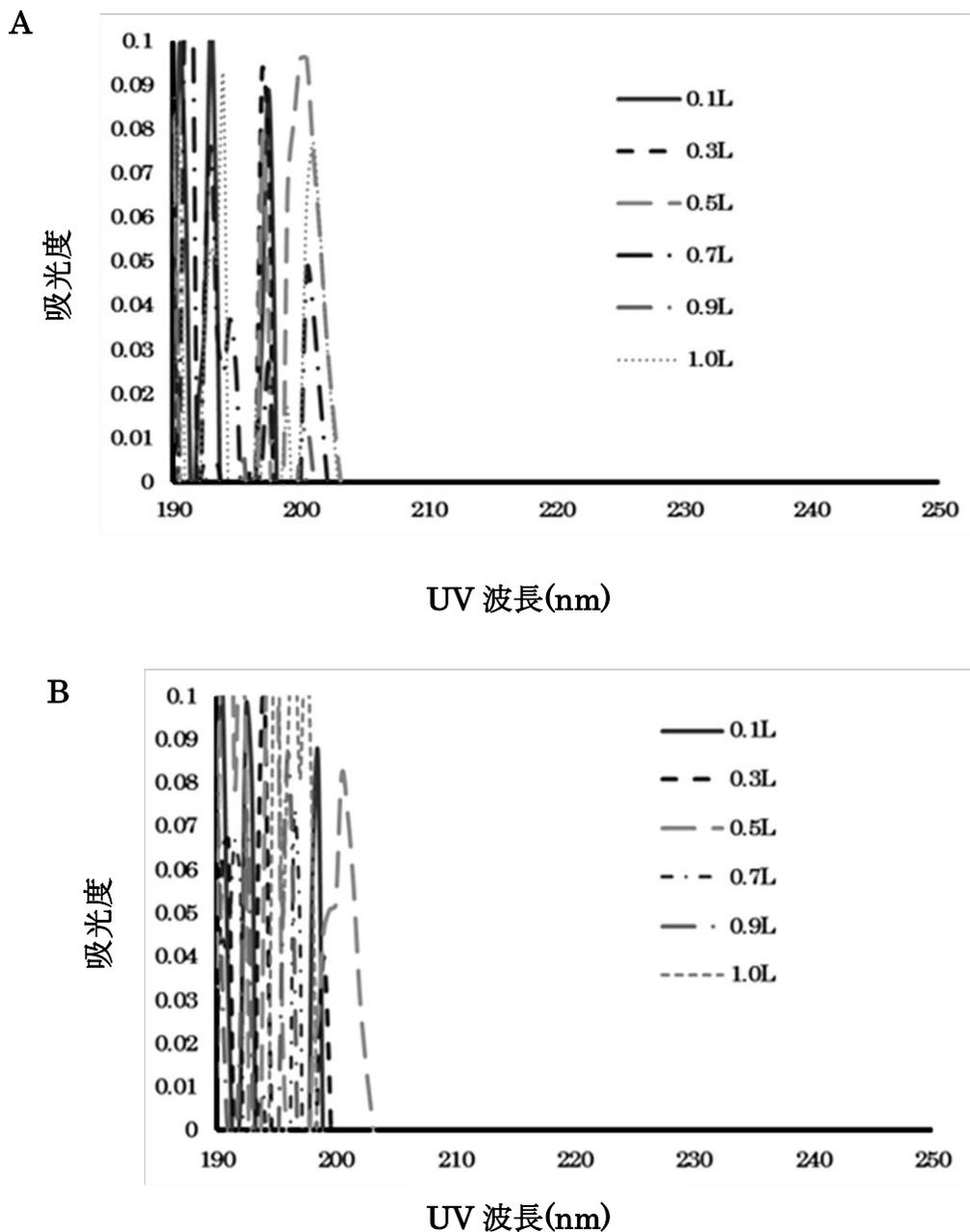


図 5.18 血液回路溶出物 A:DEHP 配合, B: DEHP 非配合

可塑剤 DEHP 配合と非配合の血液回路で、UV 吸光スペクトルを比較した。その結果、いずれも血液回路からは UV で検出される溶出物を認めなかった。

5.10 節 結言

PS 膜ダイアライザを使用している以上は、透析治療中における PVP の生体への流入とそれに伴う生体反応は避けられない。生体への影響を少しでも抑えるために、多くの研究では PVP 溶出をいかに制御するかを模索してきた。

そのような中で、本研究では、PVP がダイアライザ洗浄中に溶出する特性を有することや UV を吸光する特性を利用して「透析膜洗浄排液成分モニタ」による PS 膜ダイアライザ洗浄中における PVP のリアルタイムモニタリング技術を検討した。

5.2 節では、PVP が過去に代用血漿剤として使用され、種々の生体反応を認めることや、5.3 節ではその PVP が PS 膜ダイアライザに使用されており、透析患者への血液に PVP が流入している可能性があることを述べた。

PVP の測定については、5.4 節で Müller 法は専用の試薬を用いることから測定時に時間を要するものの、5.5 節で PVP の UV 吸光スペクトル波形から PVP を測定する手法 (UV-s 法) を提案すると同時に、Müller 法に代わって簡易的に PVP を測定できることを確認した。

5.6 節では、Müller 法と UV-s 法の測定精度に大差はなく、UV-s 法での PVP 濃度は 0.5mg/L 程度の誤差が生じる可能性を明らかにした。

5.7 節及び 5.8 節では、滅菌法が異なる各種 PS 膜ダイアライザを対象に水系実験による透析膜洗浄排液成分モニタを検討した結果、PSU を用いた実験では UV-s 法による PVP の検出と定量が可能であり、透析膜洗浄排液成分モニタの可能性を見た。

APS を用いた検討では、 γ 線による PVP 分解により Müller 法では PVP を測定できなかった。しかし、UV-s 法による解析では APS から溶出する PVP は分解により変性したものだけでなく、変性していない PVP も溶出していることが確認でき、Müller 法で検出できない PVP を UV-s 法を用いて検出できる可能性を明らかとした。

さらに、FX を対象とした検討においては、Müller 法と UV-s 法で PVP 溶出量に差を認めたものの、UV-s 法でより確実に PVP が測定できることが示唆された。

これらの結果は、ダイアライザを洗浄する目的である溶出物の除去という観点からは、その評価のために透析膜洗浄排液成分モニタの技術は有効であり、透析治療中に患者へ流入する PVP を低減させる方法として有用性があると思われた。

第6章 結論

本論文は、約 30 万人を超える腎不全患者の生命を維持する為に行われる血液透析治療に対して吸光光度分析を活用したモニタリング技術の内、透析治療中には透析排液中の尿毒症性低分子量物質を対象に、透析治療前に実施されるダイアライザ洗浄時には PVP を中心とした溶出物を UV 吸光度でモニタリングする新たな透析装置の開発を目指し、題目「血液透析療法における透析排液成分及び透析膜洗浄成分の紫外光計測に関する研究」として研究を進めた。

第2章では、初めに腎不全の病態について、腎不全では尿毒素が体内に蓄積されることで尿毒症を発症することや水分の貯留による肺水腫及び貧血や代謝性アシドーシスなどの病態に至ることを述べた。血液透析治療については、原理や治療の実際について触れるとともに、透析患者それぞれで Kt/V 値の評価により透析治療時間やダイアライザなどの治療条件が決定されるが、 Kt/V 値の算出そのものに血液検査の費用や時間がかかることから、頻繁に Kt/V 値を評価することは出来ない。

しかし近年では、光学的技術応用の進歩により、血液の代わりに透析排液中の尿素を光学的に測定することで Kt/V 値を治療中にモニタリングする技術(透析排液成分モニタ)が臨床で活用されていることを述べた。

さらに本章では、透析膜の素材として PS 膜が過半数のシェアを占めるが、PS 膜からの PVP 溶出が原因で PS 膜不適合症例(ショック症状、血圧低下)が懸念されていることについて触れた。

第3章では、本研究を実施するうえで必要となる吸光光度法の理論について、吸光度と濃度の間にはランバート・ベールの法則が成り立つことや、吸光度を測定する装置である分光光度計の仕組みについて説明した。吸光光度法は、分子構造中に $>C=O$ を有する化合物は UV 波長の光を特異的に吸収しやすく、UV 吸光スペクトルにより分子構造を特定できる手法である。

さらに本研究では、透析排液中の Cr, UA, 尿素の各成分の実測濃度を測定する際に、生化学分析装置である富士ドライケム 3500 を用いた。各成分で固有に反応する酵素と反応させた結果として、生じる発色色素を吸光度に変換することから、本装置は吸光光度法の応用と言える。

第4章においては、尿毒症性低分子量物質を対象に透析排液成分モニタに関する研究結果を示した。透析排液成分モニタは現在、便宜上では尿素を対象として透析治療中のリアルタイムな Kt/V 値や URR のモニタリング技術として臨床で使用されているが、尿素自体がほとんど UV 吸光を示さない特性上、尿素を主体とする透析排液成分モニタが可能である理由は明らかではなかった。

透析排液成分モニタは、尿素に極めて近似する小分子を検出することで Kt/V 値や URR などの測定をしていることは明らかである。

そこで本研究では、尿素に近い小分子として Cr と UA を取り上げ、これらの UV 吸光特性に着目した Cr と UA の透析排液成分モニタの検討を進めると同時に Cr と UA の存在が尿素を主体とする透析排液成分モニタに及ぼす影響を調べた。

その結果、波長 236nm を基準に Cr で 波長 290nm を基準に UA と尿素で優れた透析排液成分モニタが可能であることを示し、重回帰分析による UV 吸光度と濃度の関係性を調べた検討では、尿素は波長 236nm の時に最も UV 吸光度と透析排液中尿素濃度の関係性は深く (r_p 値が高値)、既存の透析排液成分モニタで使用されている波長 280nm 帯は Cr と UA の影響を強く受けていることを明らかにした。これは、280nm 帯の UV 吸光度は Cr と UA で成り立っており、これが透析排液中尿素濃度と上手く相関することで、UV 光をほとんど吸収しない尿素でも透析排液モニタが可能であることを示す結果である。吸光度法による定量分析では特に物質固有の λ_{max} 値を基準にすることが多く、Cr のモル吸光係数 ϵ の一つが 235nm にあるという報告⁷⁷⁾や UA が 290nm 帯で検出できる報告^{78,79)}があり、Cr と UA を主体とした透析排液成分モニタを設計する場合には、236nm や 290nm を選定すべき波長であることに概ね妥当性が見られた。さらに、透析排液は本来、Cr, UA, 尿素などが全て含まれる多成分系であるが、本研究結果により、将来的にこれらの成分を分離できる技術が可能となった時には、尿素の透析排液成分モニタには r_p 値が良好であった波長 236nm についても視野に入れるべきである。さらに今回、尿素の透析排液成分モニタに関して、実測濃度と推測濃度の時間的変化に大きな乖離性を認めた。尿素は分子量が最も小さく、拡散によって多くの尿素が短時間で透析液側に流れ込むため、特に透析治療前半については、透析排液中尿素濃度は濃くなるはずである。ランバート・ベールの法則は、濃度が濃くなるに従い UV 吸光度との関係が保てなくなることから、これが実測濃度と推

測濃度の時間的変化を乖離させる原因になっていると予想される。Cr と UA については尿素よりも分子量が大きい、つまり、透析液側への拡散移動量が尿素よりも小さく、ランバート・ベールの法則が成立しやすいと考えられることから比較的 Cr と UA で透析排液成分モニタは精度良く実現できた。

これらの結果は、既存の尿素を対象とした透析排液成分モニタにより既に UV 吸光度によって尿素に関する除去率を評価できていることから、Cr や UA における透析排液成分モニタについても Cr や UA の除去率も同時に評価できるはずである。

第 5 章では、PVP が UV を吸光することから透析排液成分モニタの原理を利用して、PS 膜ダイアライザ洗浄中の PVP に対するリアルタイムモニタリング技術(透析膜洗浄排液成分モニタ)についての基礎的な検討を試みた。

PS 膜ダイアライザから溶出する PVP に関して、その溶出動態や溶出量には多くの実験系モデルにより明らかにされてきた。特に PVP の溶出動態については、PS 膜ダイアライザを洗浄中に溶出する PVP の連続測定を通して評価できるはずである。

PVP 測定に関しては、その多くが Müller 法が用いられており、クエン酸やヨウ素などの試薬を加えるという操作を必要とすることから、本研究の目的の一つである PVP の迅速的な測定には適した方法ではない。一方で、UV 吸光スペクトル波形から PVP 定量する方法である UV-s 法は、UV 照射だけで実施でき、Müller 法に比し時間短縮や操作性も簡易的である。Müller 法は PVP に対しては定量検査しか行えないが、UV-s 法は定量検査に加えて定性検査も同時に行えるのが利点となる。

本研究では、水系実験による PS 膜ダイアライザからの PVP 測定にウェットタイプである PSU と APS、ドライタイプである FX の 3 種を用いて、各ダイアライザで同一の血液回路と実験条件で PVP を指標とする透析膜洗浄排液成分モニタの検討を試みた。

PSU を用いた検討では、UV-s 法による PVP の検出と定量が可能であり、透析膜洗浄排液成分モニタは可能であった。PS 膜ダイアライザから溶出する PVP 測定については滅菌方法にも大きく影響し、特に PVP は γ 線照射によって分解や変性することで Müller 法では定量できないことが報告されているが、本研究においても γ 線滅菌である APS からの PVP 溶出測定を通して、Müller 法で PVP 定量できないことを認めたと同時に UV-s 法では変性や分解をしていない PVP を検出することができた。

従って、 γ 線滅菌による PS 膜ダイアライザからの PVP 測定も UV-s 法が Müller 法

に比し有効であることを明らかにし、APS を用いた PVP の透析膜洗浄排液成分モニタの実現性を見た。また、この結果より明らかとされたことは、0.1L 洗浄時と 0.5L 洗浄時に UV-s 法で PVP の変性が見られ、1.0L 洗浄時には認めなかった点である。

これは、ダイアライザ洗浄の前半は γ 線によって変性した PVP が、洗浄後半にかけては変性していない PVP が徐々に洗浄液中に溶出する動態があることを示している。

また、FX を対象とした検討でも UV-s 法による PVP 検出と定量は可能であり、当然ながら、透析膜洗浄排液成分モニタが出来る可能性は十分にあると言えた。

前述した透析排液成分モニタと同様に今後、ダイアライザ洗浄排液ラインに UV 光源を取り付け、PVP を中心とした透析膜洗浄排液成分モニタを考える場合には PVP の λ_{\max} 値となる約 201.0nm 付近の波長を選択しなければならないことになる。

ただし、PS 膜ダイアライザを洗浄した排液には成分として PVP だけでなく、血液回路からの溶出物も存在する。実際に、本研究で用いた血液回路からも UV を吸光する溶出物を認めたが、血液回路には可塑剤などの多くの化学物質から構成されており、その成分を特定することは困難である。

本研究では、血液回路からの可塑剤が UV-s 法による PVP 測定に影響を与える可能性を想定し、特に UV 吸収を示す可塑剤である DEHP に着目した。

その結果、ダイアライザ洗浄液中に DEHP が検出される可能性が低いことを示し、透析膜洗浄排液成分モニタ中の PVP 測定時において、少なくとも可塑剤 DEHP が影響を与えることがないことを明らかにした。

第2章で、透析患者の QOL 向上を目指すことは透析医療従事者の課せられた課題であると述べた。透析患者に対する QOL を向上させる手段は多く存在するが、物質除去率の高い透析医療を提供することを第一選択肢で考えるならば、既に尿素を主体とした透析排液モニタが Kt/V 値モニタリングという形でその役割を担っている。

第二の手段として、透析患者への食事指導や運動指導が挙げられる。高齢透析患者を中心に急激な痩せや筋肉量の低下は生命予後を悪化させる要因となる。

栄養量や運動量が十分であるかは血液検査値などで判断されるが、運動指標である Cr 及び食事摂取状態で左右される UA を活用することで、運動量や栄養量を評価する判断基準として、これらの透析排液成分モニタの価値を見出していく。

また、UA は動脈硬化とも関連を持つため、透析排液成分モニタによって動脈硬化を

評価するための新たな指標を考えることも今後の課題となる。

したがって、UV 波長 280nm の光源だけでなく、236nm や 290nm の UV 光を照射する光源も現行の透析排液成分モニタに追加し、Cr, UA, 尿素の同時透析排液成分モニタリングを可能とする装置改良を目指していく。

一方で、ダイアライザや血液回路からの溶出物が長い年月をかけて、体内に蓄積することで、生体に影響を及ぼす可能性も否定できない。

透析患者は反復して透析治療を受けるために、PVP を含む溶出物の生体への侵入を防止することが望まれる。本研究によって、UV 光によりダイアライザ洗浄中に溶出するPVPをモニタリングできる可能性を示し、透析治療前にダイアライザ洗浄効果を評価するためのシステム構築を同時に目指していく。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご指導とご鞭撻を賜りました大阪電気通信大学大学院 医療福祉工学研究科 海本浩一 教授に心より厚く御礼を申し上げます。

また、本研究の遂行に際し貴重なご意見を頂きました大阪電気通信大学大学院 医療福祉工学研究科 松村雅史 教授、ならびに吉田正樹 教授、田中則子 教授に深く感謝の意を表します。さらに、本研究において研究遂行を支えて頂いた大阪電気通信大学 医療福祉工学科 宮田賢宏 客員准教授や鎌田亜紀 講師ならびに橘克典 講師、同大学大学院の中村有希 氏をはじめ、海本研究室で共に過ごしたすべての卒業生や在校生に心より感謝致します。さらに、現勤務先である山本クリニック 山本貴敏 院長をはじめ、透析室スタッフの方々に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 政金生人, 谷口正智, 中井滋, 土田健司, 後藤俊介, 和田篤志, 尾形聡, 長谷川毅, 濱野高行, 花房規男, 水口潤, 中元秀友: わが国の慢性透析療法の現況. 透析会誌. 50(1), 6-13, 2017.
- 2) Baceler Marques ID, Pinheiro KF, Freitas do Carmo LP, Costa MC, Abensur H : Anaphylactic reaction induced by a polysulfone/ polyvinylpyrrolidone membrane in the 10th session of hemodialysis with the same dialyzer. Hemodial Int 2011; 15: 399-403
- 3) Huang WH, Lee YY, Shih LC : Delayed near-fatal anaphylactic reaction induced by the F10-HPS polysulfone hemodialyzer. Nephrol Dial Transplant 2008; 23: 423-424
- 4) 二宮石雄, 安藤啓司, 彼末一之, 松川寛二: 腎臓の生理学. スタンダード生理学, 186 - 193, 文光堂, 東京, 2003
- 5) Arthur J. Vander, 飯田喜俊 (監訳) : 第1章 腎の機能・解剖・基本生理. 腎臓の生理学, 1 - 20, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 1996
- 6) 佐藤達夫, 苫米地幸之助, 五島孜郎, 奥平進之 : 第10章 泌尿器系. 解剖生理学, 173 - 180, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2001
- 7) Arthur J. Vander, 飯田喜俊 (監訳) : 第9章 腎における水素イオンバランスの調整. 腎臓の生理学, 149 - 173, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 1996

- 8) 小野哲章, 峰島三千男, 堀川宗之, 渡辺敏: 臨床医学総論(4. 腎不全). 臨床工学士標準テキスト, 579 - 584, 金原出版株式会社, 東京, 2002
- 9) 門川俊明: 急性腎不全の自然経過. レジデントのための血液透析患者マネジメント第2版, 59 - 63, 医学書院, 東京, 2015
- 10) 門川俊明: 透析導入のタイミング. レジデントのための血液透析患者マネジメント第2版, 72 - 75, 医学書院, 東京, 2015
- 11) 日本透析医学会統計調査委員会: わが国の慢性透析療法の現況(2015年12月31日現在). 透析会誌 50(1), 6-22, 2017
- 12) 日本透析医学会統計調査委員会: わが国の慢性透析療法の現況(2008年12月31日現在). 透析会誌 43(1), 1-35, 2010
- 13) Hayama M, Yamamoto K, Kohori F, Sakai K: How polysulfone dialysis membranes containing polyvinylpyrrolidone achieve excellent biocompatibility?. J Memb Sci 234: 41-49, 2004.
- 14) Miyata M, Konishi S, Shimamoto Y, kamada A, Umimoto K: Influences of sterilization and storage period on elution of polyvinylprolydone from wet-type polysulfone membrane dialyzers. ASAIO. J 61: 468-473, 2015.
- 15) 宮田賢宏, 小西修二, 島本佳昌, 海本浩一: ウェットタイプポリスルホン膜のポリビニルピロリドン溶出に及ぼす滅菌法と保存期間の影響. 透析会誌 45(9) : 845-851, 2012

- 16) 島本佳昌, 宮田賢宏, 松下誠吾, 粕本博臣, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 海本浩一: ポリスルホン膜から溶出するポリビニルピロリドンの紫外光による迅速測定を試み. 透析会誌 47(6) : 375-359, 2014
- 17) 日本透析医学会: 維持血液透析ガイドライン: 血液透析処方(第1章血液透析量(小分子物質)と透析時間). 透析会誌 46(7), 597-602, 2013
- 18) 富田真佐子, 小高稔, 佐久間光史, 細田裕, 村山隆志, 山口百子, 水野正一, 吉田英世, 森沢拓, 山中寿: 血清尿酸値が諸疾患に及ぼす影響 固定集団の長期追跡調査. プリン・ピリミジン代謝. 第20巻 第2号, 91-97, 1996.
- 19) 齋藤勝裕: 第3章紫外可視吸収スペクトル. 絶対わかる有機スペクトル解析, 34-35, 講談社サイエンティフィク, 東京, 2007
- 20) 角田欣一: 紫外-可視吸光・蛍光・化学発光法, 基本分析化学. 132-133, 朝倉書店, 東京, 2012
- 21) 安藤勝信: IVコンソール(6. 各種モニタリング). これで透析装置がよくわかる透析装置および関連機器の原理(構造・機能)とメンテナンス, 143-147, 日本メディカルセンター, 東京, 2018
- 22) 森實篤司: IVコンソール(6. 各種モニタリング). これで透析装置がよくわかる透析装置および関連機器の原理(構造・機能)とメンテナンス, 148-150, 日本メディカルセンター, 東京, 2018
- 23) Hall AP: Correlation among hyperuricemia, hypercholesterolemia, coronary disease and hypertension. Arth Rheum 8 : 846-852, 1965
- 24) Beard JT: Serum uric acid and coronary heart disease. Am heart J 106 : 397-400, 1983

- 25) Frohlich ED : Uric acid a risk factor for coronary heart disease. JAMA 270 : 378-379, 1993
- 26) Stiller S, Al-Bashir A, Mann H: On-line urea monitoring during Hemodialysis: A Review. Saudi J kidney Dis Transpi. : 364-374, 2001
- 27) Müller-Deile J, Lichtinghagen R, Haller H, Schmitt R: Online Kt/V Monitoring in Haemodialysis by UVabsorbance: Variations during Intra-Dialytic Meals. Blood Purif. 37(2) : 113-118, 2014.
- 28) Uhlin F, Fridolin I, Lindberg LG, Magnusson M: Estimation of delivered dialysis dose by on-line monitoring of the ultraviolet absorbance in the spent dialysate. Am J kidney Dis. 41(5) : 1026- 1036, 2003.
- 29) 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 中村有希, 宮田賢宏, 海本浩一: 尿毒症性低分子量物質の紫外光吸収特性と透析排液モニタへの応用. 生体医工学 55(6) : 252-257, 2017
- 30) 竹内道広, 中村良一, 長谷弘記, 佐藤拓, 山崎浩樹: 尿素センサによる排液中溶質成分連続計測システムの開発. 医機学 79(6) : 365-372, 2009
- 31) 平川晋也, 山本健一郎, 村上淳, 金子岩和, 木全直樹, 峰島三千男, 秋葉隆: 紫外光を利用した透析液排液モニタリングに及ぼすアルブミン漏出の影響. 腎と透析 77 別冊 : 22-25, 2014.
- 32) 平川晋也, 石森勇, 安部貴之, 若山功治, 菅原智子, 村上淳, 金子岩和, 三和奈穂子, 木全直樹, 峰島三千男, 秋葉隆: 日機装社製透析液排液モニタにおいて各溶質が吸光値に及ぼす影響の検討. 日血浄化技術会誌. 22(2) : 173-176, 2014.

- 33) Castellarnau A, Werner M, Günthner R, Jakob M : Real time Kt/V determination by ultraviolet absorbance in spent dialysate: technique validation. *Kidney Int.* 78(9) : 920-925, 2010.
- 34) Fridolin I, Lindberg LG: On-line monitoring of solutes in dialysate using wavelength-dependent absorption of ultraviolet radiation. *Med Biol Eng . Comput.* 41(3) : 263-270, 2003.
- 35) Umimoto K, Tatsumi Y, Kanaya H, Jokei K: Analysis of uremic substances in dialysate by visible ultraviolet spectroscopy. *IFMBE Proceedings*, vol.14 : 3078-3080, 2006.
- 36) Olesberg JT, Arnold MA, Flanigan MJ: Online measurement of urea concentration in spent dialysate during hemodialysis. *Clin Chem* .50 : 175-181, 2004.
- 37) 井村久則, 菊池和也, 平山直紀, 森田耕太郎, 渡曾仁 : 第3章吸光光度法の基礎実験(3.6.4 感度・検出限界・定量限界). 吸光・蛍光分析, 62-63, 共立出版, 東京, 2011
- 38) 若山功治, 平川晋也, 石森勇, 村上淳, 金子岩和, 木全直樹, 土屋健, 峰島三千男, 新田孝作, 秋葉隆: 日機装社製透析量モニタ(DDM)による透析液排液中のアルブミン濃度測定の基礎的検討. 腎と透析 81 別冊 : 86-88, 2016.
- 39) 岸川竜也, 松田雅人, 山本健一郎, 薬師寺大二, 酒井清孝 : ずり応力を負荷された透析膜表面の粗度・硬度およびPVP 溶出に異なる滅菌法が与える影響. 腎と透析 69 別冊 : 108-111, 2010.

- 40) 堀祐貴, 堀内勇人, 田中かおり, 神田志保, 赤澤真由美, 山田明日香, 齋藤郁郎, 佐藤宜伯, 木村雄二, 後藤淳朗: PS 膜透析器 FX における溶出物の検討. 腎と透析 69 別冊: 159-162, 2010.
- 41) 小西修二, 福永淳, 山下勇人, 宮田賢宏, 宇佐美眞: 皮膚プリックテストによる透析膜溶出物の生体に与える影響. 腎と透析 79 別冊: 154-158, 2015.
- 42) Fukumura H, Hayashi K, Yoshikawa S, Miya M, Yamamoto N, Yamashita I: Complement-induced thrombus formation on the surface of poly(N-vinylpyrrolidone)-grafted polyethylene. *Biomaterials* .8: 74-76, 1987.
- 43) Matsuda M, Sato M, Sakata H, et al: Effect of fluid flow on elution of hydrophilic modifier from dialysis membrane surfaces. *J Artif Organs* 11:148-155, 2008.
- 44) 宮田賢宏, 小西修二, 島本佳昌, 海本浩一: 共通のポリスルホン膜を使用した 3 種のダイアライザによるポリビニルピロリドン溶出特性の比較. 腎と透析 73 別冊: 11-15, 2012.
- 45) 財団法人日本食品化学研究振興財団 新食品添加物安全性検討委員会 (3. 物理化学的性質及び成分規格): ポリビニルピロリドンの指定に向けた検討のための報告書: 5-14, 2006
- 46) 財団法人日本食品化学研究振興財団 新食品添加物安全性検討委員会 (4. 有効性及び必要性): ポリビニルピロリドンの指定に向けた検討のための報告書: 15-17, 2006
- 47) Hecht, G, Weese, H: Periston, ein neuer Blutflüssigkeitsersatz. *Münch, Med. Wschr.* 90: 11-16, 1943

- 48) Bollman, J. L., Knutson, R. C., Lundy, J.S. : Volemic substances for replacement of blood. Arch. Surg. 63 : 718-727, 1953
- 49) Ah-nefeld, F.W., Halmagyi, M., Überla, K. : Untersuchngen zur Bewertung kolloidaler Volumenersatzmittel. Anaesthesist 14 : 137-143, 1965
- 50) Ravin, H.A., Seligman, A.M., Fine, J. : Polyvinylpyrrolidone as a plasma expander : Studies on its excretion, distribution and metabolism. New Engi. J. Med. 247 : 921-929, 1952
- 51) 古山 隆 : Polyvinylpyrrolidone Clearance による糸球体膜透過性の研究. 日腎会誌 3(3) : 431 - 443, 1961
- 52) Hartman, F.W. : Tissue changes following the use of plasma substitutes. Arch. Surg. 63 : 728-738, 1951
- 53) Loeffler, R.K., Succder, J. : Excretion and distribution of polyvinylpyrrolidone in man. Am. J. Clin. Pathol. 23 : 311-321, 1953
- 54) Schildt, B., Bouveng, R., Sollenberg, M. : Plasma substitute induced impairment of the reticuloendothelial system function. Acta Chir. Scand. 141 : 7-13, 1975
- 55) 小島瑞, 高橋潔, 本多憲児, 小川澄 : PVP 補液の生体に及ぼす影響. 最新医学 20(2) : 453-469, 1965
- 56) Arden, G.P., Mandow, G.A., Stoneham, F.J.R. : Plasmaosan in the prevention and treatment of shock. Lancet 1 : 1099-1100, 1951

- 57) Maurer, P.H. : The antigenicity of Polyvinylpyrrolidone. J. Immunol. 77 : 105-110, 1956
- 58) 荒川正昭, 鈴木進 : PVP 製剤の使用中止理由. 日本医事新報 No. 3375 : 125-126, 1988
- 59) 工藤俊洋 : PS 膜フレゼニウスポリスルフォン R. ハイパフォーマンスダイアライザー2008 (竹沢信吾 編集) , 37-48, 東京医学社, 東京, 2008
- 60) 酒井清孝, 峰島三千男 : 透析膜の表面特性 (A : 透析膜の親水性) . わかりやすい透析工学, 78-83, 南江堂, 東京, 2012
- 61) Higuchi A, Shirano K, Harashima M, Yoon BO, Hara M, Hattori M, Imamura K : Chemically modified polysulfone hollow fibers with vinylpyrrolidone having improved blood compatibility. Biomaterials 23 : 2659-2666, 2002
- 62) Yamashita AC , Tomisawa N, Takezawa A, Sakurai K, Sakai T : Blood compatibility and filtration characteristics of a newly developed polyester polymer alloy membrane. Hemodial Int 8 : 368-371, 2004
- 63) Namekawa K, Matsuda M, Fukuda M, Kaneko A, Sakai K : Poly(N-Vinyl-2-pyrrolidone)elution from Polysulfone dialysis membranes by varying solvent and wall shear stress. J Artif Organs 15: 185-192, 2012.
- 64) Matsuda M, Yakushiji T, Sakai k : Effects of γ irradiation on the surface properties of wet polysulfone films containing poly(vinylpyrrolidone). Surt Interface Anal 43 : 976-983, 2011

- 65) 宮田賢宏, 陶山実有希, 海本浩一: ポリビニルピロリドン溶出に対するビタミン E コーティングポリスルホン膜ダイアライザの有用性. 生体医工学 50(6) : 700-705, 2012
- 66) Namekawa K, Kaneko A, Sakai K, Kunikata S, Matsuda M: Longer storage of dialyzers increases elution of poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) from poly-sulfone-group dialysis membranes. J Artif Organs 14 : 52-57, 2011
- 67) K. Müller : Nachweis und Bestimmung von PVP sowie Bestimmung von Wirkstoffen in PVP-haltigen Arzneimittel-zubereitungen. Pharm Acta Helv 43:107-122, 1968
- 68) Levy, G.B., Fergus, D. : Analyt. Chem. 25 : 1408, 1953
- 69) Oster G, Immergut E: Ultraviolet and Infrared Spectral Studies of Polyvinylpyrrolidone. J. Am. Chem. Soc 76:1393-1396, 1954
- 70) Murakami J, Kaneko I, Kimata N, Mineshima M, Akiba T: Problems in the evaluation of polyvinylpyrrolidone (PVP) elution from polysulfone membrane dialyzers sterilized by gamma-ray irradiation. Renal Replacement Therapy: 2: 36, 2016.
- 71) 堀内勇人, 堀祐貴, 田中かおり, 神田志保, 赤澤真由美, 山田明日香, 齋藤郁郎, 佐藤宜伯, 木村雄二, 後藤淳朗 : PS 膜透析器 FX のインライン蒸気滅菌による溶出物洗浄効果. 医工学治療 25 : 22-29, 2013

- 72) 大橋篤, 日比谷信, 中上寧, 加藤政雄, 芳川博人, 鳥羽貴子, 久志本弘子, 勝又秀樹, 村上和隆, 長谷川みどり, 富田亮, 長谷川寛, 鹿野昌彦, 川島司郎: 血液回路から溶出する内分泌攪乱物質Di-(2-ethylhexyl)phthalateの溶出の実態とハイパフォーマンス膜による除去についての検討. 透析会誌 32(10):1291-1297, 1999
- 73) 橋本貴仁, 吉本裕, 菅野有造, 阿部薫, 芝本隆: 血液回路からDi-(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)溶出防止対策とその効果. 透析会誌 38(6): 1291-1297, 2005
- 74) 辻楠雄, 水町彰吾, 飯田和子, 大場琢磨: 人工腎臓用PVC製血液回路からエタノール溶液によるフタル酸エステルの溶出. 高分子論文集 34(4): 287-290, 1977
- 75) 日比谷信, 渡邊浩次, 井平勝, 石川隆志, 山内章弘, 海江田章, 豊崎正人, 三澤健治, 榊原未和, 石川正敏, 杉森美幸, 山本賢, 石田沙織, 服部良信, 伊藤康宏: 体外循環用血液回路からの可塑剤溶出の基礎的検討—DEHPとTOTMの溶出の比較—. 体外循環技術 33(1): 16-19, 2006
- 76) Gulping Cao, Yafeng Zhuang, Baollang Liu: Simultaneous Determination of Bisphenol A and Bisphenol S in Environmental Water using Ratio Derivative Ultraviolet Spectrometry. Afr. J. Chem 67: 99-103, 2014
- 77) Ruth Tomson, Fredrik Uhlin, Jana Holmar, Kai Lauri, Merike Luman, Ivo Fridolin: Development of a method for optical monitoring of creatinine in the spent dialysate. Estonian Journal of Engineering 17(2): 140 - 150, 2011.
- 78) Nor Mazlee Norazmi, H. Manap, Zul Rasyied A. R, M. Mazuina: Uric Acid detection in UV Region. The National Conference for Postgraduate Research: 752 - 757, 2016.

- 79) N. Norazmi, ZR. Abdul Rasad, M. Mohamad, H. Manap : Uric acid detection uv
- vis spectrometer. Mater. Sci. Eng. 257 (012031), 2017

研究業績

学術論文

1. Yoshimasa Shimamoto, Seigo Matsushita, Takatoshi Yamamoto, Yuki Nakamura, Aki Kamada, Masahiro Miyata and Koichi Umimoto : Real-time measurement of polyvinylpyrrolidone eluted from polysulfone membrane dialyzers based on the ultraviolet spectrum. ASAIO Journal, 2018.
2. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 中村有希, 宮田賢宏, 海本浩一: 尿毒症性低分子量物質の紫外光吸収特性と透析排液モニタへの応用. 生体医工学 55(6): 252-257, 2017.
3. Masahiro Miyata, Syuji Konishi, Yoshimasa Shimamoto, Aki kamada, Koichi Umimoto: Influences of sterilization and storage period on polyvinylprolydone elution from wet-type polysulfone membrane dialyzers. ASAIO Journal. Vol. 61: 468-473, 2015.
4. 島本佳昌, 宮田賢宏, 松下誠吾, 粕本博臣, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 海本浩一: ポリスルホン膜から溶出するポリビニルピロリドンの紫外光による迅速測定を試み透析会誌 47(6): 375-379, 2014.
5. 宮田賢宏, 小西修二, 島本佳昌, 海本浩一: ウエットタイプポリスルホン膜のポリビニルピロリドン溶出に及ぼす滅菌法と保管期間の影響. 透析会誌 45 (9) : 845-581, 2012.

学会発表論文集

1. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橘克典, 海本浩一 : 吸光光度分析を活用した透析排液モニタリングに関する応用. 腎と透析 81 別冊:24-26, 2016.
2. 松島広平, 森本延幸, 陶山実有希, 島本佳昌, 宮田賢宏, 海本浩一: 血液回路からの溶出物が紫外光を用いた PVP 測定に与える影響. 第 20 回 近畿臨床工学会発表論文集: 15-17, 2014.
3. 島本佳昌, 宮田賢宏, 陶山美有希, 松下誠吾, 山本貴敏, 海本浩一 : 紫外線を用いたポリスルホン膜から溶出するポリビニルピロリドン定量法の検討. 第 19 回近畿臨床工学会発表論文集 : 37-38, 2013.
4. 島本佳昌, 宮田賢宏, 山本貴敏, 海本浩一 : 紫外光を用いたポリビニルピロリドン定量法の検討. 第 18 回近畿臨床工学会発表論文集 : 45-47, 2012.
5. 宮田賢宏, 小西修二, 島本佳昌, 海本浩一 : 共通のポリスルホン膜を使用した 3 種のダイアライザによるポリビニルピロリドン溶出特性の比較. 腎と透析 73 別冊 : 11-15, 2012.

研究会会誌

1. **島本佳昌**, 松下誠吾, 山本貴敏, 粕本博臣, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橘克典, 海本浩一 : 紫外光を利用した透析排液モニタリングについての応用. 兵庫県透析従事者研究会会誌: 18-19, 2017.
2. **島本佳昌**, 松下誠吾, 山本貴敏, 粕本博臣, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橘克典, 海本浩一 : 紫外光を用いた透析排液モニタリングに関する基礎研究. 兵庫県透析従事者研究会会誌 : 9-10, 2016.
3. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一 : 紫外光を用いたダイアライザ洗浄液の成分分析と PVP 測定に与える影響. 兵庫県透析従事者研究会会誌: 7-8, 2015.
4. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一 : ダイアライザから溶出するポリビニルピロリドンの紫外光を用いた迅速測定に関する研究. 兵庫県透析従事者研究会会誌 : 21-22, 2014.
5. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 松下誠吾, 山本貴敏, 海本浩一 : 紫外線スペクトル分析を用いたポリビニルピロリドン定量方法の考案. 兵庫県透析従事者研究会会誌 : 10-11, 2013.
6. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 山本貴敏, 海本浩一 : 吸光光度分析法を用いた透析液排液モニタリングの検討. 兵庫県透析従事者研究会会誌 : 39-40, 2012.

国際学会発表

1. Yoshimasa Shimamoto, Seigo Matsushita , Takatoshi Yamamoto , Aki Kamada , Shinichi Iguchi , Masahiro Miyata and Koichi Umimoto: Ultraviolet absorbance spectrum for measurement of uremic low molecular weight substances in spent dialysate. ISN Frontiers meetings*¹⁾ 2018, 2018.
2. Koichi Umimoto, Minae Matsuura, Yoshimasa Shimamoto, Katsunori Tachibana, Aki Kamada, Masahiro Miyata : A SIMPLE MEASUREMENT OF VITMAMIN B₁₂ BY VISIBLE SPECTROSCOPY. 第 53 回 ERA-EDTA*²⁾, 2016.
3. Koichi Umimoto, Masahiro Miyata, Yoshimasa Shimamoto, Katsunori Tachibana, Aki Kamada: ELUTION OF POLYVINYLPIRROLIDONE AND THE STORAGE PERIOD OF A γ -STERILIZED POLYSULFONE MEMBRANE DIALYZER, 第 53 回 ERA-EDTA , 2016.
4. Koichi Umimoto, Miyuki Suyama, Yoshimasa Shimamoto, Masahiro Miyata, Aki Kamada: DETECTION OF ALBUMIN FRAGMENTS ON DIALYZER MEMBRANES. 第 51 回 ERA-EDTA , 2014.
5. Koichi Umimoto, Yoshimasa Shimamoto, Kohei Mastushima, Masahiro Miyata: SPECTRAL MEASUREMENT OF POLYVINYLPIRROLIDONE ELUTED FROM POLYSULFONE MEMBRANES. 第 51 回 ERA-EDTA , 2014.
6. Koichi Umimoto, Yoshimasa Shimamoto, Miyuki Suyama, Masahiro Miyata : Real-time monitoring of polyvinylpyrrolidone eluting from dialyzer membrane. 第 50 回 ERA-EDTA, 2013.

7. Koichi Umimoto, Yoshimasa Shimamoto, Yuni Kobayashi, Masahiro Miyata : Measurement of polyvinylpyrrolidone using ultraviolet spectroscopy. 第 48 回 ERA-EDTA, 2011.
8. Koichi Umimoto, Yoshimasa Shimamoto, Yuki Nata, Masahiro Miyata : Monitoring the removal of uremic substances by ultraviolet spectroscopy. 第 48 回 ERA-EDTA, 2011.

*1) International Society of Nephrology Frontiers meetings

*2) ERA-EDTA: European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association

国内学会発表

1. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 下村裕, 井口新一, 鎌田亜紀, 海本浩一 : 透析排液モニタに関する重回帰式を用いた吸光度分析の試み. 第 42 回 兵庫県透析従事者研究会. 神戸, 2018.
2. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 粕本博臣, 下村 裕, 井口新一, 鎌田亜紀, 海本浩一 : 多変量解析を用いた透析排液モニタに関する分析. 第 61 回 日本透析医学会 学術集会・総会, 神戸, 2018.
3. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 中村有希, 宮田賢宏, 海本浩一 : ポリビニルピロリドンの紫外光吸収特性とダイアライザ洗浄モニタへの応用. 第 41 回 兵庫県透析従事者研究会. 神戸, 2017.
4. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 鎌田亜紀, 中村有希, 宮田賢宏, 海本浩一 : 尿毒症性低分子量物質の紫外光吸収特性と透析排液モニタへの応用. 生体医工学シンポジウム 2017. 長野, 2017.

5. 鎌田亜紀, 西村友貴, **島本佳昌**, 宮田賢宏, 橋克典, 海本浩一: 模擬透析体外循環モデルにおけるポリビニルピロリドン溶出動態の検討. 第62回 日本透析医学会学術集会・総会, 横浜, 2017.
6. **島本佳昌**, 松下誠吾, 山本貴敏, 粕本博臣, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橋克典, 海本浩一: 紫外光を利用した透析排液モニタリングについての応用. 第40回 兵庫県透析従事者研究会. 神戸, 2016.
7. **島本佳昌**, 松下誠吾, 山本貴敏, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橋克典, 海本浩一: 吸光光度を利用した透析排液モニタリングの応用. 第61回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2016.
8. 鎌田亜紀, 木村雄一, **島本佳昌**, 宮田賢宏, 橋克典, 海本浩一: 逆濾過洗浄におけるポリビニルピロリドン(PVP)の透析膜透過性について. 第61回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2016.
9. 宮田賢宏, 小西修二, 中村拓生, 鎌田亜紀, **島本佳昌**, 海本浩一: ポリビニルピロリドンの透析膜透過性. 第61回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2016.
10. 宮田賢宏, 小西修二, 中村拓生, 山西倅司, 中野健太, 鎌田亜紀, **島本佳昌**, 海本浩一: 拡散および濾過に伴うポリビニルピロリドンの透析膜通過性. 第26回日本臨床工学会, 京都, 2016.
11. **島本佳昌**, 松下誠吾, 山本貴敏, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 橋克典, 海本浩一: 吸光光度分析を活用した透析排液モニタリングに関する応用. 第31回 ハイパフォーマンスメンブレン研究会, 東京, 2016.

12. 宮田賢宏, 小西修二, 鎌田亜紀, 島本佳昌, 海本浩一: γ 線滅菌 wet-type PS 膜ダイアライザの保管期間と PVP 溶出量の再考. 第 60 回 日本透析医学会学術集会・総会, 横浜, 2015.
13. 鎌田亜紀, 木村雄一, 島本佳昌, 宮田賢宏, 海本浩一: 逆濾過洗浄と生理食塩液洗浄におけるポリビニルピロリドン (PVP) 溶出量の検討. 第 60 回 日本透析医学会学術集会・総会, 横浜, 2015.
14. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 海本浩一: 紫外光を用いた透析排液モニタリングに関する基礎研究. 第 39 回 兵庫県透析従事者研究会. 神戸, 2015.
15. 島本佳昌, 松下誠吾, 山本貴敏, 宮田賢宏, 鎌田亜紀, 海本浩一: 紫外光照射によるポリスルホン膜ダイアライザ洗浄排液モニタリングの検討. 第 22 回 近畿臨床工学会. 大阪, 2015.
16. 宮田賢宏, 小西修二, 中村拓生, 鎌田亜紀, 島本佳昌, 海本浩一: γ 線滅菌ウェットタイプポリスルホン膜ダイアライザの保管期間とポリビニルピロリドン溶出量. 第 22 回 近畿臨床工学会. 大阪, 2015.
17. 島本佳昌, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一: 紫外光を用いた PVP 測定法の考案. 第 59 回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2014.
18. 島本佳昌, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一: ダイアライザ洗浄液の紫外光分析について. 第 59 回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2014.
19. 島本佳昌, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一: 紫外光を用いたダイアライザ洗浄液の成分分析と PVP 測定に与える影響. 第 38 回 兵庫県透析従事者研究会, 神戸, 2014.

20. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 松島広平, 山本貴敏, 海本浩一: ダイアライザから溶出するポリビニルピロリドンの紫外光を用いた迅速測定の試み. 第 37 回 兵庫県透析従事者研究会, 神戸, 2013.
21. 松島広平, 森本延幸, 陶山実有希, **島本佳昌**, 宮田賢宏, 海本浩一: 血液回路からの溶出物が紫外光を用いた PVP 測定に与える影響. 第 20 回 近畿臨床工学会, 奈良, 2013.
22. 宮田賢宏, 小西修二, **島本佳昌**, 海本浩一: 共通のポリスルホン膜を使用した 3 種のダイアライザによるポリビニルピロリドン溶出特性の比較. 第 27 回 ハイパフォーマンスメンブレン研究会, 東京, 2012.
23. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 陶山実有希, 松下誠吾, 山本貴敏, 海本浩一: 紫外線を用いたポリスルホン膜から溶出するポリビニルピロリドン定量法の検討. 第 19 回 近畿臨床工学会, 和歌山, 2012.
24. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 松下誠吾, 山本貴敏, 海本浩一: 紫外線スペクトル分析を用いたポリビニルピロリドン定量方法の考案. 第 36 回 兵庫県透析従事者研究会, 神戸, 2012.
25. **島本佳昌**, 河合伸晃, 宮田賢宏, 海本浩一: ポリスルフォン(PS)膜から溶出するポリビニルピロリドン (PVP) の測定法について. 第 56 回 日本透析医学会学術集会・総会, 東京, 2011.
26. **島本佳昌**, 宮田賢宏, 山本貴敏, 海本浩一: 紫外光を用いたポリビニルピロリドン定量法の検討. 第 18 回 近畿臨床工学会, 神戸, 2011.

27. 宮田賢宏, 小西修二, 法橋慶尚, 島本佳昌, 海本浩一: 滅菌法が異なるウェットタイプポリスルホン膜を用いた PVP 溶出動態の比較. 第 18 回 近畿臨床工学会, 神戸, 2011.
28. 宮田賢宏, 小西修二, 法橋慶尚, 島本佳昌, 海本浩一: 共通の工程を有する 3 種ポリスルホンダイアライザを用いたポリビニルピロリドン溶出動態の比較. 第 77 回 大阪透析研究会, 2011.
29. 島本佳昌, 河合伸晃, 宮田賢宏, 海本浩一: Attempt to detect uremic substances in spent dialysate by optical measurement. 第 50 回 日本生体医工学会大会, 東京, 2011.
30. 島本佳昌, 宮田賢宏, 山本貴敏, 海本浩一: 吸光光度分析法を用いた透析液排液モニタリングの検討. 第 35 回 兵庫県透析従事者研究会, 神戸, 2011.
31. 島本佳昌, 河合伸晃, 川西秀明, 宮田賢宏, 海本浩一: Study of eluting polyvinylpyrrolidone (PVP) from dialysis membrane. 第 49 回 日本生体医工学会, 東京, 2010.
32. 島本佳昌, 河合伸晃, 川西秀明, 辰巳靖幸, 海本浩一: 吸光光度法を用いた透析液排液測定 of 検討. 第 55 回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2010.
33. 河合伸晃, 島本佳昌, 川西秀明, 辰巳靖幸, 海本浩一: 膜圧および透析液還流の透析膜蛋白質付着への影響. 第 55 回 日本透析医学会学術集会・総会, 神戸, 2010.