

平成 2 6 年 6 月 1 1 日現在

機関番号：3 1 2 0 1

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：2 3 7 9 1 2 3 5

研究課題名（和文）新生児低容量血液浄化器の安全性の確立：ブラジキニン、サイトカインの除去

研究課題名（英文）A study on the kinetics of bradykinin and cytokines in the low volume hemofilter with blood priming

研究代表者

高田 彰（Takada, Akira）

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：3 0 4 3 8 4 9 4

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,400,000 円、（間接経費） 420,000 円

研究成果の概要（和文）： 新生児の血液浄化療法では事前に回路内を血液で充填する。回路内に充填するための濃厚赤血球・5%アルブミン混合血液中のIL-6、IL-1、TNF- α といった炎症性サイトカイン濃度は低値であり、使用する血液浄化器がポリスルホン膜でもポリメチルメタクリレート膜でもその濃度が上昇することはなかった。また、いずれの膜においても混合血のナトリウム、カリウム、カルシウム、糖、乳酸、重炭酸は20分以上の透析で改善した。

研究成果の概要（英文）： In blood purification therapy for neonates, the extracorporeal circuit is primed by banked blood. Proinflammatory cytokines included IL-6, IL-1 β and TNF- α were low concentration in the primed blood mixed by banked red cell and 5% albumin. Also, these concentrations were no change using with polysulfon membrane or polymethyl methacrylate membrane. The concentration of sodium, potassium, calcium, glucose, lactate and bicarbonate in the primed blood were normalized by dialysis more than for 20 minutes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、胎児・新生児医学

キーワード：新生児 血液浄化療法 血液充填 サイトカイン 電解質 酸塩基平衡

1、研究開始当初の背景

近年、血流量や除水量などを 1ml の単位で精密に制御できる血液浄化装置や、小児用の低用量の体外循環回路や血液浄化器の開発が進み、低出生体重児を含む新生児に対して、体外循環を用いた血液浄化療法 (Extracorporeal blood purification therapy: EBPT) が可能になってきている。しかし、小児に比べて新生児は極めて低体重であり、開始時の低血圧など依然リスクを伴う治療である。現存する低用量の体外循環回路と血液浄化器を組み合わせても、一般的に循環血液量の 10%未満に抑制すべきとされる体外循環血液量は新生児では達成できない。そのため、回路内を保存血で充填してから患児に接続するという特殊な方法がとられる。保存血は電解質や酸塩基平衡が非生理的であることから、あらかじめ回路内で透析してから患児に接続する。新生児に対して EBPT を施行する場合、体外循環開始後に一過性に血圧が低下する initial drop をしばしば経験する。元来血圧が低い新生児にとって initial drop は無視できない重大な副反応だが、その機序は不明である。以前我々は血液浄化器にポリアクリロニトリル膜を用いて血液充填をした場合、保存血中に血圧低下の原因となりうるブラジキニンが産生されること、回路内の透析でこれらを除去できることを示した。しかし、他の種類の血液浄化器を使用した場合や他の mediator などの動態などの検討をした報告はない。そこで本研究では、新生児に対する EBPT で使用される可能性のある他種の血液浄化器を用いて、血液充填をした際の mediator、特にサイトカインの動態および回路内透析の効率に関して検討した。

2、研究の目的

現在、新生児に応用できる低容量の血液浄化器として、ポリアクリロニトリル膜製品が申請後に製造中止となったため、主にポリス

ルフォン膜製品とポリメチルメタクリレート膜製品の 2 種類がある。これらにに対して血液充填と回路内透析の検討や mediator に関する解析は報告がない。そこで、本研究では保存血を充填した場合の血液浄化器別の mediator、特にサイトカインの動態を把握し、回路内透析の効率に関して検討することを目的とした。

3、研究の方法

(1) 充填血液の準備

申請当初、充填血液はボランティアから採血した血液から濃厚赤血球を作成して準備する予定であったが、白血球除去膜付の採血バッグの製造中止や、mediator に影響しうる放射線照射が実験レベルでできないなどの理由から、実際の臨床現場で用いる濃厚赤血球と大幅に性状が異なることが懸念された。そこで、本研究には使用期限の切れた濃厚赤血球を用いることとし、これと 5%アルブミンを 3:2 の割合で混合して充填血液とした。使用前に測定用の採血を行った (前値)。

(2) 血液浄化装置には Plasauto iQ21 (旭化成メディカル株式会社、東京) と小児用回路 CHDF-P21 (容量 39.5ml、旭化成メディカル株式会社、東京) を用いた。検討する血液浄化器はエクセルフロー03 (ポリスルフォン膜、容量 26ml、旭化成メディカル株式会社、東京) とヘモフィール CH0.3N (ポリメチルメタクリレート膜、容量 22ml、東レ・メディカル株式会社、千葉) を用いた。体外循環回路および血液浄化器を Plasauto iQ21 に装着後、回路内をナファモスタットメシル塩を 20mg/l の濃度で混入した生理食塩液で洗浄した。脱血ラインを充填血液の入ったバッグに接続し、血流量 15ml/min で 4 分間血液ポンプを回し、返血ラインから回路内の生食を理論上 60ml 破棄したのちに返血ラインをバッグに接続し閉鎖回路とした。血流量 50ml/min で 1 分循環させたのち採血し (0

分値)、50ml/min で循環させたまま 30 分まで 10 分毎に採血した(10 分値、20 分値、30 分値)。その後、透析液にサブバック(ニプロ株式会社、大阪)を用いて、透析液流量 2,000ml/h で透析を開始し、30 分まで 10 分毎に採血した(透析 10 分値、透析 20 分値、透析 30 分値)。この操作をエクセルフロー-03 (PS 膜)、ヘモフィール CH0.3N (PMMA 膜)ともにそれぞれ異なる 5 つのドナー血液を用いて行った。

(3) 測定項目と測定方法

採血ポイントは充填血液作成時(前値)、1 分間循環後(0 分値)、10 分、20 分、30 分、透析開始後 10 分、20 分、30 分の計 8 ポイントとした。血液ガス分析装置 ABL800 FLEX (Radiometer, Copenhagen)を用いて全血を測定し、Na、K、 Ca^{2+} 、糖、乳酸、重炭酸について検討した。また、炎症サイトカインである IL-6、IL-1、TNF- α に関しては ELISA kit (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham)を用いて測定した。

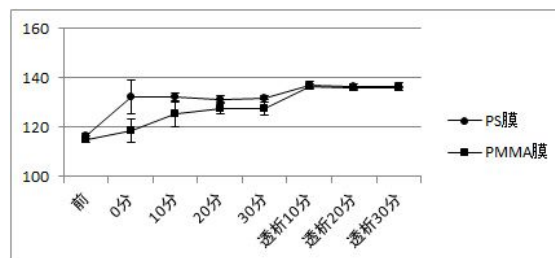
4、研究の成果

(1) Na、K、 Ca^{2+} 、糖、乳酸、重炭酸の推移

グラフには単純に血液循環させた 30 分間と、その後に透析を行った 30 分間を示した。

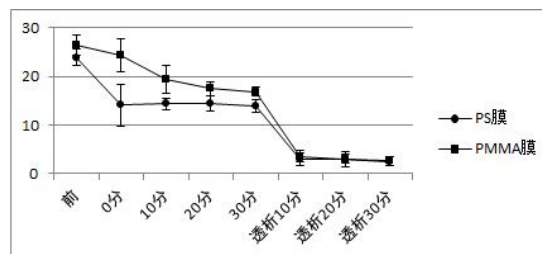
ナトリウム

作成した充填血液内は低ナトリウムであり、PS 膜群 $117 \pm 1.1 \text{ mEq/l}$ 、PMMA 膜群 $115 \pm 1.2 \text{ mEq/l}$ であった。透析せずに循環させただけで徐々に濃度は上昇したが、これは洗浄に用いた生食との間で内部ろ過が生じたためと考えられた。透析後は 10 分後に PS 膜群 $137 \pm 1.5 \text{ mEq/l}$ 、PMMA 膜群 $136 \pm 1.1 \text{ mEq/l}$ と正常となった。



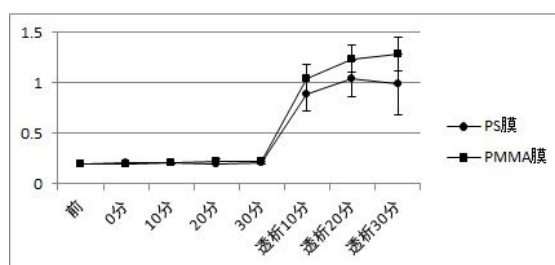
カリウム

混合直後のカリウムは PS 膜群、PMMA 膜群で $23.9 \pm 1.7 \text{ mEq/l}$ 、 $26.5 \pm 2.1 \text{ mEq/l}$ と極めて高値であった。単純循環で軽度濃度が低下したが、ナトリウムと同様の機序と考えられた。透析 10 分後には PS 膜 $3.0 \pm 1.3 \text{ mEq/l}$ 、PMMA 膜 $3.5 \pm 1.2 \text{ mEq/l}$ と正常化した。



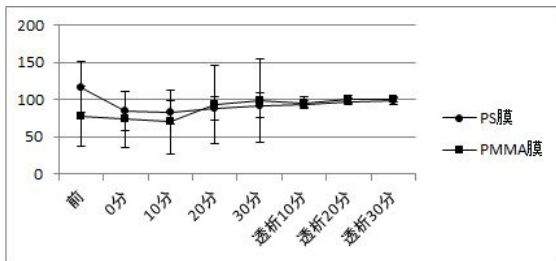
カルシウム

充填血液内の Ca イオンは PS 膜群、PMMA 膜群で測定感度以下であったが、透析開始後に上昇し、PS 膜では 20 分後に $1.0 \pm 0.2 \text{ mmol/l}$ 、PMMA 膜では 10 分後に $1.0 \pm 0.1 \text{ mmol/l}$ と正常化した。



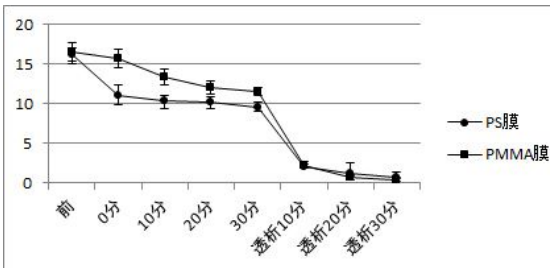
糖

糖に関しては濃厚赤血球によって濃度にばらつきがあったが、透析によって PS 膜群、PMMA 膜群ともに 100 mg/dl 前後に一定化した。



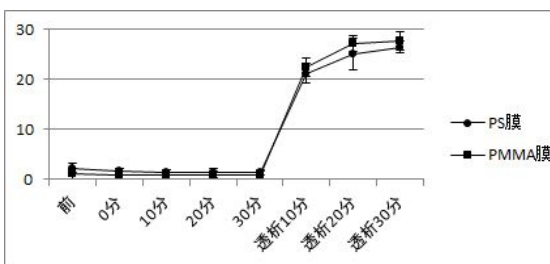
乳酸

混合直後の乳酸はPS膜群、PMMA膜群で 16.2 ± 0.9 mmol/l、 16.6 ± 1.1 mmol/l と極めて高値であった。カリウムと同様の機序で単純循環で軽度濃度が低下したと考えられた。透析20分後にはPS膜 1.2 ± 1.3 mmol/l、PMMA膜 0.7 ± 0.3 mmol/l と正常化した。



重炭酸イオン

充填血液は極めて酸血症であり、PS膜群 2.2 ± 0.9 mmol/l、PMMA膜群 1.0 ± 1.1 mmol/l であった。透析開始後に上昇し、20分後にPS膜 21.2 ± 3.1 mmol/l、PMMA膜では10分後に 27.2 ± 1.5 mmol/l と正常化した。



(2) サイトカインの動態

PS膜群、PMMA膜群ともに濃厚赤血球と5%アルブミンを混合した充填血液内のIL-6、IL-1、TNF- α はいずれも測定感度以下であった (IL-6 < 2 pg/ml、IL-1 < 1 pg/ml、TNF- α < 2 pg/ml)。両群ともに血液浄化器接触後 (0分値) にもその濃度が上昇することはなく、30分を通して測定感度以下であっ

た。さらに透析をした30分においてもその濃度に変化はなかった。日本赤十字社で作成される濃厚赤血球は採血と同時に白血球除去が行われ、翌日には15Gyの放射線照射が行われる。これによって濃厚赤血球内の炎症性サイトカインは生体に影響ない濃度であり、PS膜やPMMA膜との接触で影響を受けないことが分かった。

PS膜	前値	0分値	10分値	20分値	30分値
IL-6	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml
IL-1 β	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml
TNF- α	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml
PMMA膜	前値	0分値	10分値	20分値	30分値
IL-6	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml
IL-1 β	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml	<1 pg/ml
TNF- α	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml	<2 pg/ml

(3) 充填血液の閉鎖回路内透析について

以上から、PS膜とPMMA膜を用いて血液充填した際、炎症性サイトカインに関しては考慮する必要がなく、補正すべきなのは電解質と酸塩基平衡であり、いずれの血液浄化器を用いた場合でも、血流量50ml/分、透析液流量2,000ml/分の条件で少なくとも20分以上の透析が必要と考えられた。一過性の血圧低下は体外循環血液量や接続方法、除水などの血液浄化の設定が主に関与していると考えられ、今後はこれらを臨床的に検討する必要があると考えられた。

5 主な発表論文など

高田 彰：新生児に対する血液浄化療法の副反応に関する検討. 第49回日本小児腎臓病学会、2014、秋田。

6 研究組織

(1) 研究代表者

高田 彰 (TAKADA, Akira)
岩手医科大学・医学部・助教
研究者番号：30438494