

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：31201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15669

研究課題名(和文)ダイアフラム型ポンプを用いた超低容量血液浄化システムの開発

研究課題名(英文)Development of blood purification system with ultra-small volume using diaphragm pump

研究代表者

石川 健 (Ishikawa, Ken)

岩手医科大学・医学部・講師

研究者番号：30326649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：single-needle dialysisの原理に基づき、新生児用世界最小体外循環回路の血液浄化システムを開発した。血液循環用にシリンジポンプを使用すると、機械的圧迫・摩擦で、血球破壊の危険性があり、血液循環にダイアフラム型ポンプを試用し、シリンジ型との比較を行った。24時間の血液循環で、ダイアフラム型・シリンジ型ともに遊離ヘモグロビンの有意な上昇が認められ、ダイアフラム型の血球破壊の低減という優性は示されなかった。加えて、回路内圧上昇に伴い、一定の量を循環させるというポンプ機能を維持できないことが明らかになった。本システムの実用化にむけ血液循環用ポンプの選択・改良が必要である。

研究成果の概要(英文)：A blood purification system with the world smallest extracorporeal circulation circuit for neonates has been developed based on a principle of single-needle dialysis. When syringe pump is used for blood circulation, there is risk of hemolysis of blood due to mechanical compression and friction, therefore, diaphragm pump was tried for blood circulation and compared with syringe pump. The significant raise in free hemoglobin was observed in both diaphragm type and syringe type after 24-hour blood circulation, which resulted that superiority of using diaphragm pump for blood circulation was not shown. In addition, it was impossible to maintain accuracy of amount in blood circulation using diaphragm pump with the rise in circuit pressure. It is necessary to select and improve pump for the blood circulation in this system for practical use.

研究分野：小児腎臓病学

キーワード：ダイアフラム 超低容量回路 新生児 血液浄化療法 single-needle dialysis

1. 研究開始当初の背景

透析機器の技術進歩によって、体外循環を用いた血液浄化療（extracorporeal blood purification therapy :EBPT）が新生児を含む小児でも可能となった¹⁾。しかし、体格の小さな小児でEBPT を行う場合、体外循環させる血液量が体内の循環血液量に比して過大となり、血液希釈や血圧低下の危険性がある^{2,3)}。これを回避するためEBPT 回路内を合成血で充填した後、患児に接続しEBPT を開始する⁴⁾。しかし、血液充填には輸血後感染症や輸血関連合併症の危険性を伴う。このため、小児でも血液充填なしにEBPT を行える超低容量のEBPT システムの開発が望まれる。現行のEBPT 装置は、脱血と送血の2本のブラッドアクセスルートが必要とし、血液の循環にはローラーポンプを採用している。EBPT 回路容量はローラーポンプのローラー径に依存し、欧米で27.2 mL⁵⁾、本邦で48 mL⁶⁾のものが最低容量である。一方、SNDは、ローラーポンプにランプ・チャンバーを組み合わせて脱血と送血の位相を変え交互に行うことで、1本のブラッドアクセスルートでEBPT の施行が可能である。また、物質除去効率においても、現行のチューブポンプを用いたEBPT システムと遜色ないことが示されている⁷⁾。Coulthard⁸⁾らとEverdellら⁹⁾は血液浄化器の前後に2本のシリンジポンプを用いたSND 型EBPTシステムを報告し、その回路容量は6~10mLと飛躍的な低容量化に成功している。申請者らも、1本のシリンジポンプに2つの逆止弁/電磁弁を組み入れ、回路容量3mLの超低容量SND 型EBPT システムを開発した^{10,11)}。しかし、SND に用いられるローラーポンプはローラーがチューブをしごいて血液を循環させ、シリンジポンプはガasketのついたプランジャーを押し引きすることで血液を循環させる。このため、機械的な圧迫や摩擦によって血球成分が破壊され、これが回路内凝結や、血液浄化膜の劣化を招く原因となる。本研究者らが開

発したシリンジポンプを用いた超低容量SND 型EBPT システムでも、長時間の操作によりシリンジポンプの外筒とガasketとの間に血球成分が詰まり、回路内の逆止弁にも血球成分の詰まりが認められた。ダイアフラムポンプは、1枚の膜と2つの弁で構成され、膜を上下に運動させて容積を変化させ、位相を変えて吸込と吐出を交互に行うことができる（図1）。ダイアフラム型ポンプにはポンプによる直接的な圧迫や摩擦を回避することができ、金属製部品が血液に接触しない、粘性の高い血液でも扱うことができる、構造が簡単で小型軽量化でき、血液浄化装置への組み込みが容易、流量や送血量の調節が容易などの利点がある。このダイアフラム型ポンプをSND の血液循環ポンプに使用し、血球破壊等の有害事象を回避し、長時間使用に耐えうる超低容量EBPT システムを開発し、安全・有効性を検証する。

図1（ダイアフラムポンプのSDN 型超低容量EBPT システムの模式図）

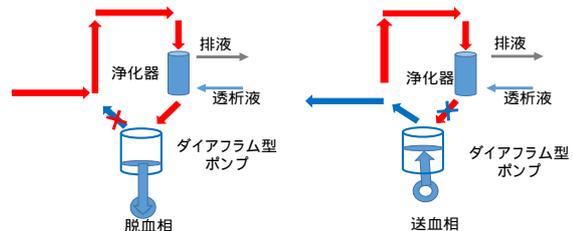


図2（ダイアフラムポンプのSDN 型超低容量EBPT システムの実機）



2. 研究の目的

single-needle dialysis (SND) は、脱血と送血の位相を変えて交互に行うことで、1本のブラッドアクセスルートで血液浄化療法を施行する方法である。SND は、必要なブラッドアクセスは1本で、回路の低容量化が容易

で、特に、体格の小さな小児に利点がある。現在、SND はローラーポンプにクランプ・チャンパーを組み合わせて脱血と送血を異なる位相で作りだしているが、ポンプによる機械的な圧迫や摩擦で血球破壊の懸念がある。機械的な圧迫や摩擦を直接受けにくいと考えられるダイヤフラムポンプを使用した超低容量 SND システムの検証を行う。

3. 研究の方法

研究 1

ダイヤフラムポンプを使用した SND 型超低容量 EBPT システムの回路（以下ダイヤフラム回路）を作成する（図 2）。作成した SND 型超低容量 EBPT システムを用いて安全性の評価（循環の定常性、血栓形成の有無、赤血球溶血の有無の評価）を行う。

研究方法の実際

ダイヤフラム回路との比較として、以前に開発したシリンジポンプを用いた SND 型超低容量 EBPT システム（以下シリンジ回路）を使用し 3 時間の血液循環による影響を評価した。

成人ボランティアから採取した 50mL の全血に ACD 血液保存液 7.5m l を加え貯血バックに保存し血液浄化検体とし、2 つ作成する。

作成した 1 つの血液浄化検体にシリンジ回路を接続し、ポンプを駆動させ血液を 3 時間循環させる。この際の血液循環の速度は体重 1kg 前後の新生児の EBPT を想定し 5mL/min (=300ml/h) とし、この実験では血液の循環だけで血液透析は行わないこととする。もう 1 つの血液浄化検体は対照として、3 時間放置のみを行うこととした。

血栓形成や血球破壊性の評価は、血液循環の前後での血球成分数（白血球、赤血球、血小板）の変化、血液化学検査（カリウム値、乳酸値、AST、LDH 値等）の変化、遊離ヘモグロビン値の変化で定量的に評価する。視覚的には、血液浄化膜外の漏出液の色調の変化、回路内の凝血塊の有無で評価を行う。

結果は全て中央値（範囲）で示し、前後・群間比較に Wilcoxon test を用い、有意差は $P < 0.05$ とした。

結果

シリンジ回路を用いて、3 時間の血液循環を行った。表 1 と図 2 に血球破壊・溶血・凝血を示す項目（白血球数、赤血球数、血小板数、K・AST・LDH、間接ビリルビン、フィブリノーゲン、遊離ヘモグロビン）の血液循環前後変化と対照との比較で、血液循環前後で有意差のあったのは唯一フィブリノーゲンのみで、対照との比較では有意な変化はみられなかった。また、臨床で体外循環時の溶血の指標として使用される遊離ヘモグロビン (free-Hb) は、対象との比較で有意な変化はなかった（図 3）。

シリンジポンプを用いた SND 型超低容量 EBPT システム（シリンジ回路）で血液を 3 時間循環させた実験では、有意な溶血・凝血を示す所見は得られなかった。

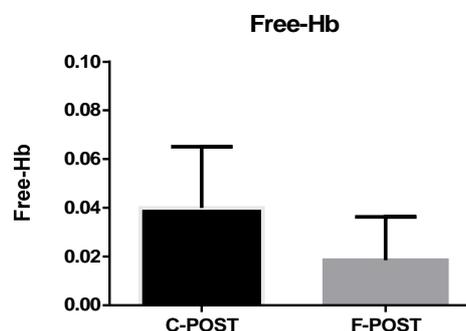
表 1.

	循環前	循環後	放置前	放置後
WBC (/μL)	4,100 (3,800-4,500)	3,500 (2,700-4,500)	4,100 (3,700-4,200)	3,800 (2,900-4,300)
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	379 (355-544)	358 (308-535)	381 (362-497)	368 (328-503)
PLT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	21.2 (8.3-22.0)	18.8 (9.7-19.5)	19.0 (10.7-23.7)	19.7 (9.6-23.2)
K (mEq/L)	2.9 (2.7-3.3)	2.7 (2.6-3.2)	2.9 (2.6-3.4)	3.0 (2.6-3.4)
AST (IU/L)	19 (15-20)	17 (15-21)	19 (15-19)	17 (15-20)
LDH (IU/L)	145 (126-172)	144 (134-183)	147 (119-172)	137 (117-178)
I-Bil (mg/dl)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)
Fibrinogen (mg/dl)	148 (132-169)	139* (130-149)	150 (138-166)	140 (126-164)
Free-Hb (mg/L)		0.04 (0.02-0.08)		0.03 (0.0-0.04)

シリンジ（循環）、放置検体（放置）。

*: $p < 0.05$ （前後比較）。

図 3



研究 2

前述の 3 時間のシリンジポンプ型回路を用いた実験で有意な溶血・凝血所見は得られなかったため、24 時間の血液循環の実験を行った。研究方法の実際

24 時間血液循環におけるダイアフラム回路とシリンジ回路の血球破壊・溶血・溶血の比較を行った。対照として血液循環時間と同じ 24 時間放置検体を用いた。成人ボランティアから採取した 50mL の全血に ACD 血液保存液 7.5m l を加え貯血バックに保存し血液浄化検体とし、これを 3 つ作成する。

作成した 1 つの血液浄化検体にシリンジ回路を接続、もう一つの血液浄化検体にダイアフラム回路を接続し、それぞれのポンプを駆動させ 24 時間血液を循環させる。この際の血液循環の速度は体重 1kg 前後の新生児の EBPT を想定し 5mL/min (=300ml/h) とし、この実験では血液の循環だけで血液透析は行わないこととする。残りの 1 つの血液浄化検体は対照として、3 時間放置のみを行うこととした。

血栓形成や血球破壊性の評価は、血液循環の前後での血球成分数（白血球，赤血球，血小板）の変化，血液化学検査（カリウム値，乳酸値，AST，LDH 値等）の変化，遊離ヘモグロビン値の変化で定量的に評価する。視覚的には，血液浄化膜外の漏出液の色調の変化，回路内の凝血塊の有無で評価を行う。

結果

ダイアフラム回路，シリンジ回路を用いて，24 時間の血液循環を行った。表 2 と図 3 に血球破壊・溶血・凝血を示す項目（Ht，血小板数，K・乳酸・LDH，遊離ヘモグロビン）の血液循環前後変化と対照との比較を表 2 と図 4 に示す。シリンジ回路の 24 時間血液循環した後の遊離ヘモグロビン値(s-post)は，放置検体(f-post)と比較して有意な上昇がみられた。一方，ダイアフラム回路の 24 時間血液循環後の遊離ヘモグロビン値(d-post)

は，放置検体(f-post)との比較で有意差はなかったものの(P=0.085)，上昇がみられた。表 2。

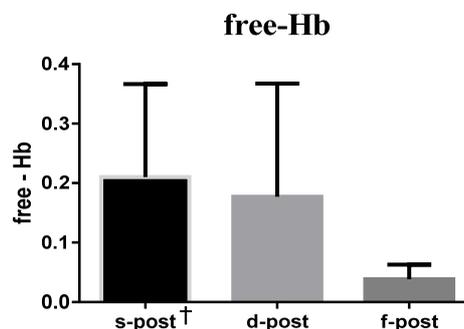
	S-前	S-後	D-前	D-後	放置前	放置後
Ht (%)	40.3 (35.7-43.7)	40.0 (31.6-44.1)	40.4 (35.8-44.0)	36.3 (31.3-41.5)	40.4 (35.4-43.3)	37.5 (32.3-43.7)
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	21.9 (18.9-26.7)	24.3 (19.7-26.6)	23.3 (18.3-26.1)	21.9 (19.3-23.7)	22.1 (19.0-25.8)	20.3 (17.8-26.6)
K (mEq/L)	3.1 (2.6-3.2)	4.5* (3.5-7.0)	3.1 (2.7-3.5)	4.5* (3.4-5.7)	3.1 (2.7-3.4)	4.6* (3.7-5.3)
Lac (mmol/L)	1.3 (1.0-2.6)	7.9* (5.4-9.4)	1.3 (0.9-2.7)	8.5 (0.9-9.2)	1.5 (1.0-2.5)	6.4 (1.5-8.9)
LDH (IU/L)	145 (135-207)	397* (279-905)	154 (121-207)	360 (200-808)	145 (121-214)	161 (128-285)
Free-Hb (mg/L)		0.14 [†] (0.03-0.43)		0.11 (0.02-0.56)		0.05 (0.01-0.06)

シリンジ (S)，ダイアフラム (D)，放置検体(放置)。

*: p<0.05 (前後)，†: p<0.05 (群間)。

シリンジ回路は前後比較で有意な差を K，乳酸，LDH で認め，ダイアフラム型と放置検体は前後比較で K が上昇した。

図 4



† p<0.05 (群間比較)。

シリンジ型では 24 時間の血液循環後に，特に Y 型電磁弁の部位と，血液浄化器の入り口部分に凝血塊を認めた。一方，ダイアフラム型では 24 時間の血液循環後に，血液浄化器の入り口部分に凝血塊を認めた。また，24 時間後の血液浄化検体の遠心分離後血清（図 5：左からシリンジ型，ダイアフラム型，放置検体，シリンジ型漏出液，ダイアフラム型療出液）では，放置検体と比較しシリンジ型・ダイアフラム型ともに溶血が起きていることが視覚的にも確認できた。

一方では時間経過とともに，ダイアフラム型では一回の吸引量と吐出量に差を認めることが，付属の電子重量計で観察された。

また、開始直後には観察されない気泡が、時間経過とともに、ダイアフラム内に観察されるようになり、その気泡が吸引時には圧縮され、吐出時には圧縮されるのが観察された(図6)。

図5



図6



考察

我々の開発したシリンジポンプ型超低容量 SND 型 EBPT システム^{9,10)}は3時間程度の短時間の血液循環では、機械的な圧迫や摩擦による血球破壊・溶血はないことが証明された。一方で、24時間の持続的血液循環では、遊離ヘモグロビンの上昇を認め溶血が電磁弁付近で起きることが示された。

ダイアフラム型超低容量 SND 型 EBPT システムでは、シリンジ型程ではないが、遊離ヘモグロビンの上昇と血清・漏液に溶血の所見を認めた。加えて、ダイアフラムポンプは直接的な圧迫や摩擦を回避することができ、金属製部品が血液に接触しないものの、回路回路内圧上昇に伴い一定の量を循環させるポンプ機能を維持できないことが明らかになった。

また、低容量化のために血液浄化器も膜面積 0.01 m²と小型化したため、入り口部も小さく、流入できる中空糸も少ないため圧上昇を招き凝血塊を形成しやすい結果となった。

結語

single-needle dialysis の原理に基づき、新生児用世界最小体外循環回路の血液浄化システムを開発した。血液循環用にシリンジポンプを使用すると、機械的圧迫・摩擦で、血球破壊の危険性があり、血液循環にダイアフラム型ポンプを試用し、シリンジ型との比較を行った。24時間の血液循環で、ダイアフラ

ム型・シリンジ型ともに遊離ヘモグロビンの有意な上昇が認められ、ダイアフラム型の血球破壊の低減という優性は示されなかった。加えて、回路内圧上昇に伴い、一定の量を循環させるというポンプ機能を維持できないことが明らかになった。本システムの実用化にむけ血液循環用ポンプの選択・改良が必要である。

文献

- 1) Sadowski RH, Harmon WE, Jabs K: Acute hemodialysis of infants weighing less than five kilograms. *Kidney Int.* 1994; 45: 903-906.
- 2) Santiago MJ, López-Herce J, Urbano J, Solana MJ, del Castillo J, Ballesteros Y, Botrán M, Bellón JM: Complications of continuous renal replacement therapy in critically ill children: a prospective observational evaluation study. *Crit Care.* 2009; 13: R184.
- 3) 石川 健, 西見 早映子, 鳥谷 由貴子, 古川 ひろみ, 高田 彰, 外館 玄一郎, 松本 敦, 葛西 健郎, 千田 勝一: 体外循環を用いた腎代替療法長期施行の乳児における輸血後鉄過剰症. *日本小児腎不全学会雑誌.* 2014; 34: 86-87.
- 4) 佐々木慎, 高田 彰, 石川 健, 千田勝一: ポリアクリロニトリル膜を使用した保存血プライミング回路におけるブラジキニンの動態 保存血浄化法の検討. *日本小児腎臓病学会雑誌.* 2012; 24: 47-52.
- 5) Ronco C, Garzotto F, Ricci Z: CA.R.PE.DI.E.M. (Cardio-Renal Pediatric Dialysis Emergency Machine): evolution of continuous renal replacement therapies in infants. A personal journey. *Pediatr Nephrol.* 2012; 27: 1203-1211.
- 6) 石川健, 高田彰, 相馬洋紀, 斉藤雅彦, 千田勝一: 血液浄化装置の安全監視機能が使

用可能な低容量回路の作製 . 日本小児腎臓病学会雑誌 . 2006 ; 19 : 65-69 .

7) Kopp KF, Gutch CF, Kolff WJ: Single needle dialysis. Trans Am Soc Artif Intern Organs. 1972; 18: 75-81.

8) Coulthard MG1, Crosier J, Griffiths C, Smith J, Drinnan M, Whitaker M, Beckwith R, Matthews JN, Flecknell P, Lambert HJ : Haemodialysing babies weighing <8 kg with the Newcastle infant dialysis and ultrafiltration system (Nidus): comparison with peritoneal and conventional haemodialysis. Pediatr Nephrol. 2014; 29:1873-81.

9) Everdell NL, Coulthard MG, Crosier J, Keir MJ: A machine for haemodialysing very small infants. Pediatr Nephrol. 2005; 20: 636-643.

10) Nishimi S, Ishikawa K, Oda S, Furukawa H, Takada A, Chida S (2015) In vitro ability of a novel system for neonatal extracorporeal renal replacement therapy with ultra-small volume circuit for removing solutes. J Iwate Med Assoc 67:215-223 .

11) Nishimi S, Ishikawa K, Sasaki M, Furukawa H, Takada A, Chida S. Ability of a novel system for neonatal extracorporeal renal replacement therapy with an ultra-small volume circuit to remove solutes in vitro. Pediatr Nephrol. 2016 ;31:493-500 .

4 . 研究成果

single-needle dialysis の原理に基づき , 新生児用世界最小体外循環回路の血液浄化システムを開発した . 血液循環用にダイアフラム型ポンプを代用した場合 , 血球破壊の低減は示されず , 回路内圧上昇に伴い , 一定の量を循環させるというポンプ機能を維持できないことが明らかになった . 本システムの実用化にむけ血液循環用ポンプの選択・改良が必要である .

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (未)

[学会発表] (計 3 件)

1、Ken Ishikawa, Saeko Nishimi,

Hiromi Furukawa, Akira Takada, Kotaro Oyama: Comparison diaphragm and syringe pump for blood circulation in a system for neonatal extracorporeal renal replacement therapy with an ultra-small volume circuit. 2nd Asia Pacific Acute Kidney Injury continuous renal replacement therapy congress. September 2018. Taipei.

2、石川 健,松本 敦,小山耕太郎: 新生児の血液浄化療法 . 第 63 回日本透析医学会学術集会 . 2018 年 7 月 . 神戸 .

3、石川 健,松本 敦,小山耕太郎: 新生児に対する急性血液浄化療法 . 第 29 回日本急性血液浄化学会学術集会 . 2018 年 10 月 . 名古屋 .

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

石川 健 (ISHIKAWA Ken)

岩手医科大学医学部小児科・講師

研究者番号 : 30438494

(2) 連携研究者

高田 彰 (TAKADA Akira)

岩手医科大学医学部小児科・非常勤講師

研究者番号 : 30438494

古川ひろみ (FURUKAWA Hiromi)

岩手医科大学医学部小児科・助教

研究者番号 : 10633068

(4) 研究協力者

西見早映子 (NISHIMI Saeko)

谷田部香奈子 (YATABE Kanako)

山崎ゆうか (YAMAZAKI Yuuka)