

博士学位論文

「血液浄化療法の感染症対策における臨床工学的検討」

2020年9月

東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科 バイオニクス専攻

荻野 稔

第1章 緒論	1
1-1 緒言.....	1
1-2 血液浄化療法.....	2
1-3 透析導入期感染症の現状.....	5
1-4 先行研究.....	9
1-4-1 血管留置カテーテルの感染対策.....	9
1-4-2 血液浄化療法における酸化ストレス対策.....	12
1-5 目的と意義.....	13
第2章 血管留置カテーテルを想定した PTFE エレクトレットを用いた抗血栓性対策 の検討	14
2-1 方法と材料.....	14
2-1-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係.....	14
(1)コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム.....	14
(2)摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ.....	15
2-1-2 抗凝血度の測定.....	16
(1)コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム.....	16
(2)摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ.....	17
(3)ヘパリンコーティングチューブと PTFE エレクトレットチューブの比較.....	18
2-2 結果.....	19
2-2-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係.....	19
(1)コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム.....	19
(2)摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ.....	21

2-2-2 抗凝血度の測定.....	25
(1)コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム.....	25
(2)摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ.....	28
(3)ヘパリンコーティングチューブと PTFE エレクトレットチューブの比較.....	28
2-3 考察.....	30
2-3-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係について.....	30
2-3-2 抗凝血度の測定について.....	31
2-4 結語.....	32
第 3 章 血液濾過法における酸化ストレス対策を想定した水素溶存化血液濾過補液	
の検討.....	34
3-1 方法と材料.....	34
3-1-1 血液濾過補液の水素溶存化と保存における条件の検討.....	34
3-1-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認.....	35
3-1-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討.....	35
3-1-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における	
水素濃度の検討.....	36
3-2 結果.....	37
3-2-1 血液濾過補液における水素溶存化と保存における条件の検討.....	37
3-2-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認.....	41
3-2-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討.....	41
3-2-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における	
水素濃度の検討.....	41
3-3 考察.....	42
3-3-1 血液濾過補液における水素溶存化と保存における条件の検討について.....	42

3-3-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認について.....	43
3-3-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討について	43
3-3-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における 水素濃度の検討について.....	43
3-4 結語	44
第4章 結論.....	46
略語集.....	48
謝辞.....	49
参考文献.....	50

第1章 緒論

1-1 緒言

日本透析医学会統計 2018 年の報告¹⁾では、血液透析導入期患者の死亡原因 1 位は感染症である。血液透析をするには、治療効果を得るだけの十分な血流確保が必須であり、バスキュラーアクセスの選択が重要となる。感染症対策として内シャントによる計画的導入が望ましいが、緊急導入時には 31 %が血管留置カテーテルを用いる。しかしながら、血管留置カテーテルは、バスキュラーアクセスの中でも感染リスクが高い。血管留置カテーテル菌血症の 44 %で血栓が確認されたことから、血栓は菌の温床なるため感染症発生をもたらす²⁾。免疫力の低下した透析導入期患者において、感染症は致命的となりかねない。そこで、血管留置カテーテルに関連した感染症対策を本研究の目的とした。感染症対策の中でも特に血管留置カテーテル内血栓に注目した。血栓対策として使用される抗凝固剤コーティング血管留置カテーテルの問題点は、生体内に留置するとヘパリンの枯渇、ウロキナーゼの失活などのため、その抗血栓性は比較的短時間しかもたないことである。また、表面から溶出するヘパリンでは、出血性増大のリスクがある。またウロキナーゼも血中の線溶系酵素を著しく活性化することで同様のリスクを要する³⁾。これらのリスクを回避できるカテーテルの開発が望まれる。そこで、具体的には、負帯電化した表面が抗血栓性を示すとした人工血管を参考にした。本研究では血管留置カテーテルを想定し、人工血管に用いられる PTFE (ポリテトラフルオロエチレン) をコロナ放電および摩擦で帯電化したエレクトレットを比較することで、抗血栓性と有用性を明らかにした。さらに、摩擦帯電化という簡便な操作を治療前の患者ベッドサイドでできることは、エレクトレットの保存時電荷減衰を防ぎ、安価で安全な治療器具として提供できる可能性を示した。

敗血症は、透析導入期感染症の約 10 %を占める¹⁾。敗血症の病態では、感染症により産生されたサイトカインによって壊死様細胞死による細胞膜破壊が起こり、二次的なサイトカイン産生を促進し持続的な炎症反応を誘発する。そこで、サイトカイン除去を目的とした血液濾過法が行われる。しかしながら血液濾過法自体が、酸化ストレスを発生することが副作用として挙げられる。そこで本研究では、酸化ストレス軽減の可能性を期待した水素溶存化血液濾過補液の開発を研究目的とした。また、水素溶存化血液濾過補液は患者ベッドサイドで簡便に作製可能であることから水素濃度の目標値を自由に選択できる。つまり血液濾過法の治療条件に合わせて水素濃度を選定できる。

このように透析導入時感染から引き起こされるリスク対策と、感染で重症化

し敗血症で死亡に至るリスク対策の研究構想図を図 1-1 にまとめた。つまり透析治療導入時死亡率 1 位である感染症に対して、バスキュラーアクセスで最も感染リスクが高い血管留置カテーテル感染要因の一つであるカテーテル内血栓対策を目的とした「血液浄化療法用血管留置カテーテルにおける感染対策」、および敗血症重症化要因となる酸化ストレスにして「血液浄化療法における水素溶存血液濾過補液の開発と検討」を本研究の目的とした。

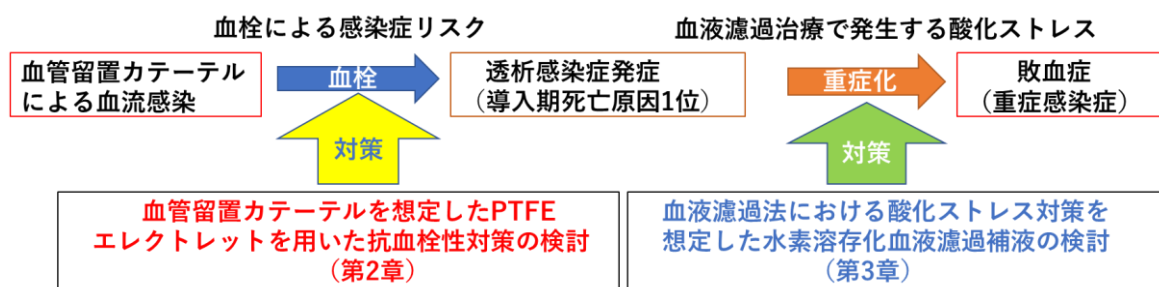


図 1-1 研究構想図

1-2 血液浄化療法

血液浄化療法とは、血液体外循環法(腹膜灌流法)を用いて、患者の血液中に貯留した病因(病因に関連する)物質や血液成分を除去、または不足している物質を補給する治療法を総称したものである。血液浄化療法では物理的、化学的、生物学的な現象である拡散、濾過、吸着などを物質移動の原理として応用している²⁾。本研究と関連する血液浄化療法で代表的なものとして血液透析療法と持続的腎代替療法を挙げた(表 1-1)。血液透析(hemodialysis; HD)、血液濾過(hemofiltration; HF)、血液透析濾過(hemodiafiltration; HDF)があり、持続的腎代替療法では、持続的血液透析(continuous hemodialysis; CHD)、持続的血液透析濾過(continuous hemodiafiltration; CHDF)がある。おもな血液浄化療法の種類を表 1-1 に示す。血液浄化療法の構成はバスキュラーアクセス、血液回路、血液ポンプ、血液浄化器、抗凝固薬注入器、監視・制御装置からなる⁴⁾⁵⁾。

表 1-1 主な血液浄化療法の種類

血液透析療法	持続的腎代替療法
血液透析(hemodialysis; HD)	持続的血液透析(continuous hemodialysis; CHD)
血液透析濾過(hemodiafiltration; HDF)	持続的血液透析濾過(continuous hemodiafiltration; CHDF)
血液濾過(hemofiltration; HF)	持続的血液濾過(continuous hemofiltration; CHF)

血液透析(HD)

血液透析は、急性・慢性腎不全患者の標準的な治療法で、血液浄化療法の中で最も歴史がある。体外循環法によって血液を血液透析器に流入させ、透析液と血液透析器の膜を介して体内に蓄積した原因物質の除去、不足物質の補充、電解質の是正を行う。血液透析は溶質除去に応用されている拡散が最も関与する治療法で、拡散は血液側と透析液側の物質の濃度差を推進力としている。血液透析は拡散だけではなく除水を行うための濾過、内部濾過も行っている⁴⁾。血液透析の対象病因物質分子量は5,000以下である。血液透析の適応は、維持療法、慢性・急性腎不全の尿毒症病態・症状の是正を必要とするものとされている。血液透析は血液体外循環系と透析液流路から構成される⁴⁾。

血液濾過(HF)

血液濾過は濾過をメインにした治療法である。具体的には、透析液を流さず膜を介して血液を濾過して溶質を除去し、同量の補充液で置き換える方法である。濾液は濾過膜にかかる膜間圧格差(transmembrane pressure ; TMP)によって血液から抽出する。電解質や酸塩基平衡は補充液によって調整されるため、濾液量と補充液量のバランスが重要である。血液濾過では、膜の細孔より小さい物質や同じくらいの大きさの物質は膜を通過し、膜の細孔より大きい物質は通過できない。濾過による物質移動では分子量の大きい物質の除去速度を大きくすることができるため、血液濾過は血液透析に比べると、中分子・大分子溶質領域の除去に優れている。そのため、尿毒症毒素の中分子量物質(分子量 500~5,000)は血液透析よりも血液濾過のほうが有効だと考えられている⁴⁾。

血液濾過は、補充液を補充する方法として、血液濾過器前(動脈側回路)から注入する前希釈式と、血液濾過器後(静脈側回路)から補充する後希釈式がある。前希釈式では濾過器の前に補充液を投与するため血液が希釈される。そのため目詰まりを防ぐことができ、有用成分の損失が後希釈に比べると減少するが、除去効率を高くするために大量の置換液を必要とする。一方、後希釈式は血液量が十分でないと濾過器内で血液濃縮が起きるため根詰まりが起こしやすい。しかし除去効率は少ない補充液で得ることができる。後希釈式は溶質除去効率が良く補充液量も少なく済むため臨床では一般的である。血液濾過による前希釈と後希釈の2種類の希釈法がある⁴⁾。

血液濾過の診療報酬上の適応は「血液透析によって対処ができない透析アミロイドもしくは透析困難症の患者または緑内障、心包炎もしくは心不全を合併する患者」の2つで、血液透析を行ったうえで算定される⁴⁾。血液透析は拡散速度の大きい尿素などの小分子溶質の除去を行うと急速に血漿浸透圧が低下し、循環動態が不安定になってしまう。そのため、小分子物質の除去効率が低く、循

環動態が不安定になりにくい血液濾過は持続治療として集中治療室で行われることが多い。血液濾過の構成は、血液濾過器、血液ポンプ、濾液ポンプ、補充液、補液ポンプとなる。補充液の投与場所により前希釈 HF と後希釈 HF に分けられ、血液濾過は補充液を多く必要とするためバランスを制御する必要がある⁴⁾⁵⁾。

血液濾過器(ヘモフィルタ)

膜型の血液浄化療法は、血液透析、血液濾過、血液透析濾過の3種類であり、それぞれに使われる血液浄化器を、血液透析器、血液濾過器、血液透析濾過器という。血液濾過器は、血液透析器と同じように筒状の中空糸が約1万本程度束ねられている。1本の中空糸には多数の膜孔が開いていて、その膜孔半径(ポアサイズ)によりアルブミン(分子量66,000)を透過させないなどの物質濾過を制御している。血液濾過器は中空糸の膜素材から合成高分子系とセルローズ系に分類することができる。また構造から対称構造膜と非対称構造膜に分類できる。代表的な対称構造膜には、アクリロニトリル系(acrylonitrile 69 surface treatment ; AN69ST)膜とポリメチルメタクリレー(polymethylmethacrylate ; PMMA)膜等がある。一方で非対称構造の代表的な膜には、ポリスルホン(polysulfone ; PS)膜、ポリエーテルスルホン(polyethersulfone ; PES)膜等がある⁵⁾。血液濾過は1回の治療あたりの濾過量が多いため、血液濾過器に必要な性能として、高い透水性と持続性、アルブミン漏出を抑えることがあげられる。また、低分子量蛋白質に対するふるい係数の大きな膜材質が望ましいとされている。アルブミンの濾出を抑える膜では、濾過量を増やし除去効率をあげることが可能である。しかし、HFで用いると大量のアルブミン喪失が生ずるため、長期使用には注意が必要とされる。血液濾過器の濾過性能となるふるい係数は血液側の濃度に対する濾液側濃度の比で算出され、濾過による分離能を表すことができる。このふるい係数は、血液流量、血中蛋白濃度、限外濾過率、Ht値などに大きく影響を受ける⁴⁾⁵⁾。

持続的血液(透析・濾過・濾過透析)

持続的血液(透析・濾過・濾過透析)法とは、一般的に24時間以上持続的に治療する血液浄化法をいう。それぞれ、持続的血液透析(continuous hemodialysis ; CHD)、持続的血液透析濾過(continuous hemofiltration ; CHF)、持続的血液濾過(continuous hemodiafiltration ; CHDF)があり、病態による治療目的によって選択される。特徴は、持続的に低血液流量を行うことで循環動態に与える影響を少なくできる血液浄化法である。循環動態の不安定な重症患者の腎補助療法や、うっ血性心不全などの体液過剰に対する治療や、肝不全に対しては肝性昏睡物質の持続的除去にも有効である。サイトカインの除去が可能であ

り、敗血症のような臓器障害の発症予防や治療に有効である⁴⁾⁵⁾。

1-3 透析導入期感染症の現状

日本透析医学会の2018年統計調査報告¹⁾によると、年間導入透析導入者数と死亡者数は38,147人に対し2,126人である。2018年透析導入期死亡原因は、感染症が24.0% (511人)と最も多く、次に心不全が23.5% (500人)、悪性腫瘍が10.9% (231人)と続いている。透析導入年内の死亡原因の推移をみると2006年を境に感染症が心不全を上回り、感染症が最も多い死亡原因となっている。

特に、血液透析患者に多くみられる感染症には、肝炎、シャント感染、肺炎、敗血症、尿路感染などがある。その中でも、肺炎、敗血症、腹膜炎などは死に至る割合が高い¹⁾。なかでも、敗血症は感染症が死因となった透析患者の10%前後を占めるとされており、血液浄化療法に伴い感染の機会が多いうえに致死率も高い¹⁾。特に血液浄化療法では、血液循環で必須となるバスキュラーアクセスが感染源となるリスクが高い。バスキュラーアクセス (Vascular access ; VA) とは、1分間あたり200~300mlもの大量の血液を脱血し、返血する血液の出入口となるものである。透析には、血液灌流を行うためのVAが必要不可欠である。VAは、緊急時に使用する一時的VAである直接穿刺法、一時静脈留置カテーテル (短期カテーテル: カフなし) と、長期的に維持透析のため使用することを目的とした恒久的VAである内シャント (Arteriovenous fistula ; AV-F)、人工血管 (Arteriovenous graft ; AV-G)、動脈表在化、長期カテーテル (カフあり) に分けられる¹⁾。カテーテルには短期カテーテルとして用いられる非カフ型カテーテルと長期カテーテルとして用いられるカフ型カテーテルの2種類が存在する。非カフ型カテーテルは、緊急血液透析導入時、急性血液浄化施行時、他のVA不全による再設置後使用可能となるまでの一時的VAとして使用される。留置期間は、3週間以内が目安となっている。皮下トンネルがないため、感染リスクが高い一方で、短時間の処置で簡単に留置できるメリットがある¹⁾。しかしながら、日本透析医学会調査¹⁾における感染症例では、1,000透析日あたりの感染率がシャント0.08、グラフト0.76、動脈表在化0.26、短期カテーテル12.16、長期カテーテル1.15であった。短期カテーテルの感染率は極めて高い。感染対策として、内シャント作製手術による計画的透析導入 (1か月要) が望ましいが、緊急透析を必要とする31%の患者では、カテーテルの使用が必然的となる。血液透析導入期バスキュラーアクセスの比率としては、内シャント62%、カテーテル31%、グラフト (人工血管) 3%である⁶⁾ (図1-2)。

短期留置カテーテルの挿入部位別で感染率を見てみると、鎖骨下0.29、内頸7.99、鼠経19.5であった⁷⁾。しかし鼠径部が対象となる下大静脈へのカテーテ

ル留置は、血管が太く留置が容易であるが、高度な感染防御が必要となる。

カテーテル挿入後から感染発症までの留置日数は、山下ら⁷⁾の解析により、感染症を発症するまでの留置日数は、短期カテーテル留置患者では 13.7 ± 13.9 日 (平均日 \pm 標準偏差)、長期カテーテル留置患者は 336.5 ± 354.1 日 (平均日 \pm 標準偏差) とばらつきがある。本研究対象とした短期カテーテル留置の感染症例は、203 例中、挿入後 7 日以内が 78 例 (38%)、8~14 日が 64 例 (32%)、15~21 日が 26 例 (13%)、22~31 日が 21 例 (10%)、32 日以上が 14 例 (7%) であり、挿入後 14 日以内が 142 例 (70%) 占めていることがわかる。

カテーテル留置患者は血流感染のリスクが高く、菌種では、Staphylococcus aureus (S. aureus) が 76 株 (69%) と最も多く検出され、このうちの約半数が methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) である⁷⁾。血液培養が陽性であった 107 例の中で、2012 年以降のカテーテル挿入部位が明確であった 40 例において、MRSA を含む S. aureus は内頸部で 84% を占め、鼠径部 31% に比べて多い ($p=0.003$)。common skin contaminants は鼠径部において 46% を占め、内頸部の 4% と比較すると有意に多い ($p=0.003$)。つまり、部位によって菌種の特徴を有する⁷⁾。

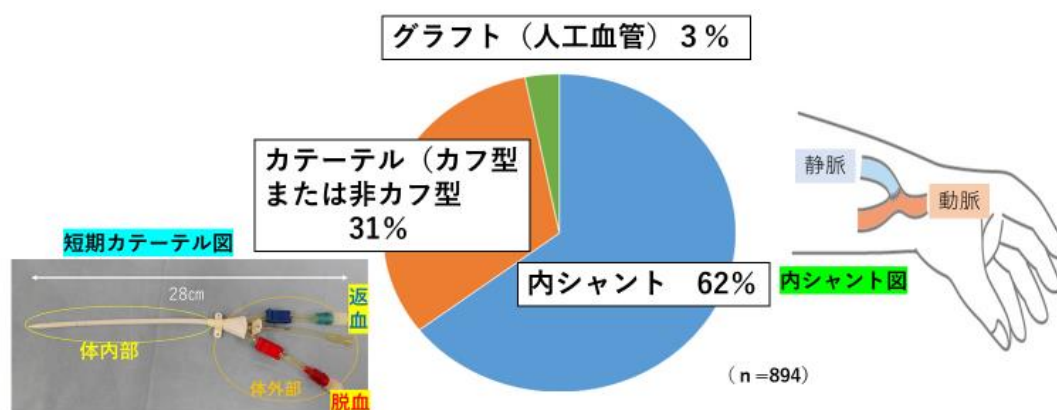


図 1-2 血液透析導入期のバスキュラーアクセス割合

カテーテル留置における血栓形成による合併症は数々報告されている。カテーテルの内腔閉塞、静脈炎、静脈血栓症の他に、血栓が細菌や真菌に適している培地となって菌血症を引き起こすことも報告されている。菌血症例でカテーテルを抜去すると、カテーテル内が 10~20 cm の凝血塊で詰まっていた、そこから多量の細菌が検出された症例が多い。和田らの報告では、菌血症が 134 例中 16 例で、16 例の内凝血が認められたのが 7 例 (44%) であった (図 1-3)²⁾。

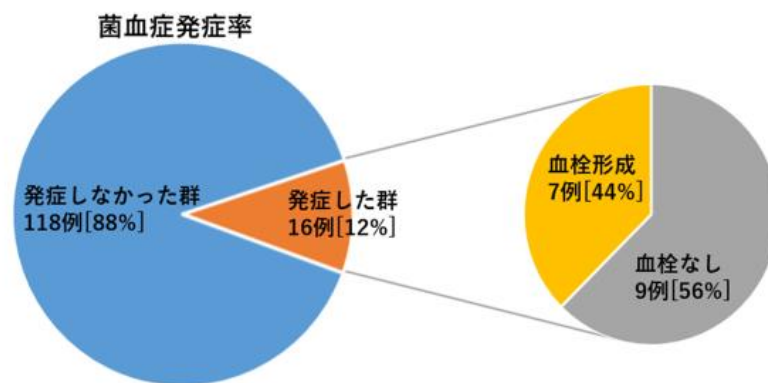


図 1-3 菌血症発症比率と血栓形成の割合

	UK固定化カテーテル	UK非固定化カテーテル
内面血栓付着率	3.6% (28症例中1件)	15.0% (20症例中3件)
感染症発生率	28.5% (8/28)	55% (11/20)
留置期間(平均)	4~33日 (12.7日)	2~27日 (10.6日)

図 1-4 血管留置カテーテル内面血栓付着率と感染症発生率の関係

図 1-4 より、血管留置カテーテル内面血栓付着率は、UK（ウロキナーゼ）固定化 3.6 %に比べ、UK 非固定化では約 4 倍の 15.0 %であった。感染症発生率では、UK（ウロキナーゼ）固定化 28.5 %に比べ、UK 非固定化では約 2 倍の 55 %であった。つまり、血栓付着は感染症発生を増大させていることがわかる⁸⁾。

さらに、John R らの報告⁹⁾では、フィブリン鞘はカテーテル感染を増強しているとしている。菌血症によるカテーテル感染の発症には、カテーテルへの細菌の付着は必要不可欠となる。細菌の付着に影響を与える重要な要素は、フィブリン鞘の存在である。生体材料に血液が流れていると、繊細なフィブリンコーティングが材料の周りに急速にできあがる。確立すると、このフィブリン鞘は、カテーテルと血液中の細菌を結びつける役割を果たす。細菌がカテーテルに付着して感染するためには、細菌がフィブリンコーティングに付着する必要がある。さらに、感染するとフィブリン鞘は敗血症の原因であるとも考えられる。

また、カテーテル管腔の周囲および管腔内のバイオフィーム層は、細菌が増殖しやすい環境を与えていると考えられる。皮膚常在菌や他の部位からの菌血症が原因で、カテーテルの周囲や管腔内のバイオフィーム層にコロニーが形成される。血栓の存在は、細菌コロニー形成とカテーテル関連敗血症の原因となる可

能性がある。超音波スクリーニングにより、ブドウ球菌菌血症の患者の71%でカテーテル関連血栓症（CRT）が検出された報告がある¹⁰⁾。

次に、免疫力の低下した透析導入期患者における感染症は、致命的となる。特に敗血症は、感染症の中でも死亡率が高い重篤な疾患である。敗血症による28日死亡率は36.4%で非常に高い。敗血症治療では、サイトカイン除去を目的とした血液浄化治療自体で発生する酸化ストレスも問題となる。敗血症患者は生体内の抗酸化物質が減少しており、活性酸素種(reactive oxygen species; ROS)が増加しているため、酸化ストレスが亢進している。酸化ストレスとは、活性酸素生成亢進、抗酸化防御システムの破綻により、酸化促進物質が優位になった状態と定義されており、この酸化ストレスがさまざまな疾病の発生と進展に関与するとされている。そのため、抗酸化物質の投与が酸化ストレスの抑制へつながり、また、炎症性サイトカインの産生を抑制すると考えられる。その抗酸化物質の一つとして、ビタミンは生体内の代謝経路において補助因子や補酵素として代謝全体の調節を担う生命維持に寄与する重要な物質である¹¹⁾。特に、ビタミンCは重症敗血症患者に対して有効であると示唆されている。しかし、過剰なビタミンC投与はシュウ酸カルシウムを腎臓へ蓄積させ、腎障害の危険性が示唆されている。また、ビタミンEは生体膜に存在し、膜の安定化や酸化的障害の予防の役割も果たす。ビタミンEは、単体でも抗酸化作用をもつが、ビタミンCと共存した場合、相互作用によってより高い抗酸化作用をもつと示唆されている。しかし、敗血症患者はビタミンが健常人よりも減少しているため、ビタミン製剤により必要分を十分に摂取できるとは限らない。また、血液浄化療法により、ビタミンCを含む抗酸化物質も除去されてしまう¹¹⁾。

敗血症では、臓器障害回避から過剰な抗炎症メディエータのTNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10などを血液浄化療法により除去することを治療目的とする。血液浄化療法の中でも、血液濾過や吸着によるサイトカインの除去についての報告が多い¹²⁾。しかしながら血液浄化療法自体で発生する酸化ストレスの問題が挙げられ、要因を以下にまとめた。

①血液浄化膜

血液透析において尿毒素を除去し、酸化ストレスの軽減効果が確認されている。しかし、血液が生体と異なる物質と触れ合う時点で酸化ストレスを引き起こす。血液とダイアライザの接触に伴う酸化ストレスの発生は代表的な例である。CKD患者では多核球の酸化バーストが起こりやすくなっている。透析膜と多核球が接触することで酸化バーストが誘発される。この時に多核球から放出されるミエロペルオキシダーゼ（活性酸素のスカベンジャー機構の1つ）の血中濃度

が高いと予後が不良となっている。多核球とダイアライザが接触することによって起こる酸化ストレスは、ダイアライザの生体適合性や親水性の程度が大きく関係している¹³⁾。

②透析液

透析液の構成成分側が酸化ストレスについて関係していると報告されるジカルボニウム物質は、強い化学反応性を有していて過酸化水素との共存下において臓器の酸化的傷害を誘発する可能性である。市販透析液の構成成分であるブドウ糖の分解産物としてリキットタイプの透析に多く含まれている¹⁴⁾。

③抗酸化物質の除去

HDと生体腎との決定的な差異の1つとして、HDはダイアライザを用いて分子量をある程度選択する程度しかできない。しかし、生体腎では尿細管で原尿から必要な物質を再吸収することが出来る。HDでは有用な物質であっても分子量に応じて除去してしまうため、尿毒物質同様に抗酸化物質も除去する。そのため抗酸化力の低下がみられる⁸⁾。具体的には、抗酸化物質であるアスコルビン酸（ビタミンC）は、透析によって除去され、血中濃度の低下が報告されている。従って、血液透析と同様の血液浄化膜を介した血液循環で物質除去を行う血液濾過においても、血液透析と同じような酸化ストレス亢進は、血液濾過膜の影響、透析液の影響、抗酸化物質除去による影響が十分考えられる¹³⁾。

④透析回路

血液透析を行う患者の血液は定期的に光にさらされる。透析回路を介して侵入する光も酸化ストレスの原因となっている¹⁵⁾。

1-4 先行研究

1-4-1 血管留置カテーテルの感染対策

血管留置カテーテルは、感染を引き起こすリスクが非常に高いため、さまざまな角度からの感染対策法がある。具体的には、カテーテル挿入前の手指衛生、マキシマル・バリアプリコーション、挿入部のクロルヘキシジンでの皮膚消毒、患者にあった挿入部位の選択、不必要なカテーテルの抜去を行わない、などが主な感染予防策として考えられる。

凝血による菌血症発生要因となる血管留置カテーテルの抗血栓性対策には、カテーテル表面の血栓付着防止を目的としたウロキナーゼやヘパリンコーティングされたカテーテルなどの選択が代表的である。ヘパリンは、血漿中のアンチ

トロンビンによるトロンビンおよび活性化X因子(FXa)活性阻害を強力に増強する。ウロキナーゼは、形成された血栓を溶解する専用系活性化酵素である。ヘパリンとウロキナーゼは、抗凝固薬作用と線溶活性化作用の2つの異なる機序により血栓形成を抑制する。しかしながら、十分な効果があるとは言えず、留置中に血栓が付着したままの状態では抜去される例が、ヘパリンで16.7%、ウロキナーゼで15.5%という報告がある¹⁶⁾。さらに、副作用としてヘパリンには、ヘパリン誘発性血小板減少症(Heparin-induced thrombocytopenia; HIT)¹⁷⁾があり、治療中断やヘパリン使用を回避する処置を要する。カテーテル関連血栓症(catheter-related thrombosis; CRT)における血栓ができる一般的なメカニズムは、アクセス部位に局所的な静脈損傷によって生じる。カテーテル表面へのフィブリンの沈着は挿入後数時間以内に始まる。カテーテル周囲のフィブリン鞘は、静脈切開部位からカテーテルに沿って拡大していく。血流は減少していき、カテーテルと静脈壁へのさらなる血栓を形成していく¹⁰⁾。特に、透析用血管内留置カテーテルは、透析時終始血液を吸引しているため、カテーテル内で凝血を起こしやすいと考えられる。吸引する血流量を確保するために、カテーテルは多孔性に作られているため、カテーテル内で凝血塊が発生しても、径が太いので気づかずそのまま使用してしまう可能性がある。凝血塊の死腔域に菌血症が発生しやすい。実際に菌血症例でカテーテルを抜去すると、カテーテル内が10~20cmの凝血塊に、多量の細菌が検出された症例が多い。和田らの報告では、菌血症を発症した例で凝血が認められたのが44%であった²⁾。

本研究目的とした負電荷表面材料では、もっぱら血球成分や血漿タンパク質主成分が生理的条件下では負に帯電しており、それらの吸着・粘着ならびにそれに引き続く血小板血栓の形成が静電的反発により抑制されるためである(図1-5)。

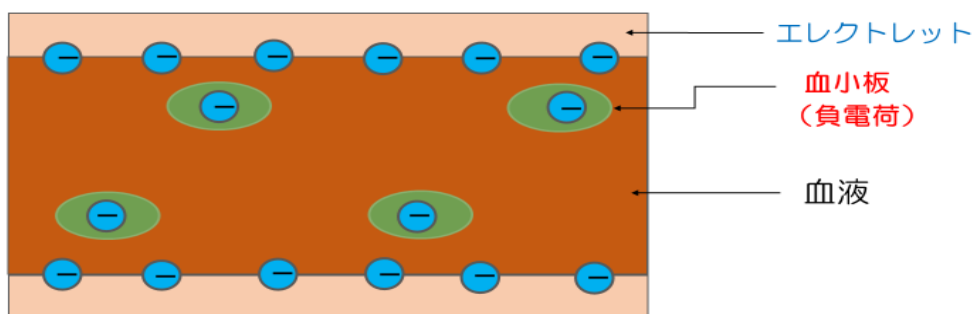


図 1-5 負電荷表面材料想定図

血液は、血管以外の異物と判断された物と接触すると血栓をはじめとするさまざまな反応を引き起こす。この反応は極めて複雑であり、現在でも血液と接触しても血栓形成などの反応を起こさない材料は開発されていない。血栓の生成

を抑えるためには、血液と接触する材料表面が重要になる。例えば材料表面に凹凸があると血流をみだし、血栓を発生させる原因となる¹⁸⁾。表面処理をすることで抗血栓を得ようとする方法は、表面疎水性化、表面親水性化、表面ヘパリン化、偽内膜形成など多く存在し、負帯電化もその一つである。

血栓形成の過程は、①血小板による反応と②内因系による反応に大きく分けられる¹⁹⁾。血液が異物と接触した際には、まず血漿タンパクが表面に吸着する。この反応は瞬時的(数秒から数十秒)で血漿タンパク層を形成すると言われている²⁰⁾。この血漿タンパク層には、アルブミン、フィブリノーゲン、 γ グロブリンなどが含まれており、吸着分布などは材料の表面特性によって異なる²¹⁾。この血漿タンパク層に血小板の粘着や凝集が起こることで血小板血栓(白色血栓)を形成する。一方で、内因系の作用は、まず異物と接触すると第XII因子が活性化され不溶性フィブリンが血小板血栓や血球成分を包み込み、血栓(赤色血栓)となる。また、正常の血管内皮は負に帯電しており(-8~-12 mV)²²⁾、血小板膜も同様に負に帯電しているため、通常の生体内では静電反発によって血小板の粘着は阻止される²³⁾。血漿成分では、界面近傍における負のゼータ電位によって血漿層の粘着低下が起こり、流体的条件下において抗血栓性を示すとしている²²⁾²⁴⁾。

さらに、細菌細胞の表面は、表面に露出している分子のカルボキシル基やリン酸基などが解離して負に帯電している場合が多い。しかし、材料表面には、さまざまな有機物や無機物であるコンディショニングフィルムが付着しており、実際の表面では、付着における相互作用も異なるとしている²⁵⁾。この理論より、材料表面を負帯電荷させることで血栓形成を抑制しようとしたものが負電荷表面材料である。さらに、負電荷表面材料では、血小板の粘着・吸着抑制が得られ抗血栓性を示すが、適切な電荷量を定める必要がある。人工心臓の機械弁として使用されているパイロライトカーボン²⁶⁾の表面は、負に帯電しており同じく負に帯電する血小板と反発することで抗血栓性を示すとしている。パイロライトカーボンが使用されるようになったことで、シリコン、テフロン²⁷⁾の材料を使用していた時に比べて機械弁の抗血栓性と耐久性は向上したとされている²²⁾。しかしながら抗凝固剤を必要としない完全な機械弁はなく、さらなる抗血栓性などの向上が求められる²⁷⁾。

負電荷材料として本研究で用いたエレクトレット材料には、PTFE(ポリテトラフルオロエチレン:商品名テフロン)や、FEP(テトラフルオロエチレン・ヘキサフルオロプロピレン共重合体)を選択した。PTFEは、素材自体から生体内分解劣化や溶出物がなく生体適合性が優れている²⁸⁾。生体とエレクトレットの関係は以前から研究されており、マイナスに帯電したエレクトレット材料表面の抗血栓性を利用した人工血管がある。PTFEは、ポリエステルとともに人工血管の材料として広く使用されてきている²⁹⁾。PTFEは、界面エネルギーが他の

材料と比べて低いため、血栓形成を起しにくい³⁰⁾。

PTFE などの高分子材料のエレクトレット化において、PTFE フィルムの大きさ、電極との距離、放電時間などを変化させ、コロナ放電を発生させるうえで表面の性状が大きく関係し、表面の微小な凹凸であったとしても、コロナ放電では電荷分布や電荷密度に大きく影響を与えてしまう特徴³¹⁾がある。従って、本研究では、エレクトレット作製において均一表面荷電が課題であることから、摩擦帯電とコロナ放電の均一帯電化を比較し検証した。

1-4-2 血液浄化療法における酸化ストレス対策

免疫力の低下した透析導入期患者における感染症は、致命的となる。特に敗血症は、感染症の中でも死亡率が高い重篤な疾患である敗血症による 28 日死亡率は 36.4 % で非常に高い³²⁾。敗血症の病態では、サイトカイン除去を目的とした持続的腎代替療法 (continuous renal replacement therapy; CRRT) が行われる³³⁾。

炎症性サイトカイン除去を目的として CRRT の中でも血液濾過法や血液濾過透析法などが選択される。一方で、血液浄化治療自体で発生する酸化ストレスも問題となる。血液浄化療法の酸化ストレス対策としては、電解水透析が 2004 年に台湾から報告されている。6 か月間の治療期間の間、血中 Interleukin-6 や CRP の低下、赤血球膜の酸化的障害が軽減、さらにリンパ球の炎症性アポトーシスが抑制されたとしている³⁴⁾。透析中の水素ガスは速やかに血液中へ移動、このため透析中の患者の呼気中の水素ガスレベルは透析開始とともに上昇し、透析終了とともに速やかに低下するとされ、電解水透析による水素濃度の上昇は、透析治療中にほぼ限定される。現在では、電解水透析治療システムが完全に構築されているが³⁵⁾、血液濾過法において水素を溶存化した血液濾過補液を血液中に補充する方法は確立していない。

水素分子 (H_2) は、常温で無色無臭の燃焼性ガスであり、大気中の存在量は 1 ppm 未満とごくわずかしかな存在しない。生体における特徴として、毒性の高い活性酸素種 (ROS) を選択的に還元する抗酸化物質である。水素の同位体であるトリチウムを用いた研究でも、哺乳類の体内取り込まれた H_2 の大半は速やかに体外へ排出され、臓器において H_2 は酸化しないのが示されている。生体内で容易に拡散して毒性の高いラジカルを選択的に還元する特徴を有する³⁶⁾。

動物モデルにおける水素ガス吸引では、肝臓、心臓、脳等における虚血再灌流障害が抑制され、 H_2 が抗酸化剤機能を有することが報告されている³⁷⁾。さらに動物実験での水素水投与では、糖尿病における脂肪代謝、薬物によるドパミン神経細胞の変性、肺・心臓の放射線障害、動脈硬化症のアテローム増加等の改善が報告されている³⁷⁾。糖尿病患者における水素水の臨床研究では LDL と酸化ストレスが抑制されたとしている³⁷⁾。一方で、腎不全などの特殊な病態では、

抗酸化物質として代表的なビタミンC投与は、酸化ストレスの抑制効果が期待できるが、過剰なビタミンC投与はシュウ酸カルシウムの腎臓へ蓄積させ腎障害の危険性や尿路結石が示唆されている¹¹⁾。従って、腎障害などの特殊な病態では、単に抗酸化物質投与だけで解決できる問題ではない。従って、腎不全を伴う酸化ストレス対策には、水素の還元作用を含めた新たな血液浄化療法による複合的な治療戦略で、酸化ストレスや炎症に対してより良い新たな治療法として期待される。

1-5 目的と意義

透析関連感染の防止は、透析患者にとって生命予後を左右する最重要課題である。短期カテーテルの感染率は極めて高く、透析導入時の短期カテーテル使用の回避か相応の対策が望まれる。透析導入期に血管留置カテーテルを用いた場合の非常に高い感染症リスクと死亡率が重要視される中、血管留置カテーテル内血栓と感染症リスクの関係性から抗血栓性カテーテルの開発が望まれる。そこで「血液浄化療法用血管留置カテーテルにおける感染対策」を本研究の目的とした。具体的には、マイナスに帯電したエレクトレット材料表面の抗血栓性を利用した人工血管から血管留置カテーテルへの応用を想定した。現在、抗血栓性が優れるとされるヘパリン化血管留置カテーテルでは、ヘパリン溶出による出血性増大やHIT(ヘパリン起因性血小板減少症)におけるリスクがある以上、それに代わる同等以上のカテーテルが望まれる。そこで、他の材料と比べ血栓形成を起こしにくく、人工血管の材料として広く使用されるPTFEに着目し検証した。

次に、免疫力の低下した透析導入期患者における感染症は、致命的となる。特に敗血症は、感染症の中でも死亡率が高い重篤な疾患である。敗血症による28日死亡率は36.4%で非常に高い。敗血症治療では、サイトカイン除去を目的とした血液浄化治療自体で発生する酸化ストレスも問題となる。

血液透析では、電解水素水を用いた抗酸化対策がある一方で、血液濾過には存在しない。そこで本研究では、血液濾過で用いる血液濾過補液に、水素を溶存した水素溶存血液濾過補液の開発を目的とした。水素溶存した血液濾過補液は現在ないため、新規性が高く、血液濾過治療での抗酸化効果が期待される。

以上より、第1章では透析導入時の感染リスクと、感染で重症化し敗血症に至るという一連の過程に対する対策として、概要について説明した。

第2章では、「血管留置カテーテルを想定したPTFEエレクトレットを用いた抗血栓性対策の検討」について、第3章では、「血液濾過法における酸化ストレス対策を想定した水素溶存血液濾過補液の検討」について研究報告する。

第 2 章 血管留置カテーテルを想定した PTFE

エレクトレットを用いた抗血栓性対策の検討

2-1 方法と材料

2-1-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係

(1) コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム

コロナ放電作成法では、強制的に指定した極性（正または負）に帯電しエレクトレットを作成できる。材料には、ポリテトラフルオロエチレン・パーフルオロアルキルビニルエーテル共重合体（PFA）、ポリテトラフルオロエチレン 4 フッ化エチレン樹脂（PTFE）を選択した。PFA、PTFE のフィルムを縦 50 mm×横 50 mm×膜厚 25 μm にカットした試料をエレクトレット化するために、コロナ放電専用装置（自作）にて、出力電圧（ $-6\text{k}\sim+6\text{k}$ ） Vdc の範囲で正・負それぞれの電圧に固定し帯電化し表面電位として（0 V、+100 V、+300 V、-100 V、-300 V）を設定した（図 2-1）。エレクトレットの経時的帯電性の指標となる電荷減衰度は、表面電位計（トレック社モデル 520）にて測定した（図 2-2）。

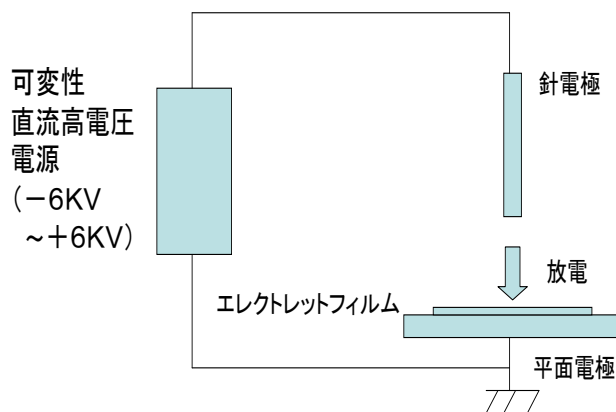


図 2-1 エレクトレット作成図

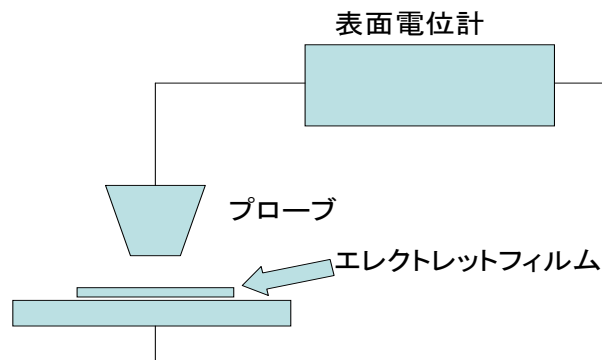


図 2-2 表面電位測定図

(2) 摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ

PTFE エレクトレットチューブの帯電分布を比較した。帯電分布状態の判定方法は、帯電分布判定トナーを用いて視覚的に行う方法³⁸⁾でも確認できたが、より定量的に帯電分布を判定するために、コロナ荷電エレクトレット化 PTFE チューブ、摩擦帯電エレクトレット化 PTFE チューブの内表面電位を 5 か所(図 2-6)を測定した結果で検証した。コロナ荷電エレクトレット化 PTFE チューブで作製したエレクトレットチューブは、コロナ放電専用装置(自作)にて、放電時出力 2~3 KV 表面電位試料を作製し表面電位 -300 V 程度とした。環境温度 25.2~26.9 °C、相対湿度 43~55 %の屋内空調環境下とした。次に、摩擦帯電エレクトレット化 PTFE チューブは、温湿度調整可能な密閉作業環境下において、温度 25.3~26.0 °C、相対湿度 43~49 %で、ガラス棒(内径 6 mm、長さ 200 mm)を PTFE チューブ(内径: 6 mm、外径: 7 mm、長さ 10 mm)に挿入した。5 秒間に 5 往復させることで、PTFE チューブを一定したマイナス電位に帯電させエレクトレット化した。表面電位 (-300 V) 程度の試料を作製した。

次に摩擦帯電でエレクトレット化した環境条件を、相対湿度 26~68 %、室温 20.6~27.7 °Cとし、表面電位との関係を検討した。温湿度は、病院施設環境を想定した³⁹⁾。相対湿度から絶対湿度を求め表面電位との関係性を確認した⁴⁰⁾。

PTFE は帯電列により負電荷傾向がある一方、ガラスは正電荷傾向を示す特性を持つ⁴¹⁾。摩擦帯電化はガラス棒(内径 6 mm、長さ 200 mm)を PTFE チューブ(内径: 6 mm、外径: 7 mm、長さ 10 mm)に挿入した。5 秒間に 5 往復させることで、PTFE チューブを一定したマイナス電位に帯電させエレクトレット化した。この作製法は基礎実験により安定した表面電位を示したため画一化した。表面電位測定は、1 cm に切った PTFE チューブ(6 mm×7 mm)を切り開き、表面電位計で測定部と試料の距離を 5 mm として測定した。表面電位の測定は、試料中央

部と、その 90 度四方における合計 5 箇所（図 2-6）で行い平均値を求めた。静電位計測には、接触導通を回避できる非接触電位計（表面電位計）を用いた。

さらに、実際の病院環境（平均温度、相対湿度）³⁹⁾ から算出した平均絶対湿度と、実験で求めた絶対湿度と表面電位の関係図より、ICU、手術室、病棟の推定表面電位値を求めた。

次に、PTFE チューブとガラス棒を用いて、摩擦帯電における表面電位の再現性について検討した。温度 24.1～26.7 °C、相対湿度 33～45 %の環境下で行った。操作上の偏りを防止するために、操作者 2 名（A と B）で確認した（図 2-3）。実際の病院 ICU 環境³⁹⁾ を想定した温度 21.7～27.7 °C、相対湿度 31.3～46.0 %の範囲内で行った。

	摩擦回数					
	5回	10回	20回		40回	
摩擦時間	5秒	10秒	10秒	20秒	20秒	40秒

図 2-3 摩擦条件（回数・時間）

2-1-2 抗凝血度の測定

(1) コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム

コロナ放電作成法では、強制的に指定した極性（正または負）に帯電しエレクトレットを作成できる。材料には、ポリテトラフルオロエチレン・パーフルオロアルキルビニルエーテル共重合体（PFA）、ポリテトラフルオロエチレン 4 フッ化エチレン樹脂（PTFE）を選択した。PFA、PTFE のフィルムを縦 50 mm×横 50 mm×膜厚 25 μm にカットしたものと試料をエレクトレット化するために、コロナ放電専用装置（自作）にて、出力電圧 -6k～+6K Vdc の範囲で正・負それぞれの電圧に固定し帯電化し表面電位として（0 V、+100 V、+300 V、-100 V、-300 V）を設定した（図 2-1）。エレクトレットの表面電位測定には、表面電位計（Trek 520 4103）を用いた（図 2-2）。抗凝血度測定は、目標電位にしたエレクトレットのフィルム上に採血直後の血液 50 μl を注入し、同電位のフィルムで上から重ねることにより密閉状態で空気を遮断した状態で保管し、全ての試料が完全に凝固するまでを観察期間とした（図 2-4）。また、恒温環境下において、非カフ型カテーテルの体内埋没部（36 °C）と体外露出部（18 °C）を想定し、検討を行った（図 2-5）。抗凝血度は凝固なし（2 点）、やや凝固（1 点）、凝固（0 点）とし、1 日毎に抗凝血度を目視観察した。平均点数化（n=15）したものをグラフ化した。

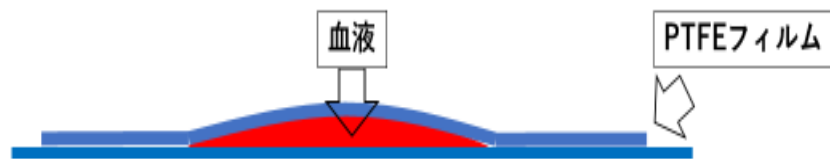


図 2-4 エレクトレットフィルム凝血図

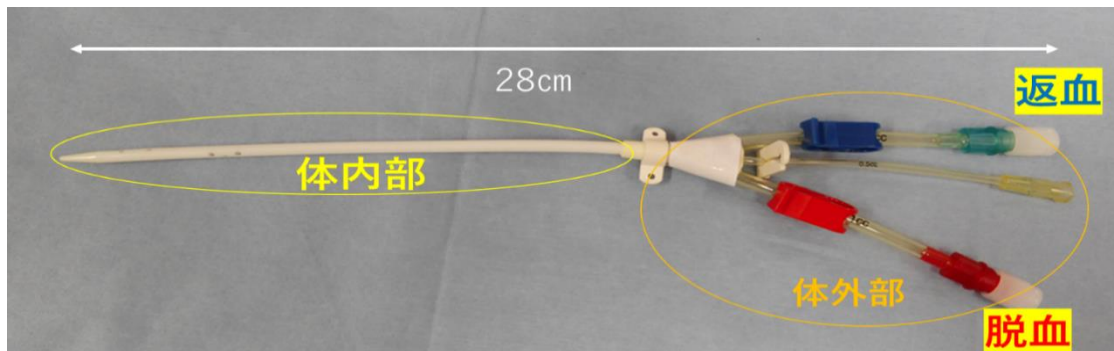


図 2-5 血管留置カテーテルの体内埋没部と体外露出部の想定図

抗凝血度が最も大きかった 18 °C の PTFE エレクトレットを、表面電位 (0 V、-100 V、-300 V) において電子顕微鏡を用いて抗凝血度を観察した。各表面電位で作製した厚さ 25 μm の PTFE フィルム上に健常成人男子 1 名の血液採取した直後、同じ表面電位のフィルムを重ね完全に空気遮断し、抗凝血観察を 18 °C 温度下で保存し、完全に凝固する以前で凝固反応が活発と推定された 7 日後に確認した。観察時には生理食塩水洗浄後自然乾燥した状態で電界放射型走査電子顕微鏡 (日立製作所 SL8020) を用いて倍率 $\times 500$ により血小板活性を比較検討した。

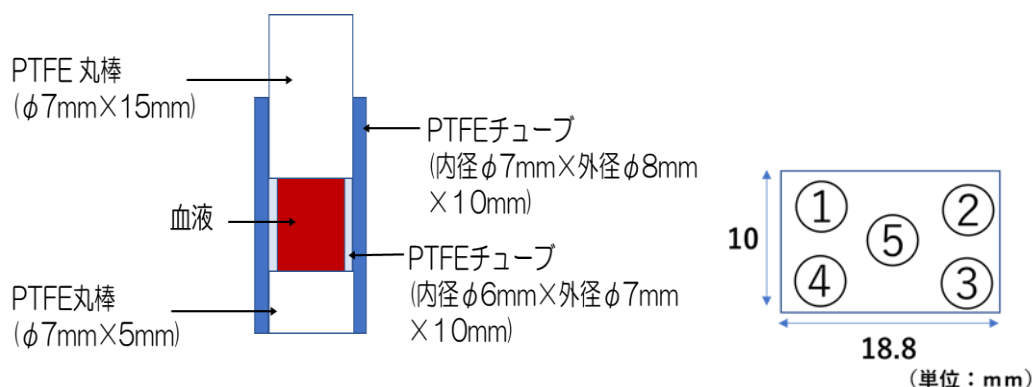
(2) 摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ

体内埋没部内の凝血を想定し、摩擦帯電でエレクトレット化した PTFE チューブを用いて表面電位と抗凝血性の関係を確認した。エレクトレット化する環境条件は、相対湿度 41 %、室温 24.9 °C とした。作製したエレクトレットチューブは、摩擦回数 2 回をエレクトレット A、5 回をエレクトレット B として比較した (図 2-5)。PTFE チューブ内にサンプル血液を注入し、PTFE ストッパーを用いて完全に密封し、14 日間 36 °C で保存した。市販のカフなしカテーテルの臨床的平均使用期間⁷⁾ は、ウロキナーゼ非固定で 10.6 日、ウロキナーゼ固定で 12 日であるので、観察時期は 14 日後とした。14 日後に、サンプルを生理的食塩水で洗浄し室温化で乾燥した。チューブ内壁の抗凝血状態は、正立顕微鏡 (Leica DMLB)

を用いて倍率×10で観察した。ガラスのプレートを用いてPTFEエレクトレットチューブの内面を平らにすることによって、サンプルを画像化した。撮影には一眼レフ・デジタル・カメラ（α7S、ソニー）を用いた。

(3)ヘパリンコーティングチューブとPTFEエレクトレットチューブの比較

ヘパリンコーティング塩化ビニルチューブ（JMS社製人工心肺回路オキシア；φ7mm×φ8mm×10mm）とPTFEエレクトレットチューブを用いて抗凝血性を比較確認した。試料には、帯電しないPTFEチューブ（コントロール）、コロナ荷電エレクトレット化PTFEチューブ（コロナ）、摩擦帯電エレクトレット化PTFEチューブ（摩擦）、ヘパリンコーティング塩化ビニルチューブ（ヘパリン）の4種類とし、図2-20では抗凝血度と日数の関係を示した。コロナ荷電エレクトレット化PTFEチューブ作製したエレクトレットチューブは、コロナ放電専用装置（自作）にて、表面電位約-300V程度の試料を作成した。摩擦帯電エレクトレット化PTFEチューブは表面電位約-300Vの試料を選択した。PTFEチューブ内に採血した直後の血液100μlを注入しPTFEストッパーを用いて完全に密封した。36℃恒温槽内に静止状態で保管し、非UKカテーテル平均留置期間である10日間を観察期間⁷⁾とした（図2-6）。抗凝血度は液状2点、液状と固体の混在状態1点、固体のみ0点とし1日毎に抗凝血度を目視観察した。血小板数は正常値13.0～36.0万/μl⁴⁰⁾に対し23.9～31.8万/μlの正常範囲の血液を使用した。試料には、PTFEチューブ（φ6mm×φ7mm×10mm）、PTFEチューブ（φ7mm×φ8mm×10mm）PTFE丸棒（φ7mm×15mm、φ7mm×5mm）を用い、図2-5の実験図とした。血球測定装置には、（日本光電 Celltac α MEK-6400 01961）を用いた。また、採血には健康な成人男性のヒト血液を用いたが、東京工科大学倫理委員会の承認下で行った。



	エレクトレットA	エレクトレットB
摩擦回数	2回	5回
摩擦時間	5秒	
温度	24.9℃	
相対湿度	41%	



図 2-6 摩擦帯電化エレクトレットチューブ抗凝血テストとチューブ内表面電位測定部位図

2-2 結果

2-2-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係

(1) コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム

負電荷 (PTFE/PFA) エレクトレットの温度別電荷減衰度、すなわち-300 V からの 3 週間電荷変化量を示した。縦軸を表面電位とし、横軸は材料 (PTFE、PFA)、保存環境温度 (18 °C、36 °C) の 4 種で比較した (図 2-7)。

図 2-8 は、正電荷 (PTFE/PFA) エレクトレットの温度別電荷減衰度、すなわち +297±11 V からの 3 週間電荷変化量を示す。縦軸を表面電位とし、横軸は材料 (PTFE、PFA)、保存環境温度 18 °C、36 °C の 4 種で比較した。図 2-12、図 2-13 の結果より、コロナ放電で作成したエレクトレットの電荷減衰度は PTFE<PFA、負電荷<正電荷の傾向であった。

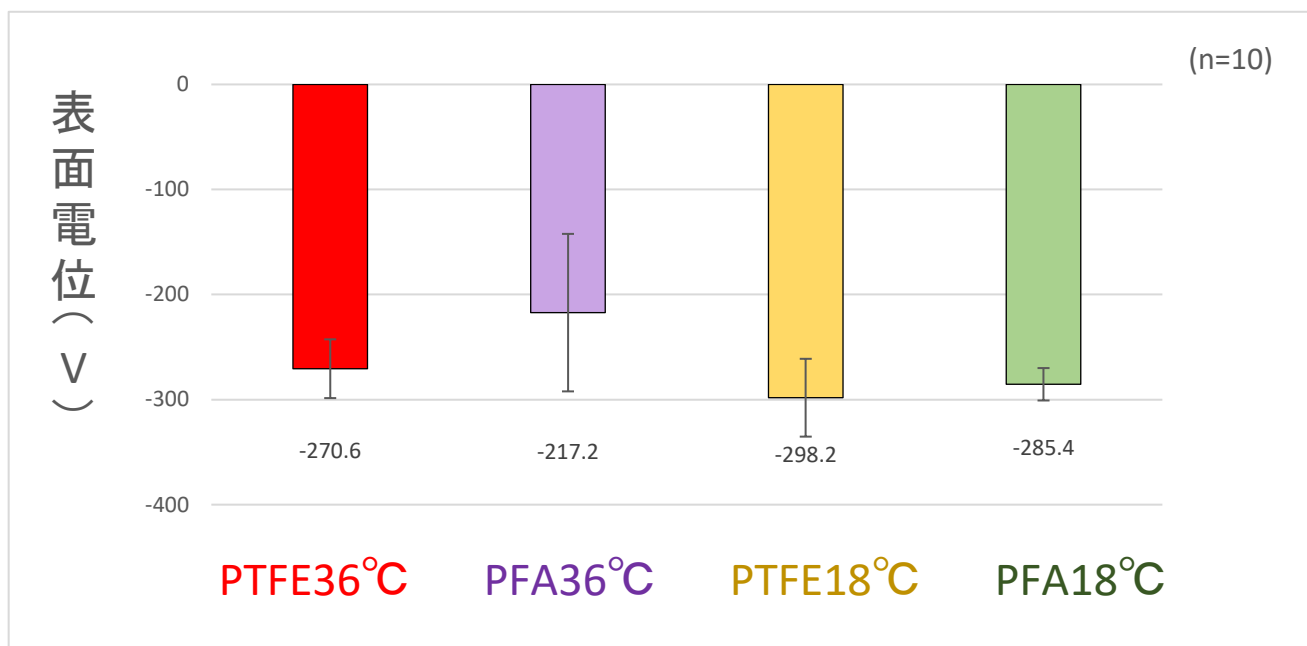


図 2-7 負電荷 (PTFE/PFA) エレクトレット温度別電荷減衰度 (-306±9 V からの電荷変化量)

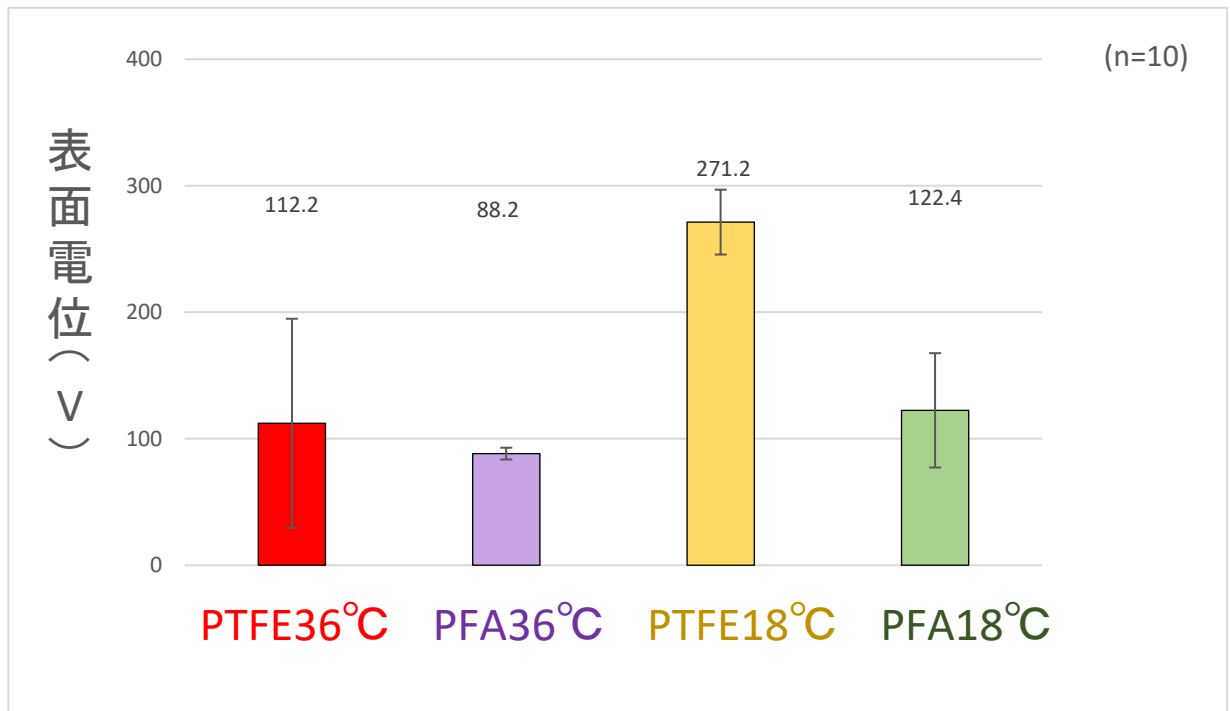


図 2-8 正電荷 (PTFE/PFA) エレクトレット温度別電荷減衰度 (+297±11 V から電荷変化量)

(2) 摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ

摩擦帯電化した PTFE エレクトレットチューブ内壁の帯電分布測定図を図 2-9、コロナ放電化した PTFE エレクトレットチューブ内壁の帯電分布測定図を図 2-10 に示した。部位別に表面電位を測定した結果、摩擦帯電の標準偏差値 (±4 V) に対し、コロナ放電 (±53 V) の標準偏差値であった。すなわち、摩擦帯電の均一帯電傾向が確認できた。

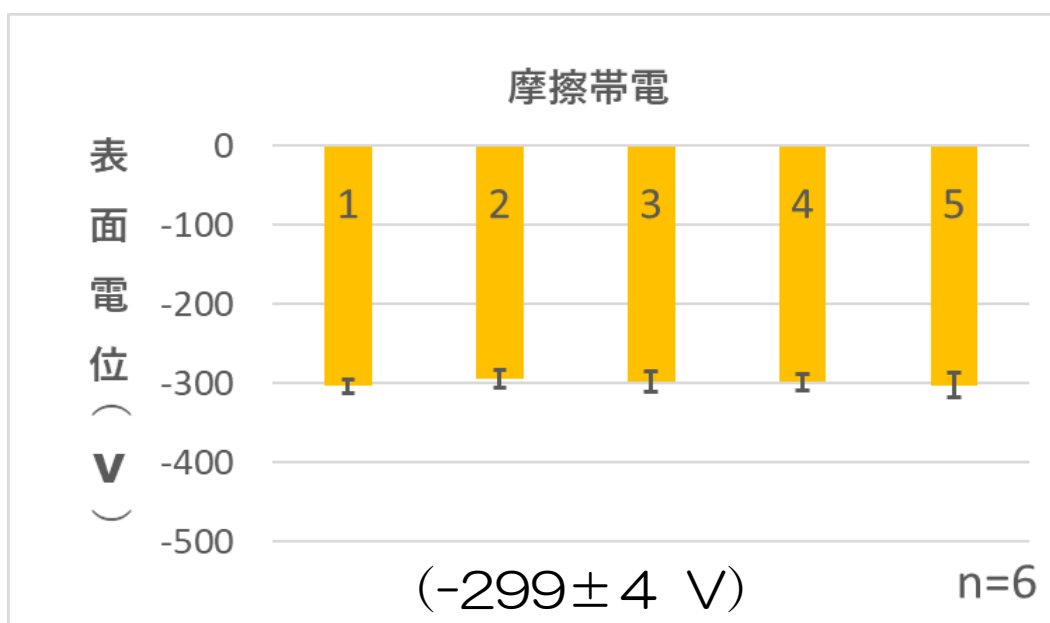


図 2-9 摩擦帯電化エレクトレットチューブ内の帯電部位測定図

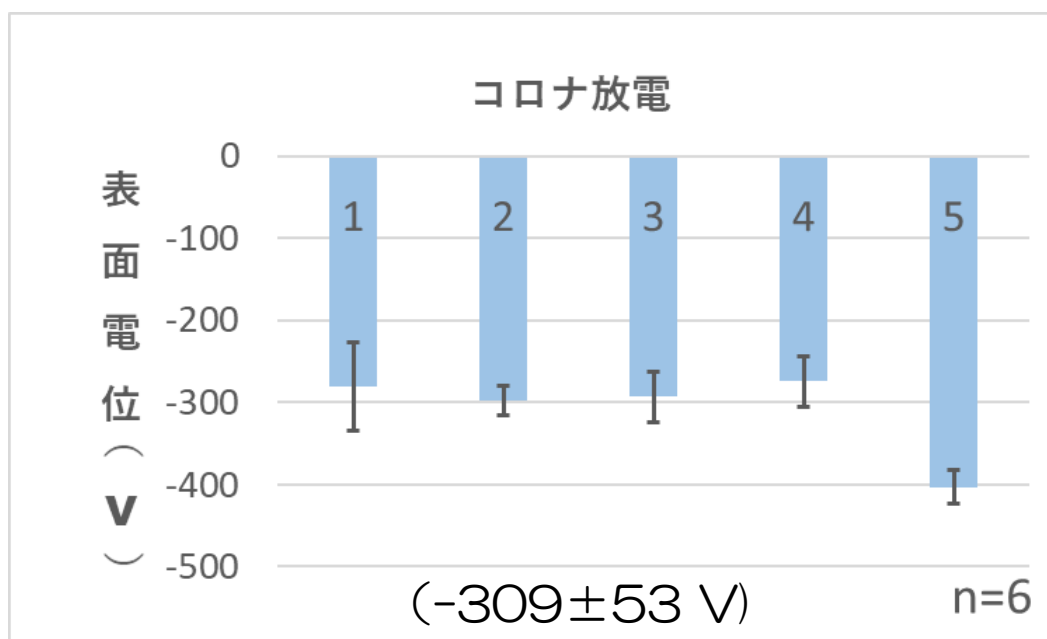


図 2-10 コロナ放電化 PTFE エレクトレットチューブ内表面の帯電分布測定図

エレクトレット化した環境条件は相対湿度 26~68 %、室温 20.6~27.7 °C とした。それは大部分の病院の施設の環境と類似した³⁹⁾。相対湿度に加えて、絶対湿度は以下の方程式から得ることができた⁴⁰⁾。T が温度 (°C)、p は空気の水蒸気圧 (hPa)、Psa は温度の飽和水蒸気圧 (hPa)、C は絶対湿度 (g/m³)、h は相

対湿度 (%) とした。各相対湿度につき、摩擦をした PTFE チューブ 10 本の表面電位の平均値 V (縦軸) と相対湿度 (%) (横軸) の関係を図 2-11 (左図) に、各絶対湿度につき摩擦をした PTFE チューブ 10 本の表面電位の平均値 V (縦軸) と絶対湿度 (%) (横軸) の関係を図 2-11 (右図) に示した。

$$C = \frac{217 p}{T + 273.15}$$

$$P = Psa \frac{h}{100}$$

$$Psa = 6.1078 \exp \left[\frac{17.2694T}{T + 237.3} \right]$$

図 2-11 (左図) は、PTFE エレクトレット作成時の表面電位と相対湿度の関係を表し、相関係数 R^2 は 0.722 であった。絶対湿度は、PTFE エレクトレット作成時の表面電位と絶対湿度の関係を示し、相関係数 R^2 は 0.8275 であった。そこで、図 2-11 (右図) では表面電位と絶対湿度の関係を示した。絶対湿度は、表面電位とより強い相関を示した。実際の病院環境 (平均温度、相対湿度) から算出した平均絶対湿度³⁹⁾ と図 2-11 (右図) から表面電位を求めた。結果、ICU -292 V、手術室 -333 V、病棟 -345 V の推定表面電位値となった (図 2-12)。

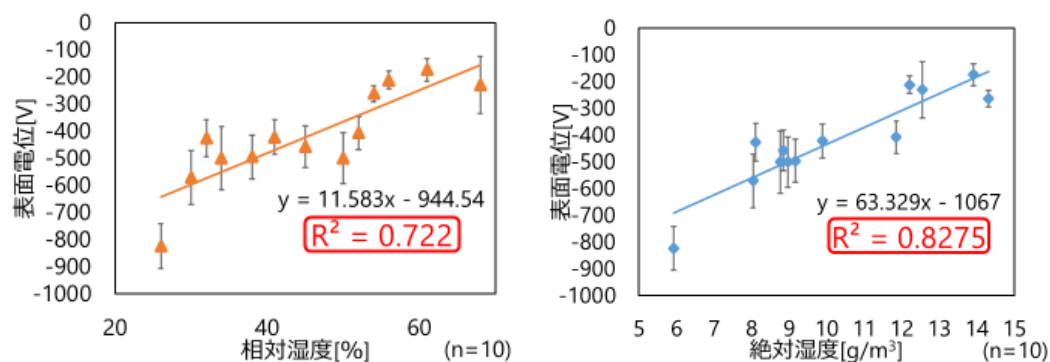


図 2-11 湿度と表面電位 (左図：相対湿度、右図：絶対湿度)

部屋	平均温度 [°C]	平均相対湿度[%]	平均絶対湿度[g/m ³] (推定表面電位)
ICU	25.7	43.2	10.2 (-292V)
手術室	27.3	28.7	7.5 (-333V)
病棟	27.6	25.1	6.7 (-345V)

引用：環境測定実習結果からみた病院環境の評価

図 2-12 病院環境から算出した絶対湿度と表面電位の関係

PTFE チューブとガラス棒を用いて、摩擦帯電における表面電位の再現性について検討した。環境温度 24.1～26.7 °C、相対湿度 45～59 %の環境下で行った。操作上の偏った傾向を避けるために、操作者は2名 (A と B) とした。結果、摩擦回数 5 回以上で、全ての PTFE チューブ内表面で抗凝血傾を示した-300V より低い表面電位を示した (図 2-13)。

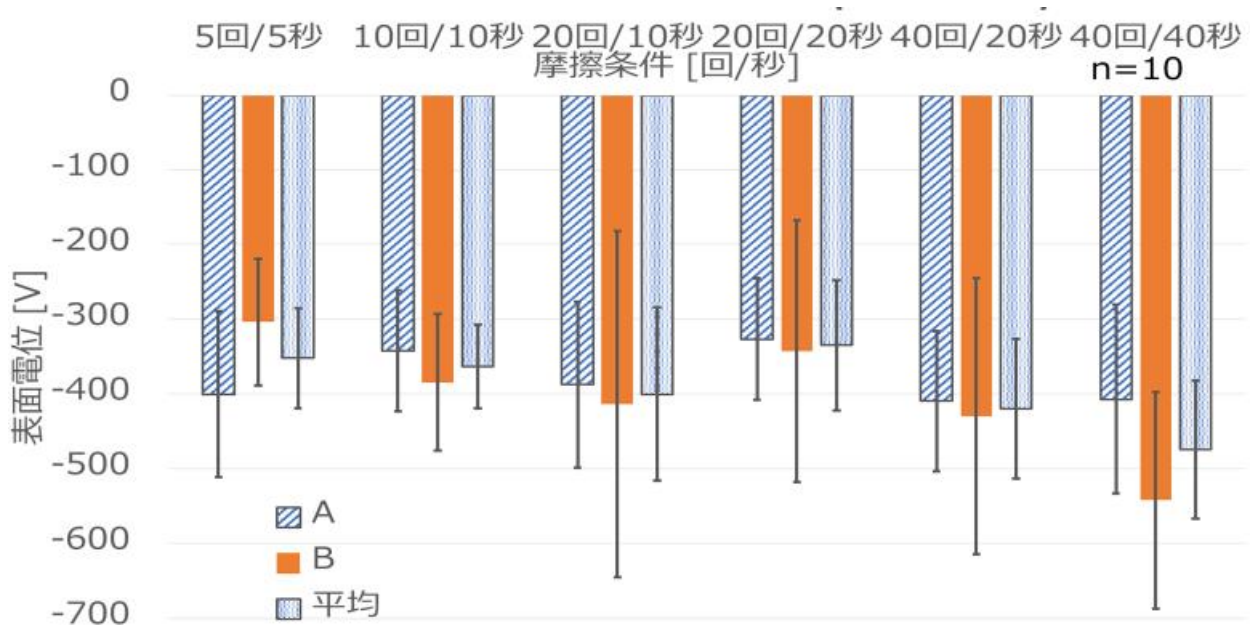


図 2-13 PTFE チューブにおける摩擦条件と表面電位の関係図

2-2-2 抗凝血度の測定

(1) コロナ放電化 PTFE エレクトレットフィルム

抗凝血度は凝固なし（2点）、やや凝固（1点）、凝固（0点）とし、1日毎に抗凝血度を目視観察した。縦軸を抗凝血度、横軸を経過に日数とし、エレクトレットフィルムの表面電位として0 V、+100 V、+300 V、-100 V、-300 Vを設定し比較した。図 2-14 に示すように 18 °C 環境下で保管した条件では PTFE:-300 V は、14 日後において抗凝固指数がゼロでなく、つまり完全に凝固せず、最も優れた抗凝血傾向を確認できた。次に、図 2-15 が示すように 36 °C 環境下で保管した条件においては、PTFE:-300 V は、4 日後において抗凝固指数がゼロでなく、つまり完全に凝固せず最も優れた抗凝血性を示した。

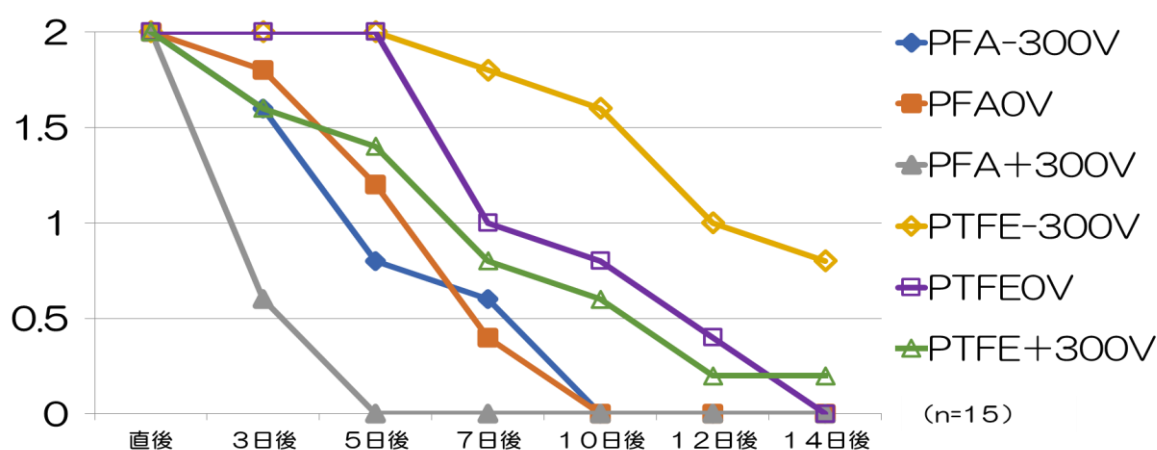


図 2-14 材料別表面電位別抗凝血度と経過日数 (18°C)

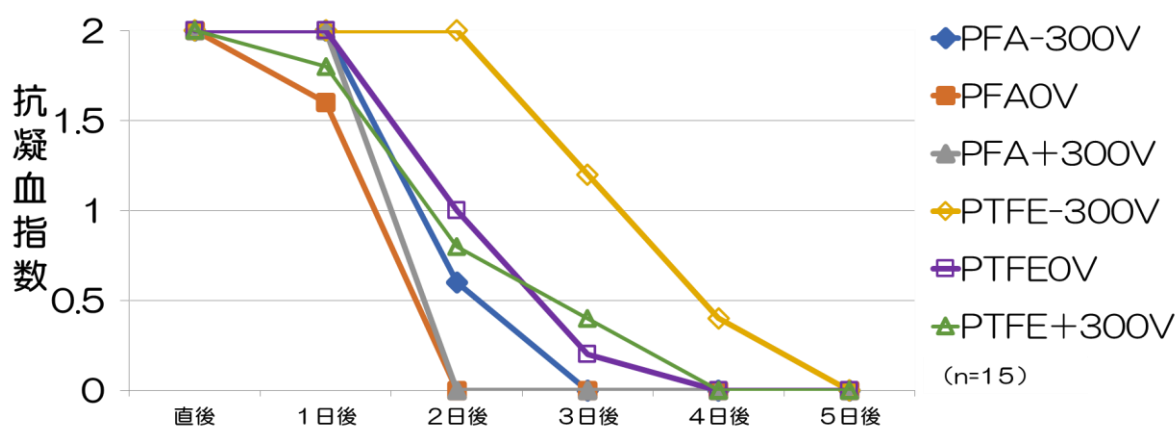


図 2-15 材料別表面電位別抗凝血度と経過日数(36 °C)

図 2-16～図 2-18 より、抗凝血度は黄色で囲った範囲で確認でき、血小板凝集度により抗凝血度を判定した。18 °C環境下における7日後の抗凝血度は、PTFE -300 V> PTFE-100 V> PTFE 0 Vであった。観察時には生理食塩水洗浄後自然乾燥した状態で電子顕微鏡（×500）により黄色に囲んだ部位は特に血小板凝集が確認された。血小板の特定に関しては、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色⁴²⁾にて確認した。

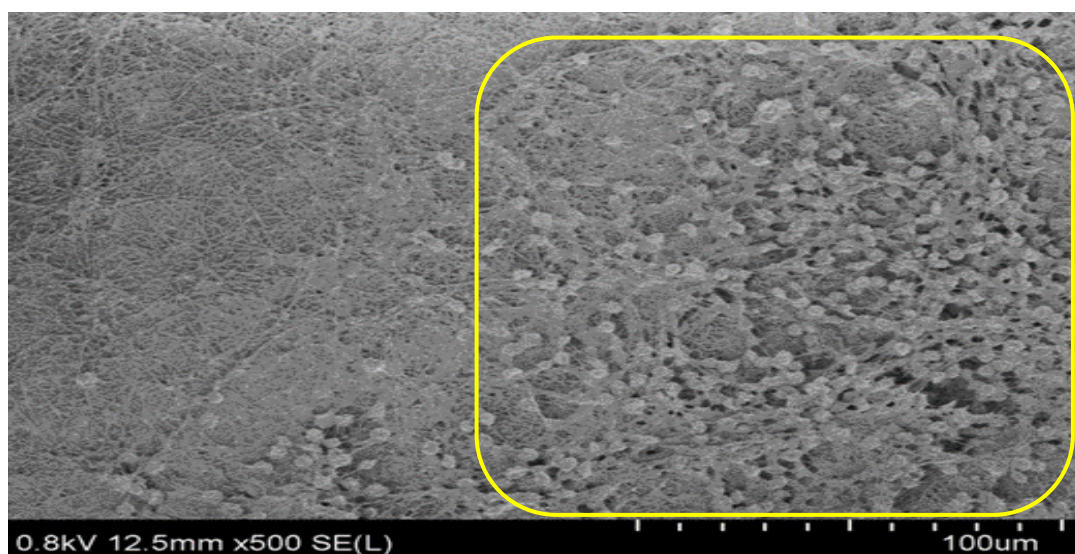


図 2-16 PTFE(0V)凝血画像図

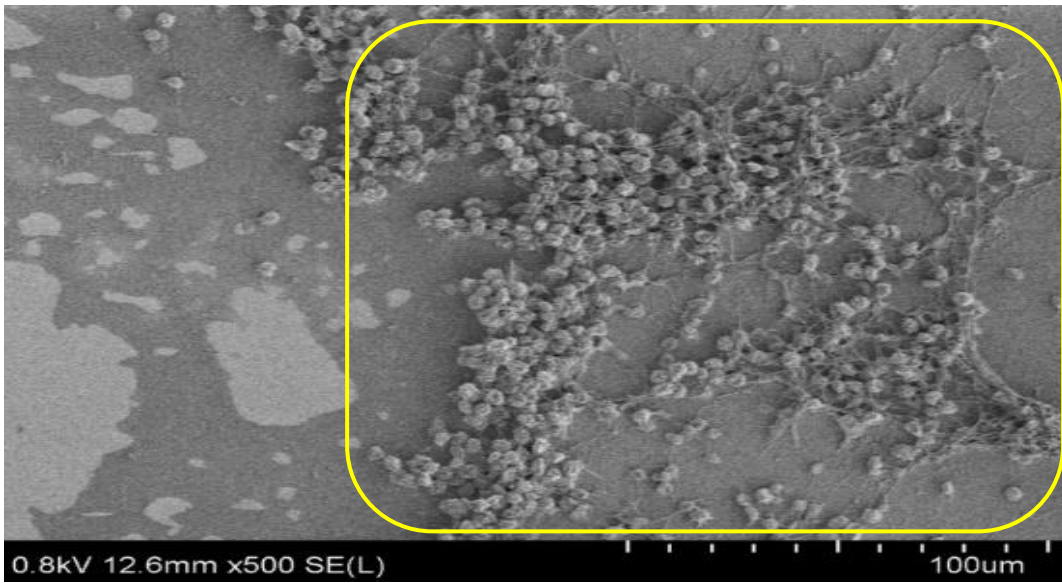


图 2-17 PTFE(-100 V) 凝血画像图

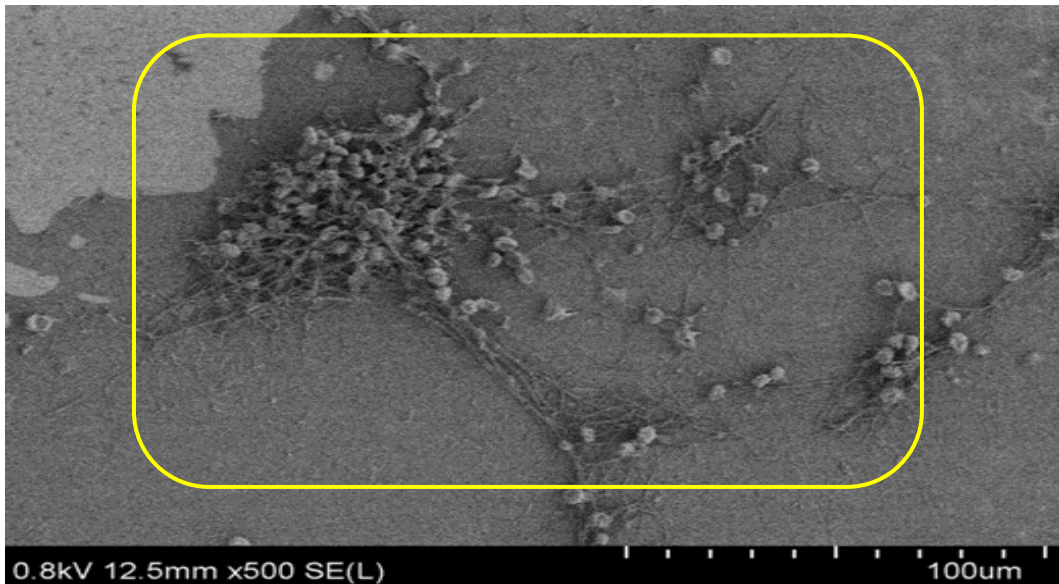
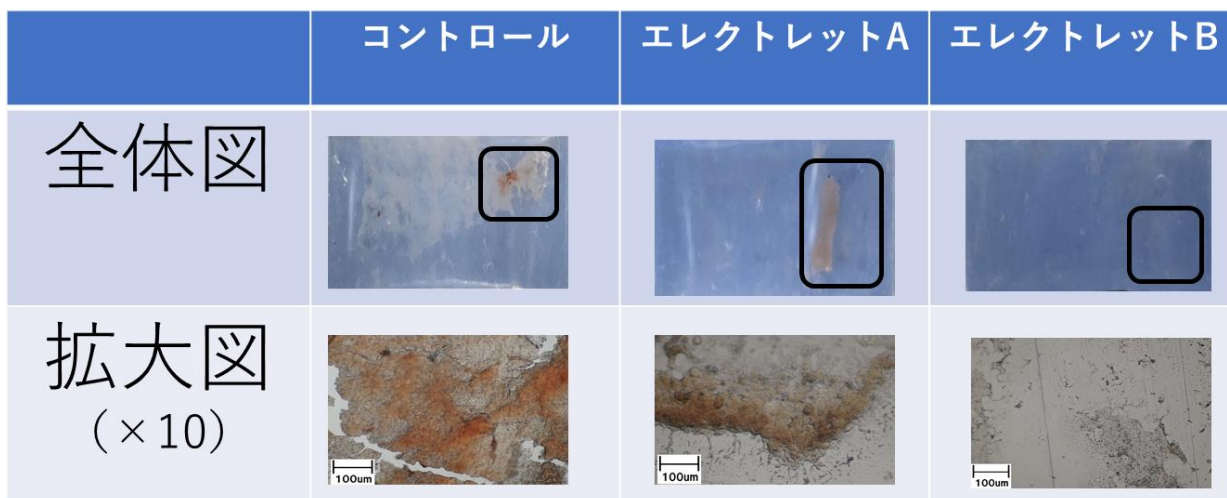


图 2-18 PTFE(-300 V) 凝血画像图

(2) 摩擦帯電化 PTFE エレクトレットチューブ

抗凝血傾向を正立顕微鏡で観察した結果は、図 2-19 となった。血栓付着が少ないのが確認できた。今回の実験で、大きい負電荷強度を示したエレクトレットチューブ B (平均値: -305.4 V) は、エレクトレットチューブ A (平均値: -143.8 V) とコントロール (平均値: -4.2 V) に比べ、明らかに血栓付着が著しく少なく優れた抗凝血性を確認できた。

血栓が発生した部位 (図 2-19) は、コントロール (②: 2 V)、エレクトレット A (②: -41 V、③: -83 V) で、低い負電荷電位となった。



サンプル	測定部位初期表面電位 (V)					平均値
	①	②	③	④	⑤	
コントロール	-1	2	2	-30	6	-4.2
エレクトレットA	-49	-41	-83	-197	-352	-143.8
エレクトレットB	-209	-137	-175	-350	-656	-305.4

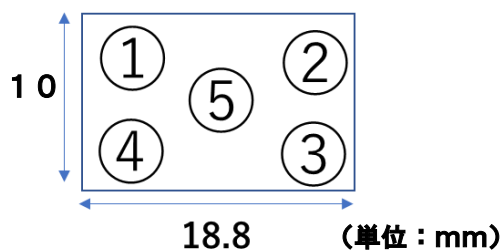


図 2-19 摩擦帯電化エレクトレットチューブの表面部位電位と抗凝血度の観察図

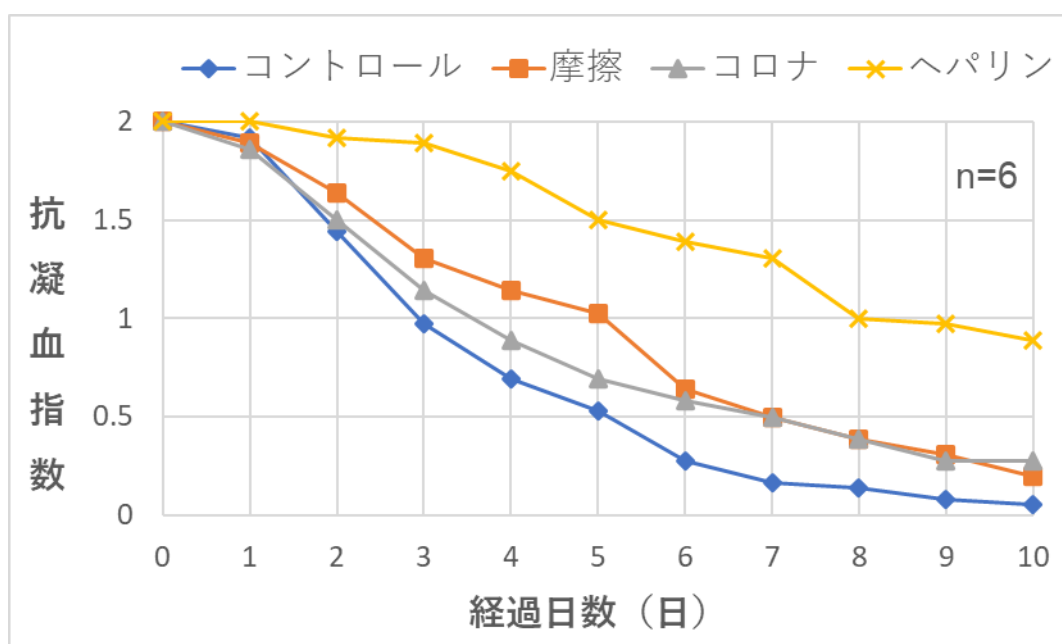
(3) ヘパリンコーティングチューブと PTFE エレクトレットチューブの比較

ヘパリンコーティングチューブと PTFE エレクトレットチューブを用いて抗凝血性を確認した。試料には、帯電しない PTFE チューブ (コントロール)、コロナ荷

電エレクトレット化 PTFE チューブ (コロナ)、摩擦帯電エレクトレット化 PTFE チューブ (摩擦)、ヘパリンコーティング塩化ビニルチューブ (ヘパリン) の 4 種類 (n=6) とした。試料の表面電位の平均値は、コントロール (-5±2 V)、コロナ (-309±53 V)、摩擦 (-299±4 V) とした。ヘパリンは基礎実験により表面電位はほぼゼロであったため除外した。

抗凝血度は凝固なし (2 点)、やや凝固 (1 点)、凝固 (0 点) とし、1 日毎に抗凝血度を目視観察した。縦軸を抗凝血度、横軸を時間 (日数) とした。

図 2-20 に示すように、36 °C 環境下 10 日間で保管した条件で最も抗凝血傾向を示したのはヘパリン化チューブであった。抗凝血指数の T 検定結果から、経過日数 2~10 日において、ヘパリンは、摩擦、コロナ、コントロールの全てに統計的有意差を示した。コントロールと摩擦では、経過日数 3~9 日で統計的有意差が、コントロールとコロナでは経過日数 10 日のみ統計的有意差がみられた。摩擦とコロナでは、経過日数 10 日間で統計的有意差はなかった。



試料	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	8日目	9日目	10日目
コントロール：コロナ	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○
コントロール：摩擦	×	×	○	○	○	○	○	○	○	×
コントロール：ヘパリン	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○
コロナ：摩擦	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
コロナ：ヘパリン	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○
摩擦：ヘパリン	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○

P<0.01 (○)、P≥0.01 (×)

図 2-20 各チューブ別の経時的抗凝血度及び有意差検定

2-3 考察

2-3-1 エレクトレット化条件と表面電荷の関係について

図 2-7、図 2-8 において、電荷減衰度が正電荷に比べ負電荷の方が小さかった理由として、高松⁴³⁾は、コロナ放電により PTFE 表面に炭素の二重結合とカニボニル生成の化学変化が起こり、選択的に負電荷をトラップするとしている。また、温度環境においては、PTFE は室温から 150 °C までの温度域では電荷減衰しないとし、今回の研究結果で示した室温環境 (18°C、36°C) においても、正電荷に比べ負電荷の方が優れた帯電性を示し、同じ傾向であった。また PTFE と PFA は帯電列において負電荷に帯電しやすい分類にあり、特に PTFE が高い帯電性を示した。つまり、PTFE はエレクトレット材料として優れた帯電性、特に負電荷での帯電性に優れていることが確認できた。

次に、帯電分布を示した図 2-9、図 2-10 では、摩擦帯電の表面均一帯電性を確認できた。また、PTFE とガラスの摩擦により PTFE 内表面の負帯電化が確認できた。一方、コロナ放電では、細い円筒形内表面を均一に帯電化する技術的な困難を有した。これらは、コロナ放電で作製したエレクトレットでの抗血栓性デバイスに関する報告では、均一表面荷電が課題とした同じ結果⁴⁴⁾となった。さらに、血管留置カテーテルのような細長いエレクトレットを想定すれば、摩擦帯電が均一帯電化に有用である。

図 2-11 では、相対湿度および絶対湿度は表面電位に相関を示すが、絶対温度はより強い相関があるとした⁴⁵⁾と同じ結果が得られた。従って、エレクトレット化における表面電位の目標値を求めるには、条件として絶対湿度が指標となる。PTFE 表面では 0.001 %以下の水分を吸着するとしている⁴⁶⁾。ギブソンは表面吸着水と電荷量は相反するとしている⁴⁷⁾。湿度が変わる時、PTFE 表面に吸着される含水量は変化する。湿度が増加した場合、PTFE 表面の電気抵抗は減少するので、電荷は表面から漏出する。すなわち、表面温度が増加するほど電荷を放出し、電気抵抗値は低湿度程大きくなる⁴⁸⁾。以上のことから、保存環境や保存期間の自然放電を考慮すれば、帯電直後に使用するのが望ましいといえる。

図 2-12 では、病院環境下³⁹⁾から算出した絶対湿度と表面電位の関係において、ICU、手術室、病棟のいずれにおいても-300V 程度の表面電位を示した。適切な絶対湿度下で十分な負電荷強度のエレクトレットの作製が可能であるとした。

図 2-13 では、摩擦回数 5 回以上で、全て PTFE チューブ内表面で抗凝血傾向を示した -305.4 V よりマイナスの表面電位を示した。これまでの PTFE エレクトレットチューブ、PTFE エレクトレットフィルムにおける抗凝血テストで最も凝血効果を示した -300 V を満たす表面電位であった。すなわち、図 2-13 に示

した絶対湿度を満たす環境下で、摩擦回数 5 秒間 5 往復以上の摩擦帯電を行えば、十分な負電荷電位を満たす PTFE チューブ内表面を作製可能であることを示した。

図 2-14～図 2-15 で示された結果では、負電荷表面における血小板活性抑制は電荷強度と温度依存性、材料の種類に関連性を確認できた。コロナ放電で作成したエレクトレットの電荷減衰度は PTFE < PFA、負電荷 < 正電荷の傾向であった。

2-3-2 抗凝血度の測定について

図 2-16、図 2-17、図 2-18 では、18 °C 環境下における 7 日後の抗凝血度は電子顕微鏡観察により血小板凝集が確認された。抗凝血傾向は、大きい順に PTFE (-300 V) > PTFE (-100 V) > PTFE (0 V) で確認できた。つまり負電荷強度 -300 V が最も血小板活性抑制していた。血小板活性抑制は負電荷強度に依存することが判明した。次に、図 2-19 では、PTFE チューブ内にサンプル血液を注入し PTFE ストッパーを用いて完全に密封し、14 日間 36 °C に保存後のチューブ内壁の抗凝血状態は、平均表面電位 -305.4 V のエレクトレット B では、ほとんど血小板凝集はなかった。高電位で負帯電化された接触面は、静電反発を通して凝血を抑制した。これは負帯電化表面と血小板抑制の関係性を示し、Lowkis⁴⁹⁾ が電子顕微鏡を用いて、負電荷エレクトレット表面と無電荷表面における血小板凝集数を定量的に比較した結果では、負電荷表面は無電荷表面に比べ明らかに血小板凝集数は少ないとし、図 2-19 の全体図および拡大図と同じ抗凝血傾向を示した。

図 2-20 では、血小板活性を抑制するとする負電荷表面⁵⁰⁾のエレクトレットよりも、フィブリン化を抑制するヘパリン化チューブ¹⁶⁾の方が、抗凝血傾向を示すことがわかった。血流の少ない箇所では生じやすい血管内血栓(赤色血栓)では、抗フィブリン化が有効とする⁵¹⁾ことから、今回の流体静止下での抗凝血実験では抗フィブリン化剤であるヘパリンの方が有効となった同じ傾向が見られた。つまり、流体的静止下においては、負電荷表面による血小板活性抑制するよりも、ヘパリンによる抗フィブリン化の方が、有効であることを示した。

一方で、負電荷 PTFE エレクトレット(コロナ放電・摩擦帯電)は、負帯電化しない PTFE(コントロール)に比べ、わずかに優れた抗凝血性を示したに過ぎず、ヘパリンコーティングに比べると明らかに優れた抗凝血性は見られなかった。考えられる原因としては、エレクトレット表面と血液との接触により表面電荷の減衰が挙げられる。ギブソン⁴⁷⁾は表面吸着水と電荷量は相反するとしている。つまり、エレクトレット表面と血液の接触において、1 日後には電荷減衰が起こり抗凝血性を満たす表面電位が失われたと推察できる。つまり、優れた抗凝血性を血管留置中に保持するには、血液(体温程度の液体)を想定した負電荷表

面の電荷減衰防止の工夫が必要である。

透析導入期では、血液透析のバスキュラーアクセスとして、内シャント穿刺ができるまでの数週間は、血管留置カテーテルを用いるのが必然的となる。内シャント手術後の極めて出血性リスクの高い状態で抗凝固剤がコーティングされた抗凝固剤溶出による出血性リスクがあるため使用することは回避される^{3) 52)}。しかしながら、抗凝血性を保持できないとカテーテル内血栓による感染リスクの増大や血液循環不良による治療中断を招くリスクを伴う⁵³⁾。従って、理想的な血管留置カテーテルは出血性リスクを極力回避し、抗凝血性を満たすという背反する条件となる。

従って、血管留置カテーテルを想定した負電荷 PTFE エレクトレットは、出血性リスクのある患者には有用性がある。しかし、ヘパリンほどの抗凝血性はない。改善すべき課題は、血管内留置中のカテーテル内表面における電荷減衰防止の改良により、抗凝血性を満たす負電荷強度を保持することである。さらに、静止条件での検証を基に、流体条件での検証も必要と考える。

血管留置カテーテルを想定した場合のエレクトレット化における摩擦帯電は、コロナ放電に比べ優れている。理由として、コロナ放電は電極先からの部分的な帯電となるため、20 cm程度の細長い円筒形 PTFE 内壁の均一な帯電には技術的な問題を要することが考えられる。仮にコロナ放電でエレクトレット化が可能であったとしても、煩雑なコロナ放電装置を用いて患者のベッドサイドでエレクトレット化することは、血液などの液体が飛び散る環境下では、電氣的な安全面において望ましくない。また、事前にエレクトレット化した場合は、保存期間中に電荷減衰を生じるために、使用直前にエレクトレット化できる摩擦帯電の方が優れる。

しかし、今回検証した結果において、優れた抗凝血傾向を示した表面電位 (-300V) を満たした摩擦帯電化往復 5 回 5 秒という作業は、血管留置カテーテルの血管内挿入時のガイドワイヤーを抜去する工程⁵⁴⁾ からさらに術者の追加作業となる点においてはデメリットとなる。従って、術者の作業的負担を除けば、摩擦帯電化負電荷 PTFE エレクトレットは、血管留置カテーテルへの応用において優れる。

2-4 結語

人工血管に用いられるエレクトレット化 PTFE の血栓形成要因の一つは、均一表面荷電が課題とされた⁴⁴⁾。本研究では、PTFE チューブ状の内表面を均一表面荷電化するには、コロナ放電よりも摩擦帯電の方が優れた帯電法として示した。エレクトレットチューブとヘパリン化チューブの抗凝血度比較では、最も抗凝

血傾向を示したのはヘパリン化チューブであった。血流の少ない箇所で見やすい血管内血栓（赤色血栓）では、抗フィブリン化が有効とする⁵²⁾ことから、今回の流体静止下での抗凝血実験では抗フィブリン化剤であるヘパリンの方が有効となった同じ傾向が見られた。つまり、流体的静止下においては、負電荷表面による血小板活性抑制よりもヘパリンによる抗フィブリン化が有効であることを示した。また、抗凝血度がヘパリンに比べエレクトレットが劣った原因としては、エレクトレット表面と血液との接触により表面電荷の減衰が挙げられる。改善すべき課題は、血管内留置中のカテーテル内表面における電荷減衰防止の改良により、抗凝血性を満たす負電荷強度を保持することである。さらに、静止条件での検証を基に、流体条件での検証も必要と考える。

一方で、抗凝血度に優れたヘパリンは、表面から溶出するヘパリンが、出血性病変に対して重大な影響を及ぼすリスクを生じる問題点を有する。同様に、他の抗凝固剤であるウロキナーゼも、血中の線溶系酵素を著しく活性化することで出血性リスクを要するとしている³⁾。理想的な血管留置カテーテルは出血性リスクを極力回避し、抗凝血性を満たすという背反する条件となる。少なくとも、血管留置カテーテルを想定した負電荷 PTFE エレクトレットは、出血性リスクのある患者には有用性がある。不完全ではあるが、血液凝固反応機構を基にして血栓反応を抑制できるさまざまなバイオマテリアルが提案されている中で、既存の臨床応用では、人工心臓の機械弁として使用されているパイロライトカーボン²⁶⁾が負に帯電しており、同じく負に帯電する血小板と反発することで抗血栓性を示すとした。本研究における大きな特徴は、長期間の体内埋め込み型ではなく、短期間の体内埋め込み型の血管留置カテーテルに着目した点である。特に集中治療室では、緊急の血液浄化治療実施例が多く、短期型の血管留置カテーテルを用いたバクキュラーアクセスとして選択肢となることが多い。また、集中治療室に入室する患者は重篤で出血傾向を伴う場合が多いことから、抗凝固剤の減量や中止を伴う場合や、抗凝固剤をコーティングしたデバイスの使用は極力避ける。従って、出血傾向を伴わない短期型の血管留置カテーテルは、集中治療領域の血液浄化治療においてニーズを満たす治療用デバイスの一つになると言える。次に、表面電荷による抗凝血性の保持では経時的な血液接触面における電荷減衰の影響が問題となる。表面負電荷強度が低下すれば、血小板活性抑制が軽減する。つまり、摩擦帯電による使用直前の帯電化と短期間の体内埋め込みによる電荷減衰対策が、抗凝血性に直結する。電荷減衰の課題を改善できれば、摩擦負帯電化 PTFE エレクトレットは、血管留置カテーテルに応用でき、抗血栓性対策、すなわち血液浄化療法における感染対策の一つとして効果的であると結論した。

第3章 血液濾過法における酸化ストレス対策

を想定した水素溶存化血液濾過補液の検討

3-1 方法と材料

3-1-1 血液濾過補液の水素溶存化と保存における条件の検討

水素溶存血液濾過補液を作製するには、水素の溶存と保存の条件を知ることが重要である。そこで、血液濾過補液作製における溶存条件を確認するために、水素ガスバブリング時間と流速の関係を検討した。血液濾過補液には、アルカリ化緩衝薬として酢酸やラクテート、炭酸水素ナトリウムを用いたものがあるが、現在、主流である炭酸水素ナトリウムのサブパック Bi（ニプロ社）を使用した。血液濾過補液はA液（炭酸水素 Na 他）とB液（電解質他）の2層に分かれている（図 3-1）。基礎実験において A 液は開封後濃度変化を生じたため、B 液を水素溶存化の対象とした。

まず、血液濾過補液（B 液）の水素溶存化の条件を検証した。液量 100 ml と 200 mL の 2 種類に対して流速（1・2・3L/分）、時間（1・2・3 分）の水素ガスバブリングで検証した。室温下を想定し液温（24±1 °C）とした。使用したビーカーは、100 mL の実験は直径約 5 cm、高さ約 7 cm のもので、液面の高さは 100 mL（約 4.5 cm）である。200ml の実験は直径約 8.5 cm、高さ約 10 cm のもので液面の高さは 200mL（約 4 cm）である。下から 1 cm に酸素チューブの先を差し込みバブリングした。水素溶存化した血液濾過補液（B 液）を H₂-B とした。使用した機器と材料は下記に示した。

次に、水槽溶存血液濾過補液の保存条件における水素濃度の変化を検証した。血液濾過用補充液（B 液）を 100 ml ずつビーカーに分け、H₂-B 濃度が 400±40 ppb になるように室温下でバブリング直後に、水素濃度、pH、液温の初期値を測定した。測定終了後、即時に、ビーカーの溶液をアルミパックに移し、専用装置にて真空包装した。これらを 20 °C～24 °C の室温下と 4 °C の冷蔵下で保存し、1 ヶ月後、2 ヶ月後、3 ヶ月後の H₂-B 濃度値、pH 値を確認した。各パラメータに対して n=10 とした。水素ガス透過の防止が期待できるアルミニウム包材（100 ml）に各溶液を真空密閉封入した。アルミニウム包材の構成図は図 3-2 に示した。さらに、一連の作業工程（濃度測定、封入、開封等）による溶存水素損失度も確認した。

使用した器具

溶存水素濃度計 (17C1127 共栄電子研究所)、ハンディ型 pH 計 (SK-620PH II 佐藤計量製作所)、防水型中心温度 (AD-6525 エー・アンド・ディ)、真空密閉器 (HIPPO2017B-1288 朝日産業株式会社)、ビーカー (100 ml・200 ml)

使用した材料

血液濾過補液 (サブパック Bi ニプロ [図 3-1])、アルミニウム包材 (100 ml 用 ジェイフィルム [図 3-2])

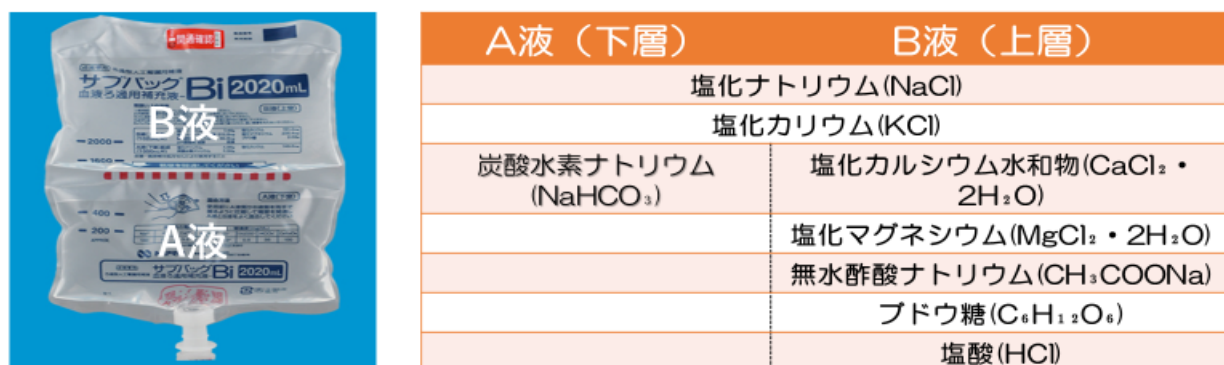


図 3-1 血液濾過補液 (サブパック Bi) の構成図

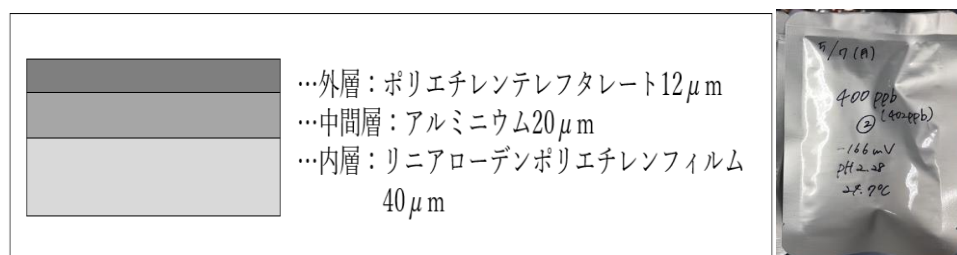


図 3-2 アルミニウム包材構成図 (左) と実物図 (右)

3-1-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認

水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の検証をした。水素溶存化した血液濾過補液中の電解質と水素分子との化学結合による組成濃度の変化がないか確認した。理由として、組成濃度の変化は、HF 治療に対して何らかの悪影響が危惧されるからである。具体的には、室温下で血液濾過補液 (B 液単独及び AB 混合液) の水素溶存化前後における電解質濃度を測定した。溶存化した水素濃度は、 400 ± 40 ppb、 200 ± 20 ppb とした。

3-1-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討

血液濾過補液に水素ガスをバブリングする場合の操作上における無菌性確保の可能性を確認した。検討した理由として、HF 治療前に患者のベットサイドで、血液濾過補液を水素ガスのバブリングを無菌的に行うことが可能であれば、保

存期間の経時的な水素濃度低下から回避できる利点があると考えられるからである。

今回の検討では、血液濾過補液（AB 混合液）容器（図 3-1）の針刺ポートから水素ガスを直接バブリンブした。余剰ガス廃棄口は、血液濾過補液容器上部に点滴用ガス抜き針を設置した。水素注入量は、1 L/分で 3 分間とし室温下（24 °C）で行った。水素溶存直後の血液濾過補液を採取し、R2A 培地で細菌の有無を確認した。R2A 培地を用いた理由としては、R2A 培地は他の栄養培地より水環境中に存在する生菌数測定に優れるとしている⁵⁵⁾。採取した液 1 ml を 200 μ l /培地 \times 5 とした。37 °C インキュベーターで 4 日間培養し観察した。

3-1-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における水素濃度の検討

HF を模擬した実験回路を組み、熱交換器で人体を模擬した。HF 膜には透水性が高く、抗血栓性が良い特徴⁵⁰⁾から多用されるポリスルホン膜（PS：旭化成 AEF-10）を選択し膜面積 1.0 m² とした。生理食塩水でプライミングを行った後、2020 ml の血液濾過補液に対し 400 \pm 20 ppb の値になるように水素ガスを溶存後、H₂-AB 混合液で補液ラインのプライミングを行った。回路内充填容量は体重 65 kg 健常人全血液量を想定した 37 °C の 5000 ml とした。HF 治療の標準的設定を想定し、流量は循環ラインで 100 ml/min、排液ラインで 30 ml/min、補液ラインで 30 ml/min とした。採取した溶液をビーカーに 50 ml を入れ、攪拌しながら溶存水素濃度と温度を開始時、30 分後、60 分後に測定した。測定時間を 60 分とした理由は、血液濾過補液 1 パック総量が 2020 ml であることから補液速度が 30 ml/min とすれば 67 分で消費するからである。測定箇所は、①水素溶存血液濾過補液、②熱交換器（リザーバ）内、③廃液、④返血側回路内の計 4 箇所とした（図 3-3）。

②熱交換器

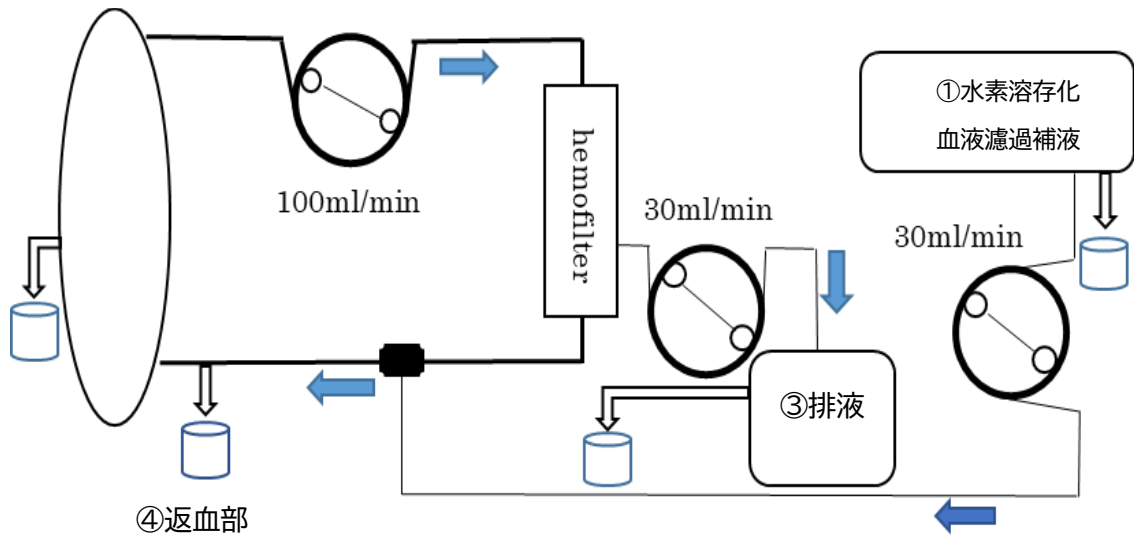


図 3-3 血液濾過模擬回路図

3-2 結果

3-2-1 血液濾過補液における水素溶存化と保存における条件の検討

図 3-4 は、血液濾過補液 (B 液) 液量 100 ml において縦軸を水素濃度 (ppb)、横軸を時間 (分) とし、水素流量速度による水素溶存濃度の変化を確認した。流量速度の 2 L/分 と 3 L/分は、ほぼ同じ水素濃度推移を示した。流量速度の 1 L/分では、2 L/分に比べて 1 分後 25%、2 分後 11%、3 分後 8%の低い水素濃度上昇であった。

図 3-5 は、血液濾過補液 (B 液) 液量 200 ml において縦軸を水素濃度 (ppb)、横軸を時間 (分) とし、水素流量速度による水素溶存濃度の変化を確認した。流量速度の 2L/分と 3L/分は、ほぼ同じ水素濃度推移を示した。1 L/分では、2L/分に比べて、1 分後 38%、2 分後 15%、3 分後 12% の低い水素濃度上昇であった。

さらに、今回設定した最大流量 3 L/分で最大時間 3 分の場合、血液濾過補液 (B 液) の液量 100 ml と 200 ml では、水素溶存濃度は 200 ml (533 ppb)、100 ml (593 ppb) で 100 ml の方が 10 %高い水素濃度値を示した。

図 3-6 は、縦軸を水素濃度 (ppb)、横軸を時間 (期間) とし、溶存水素濃度の変化を温保存と冷蔵保存で比較し示した。1 か月後と比べて 2 か月後は (室温 : 2 %、冷蔵 : -5 %)、1 か月後と比べて 3 か月後は (室温 : 11 %、冷蔵 : 7 %) で、大きな水素濃度の低下が見られなかった。しかしながら、初期値と比べて 1 か月後は (室温 : 32 %、冷蔵 : 37 %) と大幅な水素濃度低下を示した。

図 3-7 では、水素溶存化した血液濾過補液における一連の作業工程 (濃度測定、封入、開封等) による溶存水素損失度は、初期値に対して約 11 %の濃度低下が見られた。

pH値に関しては、図 3-8 において、血液濾過補液 B 液 100 ml に対し、液温 22±2 °C で 2 L/min の 3 分間で水素溶存し、3 か月間の pH 値の変化を測定した。室温 (20~24 °C)、冷蔵 (4 °C) の環境下で比較した。室温で初期 1.95±0.13 に対し、3 か月後 2.36±0.01 の平均値 0.31 上昇した。冷蔵では 1.97±0.14 であった 3 か月後 2.33±0.01 の平均値 0.36 上昇した。正常理論値は、pH2.4~2.7 に対し、室温、冷蔵共に理論値 2.4 より低値を示し、経時的には pH 値が上昇傾向を示した。

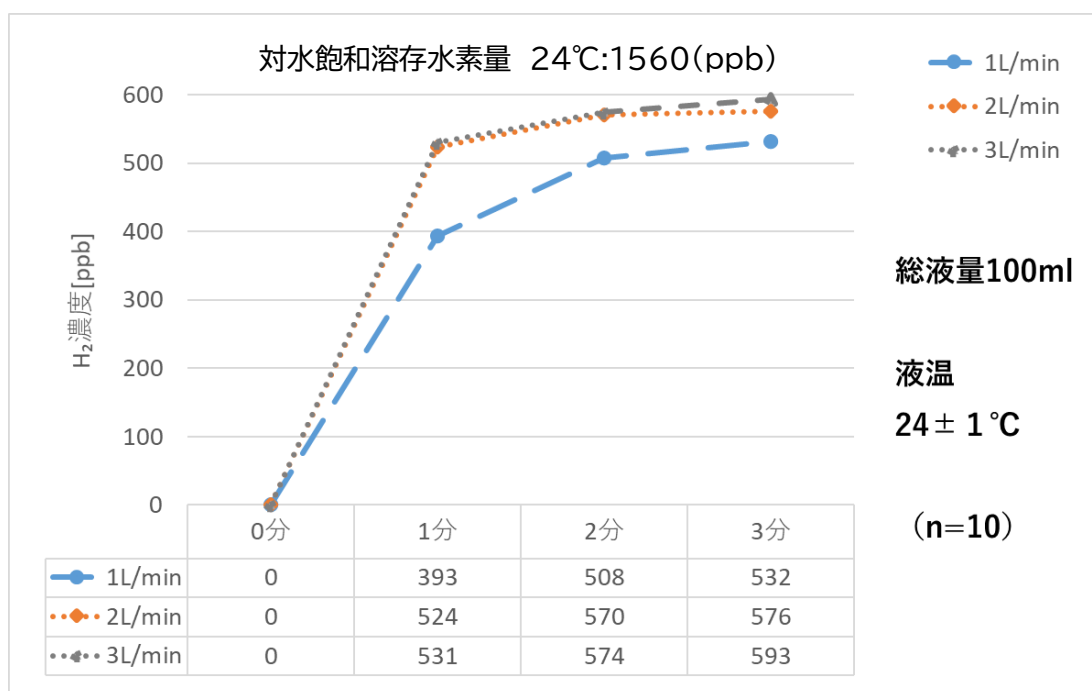


図 3-4 血液濾過補液の水素溶存における流速と時間の関係 (100 ml)

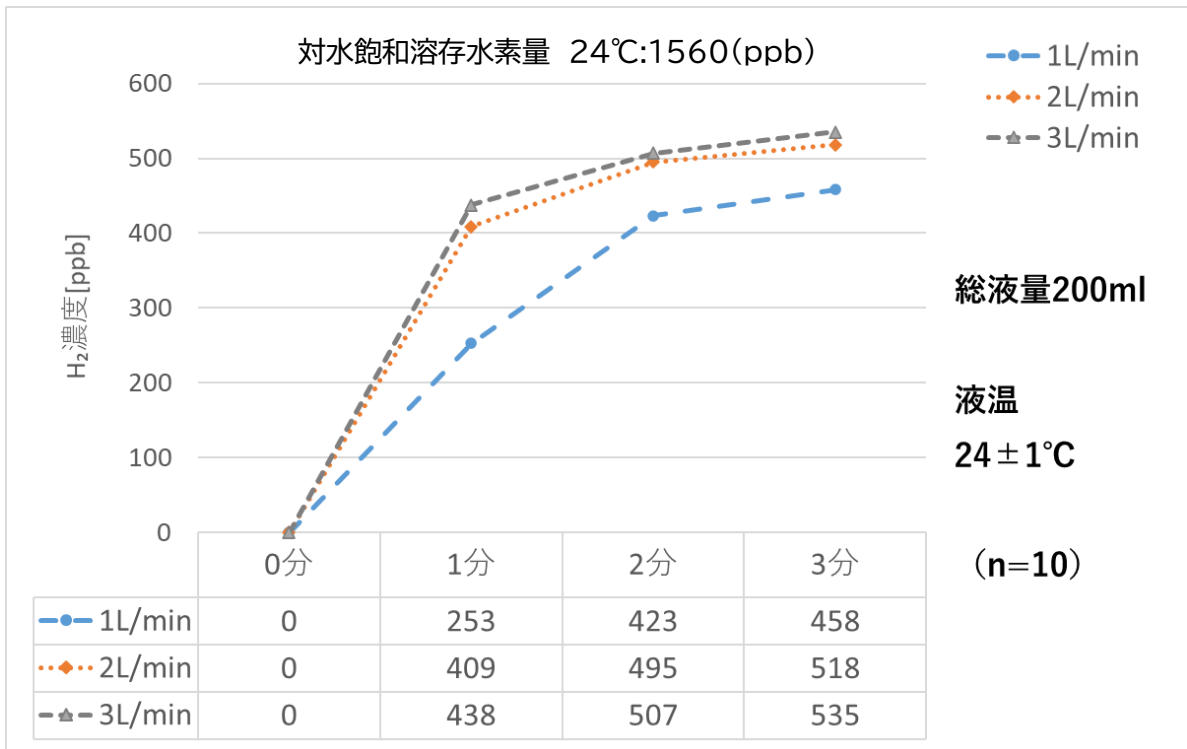


図 3-5 血液濾過補液の水素溶存における流速と時間の関係 (200 ml)

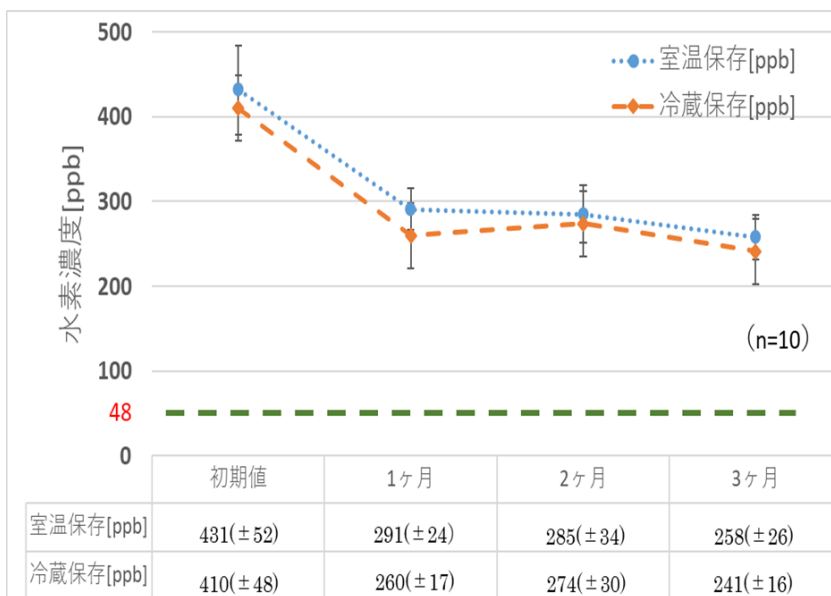


図 3-6 水素溶存血液濾過補液の温度環境別経時的濃度変化

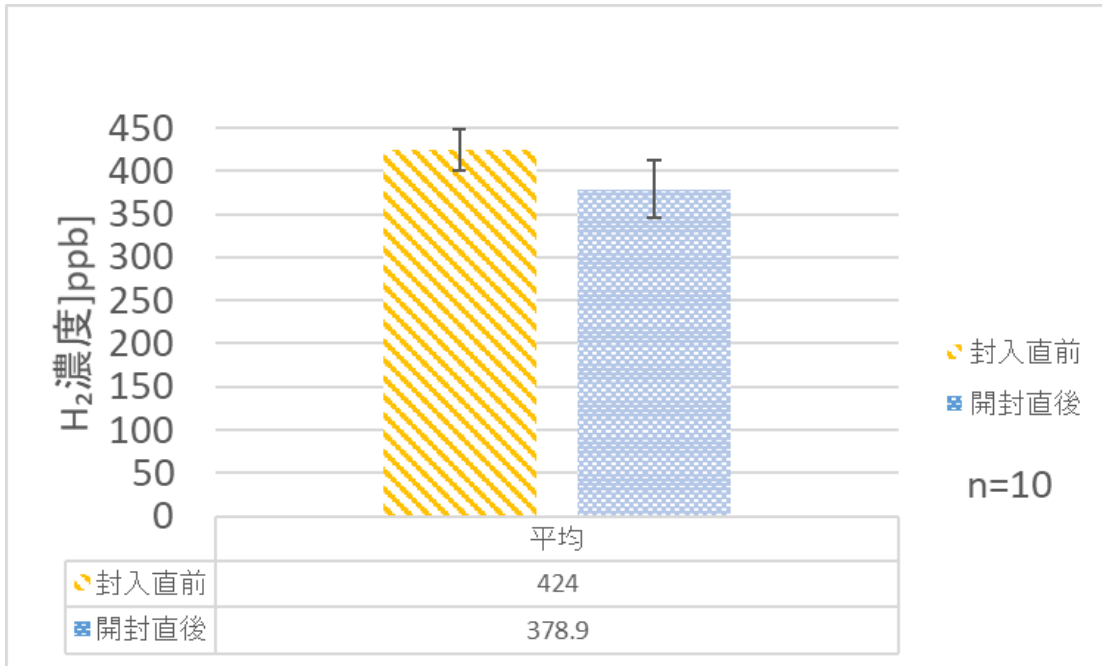


図 3-7 水素溶存血液濾過補液の容器包装前後における濃度損失

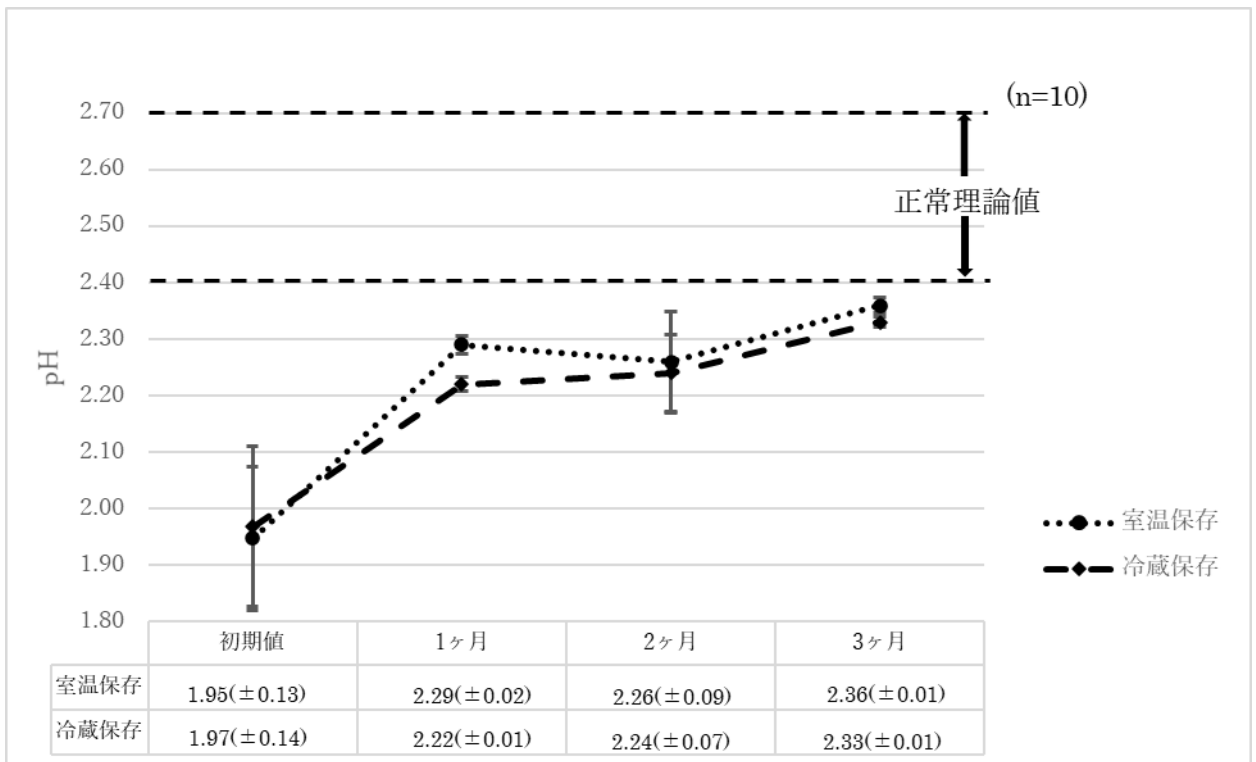


図 3-8 血液濾過用補充液 B 液溶存時 pH 経時的变化

3-2-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認

表 3-1 は、血液濾過補液 (B・AB 混合) のコントロールと水素溶存後 (200 ppb・400 ppb) の電解質濃度である。左側に電解質 10 種およびその右側に各水素濃度に対する電解質濃度を示した。濃度組成は全て測定許容値の 5 %以内であった。

表 3-1 水素溶存化血液濾過補液の組成分析表

	n数	グルコース濃度	電解質(mEq/L)						
		(mg/dL)	Na	K	Cl	CH3COO	HCO3	Ca	Mg
サブバック B液	コントロール(平均)	199.9	126.4	1.99	141.7	0.993	-	7.21	2.06
	200ppb 実測値(平均)	200.9	125.0	1.95	141.5	0.991	-	7.30	2.01
	200ppb 誤差[%]	0.500	1.108	2.01	0.141	0.201	-	1.25	2.43
	400ppb 実測値(平均)	200.1	126.0	1.94	141.3	0.985	-	6.96	1.99
	400ppb 誤差[%]	0.100	0.316	2.51	0.282	0.806	-	3.47	3.40
	コントロール(平均)	101.5	138.1	2.00	113.5	0.504	33.0	3.52	1.02
サブバック B液+A液	200ppb 実測値(平均)	101.4	139.2	1.95	113.5	0.500	33.0	3.52	0.98
	200ppb 誤差[%]	0.099	0.797	2.50	0.000	0.794	0.00	0.00	3.92
	400ppb 実測値(平均)	101.5	139.0	1.96	113.6	0.502	33.0	3.40	0.98
	400ppb 誤差[%]	0.000	0.652	2.00	0.088	0.397	0.00	3.41	3.92

3-2-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討

水素溶存直後の血液濾過補液を採取し、R2A 培地でバクテリアの有無を確認した。R2A 培地を用いた理由としては、R2A 培地は他の栄養培地より水環境中に存在する生菌数測定に優れるとしている⁵⁵⁾からである。採取した液 1 ml を 200 μl/培地×5 とした。37 °C インキュベーターで 4 日間培養した。結果、コロニーカウントはゼロであった。

3-2-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における水素濃度の検討

図 3-3 の血液濾過模擬回路において、測定箇所は、①水素溶存血液濾過補液、②熱交換器 (リザーバ) 内、③廃液、④返血側回路内の計 4 箇所とした。血液濾過補液図 3-9 ①における 60 分後の水素濃度は 181±20 ppb であった。人体に直接的影響がある返血側図 3-9④における 60 分後の水素濃度は 110±4 ppb となった。熱交換器 (リザーバ) 図 3-9②における 60 分後の水素濃度は 44±5 ppb となった。血液濾過排液図 3-9③における 60 分後の水素濃度は、23±3 ppb であった。血液濾過膜水素透過性の割合は熱交換器内と血液濾過排液の比較で表される。具体的には (血液濾過膜水素透過性比) = (血液濾過排液水素濃度 ppb : 図 3-9③) ÷ (熱交換器濃度 ppb : 図 3-9②) となる。つまり血液濾過膜水素透過性比は全く水素を透過しない場合は 0 (ゼロ) となり、100 %水素を透過する

場合は 1.0 を示す。60 分後での水素透過性は 0.51 ± 0.02 であった。

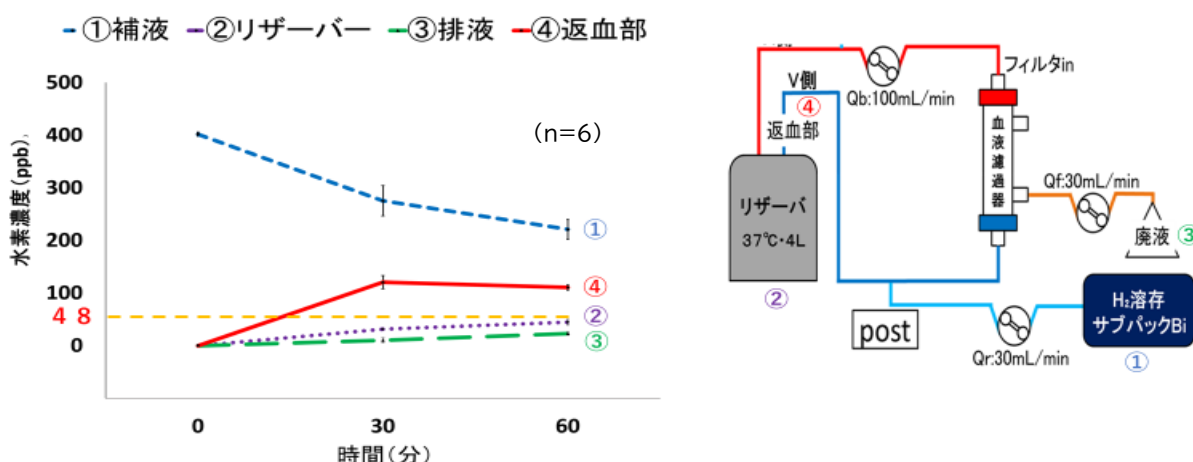


図 3-9 模擬回路内の溶存水素濃度変化図 (左) と回路図 (右)

3-3 考察

3-3-1 血液濾過補液における水素溶存化と保存における条件の検討について

図 3-4 は、血液濾過補液 B 液総液量 100 ml において流量速度の 2 L/分 と 3 L/分は、ほぼ同じ水素濃度推移を示した。流量速度の 1 L/分では、2 L/分に比べて 1 分後 25 %、2 分後 11 %、3 分後 8 %の低い水素濃度上昇であった。図 3-5 は、血液濾過補液 (B 液) 液量 200 ml において縦軸を水素濃度 (ppb)、横軸を時間 (分) とし、水素流量速度による水素溶存濃度の変化を確認した。流量速度の 2 L/分と 3 L/分は、ほぼ同じ水素濃度推移を示した。1 L/分では、2L/分に比べて、1 分後 38 %、2 分後 15 %、3 分後 12 %の低い水素濃度上昇であった。さらに、今回設定した最大流量 3 L/分で最大時間 3 分の場合、血液濾過補液 (B 液) の液量 100 ml と 200 ml では、水素溶存濃度は 200 ml (533 ppb)、100 ml (593 ppb) で 100 ml の方が 10 %高い水素濃度値を示した。

つまり、血液濾過補液の水素溶存化には、ガス流量速度と溶存時間、総液量に依存することがわかった。水と水素の溶解度はヘンリーの法則⁵⁶⁾で証明されるが、対水飽和水素溶存量は、水温 24 °Cでの理論値は 1560 ppb となる。血液濾過補液では、図 3-5、図 3-6 のように水と比べて 3~4 割程度の水素濃度となった。すなわち、血液濾過補液のような溶液では、ヘンリー定数とは異なる溶解度定数が存在すると思われる。しかしながら、中山らの報告⁵⁷⁾で、電解水透析時の水素濃度 48 ppb において臨床的効果を示したとしているため、水素含有最大飽和度を満たすような高い水素濃度の血液濾過補液は、実際には必要ないといえる。

溶存水素濃度の変化を室温保存と冷蔵保存で比較した図 3-6 は、対 1 か月後

の2か月後は(室温:2%、冷蔵:-5%)、対1か月後の3か月後は室温:11%、冷蔵:7%で、大きな水素濃度の低下が見られなかったが、対初期値の1か月後は、室温:32%、冷蔵:37%と大幅な水素濃度低下を示した。原因として、図3-7のように初期値に対して約11%の濃度低下は、封入、開封、濃度測定のような一連の作業中の水素拡散が考えられる。また、動的分子径が0.346 nmの酸素に対し、水素の動的分子径は0.289と非常に小さく⁵⁸⁾、水素分子のサイズを考慮した包材の設計が必要である。今後は、完全に水素漏出を防止できるアルミニウム包材の検討が課題である。

3-3-2 水素溶存化した血液濾過補液における組成濃度の確認について

pHに関しては、図3-4では、B液中の溶存水素濃度が上昇すればpH値が低下し、溶存水素濃度が低下すればpH値が上昇した。一部の水素分子が酸化され、水素イオンとなったためである⁵⁹⁾と考えられるが、詳細は不明である。また、実際にはA液との混液により中和される。

血液濾過補液の水素溶存による組成分析結果は、表3-2より、濃度組成分析では最大誤差を示したのは血液濾過補液B液400 ppbのMg3.4%(コントロール比)であった。測定器の誤差許容値が5%以内であることから、水素溶存化したすべての元素において、水素元素の化学結合はなく、水素分子として溶液に溶存したとする松田らの論文⁶⁰⁾と同様の結果であるといえる。さらに、初期水素溶存濃度が400 ppbにおいて組成濃度変化がないことも示唆できたことから、さらに高い初期水素濃度も問題ないと思われる。

3-3-3 血液濾過補液の水素溶存化における無菌性の検討について

血液濾過補液の水素溶存における無菌操作性の検討(図3-8)では、水素溶存直後の血液濾過補液を採取し、R2A培地で無菌状態を確認した。これは、患者のいるベッドサイドで、血液濾過補液を無菌的に水素溶存化できることを意味し、HF治療の直前に水素溶存化血液濾過補液を作製できる。さらに無菌的に補液するには、濾過滅菌フィルターを用いることが可能である。濾過滅菌フィルター孔径は1.2 μmであるのに対し、水素動的分子径は0.289 nmであるため、理論上は100%の水素が濾過フィルターを透過する。安全面では、水素が室内で揮発したとしても、爆発危険濃度は空気中で(4~75%)であり⁶¹⁾、空調設備のある治療室において爆発の危険性は極めて低いといえる。

3-3-4 水素溶存化血液濾過補液を用いた血液濾過模擬回路内における水素濃度の検討について

血液濾過の循環回路において血液濾過器を通過した血液と水素溶存化血液濾

過補液が混合して、最終的に体内に流入する部位を返血側回路という。従って返血側回路の水素濃度（図 3-2. ④）が治療上最も重要となる。図 3-9 より返血部水素濃度は初期水素濃度 400 ppb を満たせば血液透析で酸化ストレスが優位に軽減したとしている透析液中溶存水素濃度 48 ppb⁶²⁾、さらに重度の疲労感、掻痒感と高血圧が改善したとする透析液中溶存水素濃度 30~80 ppb⁶³⁾ を上回る 110±4 ppb（60 分後）となった。

つまり、初期水素濃度 400 ppb を満たせば十分な返血部水素濃度であることを示した。また、PS 膜の水素透過性の割合は 1.0 を 100 %通過として、60 分後で 0.51±0.02 であった。つまり、約半分量の水素は廃液されることを考慮すれば、後希釈法が効率的である。

本研究では、血液浄化治療自体で発生する酸化ストレスに着目した。具体的には、血中多核球と血液浄化膜の接触することによって起こる酸化ストレスは、透析浄化膜の生体適合性や親水性の程度が大きく関係している⁶³⁾。また、透析液の構成成分であるジカルボニウム物質は、強い化学反応性を有していて、過酸化水素との共存下において臓器の酸化的傷害を誘発する¹⁴⁾。さらに、抗酸化物質であるアスコルビン酸（ビタミン C）は、血液浄化膜から除去される。血液濾過法で補充される血液濾過補液に水素を溶存することで、水素の還元作用により抗酸化対策が期待できる。電解水素水を用いた血液透析の報告では、抗酸化作用による血中 IL-6、CRP 低下、赤血球膜における酸化障害の軽減、リンパ球炎症性アポトーシス抑制等⁶⁴⁾ が報告されている。つまり、水素溶存した血液濾過補液は現存しないため、今回検証した水素溶存化血液濾過補液が、血液濾過治療の新たな抗酸化対策の一つとして今後の応用が期待される。

3-4 結語

本研究では、治療法の一つとして炎症性サイトカイン除去を目的とした血液濾過法で発生する酸化ストレス対策として、水素による酸化ストレス軽減の可能性を期待した水素溶存化血液濾過補液の開発を目的とした。模擬回路を用いて、返血部水素濃度は水素溶存化血液濾過補液の初期濃度が 400 ppb 程度であれば、血液透析で酸化ストレス軽減から優位に改良したとしている透析液中溶存水素濃度を上回る指標を示した。さらに、血濾過膜の水素透過性から、水素を体内に流入するには、後希釈法の方が、効率が良い。

血液濾過補液の水素溶存化には、ガス流量速度と溶存時間、総液量に、依存性や室温と冷蔵環境での保存における溶存水素濃度変化の特徴を示した。一方で、治療直前における水素溶存化血液濾過補液を無菌的水素溶存化の可能性も示した。つまり、本研究の目的は、血液浄化治療における新たな抗酸化対策である。

高価な大型装置を必要とし、透析膜から水素を投入する電解水透析方式による治療報告はあるが、血液濾過補液に水素ガスを溶存したものの治療報告はない。従って、血液浄化治療の新たな抗酸化対策の一つとして新規性のある方法である。また、患者のベッドサイドで水素溶存した血液濾過補液を血液回路に直接補給できる簡便性が大きな特徴である。つまり、本研究が、血液浄化治療の新たな抗酸化対策の一つとして期待される。

第4章 結論

血管留置短期カテーテルの感染率は極めて高く、対策が望まれる。透析導入期の高い感染症死亡率と血管留置短期カテーテルの非常に高い感染症は血管留置カテーテル内血栓が原因の一つとして挙げられる。理想的な血管留置カテーテルは出血性リスクを極力回避し、抗凝血性を満たすという背反する条件となる。本研究では、人工血管に用いられる抗血栓の高いPTFEを血管留置カテーテルへの応用を想定し、負電荷PTFEエレクトレットチューブの抗凝血性と表面電位の関係を明らかにした。PTFEはエレクトレット材料として優れた帯電性、特に負電荷での帯電性に優れ、摩擦帯電が均一帯電化に有用であることを示した。さらに、病院想定絶対湿度環境下で、十分な負電荷電位を満たすPTFEエレクトレットを作製可能であることを示した。次に、負電荷表面と抗凝血性では、血小板活性抑制は負電荷強度に依存することが判明した。課題としては、血小板活性抑制に対する最も適正な負電荷強度の検証である。ヘパリン化チューブとエレクトレットチューブでの抗凝血比較では、流体的静止下においては、負電荷表面による血小板活性抑制するよりも、ヘパリンによる抗フィブリン化の方が有効であることを示した。課題として残るのは、血管内留置中のカテーテル内表面における電荷減衰防止の改良により、抗凝血性を満たす負電荷強度を保持することである。さらに、流体条件での検証も必要である。

既存の臨床応用例では、人工心臓の機械弁として使用されているパイロライトカーボン³⁶⁾が負に帯電しており、同じく負に帯電する血小板と反発することで抗血栓性を示すとした。本研究が目的とした臨床応用を考慮した場合、長期間の体内埋め込み型ではなく、短期体内埋め込み型の血管留置カテーテルに着目した点が大きな特徴である。表面電荷による抗凝血性の保持では経時的な血液接触面における電荷減衰の影響が問題となる。表面負電荷強度が低下すれば、血小板活性抑制が軽減する。つまり、摩擦帯電による使用直前の帯電化と短期間の体内埋め込みによる電荷減衰対策が、抗凝血性に直結する。つまり、電荷減衰の課題を改善することが最も求められ、本研究で示した使用直前の摩擦帯電化と短期留置を対象としたエレクトレットの表面電荷減衰策は、抗凝血対策つまり血管留置カテーテル内血栓を起因とする感染症対策に有効となる。

次に、免疫力の低下した血液透析の導入期患者における感染症は、致命的となりかねない。本研究では、感染により増悪化した炎症性サイトカイン除去を目的とした血液浄化療法自体が、酸化ストレスを発生することに着目し、酸化ストレス軽減が期待できる水素溶存化血液濾過補液について研究報告した。

血液濾過補液の水素溶存化の検証では、ガス流量速度と溶存時間、総液量に依

存することがわかった。水と水素の溶存関係を示すヘンリーの法則とは異なる関係性を示した。また、水素溶存化血液濾過補液の保存時における温度環境の影響を検討したが、室温と冷蔵での経時的な濃度差はなかった。模擬回路を用いて返血部水素濃度は水素溶存化血液濾過補液の初期濃度が 400 ppb 程度であれば、血液透析で酸化ストレス軽減から優位に改良したとしている透析液中溶存水素濃度を上回る指標を示した。さらに、血濾過膜の水素透過性から水素を体内に流入するには、後希釈法の方が効率良い。さらに、水素溶存化血液濾過補液作製時における無菌性も示した。課題としては、生物学的実験系における、水素溶存化血液濾過補液による酸化ストレス軽減の実証が考えられる。

つまり、本研究の目的は、血液浄化治療における新たな抗酸化対策である。高価な大型装置を必要とする。透析膜から水素を投入する電解水透析方式とは異なり、患者ベッドサイドで水素溶存した血液濾過補液を血液回路に直接補給できる簡便性が大きな特徴である。腎不全のような病態では、抗酸化物質（ビタミンC他）の投与に制約がある中で、血液浄化療法（血液濾過他）自体で発生する酸化ストレスに対して、水素溶存化血液濾過補液が有用であることを示した。

本研究の「血液浄化療法の感染症対策における臨床工学的検討」は、臨床現場における有効な手法として提案できるものとする。

略語集

持続的腎代替療法 (continuous renal replacement therapy ; CRRT)
カテーテル関連血液感染 (Catheter-related blood stream infections ; CRBSI)
ヘパリン誘発性血小板減少症 (Heparin-induced thrombocytopenia ; HIT)
カテーテル関連血栓症 (catheter-related thrombosis ; CRT)
ポリテトラフルオロエチレン (polytetrafluoroethylene ; PTFE)
ポリテトラフルオロエチレン・パーフルオロアルキルビニルエーテル共重合体
(polytetrafluoroethylene perfluorovinylpropyl
ethertetrafluoroethylene copolymer ; PFA)
血液透析 (hemodialysis ; HD)
血液濾過 (hemofiltration ; HF)
血液透析濾過 (hemodiafiltration ; HDF)
ポリスルホン (polysulfone ; PS)
慢性腎臓病 (chronic kidney disease ; CKD)
心血管病 (cardiovascular disease ; CVD)
活性酸素種 (reactive oxygen species ; ROS)
インターロイキン6 (interleukin-6 ; IL-6)
急性腎障害 (acute kidney injury ; AKI)

謝辞

本研究を遂行するにあたり、適切なお指導・ご鞭撻を頂いた、東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科の横山憲二教授に感謝致します。

本論文に関して、適切なお指導を頂いた、東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科の苗村潔教授、東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科の佐々木聰教授、東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科の松井徹教授、東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科の秋元卓央教授に厚く御礼申し上げます。

研究環境にご配慮頂きました、東京工科大学副学長の梅田勝教授、東京工科大学医療保健学部長の篠原一彦教授、東京工科大学医療保健学部臨床工学科長の田仲浩平教授に心より謝意を表します。

本研究を行うにあたり、適切なお助言と実験協力を頂いた、東京工科大学医療保健学部臨床工学科の宮地寛登准教授および東京工科大学医療保健学部臨床工学科の先生方には謹んで感謝申し上げます。

参考文献

第1章

- 1) 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, 透析会誌 52(12), 692-694, 2018.
- 2) 和田光一, 田崎和之, 下条文武他：透析用血管内留置カテーテル使用例における菌血症の検討, 感染症学雑誌 60(10), 1107-1113, 1986.
- 3) 森有一：抗血栓性材料, 日本血栓止血学会誌 1(4), 297-303, 1990.
- 4) 川西秀樹：血液濾過・血液透析濾過法の現状と課題, 医学のあゆみ, 1046-1050, 2005.
- 5) 森松博史;重症患者における急性肝不全・急性腎障害・代謝異常,中山書店,130-141,2018.
- 6) Rayner HC, Pisoni RL, Gillespie BUS, Goodkin DA, Akiba T, Akizawa T, Saito A, Young EW, Port FK: Creation, cannulation and survival of arteriovenous fistulae , Data from the Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study. *Kidney Int*(63), 323-330, 2003.
- 7) 山下恵美, 森兼啓太, 谷口弘美他：透析関連感染の現状とその評価, 多施設共同サーベイランスの成果, 日感染環境会誌 31(5), 297-309, 2016.
- 8) Ohmori H, Asahi H, Enno T, Inoue Y, Yoneyama Y, Irino T, Nakajima J, Inaba T, Saito K.: Central venous catheter infection in surgical emergency area in particular urokinase-immobilized catheter on the antithrombotic and infectiousness of infection. *JapaneseSurgical Infectious Disease Research* (11) , 106-10, 1999.
- 9) John R. Mehall, MD, Daniel A, Saltzman MD, Richard J, Jackson, MD Samuel, D. Smith, MD.: Fibrin sheath enhances central venous catheter infection. *Crit Care Med*30(4), 908-912, 2002.
- 10) William Geerts.: Central venous catheter-related thrombosis. *American Society of Hematology*, 306-311, 2014.
- 11) 石神昭人：酸化ストレス調節効果ビタミンC, 腎と透析, 29(5), 756-760, 2015
- 12) 坂井智行：敗血症に対する non-renal indication としての急性血液浄化療法, 日本小児腎臓病学会雑誌 30(1), 1-8, 2017.
- 13) 寺脇博：フリーラジカル腎疾患との新たな関わり, 腎と透析, 1015-1017, 2016.
- 14) 望月精一：血液透析における NO と酸化ストレスの関与, 日本バイオレオロジー学会 (B&R) 14(14), 125-131, 2000.
- 15) 倉賀野隆裕, 中西健：腎不全病態と透析療法に起因する酸化ストレス
～総合的抗酸化透析療法の可能性～, 第54回日本透析医学会シンポジウム,
透析会誌 43(3), 260-263, 2010.
- 16) 三上英智, 小林隆夫, 浦野哲盟：ウロキナーゼ, ヘパリン併用被覆カテーテルの血栓形成阻害効果の検討, 血栓止血誌 19(2), 257-264, 2008.
- 17) Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): Review of incidence, diagnosis, and

- management Marie Hogan¹ and Jeffrey S Berger² *Vascular Medicine* 25(2), 160-173, 2020.
- 18) 戸川達男：「人工臓器における表面の問題」，日本機械学会誌 75(641), 892-895, 1972.
 - 19) 森有一，丹沢宏：「血栓をつくらぬ材料」，高分子, 22(11), 613-615, 1973.
 - 20) 丹沢宏：「血液適合性材料とその医療用途」，繊維機械学会誌 31(7), 287-288, 1978.
 - 21) 伊藤悦子，岡野光夫：「人工血管血液接触面の構造とその特性」，表面技術 49(7), 715-717, 1998.
 - 22) 松本博志，桜井靖久：「医用材料の現状と動向」，医用電子と生体工学 17(2), 110, 1979.
 - 23) 松田武久：「高分子表面の生体適合化 界面化学よりみたタンパク質吸着挙動」，高分子 32(9), 657-658, 1983.
 - 24) 松本英俊：「荷電膜表面の電気化学的性質」，膜 29(6), 345-346, 2004.
 - 25) 堀克敏，石川聖人：細菌ナノファイバーによる微生物の表面付着，環境バイオテクノロジー学会誌 10(1), 3-7, 2010.
 - 26) 勇田敏夫，菊田幸明：「心臓代用弁材料の表面処理」，表面技術 43(8), 734-738, 1992.
 - 27) 西田誉浩：「人工弁の進歩」，人工臓器 47(3), 156-157, 2018.
 - 28) 谷垣昌敬，奥田泰弘：延伸法による PTFE 膜の構造制御と機能，日本膜学会 26(3), 141-147, 2001.
 - 29) 深田栄一，木下一彦：「生物の成長と電気現象」，生物物理 20(5), 312-318, 1980.
 - 30) 渡辺幸二：「メディカル分野への繊維の展開」，織消誌 32(5), 182-185, 1991.
 - 31) 石曾根肇，大橋清，宝諸博文，西連寺永康，日野晃伸，藤井琢，大澤繁喜，佐藤三樹，岩田幸一，高田尚美：「テフロンエレクトレットの表面電荷に関する基礎的研究(1)」，日大歯学 (56) , 477-487, 1982.
 - 32) 山下恵美，森兼啓太，谷口弘美他：透析関連感染の現状とその評価：多施設共同サーベイランスの成果，日感染環境会誌 31(5), 297-309, 2016.
 - 33) 坂井智行：敗血症に対する non-renal indication としての急性血液浄化療法，日本小児腎臓病学会雑誌 30(1), 1-4, 2017.
 - 34) Hung KC, Yang CC, Hus SP, et al: Electrolised-reduce Water Reduced Hemodialysis-induce erythrocyte Impairment-stage Renal Disease Patients. *Kidney Int* (70) , 391-398, 2006.
 - 35) 中山昌明：電解アルカリ水(水素水)を用いた透析液(基礎・臨床)，透析会誌 (48) , 94-98, 2015.
 - 36) Terawaki H, Matsuyama Y, Matsuo N, et al: A lower level of reduced albumin induces serious cardiovascular incidence among peritoneal dialysis patients. *Clin Exp Nephrol* (16) , 629-635, 2012.
 - 37) 大澤郁朗：水素分子の生理作用と水素水による疾患防御，日老医誌 (49) , 680-688, 2012

第2章

- 38) H.Onomae: Development of visible making electrostatics distribution system. Kagoshima Prefecture Industrial Technology Center (20) , 57-63, 2006.
- 39) Kagi N, Yanagi U, Ikeda K, Nishimura N, Yoshino H, Saito H, Saito K, Kamakura R: A study on hygiene control of indoor environment at hospital facilities, Proceedings of the Air Conditioning and Sanitation Engineering Society (137) , 39-46, 2008.
doi:org/10.18948/shase.33.137_39.
- 40) 櫻林郁之助：今日の臨床検査(65), 南江堂, 65-66, 2017-2018.
- 41) Xu HY, Fu X, Lee LK, Ma S, Goh KT, Wong J, Habibullah MS, Lee GK, Lim TK, Tambyah PA, Lim CL: Statistical modeling reveals the effect of absolute humidity on dengue in Singapore. PLoS Negl Trop Dis (8) , 1-11, 2014.
doi:org/10.1371/journal.ntd.0002805.
- 42) 浅野茂隆, 池田康夫, 内山卓：三輪血液病学, 文光堂, 383-402, 2006.
- 43) 高松俊昭：ポリ四フッ化エチレン及びポリフッ化ビニリデンエレクトレットの熱刺激電流, 高分子 23 (273) , 832-837, 1974.
- 44) 土肥健純, 舟久保熙康：血液濾過用人工膜に関する研究, 人工臓器, 5(1), 29-33, 1976.
- 45) Omoto Y, Hamotani K, Um HH: Recent changes in trends of humidity of Japanese cities. J Japan Soc Hydrol and Water Resour (7) , 106-113, 1994.
doi:10.3178/jjshwr.7.2_106.
- 46) Honda T, Izawa Y, Nishijima K: Effects of humidity on charge decay of surface-charged dielectrics. National Institute of Electrical Engineers of Japan, 124, 2004.
- 47) Gibson N, Lloyd FC: Incendivity of discharges from electrostatically charge plastics. Br J Appl Phys (16) , 1619-1631, 1965. doi: org/10.1088/0508-3443/16/11/302.
- 48) Terauchi Y, Hamamoto T: Temperature rise due to frictional heat lubrication, Lubrication (15) , 13-21, 1970.
- 49) Lowkis B, Szymonowicz M: Effect of the electret-blood contact time on the adhesion of human blood platelets, Polim Med (23) , 21-30, 1993.
- 50) 渡辺幸二：メデイカル分野への繊維の展開, 織消誌, 32(5), 182-185, 1991.
- 51) 伊藤悦子, 岡野光夫: 人工血管血液接触面の構造とその特性, 表面技術 49(7), 715-717, 1998.
- 52) 湯浅光利, 北村憲也, 高橋香司：各種抗凝固(滅・無へパリン, FOY)透析の適応と効果, 透析会誌 16(3), 239-243, 1983.
- 53) 織田成人, 酒井清孝：血液浄化を支える基盤技術；株式会社東京医学社, 80-92, 2020.
- 54) 森兼啓太：血管内カテーテル関連感染防止, CDC ガイドライン, 12-51, 2011.

第3章

- 55) Microbiological monitoring of pharmaceutical water systems: European Pharmaceutical Review 22(2), 25-27, 2017.
- 56) 藤田重文：数種の気体の水に対する溶解度(1), 化学工学 27(2), 45-47, 1963.
- 57) Masaaki Nakayama et al: Nephrol;A novel bioactive haemodialysis system using dissolved dihydrogen(H₂) produced by water electrolysis: a clinical trial Dial. Translant, 3026-3033, 2010.doi: 10.1093/ndt/gfq 196.
- 58) 渋谷光夫：高圧水素ガスバリア材の開発, 『日本ゴム協会誌』, 88(8), 56-61, 2015.
- 59) 加藤正直：基礎からわかる分析化学, 森北出版 (1) , 80-81, 2009.
- 60) Katsuhiko Matsuda, Nobuhiro Tanaka, Hiroshi Mashima: Dissolution rate of Haruhiko OHYA hydrogen gas in aqueous solution Japan Mining Journal (93) , 969-974, 1977.
- 61) 井上雅弘：「水素の安全利用」, 電気設備学会誌 36(4), 263-266, 2016.
- 62) Masaaki Nakayama et al: Possible clinical effects of molecular hydrogen(H₂) delivery during hemodialysis in chronic dialysis atients: Interim analysis in a 12 month observation, Effect of H₂ in hemodialysis, PLOS ONE, 1-18, 2017.
doi.org/10.1371/journal.pone.0184535.
- 63) Kobari E, Terawaki H, Takahashi Y: Dialyzer-related thrombo cytopeniaduetoa polysulfone membramne, InternMed(55), 965-968, 2016.
- 64) Hung KC, Yang CC, Hus SP, et al: Electrolised-reduce Water Reduced Hemodialysis-induce erythrocyte Impairmend-stage Renal Disease Patients. Kidney Int(70), 391-398, 2006.