

腹膜透析 (CAPD) の現状と問題点

Current Problems with Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis

大塚知恵, 堀内孝, 太田裕治

Chie OHTSUKA, Takashi HORIUCHI* and Yuji OHTA

お茶の水女子大学ライフサイエンス専攻, *東亜大学生命科学科

1. 腎不全と腹膜透析

本稿では腎不全治療の一つとして施行されている腹膜透析法に関し, 原理, 現状, 問題点に関し述べるとともに, 現在著者らが実験を進めている腹膜中皮細胞の損傷回復メカニズムに関し実験データを交えて報告する。

腎臓とは

体内の不要な代謝産物または有害物を体外に排除する働きを排泄という。腎臓は最も重要な排泄器であり, 尿の排泄により, 1) タンパク質代謝産物の除去 (尿素, クレアチニン, 尿酸等), 2) 有害物の除去, 3) 血液の浸透圧調節, 4) 体液量調節, 5) 血液の pH 調節, 6) 血圧の調整, 7) ヘマトポエチンの産生, 等が行われる。腎臓の機能的単位は腎小体 (糸球体およびそれをつつむボーマン嚢) 並びに尿細管であり, 両者をあわせてネフロンと言う。

腎機能はクリアランス (Clearance) なる指標をもって評価される。ある物質 x について尿中濃度を U_x , 血漿中濃度を P_x とし, 尿量を毎分 V (ml) とすると, $U_x V$ は x の毎分排泄量となる。これだけを排泄するためには血漿は少なくとも $U_x V / P_x$ (ml) 腎臓を通過することが必要である。この値を物質 x のクリアランス C_x という。即ち C_x (ml) の血漿内の x が全部尿に排泄され除去されたということであり, $C_x = U_x V / P_x$ である。このクリアランスが正常値の 50% 以下に低下した状態のことを腎不全という。

平成 12 年 12 月 31 日現在, 腎不全の患者は 20 万 6 千人であり, 原疾患の第 1 位は慢性糸球体腎炎, 第 2 位が糖尿病性腎症である。腎不全の病状が進み末期腎不全になると人工腎

臓治療が必要となる。人工腎臓といっても上記の腎機能を全て代行するものではなく, 生体腎の行っている排泄機能の僅かな部分を代替し, 生命を維持しているだけである。

人工腎臓について

人工透析には血液透析, 血液濾過, 血液吸着, 腹膜透析がある。血液透析 (Hemodialysis, HD) は, 血液と透析液が半透膜を介して接触することによる濃度勾配により血液中の老廃物や水分を取り除く透析法である (図 1)。血液濾過 (Hemo-filtration, HF) は血液から老廃物を含む血漿成分を濾過・除去し, その後に必要成分を補充する方法であり, 生体腎に近い方法といえる。吸着 (Hemoperfusion, HP) は活性炭などの材料を抗凝固材料で被覆し生体適合性を高めたうえで血液を灌流し主として毒物等を吸着除去するものである。尚, 吸着によっては尿の主要成分である尿素を取り除く事ができず, 今までに様々な方法が試みられてきた。この 3 者の方法はいずれも血液を一旦患者の体外に導き出し, 浄化を行い再び体内へ戻す方法である。血液の導出にはブラッドアクセスが必要であり, 皮下に内シャントを作成し, そこへの透析針の直接穿刺により行う。体外に導かれた血液は異物と接触することから, 凝固反応が進むため抗凝固剤を必要とする。また, 血液透析には機器を必要

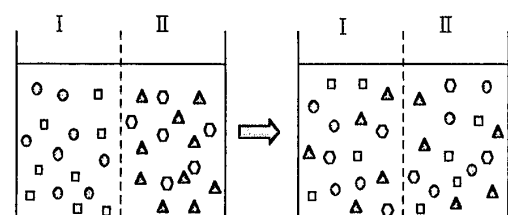


図 1 半透膜を介した拡散現象

とし、患者は週3回、1回4-5時間程度、通院治療を行うのが一般的である。

一方、これらに対し生体膜を介した浄化法が腹膜透析 (Peritoneal Dialysis:PD) と呼ばれる方法である。透析液を腹腔内に注入し腹膜を透析膜として利用することで透析液-血液間での拡散現象により物質が移動する。この原理により蓄積した老廃物を除去するが、透析液中に高濃度のグルコースを加え浸透圧勾配を確保することで過剰な水分も同時に除去している。本療法は特に大掛かりな機器を必要とせず、家庭・職場でも施行可能、非観血的で、循環器系への負担も軽いことから世界中で広く普及されつつある。

本邦における平成12年12月31日でのCAPD患者数は全透析患者の5%、約1万人であった。欧米でのCAPDの導入率はアメリカ約14%、イギリス約45%、カナダ約36%と日本に比べ高い割合である。この理由としては、CAPDは耐用年数が短いため腎移植の盛んな欧米では移植までの一時的な治療法と考えられているが、日本では移植が未だ盛んではなくCAPDを選択する患者が少ないことがあげられる。CAPDは血液透析よりも安価であることも欧米での導入率が高い理由と考えられる。世界各国で医療費支出の増大が懸念される中、今後CAPDの割合が本邦で徐々に増加することは医療のマクロ経済的視野からも自然の成り行きと考えられる。

腹膜透析の実施法

腹膜透析は半透膜の性質を有する腹膜を透析膜として利用するもので、腹腔内に注入した透析液と腹膜内に分布する毛細血管内の血液との間に生じる溶質濃度勾配、および浸透圧較差によって、溶質と水を生体内より除去する透析法である。近年は血液透析が安全に実施でき、広く普及したため、腹膜透析は主に急性腎不全や慢性腎不全の導入期透析に限定して用いられていたが、埋め込み式カテー

テルの開発により合併症は減少し、透析膜としての腹膜の有用性が再び注目されている。とくに社会復帰など患者QOL (Quality of Life) の向上できる慢性維持透析法として、持続的腹膜透析法 (CAPD: continuous ambulatory peritoneal dialysis) が取り入れられてきている。

腹膜カテーテルの設置に際しては、局所麻酔あるいは脊髄麻酔、硬膜外麻酔のもとに臍下に小切開を加え、腹膜を開いてカテーテルの先端部を腹腔最下部のダグラス窩に到達させる。(図2参照。腹腔は体腔壁を覆う壁側腹膜と内臓を覆う臓側腹膜により閉ざされた部分) カテーテルの他端は、腹壁の皮下トンネルを通して皮膚から出すようにする。この方法により感染の防止、透析液の漏出防止が可能である。腹膜透析の実施法としては、プラスチックバッグ入りの完全閉鎖システムを用いて透析液を1日3~4回交換し、腹腔内に透析液を長時間(6~8時間)常時貯留しておくので機械に束縛されず自由に行動できる。

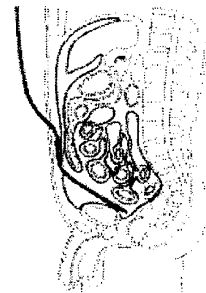


図2 腹膜腔内と腹膜カテーテル

透析液組成

腹膜透析に用いられる透析液成分の例を表に示す。腹膜透析液は専用の無菌透析液が市販されており、その組成は健常者の細胞外液に類似している。成分はメーカーにより多少異なるが、いずれもナトリウム値132~135 mEq/l、カルシウム値2.5 mEq/l、マグネシウム値0.5 mEq/l、クロール値95~98 mEq/l、乳酸40 mEq/lの電解質を含む。これらの透析液には浸透圧物質としてのブドウ糖が含まれており、ブドウ糖濃度が高い物質ほど除水能が高く、低いほど除水能も低い。しかしブド

ウ糖濃度の高い透析液は腹膜に高浸透圧がかかり腹膜中皮細胞の傷害につながり易いため長期使用が難しい。従来透析液の pH は従来 4.5~6.3 の低 pH のものが主流であったが、低 pH の透析液は注入時に痛みがあり、また好中球やマクロファージの貪食能や殺菌能を阻害や腹膜中皮細胞に傷害をもたらすことから、最近ではグルコース分解産物の少なく pH を中性化した透析液に置換わりつつある。

表1 腹膜透析液成分例

Na ⁺	132mEq/l
Ca ²⁺	4.0mEq/l
Mg ²⁺	1.0mEq/l
Cl ⁻	102mEq/l
乳酸	35mEq/l
ブドウ糖	1.5-4.0g/dl
浸透圧	350-500mOsm/l
pH	4.5-6.0

腹膜透析の合併症

腹膜透析で問題となるのは長期治療における腹膜機能の劣化である。その原因の一つとして腹膜炎がある。繰り返しの腹膜炎への罹患は腹膜の傷害と修復の繰り返しであり、その予後の延長線上に腹膜繊維症や腹膜硬化症が潜んでいる。一方、腹膜炎罹患の既往歴が無いにもかかわらず CAPD 開始後 5 年から除水量が減少し始める例が多く報告されている。更にその後、腹膜炎頻発症例と同様、硬化性被嚢性腹膜炎を発症する確率が高くなる。この原因としては、腹膜傷害、修復過程におけるサイトカインのアンバランスな産生に由来する細胞外マトリックスの過形成及びマトリックス組成の変化、血管の造成、それに加え透析中のグルコースによる糖化等が考えられている。

2. CAPD における腹膜中皮細胞の傷害

著者らは現在、傷害中皮細胞の修復メカニ

ズムの中に腹膜の繊維化へ要因が含まれていると仮定している。その解明を目的とし、具体的には培養したヒト腹膜中皮細胞を用いて傷害の修復メカニズムに関し検討を進めている。以下にその現状を報告する。

実験および解析方法

ヒト腹膜中皮細胞を ϕ 35mm のフラスコ上で sub-confluent になるまで培養後、1N NaOH を滴下することにより傷害モデルを作成した。傷害直後、燐酸緩衝液で洗浄後、0.3%FCS/M199 培地に置換し修復過程を経過観察した。修復過程の経過観察のため、傷害した腹膜中皮細胞フラスコを炭酸ガス培養装置 (IX-IBC : オリンパス) 内で 37°C、5%CO₂ で培養した。2 日置きに透析液 (Control では 0.3%FCS/M199) に 30 分間曝露し、傷害後 1 日目から 8 日目の画像を CCD カメラ (HZ300, オリンパス) にて撮影し細胞の修復過程の画像取り込みを行った。使用した顕微鏡は倒立型位相差顕微鏡 IX-70 (オリンパス) である。

画像処理

細胞修復過程の画像評価解析は傷害部位の修復速度とそれに関与する細胞の形態変化により行っている。形態変化の中には細胞の遊走と増殖と言う重要なパラメータの解析を含んでいる。

(1) 傷害部位の修復速度

傷害部位の修復速度は傷害部位の面積変化として捕らえることとした。即ち、円形状の傷害部位は経日的に縮小するが、この面積について CCD 画像に基づいて定量的解析を行った。具体的には、元画像を閾値処理することで損傷部位を 2 値化抽出し面積計測を行った。閾値処理 (thresholding) とは濃淡画像 (グレースケール 8bit なら 256 階調) に対し、ある閾値を定めそれよりも階調 (画素値) が上であれば白、下であれば黒の 2 階調に変換処理する手法のことである。この処理は画像の特徴

的信息 (図形形状や面積等) の抽出に有効である。

(2) 細胞の形態変化

次に個々の中皮細胞の個数、面積の経時変化に関して解析を行った。そのためには画像内の個々の細胞を分離抽出する必要がある。ここでは Watershed (分水嶺) 法を用いた。Watershed 法は二値化画像に対するオブジェクト分離の手法である。考え方としては高低差のある画像の上から水を流し、水溜まりの間の境界をつくる上手を探す処理である。この処理により細胞等を個々のオブジェクトとして分割することが可能である。

解析結果

図3(a)は傷害後4日目のヒト腹膜中皮細胞の CCD 画像(1000x1280PIXEL)である。画像中央が円形に空いており、傷害を受けた事が分かる。3(b)は同図を2値化処理し傷害部のみ抽出した結果である。図のごとく良好に抽出されていることがわかる。この場合傷害部位の面積は 3.8×10^5 pixels であった。図4に傷害部位の面積の経日的変化を示す。図に示す如く日数経過とともに傷害部位面積が減少することが分かる。

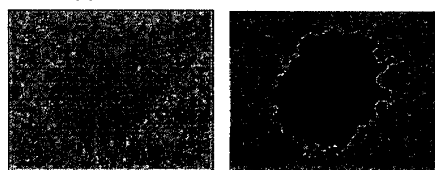


図3 損傷部位の面積の画像計測

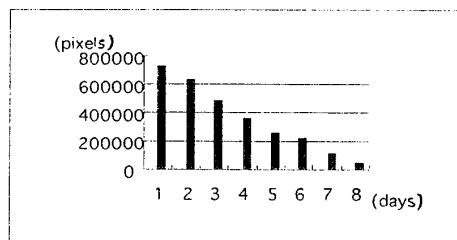


図4 損傷部位面積の経時変化

次に個々の腹膜中皮細胞の解析結果について示す。図5(a)に拡大したヒト腹膜中皮細胞画像を、また同(b)には Watershed 処理にて個々の細胞を抽出した結果を示す。図に示

すごとく良好に個々の細胞が抽出された事が分かる。図3(a)の画像内に細胞数はおよそ1000個程度であった。分離した個々の細胞について面積、中心の座標等を数値データとして得て、それらをヒストグラム処理した結果を図6に示す。なお図では1日目及び8日目のヒストグラムデータを重ねて表示した。結果から日数の経過とともに面積の大きな細胞(肥大化細胞)の個数が増加した事が分かる。



図5 Watershed 処理による個々の腹膜中皮細胞の抽出

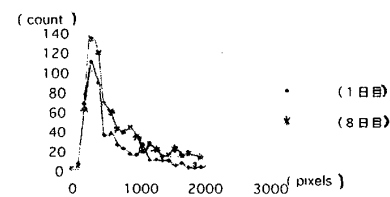


図6 細胞面積のヒストグラム変化

本稿では現状の CAPD の問題点に関し述べるとともに、その一つである腹膜中皮細胞の修復過程に関する検討結果に関し述べた。ここでの結果は従来より定性的には知られているものであるが、個々の細胞面積などを定量的に解析した報告は今まで無い。今後は個々の細胞を画像トラッキングする手法を開発し、細胞移動量も考慮しつつ、各種透析液に対する傷害回復過程の評価を行う予定である。

参考文献

- 1) The textbook of peritoneal dialysis. GR Nolph, et al., Kluwer Academic Publishers, 1994.
- 2) わが国の慢性透析療法の現況, 日本透析医学会編, 平成12年12月
- 3) Kidney International 54.2160-2169,1998.
- 4) Kidney International 58.1953-1962,2000.
- 5) 長谷川純一他, 画像処理の基本技法, 技術評論社, 1996年.