

透析液中エンドトキシン検出装置

理学部応用物理学科 中川益生, 尾崎真啓 加計学園医用科学教育センター 浅原佳江
協和ファインテック(株)

Keywords: 血液透析、エンドトキシン、検出、化学発光

1. 開発目的

国内で約 28 万人の透析患者の治療においては、透析膜を介して血中の老廃物を透析液に排出するが、透析液を補液として血液中に注入する on-line HDF も施工されてきている。万一透析液が汚染した場合には、透析膜孔を介しての拡散や透析液の直接注入により体内に汚染物質が流入し、生物活性を起こす重大な危険性がある。特に、エンドトキシン (endotoxin; ET) は細菌の外膜を構成する成分の一つで、極微量でも発熱や致死性のショックを起こすため、透析液中の ET 検出が重要である。しかしながら、現在の ET 測定には 1 検体の測定に三千元程度の試薬と 90 分の測定時間を要するリムルス試験法が採用されているため、治療直前や治療中の ET 測定が困難な状況にある。本研究は、安価・短時間で透析液中の ET を検出する装置の試作を目的としている。

2. 検出原理と方法

過酸化水素 H_2O_2 は ET の源となる生菌と反応してこれを不活性化するので、その反応による H_2O_2 水溶液中の H_2O_2 濃度減少をルミノール化学発光法により測定して ET を間接的に検出することができる。しかしながら、この方法のみでは、極低濃度の ET を検出するには感度が低い問題がある。

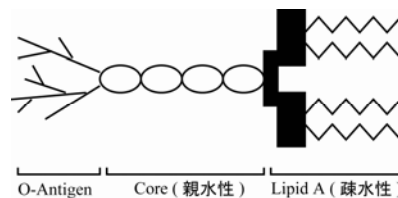


図 1 エンドトキシンの構造

図 1 に示すごとく、ET は高分子両親媒性物質であり、水溶液中では親水部を外側に疎水部を内側にした巨大ミセル会合体をつくるが、電解質を含む透析液中ではミセルが解離する。この性質を利用して ET の濃縮・検出装置を試作した。

3. ET 濃縮計測方法

ET の濃縮計測手順を以下に示す: ET を含む透析液を疎水性中空糸フィルターに注入し、疎水結合により膜面に ET を吸着蓄積 続いてフィルターに精製水を注入し、電解質・グルコース等を排出 フィルター内の精製水を急激に吸引し、膜面から脱離した ET をミセル化・分散して濃縮 ET 水を得る 濃縮 ET 水を H_2O_2 水内に注入・混合 H_2O_2 水の濃度変化をルミノール化学発光法で計測した。

4. 透析液中 ET の計測結果

フィルターとしてニプロ製 PES-170E ダイアライザを用いて、透析液中 ET を容積比 5 倍に濃縮して測定した。ルミノール化学発光 (CL) は H_2O_2 濃度に比例し (図 2)、ET の存在下における H_2O_2 濃度の減少を CL 強度変化として検出できた (図 3)。

5. 応用の可能性

血液透析施設や在宅透析における透析液の安全確保に有効である。

特許出願 「エンドトキシン検出方法及びエンドトキシン検出装置」特願 2010-164293

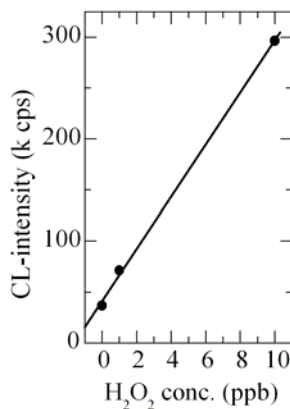


図 2 CL の H_2O_2 濃度依存

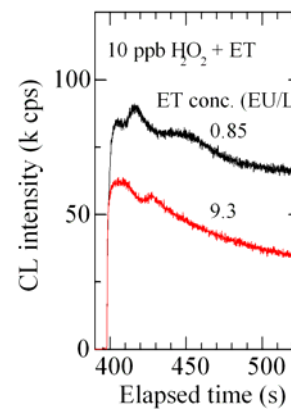


図 3 ET 存在下の CL