

目次

人工血液

第2巻 第1号 1994年3月

会告	第1回日本血液代替物学会年次大会	2
総説	血液事業と血液代替物	関口定美 3
	人工血液としてのperfluorochemical(PFC)乳剤の評価 ...	薄場 彰 9
報告	新しい赤血球保存液加濃厚赤血球(CRC-MAP)とその期限	
	切れ製剤より調製したSFHの性状	仲井邦彦 15
学会報告	「血液代替物シンポジウム」報告	18

投稿規定 20

事務局たより 21

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 2 No. 1 March, 1994

Announcement: The 1st annual meeting of the Society of Blood	
Substitutes, Japan	2
Blood program and blood substitutes	Sadayoshi Sekiguchi 3
Perfluorochemical emulsions as an artificial blood	Akira Usuba 9
Red cell concentrates in a new additive solution (CRC-MAP) and the SFH	
prepared from their outdated products	Kunihiko Nakai 15
From the Symposium of Blood Substitutes	18

会告

第1回日本血液代替物学会年次大会

大会長 小林 紘一（慶應義塾大学）
期 日 平成6年6月16日（木）～17日（金）
場 所 ホテル オークラ
港区虎ノ門2-10-4 Phone (03) 3582-0111

【主なプログラム】

- 招請講演 Recombinant Hemoglobin Dr. Gray Stetler (Somatogen Inc. USA)
- 特別講演 Neo Red Cell (NRC) 元木 良一（福島医科大学）
遺伝子組み換え型造血因子の臨床応用 池田 康夫（慶應義塾大学）
Stress ulcerの予知と酸素運搬体投与による予防 馬場 正三（浜松医科大学）
前回シンポジウム(93/12/3-4)パネル「人工血液の安全性と適応」の総括 清水 勝（東京女子医科大学）
出血が人体に与える影響 高折 益彦（川崎医科大学）
人工酸素運搬体開発の歴史 土田 英俊（早稲田大学）
- 大会長講演 血液の酸素化 —ECMOから人工赤血球へ— 小林 紘一（慶應義塾大学）
- 一般演題 ▲1題20分程度のもの
抄録 400字程度の抄録を3月31日までにお送りください。
- 懇親会 16日のプログラム終了後同ホテルにて懇親会を予定しております。

〒160 東京都新宿区信濃町35 慶應義塾大学医学部呼吸器外科 小林紘一
Phone 03-3353-1211 (EX 2324), Fax 03-3358-0567

- 通常総会 期 日 6月17日（金）12:00～12:30
場 所 ホテル オークラ
審議事項 1) 事業報告および会員状況
2) 収支決算
3) 事業計画および収支予算
4) その他

なお、当日ご出席できない正会員の方は、お手数ですが差込みの委任状にご署名、ご捺印のうえご返送下さいますようお願い申し上げます。

血液事業と血液代替物

関口 定美

Blood Program and Blood Substitutes

Sadayoshi Sekiguchi

血液事業に課せられた重要な課題の一つは、輸血副作用の根絶である。その輸血副作用の中で最も重要なものが輸血後感染症と白血球によるallosensitizationであろう。血液成分のうち、赤血球の酸素運搬能を代替する人工酸素運搬体の開発が進み、またアルブミン、造血因子などいくつかの血漿タンパク質が組換え産物として利用可能となりつつある。この血液代替物は輸血療法を飛躍的に発展させ、また輸血副作用の根絶に向けて大きく貢献できる可能性がある。現在の血液事業の現状と輸血副作用予防の取り組みを概説し、血液事業の中で血液代替物に期待される点を述べてみたい。

1. 我が国における血液製剤の需要と供給 血液事業の推移

わが国の血液事業はこれまでに3つの大きな転換期を経てきている。第一に1948年東大分院での輸血による梅毒罹患であり、これを契機に保存血液に移行し血液銀行の誕生をみた。第二の契機は1964年、ライシャワー駐日大使が暴漢に襲われ、輸血によって血清肝炎に罹患したことであり、「保存血液を献血により確保する」方針のもと献血制度が確立された。そして第三の契機が1984年代後半に顕在化した輸入凝固因子製剤による血友病患者へのHIV感染である。血液製剤の原料や製品を輸入に頼るのではなく、国内の献血により完全自給する方向が示され、日本赤十字社でも血漿分画センターで血液凝固因子製剤の製造が本格的に開始された。WHOにより「医療に使う血液は全て献血によるべき」であり、「自国で必要とする血液はその国が自給自足すべき」であるとする提言を受けたものでもある。

また、医療の進歩に伴い輸血の在り方も変遷している。輸血は血液を各成分に分け必要な血液成分を使用する成分輸血へと変化した。血液は血漿成分と血球成分に分かれ、血球成分はさらに赤血球、血小板、白血球に区分される。血液製剤も各成分ごとの成分製剤へと移行した。さらに、白血球成分に関連したallosensitizationが感染症にもまして重要な輸血副作用であることが最近認識され、血球成分製剤に混入する白血球数を如何に減らすかが重要となり、この分野での進歩も目覚ましい。

輸血用血液製剤の需要と供給（全血製剤と血液成分製剤）

わが国では輸血用の血液は100%自給されている。献血者数の変遷をFig. 1に示す。1986年から従来の200 ml献血に加え新たに400 ml献血、成分献血が導入された。その後、全血献血では200 ml献血の比率が減少し、一方で400 ml献血が増加している。成分献血はここ数年著しく増加し、1992年度の全献血総数の15.8%を占める。この傾向は今後も加速すると考えられ、日本赤十字社の最も新しい資料²⁾によれば、200 ml献血51.3%、400 ml献血28.9%、そして成分献血は19.8%である。成分献血の内訳では血小板献血または多血小板血漿献血の合計が50.5%と過半数を越えた。このような事情から総献血者は漸減傾向にあるが、献血量は増加している³⁾。

次に献血によって得られた血液の供給状況をTable 1およびFig. 2に示す。全血製剤は漸減し、赤血球製剤は200 ml由来赤血球製剤が減少し供給本数としては減少するものの400 ml由来の製剤が増加しており総供給量は微増傾向、血漿製剤はほぼ横ばいの状況である。しかし、血小板製剤については全血献血由来の血小板製剤である1または2単位血小板製剤が著減し、アフェレーシスによって得られる高単位血小板製剤が非常に増えてきた。北海道センターを含め血液センターのいくつかは、既にほとんどの血小板製剤をアフェレーシス由来の高単位製剤に切り替えている。

血漿分画製剤

血漿分画製剤には、血液凝固因子、アルブミン、グロブリンな

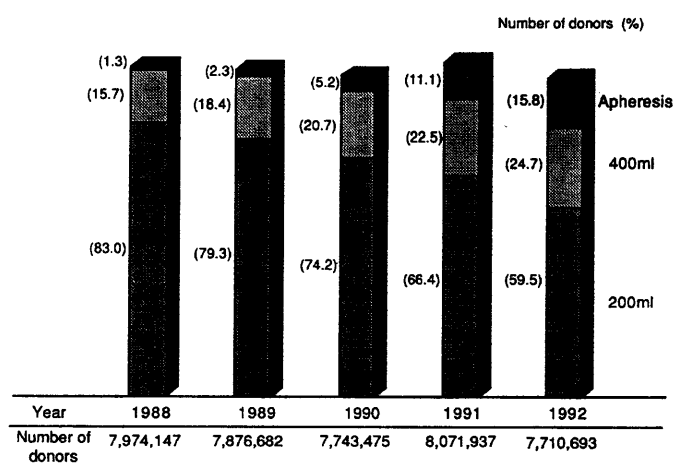


Fig. 1. Annual collections of blood.

北海道赤十字血液センター，〒063 札幌市西区山の手2条2丁目
Hokkaido Red Cross Blood Center, 2-2 Yamanote, Nishi-ku, Sapporo 063, Japan.

Table 1. Distribution of blood and blood components in units

Product	1988	1989	1990	1991	1992
Whole Blood					
200-ml	1,085,246	974,350	804,011	669,171	524,935
400-ml	125,497	137,520	141,347	143,031	139,496
Red Cells					
1u	3,448,393	3,305,043	3,050,301	2,822,885	2,621,890
2u	653,807	795,177	899,012	1,052,514	1,209,476
Platelet Concentrate					
1u	2,284,232	2,167,254	1,931,110	1,582,350	1,060,085
2u	513,078	610,324	677,567	737,691	685,461
5u	32,464	49,058	78,154	170,815	289,266
10u	27,988	42,819	58,888	80,491	141,552
15u			4,358	13,373	24,544
20u			983	3,125	4,891
Plasma (Mainly, fresh frozen plasma)					
1u	3,720,285	3,434,408	3,064,866	2,763,160	2,550,678
2u	706,996	813,716	938,178	1,051,029	1,148,946
5u	12,198	22,492	42,848	59,856	75,639

1u, derived from 200-ml blood donation; 2u, from 400-ml blood donation; ≥5u, from apheresis donation; u, unit.

どの血漿タンパク質製剤が含まれる。輸血用血液製剤は1974年以降完全に自給化が達成されたが、1970年代後半に入って医療技術の進歩に伴い血漿分画製剤の需要が急速に伸び、国内では原料等が確保できず、海外から原料血漿および製品が導入された。その結果、血漿分画製剤の自給率は10%以下にまで低下した。WHO提言を受け国内自給体制の整備が開始されたが、輸入製剤による血友病患者でのHIV感染問題は国内自給への取組みを加速させることになる。

血液凝固第Ⅷ因子製剤の製造は、それまでアルブミン、グロブリン製剤の製造を行ってきた日本赤十字社血漿分画センターで行なわれ、1992年4月から供給が開始された。1992年における自給率をTable 2に示す。1993年には自給率は90%を越えるものと推測される。この背景には多くの国民による善意の献血による血漿の提供があったことを記しておきたい。しかし、国民1人当りの第Ⅷ因子製剤の使用単位数は欧州に比較して約半分であり(Table 3)、人口当りの患者数がほぼ同じことを考慮すると、わが国において血友病管理に用いられる製剤量はまだまだ少ない。血友病患者のquality of life を考えると今後供給量を増やすことも必要と考えられる。その全てを献血由来の製剤として供給することは血漿の確保という点から必ずしも容易ではなく、血漿からの回収率の向上など改良に取り組んでいるが、後述するように組換え凝固因子への期待も大きい。

血液凝固第Ⅸ因子の自給率は80%程度である(Table 2)。第Ⅸ因子欠乏症である血友病Bの患者数は第Ⅷ因子欠乏症の血友病Aより少なく、製剤工程ではまず第Ⅷ因子を抽出後第Ⅸ因子を精製するため、全需要に対する供給は問題ない。

アルブミン製剤の自給率は22%である(Table 2)。この値は漸増しているものの、海外依存度は依然高い。国内でのアルブミン消費量が国際的にも突出しており、世界の使用量の25-30%に

相当するといわれている。適正使用の徹底がいずれにしても必要であるが、国内自給を達成するには献血由来の血漿分画製剤のみでは賄いきれず、組換え製剤の実現にはまだ時間がかかるが、その利用も考えなくてはならない状況と言えよう。

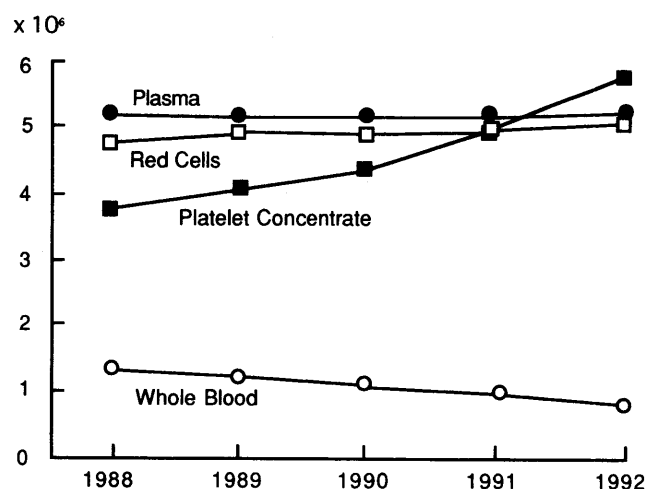


Fig. 2. Distribution of blood and blood components in units.

Table 2. Self-sufficiency of plasma derivatives in 1992

Product	Amount	Self-sufficiency
Factor VIII product	1,180,000,000 U	84%
Factor IX product	20,000,000 U	80%
Albumin	14,000 kg	22%
Globulin	1,000 kg	31%

Table 3. Self-sufficiency for factor VIII in European community (1989) and Japan (1992)

Use/inhabitant	Plasma needed	Plasma available	Deficit
European community 1.9 IU	3,434	2,588	876
Japan 1.2 IU	676	520	156

血液製剤の需要と供給の動向は、医療システムの進歩に伴う需要の変化を反映するものでもあるが、輸血副作用減少への取り組みの成果でもある。輸血副作用は同種血を使用すること起因しており、最も簡単な予防法は同種血を用いないことであり、次に輸血用製剤の由来するドナー数を最小限に抑さえることである。全血製剤を含む赤血球製剤の供給数が長期的には減少しているが、これは輸血の機会が漸減していることを示すものと思われる。また、赤血球製剤は内訳では400 ml献血由来の製剤が増加しており、血小板製剤にいたっては全血献血由来の製剤はアフエレーシス由来の高単位製剤に取って替わりつつある。製剤の高単位化はドナー数の制限につながる。

2. 輸血副作用とその予防

輸血後感染症

同種血輸血の最大の問題点は輸血後感染症とallosensitizationにある(Table 4)。輸血後感染症に対するスクリーニング検査は近年著しく強化され、輸血後感染症は激減した。B型肝炎については、1989年11月にHBc抗体検査法が導入されその後数年間にわたり輸血後B型肝炎が認められず、輸血によるB型肝炎の撲滅が期待されていた。しかし、最近数例の輸血後B型肝炎が発生した⁴⁾。抗体価の上では従来の日赤基準に合格していたものの、抗原が存在していたためによる。抗体価の基準見直しにより今後は回避できる症例と考えられるが、スクリーニングのみでは輸血後感染症を完全に回避することが難しいことを改めて示した。また、HIVについては抗原は存在するが抗体が検出されないwindow periodがあり、従来の抗体検査法では理論的にも完全な予防は不可能である。米国では輸血によるHIV感染のリスクが1/225,000と推

Table 4. Complications of blood transfusion

Immediate untoward reactions

Immediate hemolytic reactions	Incompatible red cell transfusion
Febrile nonhemolytic reactions	Antibodies to leukocytes
Urticaria	Antibodies to plasma proteins
Anaphylaxis	Anti-IgA
Pulmonary edema, hematoma, Phlebitis, and others	Massive transfusion, technical errors

Late untoward reactions

Transfusion-associated infections	Hepatitis A, B, C and ?, HIV HTLV-III, CMV, others
Graft versus host diseases	Leukocytes
Posttransfusion thrombocytopenic purpura	Antibodies to platelet
Delayed hemolytic reactions	Incompatible red cell transfusion
Febrile reactions, urticaria, refractory to platelet transfusion	Alloimmunization

定されている。わが国ではウイルス保持者の頻度が少ないこともあり、幸いにしてまだ国内では輸血後HIV感染例の報告はない。

輸血後感染症の検査法は抗体検査によるスクリーニングである。より高感度な検査法の開発や感染初期に現われる抗体の利用などが進められている。また、HIVなどwindow periodが見られるウイルスではPCRなどDNA検査法の開発も模索されている。しかし、直接的ウイルス検査においても検出感度等の問題から検出不能な期間が存在しており、検査のみでは完全な感染症予防は困難である。ドナーリクルートの推進、献血前の問診、predonation test導入などドナー選択が重視されつつある。また、より積極的な予防法としてウイルスの除去／不活化が試みられている。血液製剤のうち、血漿分画製剤や血漿製剤では膜ろ過処理による除去や加熱、界面活性剤処理が可能である。第Ⅷ因子製剤には有機溶媒／界面活性剤処理が行なわれている。

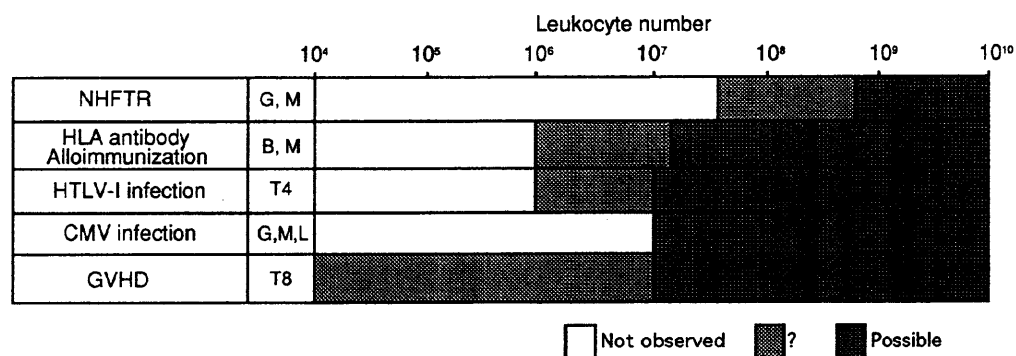


Fig. 3. Leukocyte number and the major cell types responsible for leukocyte-associated side effects.

一方、細胞成分ではウイルス除去、加熱、有機溶媒処理という方法が本質的に不可能であり、ウイルス不活化の特殊な技術が必要となる。実験的には、メロシアン540やメチレンブルーなど増感剤存在下で適当な波長の光を照射することにより感染を予防できることが動物実験で証明されている⁹⁾。不活化の詳細な機序はまだ明らかではなく、血液成分への影響など今後の研究の進展が期待される。

なお、人口のほとんどがすでに感染しており、通常の輸血では問題とならないウイルスがある。EBVやCMVがその例であるが、免疫抑制がかかると顕性化し致死的な場合も起こりうる。患者自身が以前から不顕性感染しておりその活性化も起こりうるが、輸血によって初感染を受ける場合も考えられる。必要であればウイルス陰性血の供給が行われるが、白血球型や血小板型を一致させるとドナーは限られることになる。今後、臓器移植や骨髄移植が普及することを考えると、この分野での輸血後感染症予防も大きな課題となろう。

白血球によるallosensitization

allosensitizationは輸血用血液製剤に混入する白血球に起因する。中でも重篤な副作用である移植片対宿主病(GVHD)は輸血された白血球が宿主を異物として認識し攻撃するために発生し、1単位の濃厚赤血球製剤輸血でも起こり、有効な治療法がないため死亡率が高い。また、同種抗原感作は輸血された白血球上の抗原に対して抗体が産生されることをさし、同一の抗原を有する血小板が輸注されると血小板が破壊され血小板不応状態となる。一旦感作が成立するとHLA適合血小板を輸血する必要がある。

allosensitization予防として白血球の除去または不活化が行われる。輸血される白血球数と副作用には関連があり(Fig. 3)⁶⁾、副作用の中には白血球除去フィルターによって残存白血球数がある程度除去することにより予防可能な場合がある。最も新しいフィルターの白血球除去能は6log除去である⁷⁾。輸血後感染症には感染に細胞成分が必須なウイルスがあり、白血球除去は感染症予防にも寄与する。成人T細胞白血病ウイルスやCMVがその例である。しかし、GVHDは白血球除去のみでは予防不可能と考えられ、現在はガンマー線照射による不活化が行われている。ただし、ガンマー線照射では同種抗原感作は予防できない。そこで、GVHDおよび同種抗原感作予防を目的としてUV-B照射による白血球不活化法が最近注目されている⁸⁾。UV-B照射は細胞内に組み込まれているHIVゲノムを活性化すると報告もあるが、ガンマー線照射に比べ施設や経費など運用上は非常に簡便なシステムであり、研究成果が期待されるところである。

3. 血液事業における血液代替物の役割

人工酸素運搬体開発の現状

赤血球代替物として開発されてきたものは、赤血球の酸素運搬能を代替する酸素運搬体である。まず、ヘムやキレート化合物、フルオロカーボン乳剤の研究が行われたが、現在最も期待されるものはヘモグロビン(Hb)に化学修飾を施した誘導体であり、米国で臨床試験が進められている。いくつかのグループが第2相試験に入っているが、前臨床段階にあるものも多い。この特徴は、い

ずれもHb分子を重合、高分子結合、または分子内架橋により修飾したもので、赤血球とは異なりcell-freeであることである⁹⁾。製造が容易で、物質としての保存安定性に優れており、また初期のHb誘導体で観察された腎や肝への急性、慢性毒性はほとんど見られない。ただし、高分子結合型や分子内架橋型ではHb濃度を上げるとコロイド浸透圧や粘性の増大を招き、Hb濃度8 g/dl程度が限界であり、酸素運搬能を有する血漿増量剤としての位置づけがなされている。また、いずれも血中半減期は長くて1～2日と赤血球に比べ短い。第1相臨床試験ではウシHb重合タイプおよび分子内架橋型で血圧上昇が見られ、これは血管収縮に起因すると報告されている。特に、細動脈の血管収縮は血流を直接細静脈に迂回させ、ガス交換が行われる毛細血管への血流を減少させる可能性があり、酸素運搬体としての有効性そのものとも関連深い。従って、cell-freeタイプのHb誘導体は現状では赤血球を完全に代替するレベルに到っていないと結論される。いずれこのHb誘導体が臨床に登場することは間違いないと考えられるが、赤血球製剤とのrisk/benefitの比較が行われ、また適応病態も限定されたものとなろう。

人工酸素運搬体としては、Hb分子を人工膜に包埋した小胞体型も開発が進められている^{9,10)}。製造工程はcell-freeタイプよりも複雑であり、完成にはまだ時間がかかる。従来の小胞体は長期保存時の安定性に問題があったが、重合性リン脂質膜¹¹⁾の応用やオリゴ糖¹²⁾による表面修飾法が開発され、凍結保存も可能となっている。血中からの消失は網内系による取り込みであり、その結果として網内系の抑制が心配され詳細な研究が現在行われているが、今のところ重大な抑制はないようである。小胞体型は人工細胞ともいえるものであり、赤血球により近似する。cell-freeの人工酸素運搬体の欠点は、この人工赤血球といえるものが登場して克服されるのではないかと期待される。

なお、cell-freeまたは小胞体型を含めHbを利用した人工酸素運搬体の材料として、主にヒト由来の期限切れ赤血球製剤から調製したHbが利用されている。1992年にわが国で献血され、使用されなかった赤血球製剤の量は推定25万5千リットルに及ぶ(Table 5)。この数字はスクリーニングによる検査落ちを含まない。赤血球製剤は新しい保存液を添加し保存期限を従来の二倍に延長することが可能となり、今後期限切れの数量は減少する

Table 5. Unused red blood cell products in Japan of 1992

	(bags)	
	400-ml	200-ml
Donations	1,900,000	4,590,000
Supplied products	1,350,000	3,150,000
Unused products	550,000	1,440,000
(% of donations)	(29%)	(31%)
Disqualified	190,000	340,000
(% of donations)	(10%)	(7.5%)
Outdated	360,000	1,100,000
(% of donations)	(19%)	(24%)

Finally, total volume of outdated red cell products is estimated to be 255,000 L.

Table 6. Pyridoxalation of hemoglobin prepared from outdated red cell products

		Red cell products	
		Fresh	Outdated
P ₅₀ (mmHg)	SFH	11.9±0.6	11.1±0.5
	PLP-Hb	19.4±1.1	20.3±0.8
Pyridoxalation rate (%)		40.2±1.0	50.5±1.0*

*P<0.005, n=4-7, mean±SD.

ものと予想されるが、いずれにしても人工酸素運搬体の原料としては当面十分と考えられる。ヒトHbを人工酸素運搬体として使う場合、酸素親和性を調節する目的で還元下pyridoxal 5'-phosphateを結合させる工程が重要であるが、期限切れ赤血球から調製したHbでもその効率は良好であり(Table 6)、期限切れHbの有効性が証明されている¹³⁾。血液事業の立場から見た場合、期限切れ製剤は最小限とすることが大切であるが、一定数の期限切れは緊急時に対する備蓄のため止むを得ず、人工酸素運搬体への応用は善意の献血の有効利用となる。なお、米国では赤血球が不足しており、ウシHbの応用や組換えHbの開発も行なわれている。

人工酸素運搬体の適応

人工酸素運搬体の最大の特徴は、血液型を有しておらず、長期保存が可能な点にある。クロスマッチの結果を待つことなく使用でき、また低温での長期保存が可能であるため、緊急時のための酸素運搬能を有する血漿増量剤として大きな適応が期待される。

一方、通常の輸血の代替ではどうであろうか。輸血副作用予防を目的とした代替物の使用について、人工酸素運搬体は血中投与可能なHb値、血中半減期、血管収縮の問題など未だ赤血球に匹敵するレベルに達しておらず、その適応症例はまだ限られたものとならざるを得ない。また量的には、成分輸血の考え方からすれば、600 ml程度までの出血では補液が行われ、赤血球製剤の輸血が行われるのは600～1200 mlである。それ以上では凝固因子や血小板の補充が必要であり、血漿製剤や血小板製剤、または全血製剤が用いられる¹⁴⁾。酸素運搬体は赤血球の代替であり、従ってその適応は赤血球輸血が行われる600～1200 mlの出血に対する輸血となる(Table 7)。Hb誘導体を酸素運搬能を有する血漿増量剤と見た場合、補液の代わりに使用することで赤血球輸血開始を遅らせることは可能かもしれないが、いずれにしても大量輸血では同種血の併用が必要となる。このような事情から、人工酸素運搬体は同種血の使用の減少に大きく寄与できるものと推測されるが、完全な代替は不可能である。なお、赤血球輸血を開始するHb値の

Table 7. Indications of artificial oxygen carrier in transfusion medicine

Substitution for the 1000 ml or less red cell transfusion.
An alternative and/or supplement to homologous and autologous transfusion, or in the combination with the use of erythropoietin.

見直しが議論されているが、Hb誘導体の登場はこの領域で新たな問題提起をすることになる。赤血球輸血は同種血輸血、自己血輸血、組換えエリスロポエチン(EPO)の応用などすでに選択の範囲は広い。人工酸素運搬体を含め、将来、病態に対応した細かな輸血システムの確立が可能と期待される。

cell-freeタイプの人工酸素運搬体は特殊な領域においても有用となるかもしれない。赤血球に比べ液体としての物性で優れており、血管梗塞など狭窄部位での血流確保が考えられる。臓器移植の領域で臓器保存の研究も重要となると期待されるが、現在主流となっている低温保存法に対し、温保存の可能性を研究するには適当な酸素運搬体が必要となる。

血球系の代替物は赤血球代替物が主流であるが、人工血小板の研究も行われている。完全な人工血小板とはいえないが、血小板が凝集する際に橋渡しの役を果たすフィブリノーゲンの官能基に相当するアミノ酸構造を自己赤血球上に付加し、再度輸血することが試みられている¹⁵⁾。血液事業の中で血小板製剤の需要は年々増加しているが、血小板製剤の保存可能な期間はまだ72時間に過ぎない。今後、人工血小板の研究も重要と考えられる。

組換え血漿タンパク質

血漿タンパク質の中で組換え産物の開発が進められているものに、造血因子、血液凝固因子、血清アルブミンなど多くのものがあげられる。造血因子のうち、白血球系細胞の造血因子は骨髄移植の分野などですでに広く応用されている。赤血球造血因子であるEPOは、腎性貧血の治療や自己血貯血時の貧血回避に応用されている。術前にヘマトクリット値を上げておくことで術中の輸血の回避も可能である。一方、未だ完全な血小板造血因子は見つかっておらず、従って特異的な組換え製剤もない。生体での血小板寿命は短いため頻回輸血が必要であり、血小板造血因子解明とその組換え製剤の製造が期待される。

血液凝固第Ⅷ因子製剤は国内自給を達成することが目標であり、献血由来の分画製剤製造を行うため原料血漿の確保が進められ、現在自給率は90%に近い。しかし、血友病患者のquality of lifeを考えると現状の2倍の供給が必要と推測される。その全てを血漿分画製剤として供給することは原料確保からみて必ずしも最善とは考えにくく、すでに組換え第Ⅷ因子製剤が臨床で使用を認可されているが、この組換え製剤の利用も考えなくてはならないであろう。

ヒト血清アルブミンの自給率は現在22%である。世界でも突出したアルブミン使用量の適正化は必要であるが、完全な自給達成には凝固因子製剤同様原料血漿の確保が難しい。その不足分を組換え製剤として補うことが必要かも知れない。組換え血清アルブミンは1回の投与量が他の組換え製剤に比べ大量であり、大量発現、大量培養技術の工業化が必須であったが、技術的にはこの点も解決されつつある。現在、わが国で安全性と有効性の評価が進められており、2000年には臨床に入ってくるものと予想される。

4. おわりに

血液事業の目標は安全で有効な輸血システムを確立することにある(Fig. 4)。同種血輸血は成分輸血へと進歩し、今後も製剤の高

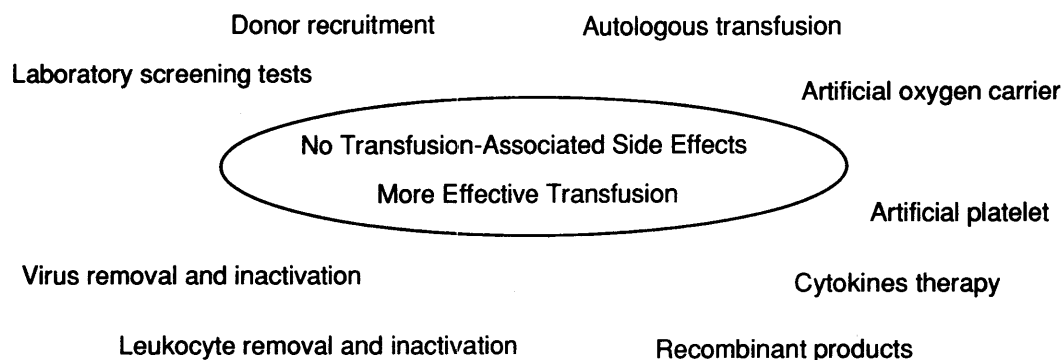


Fig. 4. Approaches to the final destinations of blood service.

単位化を含めこの方向での進展が続くと予想される。さらに、輸血副作用の予防を考え輸血の機会の減少、自己血輸血の普及、造血因子の応用が進むことになろう。特に、将来血小板造血因子が見つければ血液事業と輸血医学に大きな影響をもたらすことになる。人工酸素運搬体も、血液型に関係なく使用でき、長期保存可能であることを最大の利点として、重要な役割を担うことが期待される。さらに、血漿タンパク質の組換え製剤は、造血や止血、また血清アルブミン代替として、治療上も血液事業推進上も重要な要素となる。しかし、既存の輸血システムは安価で効率もよく、安全性においても輸血副作用の回避に向け今後一層対策が進むと考えられる。従って、人工代替物が完全に同種血輸血を代替するという状況は考えられない。血液事業として、いかに血液代替物を受け入れ、最良の輸血システムを構築していくかが近い将来問われることになろう。

参考文献

1. 関口定美. 血漿分画製剤国内自給への取り組み. 日本薬剤師会誌 1992;44:1-8.
2. 日本赤十字社事業局血液事業部. 血液事業統計四季報 (平成5年4月~9月累計) 1993.
3. 厚生省. 厚生白書. 1993.
4. 野澤靖美, 大戸斉. HBc抗体測定導入後に発症した輸血後B型劇症肝炎の1例. 肝臓 1993;34:433-6.
5. 高橋恒夫, 権吉源, 矢野美佐子, 大西淑子, 阿部英樹, 関口定美, 赤坂淳一, 加茂直樹, 桑原幹典. Prevention of cell-associated HTLV-I infection by photoinactivation method. In: 関口定美, ed. 輸血感染症の防止. 札幌: エフ・コピント・富士書院, 1994:(in press).
6. 関口定美, 高橋恒夫. 新しい白血球除去用フィルター. 外科診療 1991;33:387-95.
7. Takahashi TA, Hosoda M, Sekiguchi S. Comparison of highly sensitive methods used to count residual leukocytes in filtered red cell and platelet concentrates. In: Sekiguchi S, eds. Clinical application of leukocyte depletion. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993:77-91.
8. Takahashi TA, Nakai K, Mogi Y, Hosoda M, Yakushiji C, Akasaka J, Kamo N, Kuwabara M, Sekiguchi S. Potential involvement of free radical reactions in inactivating antigen presenting cells by ultraviolet-B irradiation. In: Sibinga CTS, Das PC, The TH, eds. Immunology and blood transfusion, Proceedings of the Seventeenth International Symposium on Blood Transfusion. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993:21-34.
9. 土田英俊, 武岡真司. 血液代替物: 最近の進歩. 人工血液 1993;1:5-10.
10. 関口定美. 人工血液. 日本医師会雑誌 1992;108:1727-9.
11. Satoh T, Kobayashi K, Sekiguchi S, Tsuchida E. Characteristics of artificial red cells -Hemoglobin encapsulated in poly-lipid vesicles-. Asaio Trans 1992;38:580-4.
12. 酒井宏水, 滝貞幹正, 武岡真司, 土田英俊. オリゴ糖修飾Hb小胞体. 人工臓器 1994;(in press).
13. Sekiguchi S, Ito K, Ototake N, Ikeda H, Sasakawa S. Preparation and separation of pyridoxylated hemoglobin. In: Nosé Y, Kjellstrand C, Ivanovich C, eds. Progress in artificial organs. Cleveland: ISAO Press, 1985:1153-6.
14. 関口定美, 仲井邦彦. 赤血球代用剤の現状: カプセル化ヘモグロビン. Medical Practice 1992;臨時増刊号9:378-82.
15. Beer JH, Springer KT, Collier BS. Immobilized Arg-Gly-Asp(RGD) peptides of varying lengths as structural probes of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. Blood 1992;79:117-128.

人工血液としてのperfluorochemical(PFC)乳剤の評価

薄場 彰

Akira Usuba

Perfluorochemical emulsions as an artificial blood

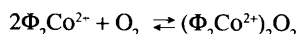
1. はじめに

Perfluoro-n-tributylamine (FC43)で血液を交換された“無血ラット”が50%一酸化炭素、50%酸素の大気中（赤血球の酸素運搬能は完全にブロックされている）において生存したことをRiessとLeBlanc¹⁾が1978年センセーショナルに報告し、さらにHondaら²⁾がFluosol-DA 20%の世界最初の臨床例を報告したことでperfluorochemical (PFC)乳剤が人工血液の本命として一躍脚光を浴びるようになった。特に、当時輸血用血液や血液製剤が不足していた救急医、開心術には必須である人工心肺へ充填する血液の不足に悩む心臓外科医の期待は大きかった。しかしそれから十数年経過した1993年9月、製造元のミドリ十字社はFluosol DAの製造中止を決定、Fluosol DAは結局医薬品としては承認されぬまま消えてゆく運命にある。そこで本稿ではPFC乳剤の人工血液としての評価を試みた。

2. PFC以前の人工血液

人工血液の研究の第一歩は微小酸素泡沫による灌流であった³⁾。末梢血管へつまらない程度の微小酸素泡沫分散液を作り、これを用いて犬の下肢を灌流した。泡の直径は10μm内外で界面活性剤を使用して泡沫の安定化をはかった。しかし最適の条件下で実験を行っても動脈からは2 vol%の酸素しか入らず、生体の需要を満足させるには至らなかった。

BurkとHearon⁴⁾のコバルトヒスチジンに酸素授受作用があり、人工血液へ応用したのは箕島高^{5,6)}であった。箕島は1965年酸素化型コバルトヒスチジンの結晶化に成功し、“人工血色素”と命名した。酸素との可逆反応は



の式で示された。還元型人工血色素の酸素抱合能はヘモグロビンの1/2で、37℃で8 ml/dlであった(ヘモグロビンは16 ml/dl)。しかし、分子量が約820と小さく、静注後速やかに血中より消失すること(血中半減期約20分)、体温(37℃)で不可逆性の化合物をつくり、酸素運搬作用が減弱することが欠点であった。

箕島は血中半減期を延長させる目的で人工ヘモグロビンをゼラチン・コロジウムで被包した小胞体を作製した。しかし比重が軽く水上に浮いてしまい結局断念した。

豊田⁷⁾はヘモグロビンをゼラチンとアラビアゴムで被包した直径10μm前後のヘモグロビン小胞体を試作した。しかし製造過程で内部のヘモグロビンが変性してしまい成功しなかった。関口

ら⁸⁾はtoluylene-di-isocyanate (TDI)でヘモグロビンを被包し注目されたが、細胞内へ取り込まれてTDIがはずれると異物反応が出現し、また膜が厚いとO₂運搬能がなくなり成功しなかった。

3. Of Mice as Fish

1966年Clarkら⁹⁾はPFCの一種、FX80中へマウスを浸漬させたが、マウスは溺れることなくFX80中に溶解した酸素を肺で呼吸して魚のように泳いだと報告した。本実験はPFCの酸素溶解能が極めて高く、PFCを素材とした人工血液が開発される契機となった実験だが、Clarkの目的は人工血液ではなく液体呼吸であった。液体呼吸とは気管や肺胞など気道内腔を液体で満たし、この液体中に溶解した酸素を空気のかわりに肺で呼吸させるものである。深海で遭難した潜水艦よりの脱出を想定したもので、液体呼吸をしていれば、海底から海上へ急いで浮上し急激に減圧しても潜函病に罹らないという。Kirstra¹⁰⁾によれば大気圧で水に溶解する酸素量は微量であるが、166気圧もの高圧を加えれば生体が必要とする酸素を溶解可能だという。しかし水では拡散速度が遅いので長期生存は困難だという。一方FX80では拡散速度が速く、しかも高圧を加えない大気圧でも必要量の酸素を溶解することができた。Clarkは猫の気道内へFX80を充填して液体呼吸をさせ、5日間生存させた。しかし、その後猫は喀血し死亡、FX80に肺胞や気管を障害する毒性が同時に存在することも示した。

4. 乳化剤と乳化機

疎水性液体であるPFCを血管内へ用いるには親水性の乳剤にする必要がある。そこで乳化剤(界面活性剤)と乳化機が問題となる。Sloviterら¹¹⁾は乳化剤として牛血清アルブミン、乳化機として超音波発振機(sonicator)を用いてFX80を乳化したが、出来上がったのは直径2~3 μmの粗大な乳剤であった。Geyer¹²⁾はアルブミンのかわりにプルロニックF68を用いてFluosol-43 (FC43)を乳化し、粒子径を1μm前後に改良した。しかしsonicatorでは均質

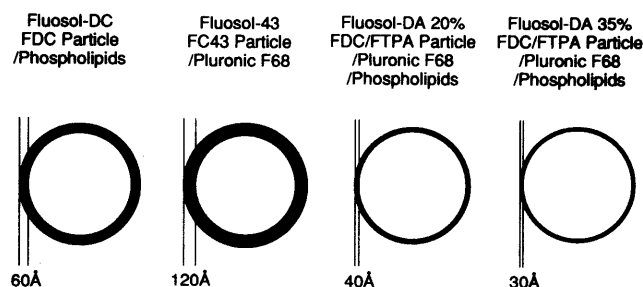


Fig. 1. Particle of PFC covered with surfactant.

福島県立医科大学第一外科学教室，〒960-12 福島市光が丘1
Fukushima Medical College, First Department of Surgery, 1 Hikarigaoka,
Fukushima City, 960-12, Japan.

な乳剤が得られないばかりか、PFCが分解されフッ素が遊離する恐れがあった。

1968年当時、ミドリ十字社は大豆油を卵黄リン脂質で乳化した静注用脂肪乳剤を開発していた。同社のYokoyamaら¹³⁾はその技術に応用し、マントン・ゴーリン型ホモゲナイザーを用いた高圧プレス法で、乳化剤としてプルロニックF68を用いてFC43を粒子径が0.1 μm以下の乳剤化に成功した。

プルロニックF68は強力な乳化剤で、しかも安定した乳剤を作ることが可能な反面、PFCを被包する界面膜の厚さが120Åと極めて厚いのが欠点である(Fig. 1)。PFC乳剤では酸素は粒子表面の界面膜を通過して内部のPFCへ溶解することで運搬される。したがって、膜が厚ければ酸素の拡散速度が制限され、結局酸素運搬能が低下する。

静注用脂肪乳剤の乳化剤である卵黄リン脂質は、界面膜が60Åと薄くできる。しかし乳化力が弱く、単独でPFCの乳化は困難である。そこでプルロニックF68と卵黄リン脂質の両者を使用することで界面膜の厚さが30~40 Åの乳剤を製造することが可能となった。しかし長期間保存するとやはり卵黄リン脂質が剥離してしまい粒子が粗大化するのでグリセロールと少量の脂肪酸の添加を必要とし、さらに凍結保存も必要であった。

保存時の粒子の安定性も無論だが、血中へ投与後の安定性の方がさらに重要である。実際血中では投与後しばらく経過すると卵黄リン脂質が剥離して不安定となるが、幸いその頃網内系細胞に貪食されてその役目を終えている。以上PFC乳剤はそれ以前の人工血液と比較して安定していたことが臨床使用まで進展出来た理由の一つとされているが、実際はかなり不安定な乳剤であったと言わざるを得ない。

5. 人工血液に適したPFCの選択

流血中のPFC乳剤はやがて網内系細胞に貪食され、肝臓、脾臓、骨髄等の網内系臓器へ集積し、そこで代謝されることなくリンパ系に入り、胸腔より再度大循環を巡り、肺を通過した際に肺胞内へ排出される。この時排泄されずに血管内へ残留したPFCは再度網内系細胞に貪食され同様のサイクルを繰り返す。尿や糞便中へはほとんど排泄されない。

網内系に貪食されたPFCは最早用済みであるので、速やかに排泄されるのが望ましい。呼気中への排泄速度は蒸気圧と比例し、

Table 1. Vapor pressure, expiratory excretion rate constant (K) and half life

PFC	Vapor pressure at 37°C	K	Half life
FC-43	1.14 mmHg	$0.32 \times 10^{-4} \text{ hr}^{-1}$	895.2 days
FMD	4.8	2.65×10^{-4}	190.0
FDEA	8.7	4.63×10^{-4}	62.4
FTC	9.9	7.55×10^{-4}	38.2
FDC	12.7	40.30×10^{-4}	7.2
cis-isomer	10.1	47.90×10^{-4}	6.0
trans-isomer	11.6	37.65×10^{-4}	7.7
FBA	16.0	3.90×10^{-4}	74.0
FTPA	18.5	4.46×10^{-4}	64.7

蒸気圧が高いほど呼気排泄速度定数(K)は高値となる(Table 1)。PFCのなかではFX80が蒸気圧が最も高く排泄も最も速いので人工血液に最も適した筈であった。ところが、Clarkら¹⁴⁾が犬にFX80をプルロニックF68で乳化した乳剤を投与したところ24時間後に空気塞栓で死亡した。しかも心臓内より約1.5 literのガスが回収されたという。またGeyer¹⁵⁾によれば、FX80自体に肺を障害する毒性が認められたと言う。いずれにせよFX80は人工血液としては安全性に問題があり適当ではなかった。

一般に蒸気圧の高いPFCは乳剤として不安定なことが多い。一方蒸気圧の低いPFC乳剤、例えばFC43は極めて安定している。すなわち人工血液として理想的な体外排泄性の良い、換言すれば蒸気圧の高いPFCを選択すれば、乳剤粒子が不安定でたちまち粗大化して血中より消失するとの矛盾が生じ、理想のPFCの選択を困難にした。

結局、最終的に選択されたのはFluosol-DC(FDC; perfluorodecarin)であった。蒸気圧が高いので体内半減期が6.0~7.7日と排泄性は理想的だ(Table 1)。しかし、不安定なのでより蒸気圧の低いperfluorotripropylamine (FTPA)を7:3の割合で加え、プルロニックF68と卵黄リン脂質で乳化したのがFluosol-DAである。二種類のPFCを混合することで高い蒸気圧を保持し乍ら安定性の確保を意図した苦心の労作であるが、結局FTPAを添加したこと、これがいつまでも体内に残留し安全性に問題が残った。Fluosol-DA以後も種々のPFCが候補に上がったが、これを越えるPFCは遂に出現しなかった。

6. 粒子径と血管内滞留時間

Sloviterら¹¹⁾のFX80/アルブミン乳剤の粒子径は2~3 μmもあり、Geyerら¹²⁾の乳剤も1 μm前後であった。赤血球の直径が7~10 μmであり、1~3 μmのPFC粒子は容易に末梢毛細管を通過でき

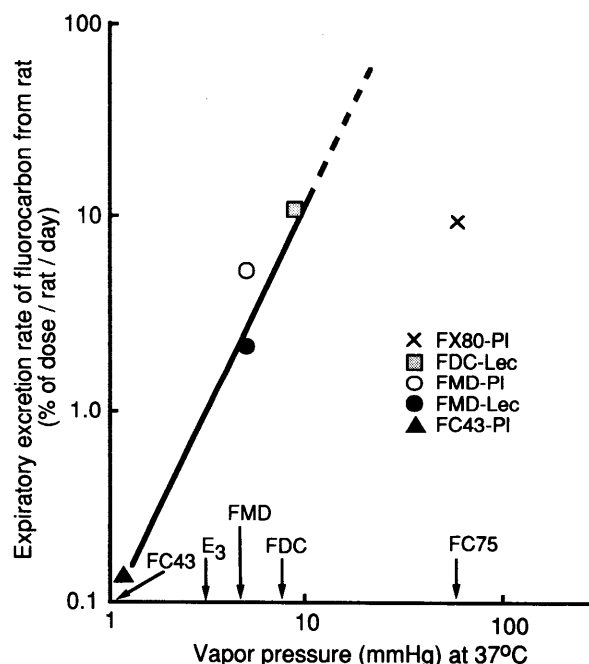


Fig. 2. Relationship between vapor pressure and expiratory excretion rate.

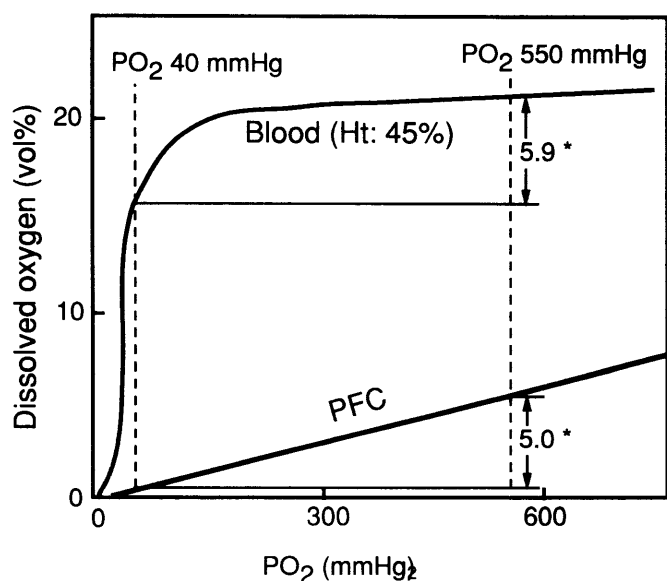


Fig. 3. Oxygen-dissociation curves of blood (Ht: 45%) and PFC.

そうだが、実際はひっかかって塞栓となってしまう。赤血球の膜は弾力性があり赤血球の直径より狭い毛細管を変形しながら通過できるが、PFC粒子は弾力性に乏しく変形できないのでひっかかると説明されている。Fujitaら¹⁶⁾は直径0.4 μm 以上の粒子の比率と急性毒性値(LD₅₀)とが相関すると報告しているため、粒子径が0.4 μm 以上の粗大なPFC粒子は末梢血管を通過できないと考えられる。したがってPFC乳剤の粒子径は0.4 μm 未満であることが必要である。

マントン・ゴーリン型ホモゲナイザーを用いた高压プレス法では乳化回数が多いほど粒子径が小さくなる。しかし無限に小さくなる訳ではなく、PFCの安定性と乳化剤の性能により自ら限界がある。FC43とプルロニックF68との組み合わせでは平均粒子径は0.086 μm で65.0%が0.1 μm 以下の乳剤であるが、Fluosol-DAでは平均粒子径が0.118 μm 、0.1 μm 以下の粒子の割合は38.2%にすぎない。

粒子の大小は血管内滞留時間に影響する。PFC粒子は網内系細胞に貪食されることで血中より消失する。しかも粗大な粒子ほど貪食され易く速く消失する。Yokoyamaら¹³⁾によれば、FC43の血中半減期が60時間に対し、粒子径の大きなFDCでは36時間と短縮する(家兔)。ヒトではさらに短縮し、本邦26施設、186例の臨床成績ではFluosol-DAの血中半減期は投与量により異なり、10 ml/kg投与で7.5時間、20 ml/kgで14.5時間、30 ml/kgで約22時間と極めて短時間であった¹⁷⁾。

血中半減期を延長させるには粒子径を小さくすればよいが、それを成就するには安定したPFCと強力な乳化剤の出現を待つしかない。

7. PFCの至適濃度と酸素運搬

PFCの粒子は肺胞で酸素を溶解し末梢組織でその酸素を放出す

ることで酸素を運搬する。PFC乳剤の血液代替物としての基本条件の一つに、酸素の授受を瞬間的に言い得るかが挙げられる。大柳ら¹⁸⁾によればPFC乳剤の酸素授受反応速度は14 msec~26 msecで、half timeは1.2 msec~2.1 msecであった。ヒトヘモグロビンの酸素授受速度が90 msec位であったのでPFCのO₂、CO₂授受反応はヘモグロビンの授受より遥かに速く、ほとんど瞬間的に行われているといえる¹⁹⁾。

第二は生体の需要を満足する充分量の酸素を運搬可能か否かである。またその時のPFCの濃度も問題となる。Fluosol-DA 20%と血液(Ht値=45%)の酸素解離曲線をFig. 3に示す。横山ら²⁰⁾によれば、血液の場合肺胞の酸素分圧は110 mmHgで、組織の酸素分圧が40 mmHgであるから5 vol%の酸素が組織に供給される。Fluosol-DA 20%でこれと同じ5 vol%の酸素を組織へ供給するには肺胞の酸素分圧を550 mmHgに保持する必要がある²¹⁾。そこで至適吸入酸素濃度及びPFC濃度について検討した。

PFC濃度が15%、20%、25%、30%および35%の各Fluosol-DAを用いて、吸入酸素濃度を100%、85%(N₂:15%)、および70%(N₂:30%)としてヘマトクリットが1%になるまで脱血交換を行い生存時間を比較した。100%酸素吸入では20% Fluosol-DAの生存時間が11時間44分で最長であった。85%酸素吸入では35% Fluosol-DAが11時間18分で最長であった。しかし70%酸素吸入ではいずれも生存時間は短時間であった(Fig. 4)。

横山らはヘマトクリット1%のラットが生存するために必要な循環血液中の酸素濃度は7.6 vol%であり、これを満足するPFC濃度は100%酸素吸入では20%以上、85%O₂吸入では30%以上、70%O₂吸入では35%以上必要だとした。そして100%O₂吸入でもPFC濃度25%以上が長時間生存できなかったのは組織へ高い分圧の酸素が多量に与えられて酸素中毒を起こしたからと説明した。また最長でも11時間余りしか生存できなかったのは、投与

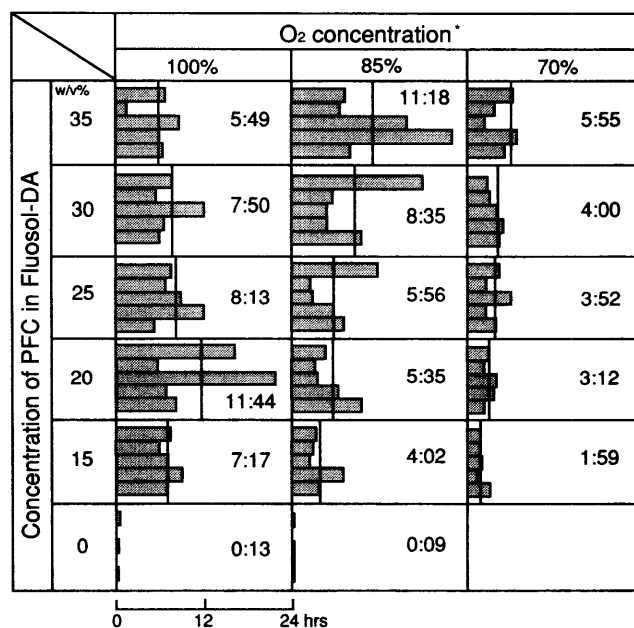


Fig. 4. Survival hours after exchange transfusion using Fluosol-DA (Ht<1, rat, n=5). *Remainder of the mixed gas: nitrogen.

されたFluosol-DAが網内系細胞に貪食され血中濃度が低下し、組織が酸欠状態に陥ったためとした。その証拠にFluosol-DAを追加すると生存時間が延長した。以上より100%酸素吸入下ではPFC濃度が20%あれば生体の酸素需要を満足し得た。

安達ら²²⁾は犬を用い、37℃の常温下で体外循環実験を行った。灌流開始直前に脱血して希釈率を高め、最終ヘモグロビン濃度は0.6~2.5 g/dl, PFC濃度は11~20 g/dlとなった。灌流量を60~80 ml/kg/minの範囲で変動させ犬の酸素需要量5 ml/kg/minを求め、これを満足する酸素配送量は8 ml/kg/minで、それに必要な動脈血酸素含量は6.7vol%であるとした。もしヘモグロビン濃度を1.2 g/dl以下にするならPFCと血漿で約5 vol%の酸素を溶解しなければならない。もしPaO₂を500mmHgとすれば計算上PFC濃度は24 g/dl必要となり、20%のPFC濃度では不足だと主張した。

教室の岩谷ら^{23,24)}、菅野²⁵⁾は仔牛を用いて37℃の常温体外循環実験を行い、仔牛の酸素需要量は3.0~3.5 ml/kg/minでこれを満足する酸素配送量は5 ml/kg/minと報告した。回路内へ充填したFluosol-DA 20%は3.0~3.5 ml/kg/minの酸素を供給し、仔牛のO₂ demandを満足していたのでPFC濃度は20%で充分だと安達と異なる結果を報告した。動物種による相違もあるが、著者は両者の相違は希釈率に起因すると考えている。安達らと比較して岩谷の方が希釈率高度のためPFCの効果が鮮明に表現され、一方安達らの実験は残存赤血球が多く、赤血球との競合の結果PFCの効果が薄れたものと思われた。

8. 二酸化炭素運搬能

PFC粒子は酸素ばかりか二酸化炭素も溶解して運搬する。組織で発生した二酸化炭素と同じ量をPFC中へ溶解させるには肺における酸素同様、組織レベルで高い分圧をかけねばならないが、それは不可能である。したがって二酸化炭素はPFCへは僅

Table 2. Hematocrit and oxygen consumption

Hematocrit (%)	Oxygen consumption	
	Total (ml/kg/min)	Fluosol-DA transported (%)
4	1.7	34.1
9	3.6	27.2
14	5.8	4.1

かに溶解するにすぎない。光野ら¹⁹⁾は高度脱血時には自発呼吸と若干の補助呼吸で管理すれば大部分の症例でPCO₂は上昇しないとしている。これは、生体がCO₂の大部分をcarbonic anhydraseの存在のもとに化学的に溶解して運搬するため、高度脱血動物とはいえ、残存赤血球のcarbonic anhydraseが何とか働き、少ないCO₂の物理的溶解能を科学的溶解能で代償し、必要なだけのCO₂を運搬しており、少しのhyperventilationで血中のPCO₂は上昇しないとしている。事実、著者らの実験や臨床経験でもPCO₂の上昇は認めていない。

9. 臨床成績

Mistunoら¹⁷⁾は本邦186例の臨床結果を集計し、Fluosol-DAは出血性ショック患者へ投与するのが最も効果的なこと、その際吸入酸素濃度を50%以上に維持し、動脈血酸素分圧を200mmHg以上にする必要があること、Fluosol-DAが組織へ供給した酸素量は供給全酸素量の12~13%であったと報告した。著者ら^{26,27)}も出血性ショック患者5例に使用し、循環動態改善効果はある程度期待できることを報告したが、そのうち精査できた3例について酸素消費量およびFluosol-DAがその酸素消費量へ関与した割合を求めると、Fluosol-DAはヘマトクリット値10%未満では酸素消費量の約30%を運搬していたが、ヘマトクリット値14%では僅か4.1%に

Table 3. Distribution of Fluosol-DA in organs of calves after extracorporeal circulation

Postope. days	2	161	166	174	315	395
Calf	C9	C5	C4	C8	C6	C7
FDA in the body (g/kg)	16.6	9.1	6.3	12.7	11.7	11.5
Spleen mg/g tissue	54.20	6.70	1.39	14.90	0.25	0.24
Liver	38.47	1.69	0.26	2.90	N.D.	N.D.
Lymph gland	29.92	1.63	0.12	0.60	N.D.	0.0033
Red bone marrow	7.94	0.66	0.58	1.15	0.21	0.14
Yellow bone marrow	3.94	0.39	0.14	1.19	N.D.	0.65
Long	1.32	0.25	0.15	1.00	N.D.	N.D.
Kidney	4.22	N.D.	N.D.	1.00	N.D.	N.D.
Adrenal gland	5.28	N.D.	N.D.	3.10	N.D.	N.D.
Brain	0.06	N.D.	N.D.	0.04	N.D.	N.D.
Pancreas	1.32	N.D.	N.D.	0.06	N.D.	N.D.
Thymus	1.39	N.D.	N.D.	0.44	N.D.	N.D.
Stomach	0.54	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Small intestine	1.35	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Large intestine	0.60	N.D.	N.D.	0.06	N.D.	N.D.
Urinary bladder	0.46	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Testis	1.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Not detected.

すぎなかった (Table 2)²⁸⁾。Fluosol-DAが酸素を運搬するのはヘマトクリット値が10%未満となる高度の脱血時においてのみでありヘマトクリット値10%以上では酸素のほとんどはヘモグロビンが運搬する。すなわちFluosol-DAと赤血球とが競合し、赤血球の酸素結合能がPFCの酸素溶解能を超越したためと考えられた。

Fluosol-DAの投与量はその安全性を考慮して20 ml/kgまでで、その後も必要な場合には10 ml/kg追加すると制限された²⁹⁾。投与量に限界があり、ヘマトクリット値が10%以上では酸素をほとんど運搬せず、しかも気管内挿管して高濃度酸素吸入などの手技が煩雑などの理由で臨床例が思うように集まらず、結局Fluosol-DAの有用性を証明するには至らなかった。

10. 体内蓄積と免疫抑制

PFC乳剤の体内蓄積性は、PFCが人工血液としての適否を左右する最大の問題であった。PFCの中で最も安定しており安全性が高く理想的と思われたFC43が人工血液として不適当と判断されたのは、その体内半減期が895.2日と長く、半永久的に体内に蓄積される可能性があったことが原因である。

Fluosol-DAはFDCとFTPAの混合乳剤であるが、本来は体外排泄性の良いFDC単独で使ったのであつたのであるが、不安定であり、粒子同士が融合して粗大化するので安定性は良いが排泄性に欠点のあるFTPAを添加せざるを得なかった。このことがFluosol-DAの安全性に対する疑問を残す結果となった。横山らは体重150gのラットに50～100 ml/kgのFluosol-DA乳剤を投与したところ、6ヶ月後にはFDCは全く検出されなかったがFTPAは肝臓、脾臓、骨髄で極く微量ではあるが検出されたと報告した。教室³⁰⁾でも仔牛を用いた体外循環実験を行ったが、1年経過後においても各臓器内にFTPAが極微量ではあるが検出された (Table 3)。

PFC乳剤の網内系臓器への蓄積は網内系機能を低下させ、免疫能が低下すると考えられていた。しかし、著者ら³¹⁾はラットにFluosol-DAとFC43を投与し、Fluosol-DAの方がFC43よりマクロファージ機能を強く抑制すること、投与量が多いほど抑制の程度が強いこと、体内半減期の長短にかかわらず少なくとも5週間以上網内系機能を抑制することを報告した。さらに教室三浦³²⁾はPFC乳剤の免疫抑制作用はマクロファージのインターロイキンI産生抑制に起因することを明らかにした。以上PFC乳剤投与による免疫抑制はFluosol-DAの臨床治験を躊躇させる一因となった。

11. おわりに

PFC以前の人工血液は不安定で全く使いものにならなかったが、PFC乳剤は比較的安定しており、臨床治験の段階まで進み得た。しかし、開発当初から、優れた安定性を示すPFCは排泄性が悪いという矛盾に直面した。無論、ある程度不安定でも強力な乳化剤があれば問題はないが、そのような乳化剤は遂に出現しなかった。この不安定性から結局投与量を制限せざるを得なくなった。ところがPFCはヘマトクリット値が10%未満の高度の貧血でなければ酸素運搬効果を発揮し得ず、大きな矛盾となった。さらに安定性を増すために排泄性の劣るPFCを添加せざるを得なかったことが体内蓄積性の問題へと進展し、臨床の現場での印象を悪化させた。結局PFCは十分な臨床データも得られないまま消え去

る運命にある。

参考文献

1. Riess EG, Le Blanc M. Perfluoro compounds as blood substitutes. *Angew Chem Int Ed Engl* 1978;17:621-34.
2. Honda K, Hoshino S, Shoji M, Usuba A, Motoki R, Tsuboi M, Inoue H, Iwaya F. Clinical use of a blood substitute. *New Engl J Med* 1980;303:391-2.
3. 豊田忠之. 人工血液の基礎的研究. 日外会誌 1966;67:36-57.
4. Burk O, Hearon J, Gasolin L. Reversible complexes of cobalt histidine; and oxygen gas. *J Biol Chem* 1946;165:723-4.
5. 簗島高. 人工血液について. 日本生理誌. 1965;27:469-78.
6. 簗島高. 人工赤血球. 生体の科学 1972;23:294-301.
7. 豊田忠之. 人工血液. 科学 1965;35:7-13.
8. 関口弥. 人工血液. 呼と循 1971;19:903-8.
9. Clark LC, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966;152:1755-6.
10. Kilstra JA, Nantz F, Crowe J, Wagner W, Saltzman A. Hydraulic compression of mice to 166 atmospheres. *Science* 1967;158:793-4.
11. Sloviter HA, Kamimoto T. Erythrocyte substitute for perfusion of brane. *Nature* 1967;216:458-60.
12. Geyer RP. Fluorocarbon-polyol artificial blood substitutes. *New Engl J Med* 1973;289:1077-82.
13. Yokoyama K, Yamanouchi K, Watanabe M, Matsumoto T, Murashima R, Daimoto T, Hamano T, Okamoto H, Suyama T, Watanabe R, Naito R. Preparation of perfluorodecalin emulsion, an approach to the red cells substitute. *Fed Proc* 1975;34:1478-83.
14. Clark LC, Wesseler EP, Kaplan S, Miller ML, Becker C, Emory C, Stanley L, Becattini F, Obrock V. Emulsion of perfluorinated solvents for intravascular gas transport. *Fed Proc* 1975;34:1468-77.
15. Geyer R. Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersion. *Fed Proc* 1970;27:1758-63.
16. Fujita T, Suyama T, Yokoyama K. Fluorocarbon emulsion as a candidate for artificial blood. *Europ Surg Res* 1971;3:436-53.
17. Mitsuno T, Ohyanagi H, Naito R. Clinical studies of perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA). *Ann Surg* 1982;195:60-9.
18. 大柳治正, 関田幹雄, 弘中敏雄, 山下修一, 野木佳男, 松田 彪功, 中谷正史, 戸嶋和彦, 光野孝雄. 酸素運搬体としての Fluorocarbon Emulsion (I) 物理的性状とガス運搬能について. 呼と循 1974;22:200-6.
19. 光野孝雄, 大柳治正. 人工血液, 血液ガス運搬体としての PFC乳剤. 医学の歩み 1978;105:553-61.
20. 横山和正. 人工血液, 現代科学. 1978;6:46-51.
21. 簗島高. 人工血液—過去, 現在, 未来— (II). 呼と循 1982;30:970-9.
22. 安達盛次, 川島康生, 森透, 橋本聡一, 高野久輝, 広瀬一, 大山朝賢, 横田博雅, 中田精三, 浜路政靖, 村田弘隆, 奥田 彰洋, 金勢華, 藤田毅, 曲直部寿夫. 人工臓器 1978;7:422-5.
23. 岩谷文夫, 星野俊一, 板橋邦宏, 猪狩次雄, 井上仁, 薄場

- 彰, 安部俊文, 高野光太郎, 安藤正樹, 菅野恵, 滝波真, 元木良一, 本多憲児, 飯武勝, 長谷川鬼子男, 吉根浩太郎, 須田敏. 人工血液 (Fluosol-DA20%) による体外循環の実験的研究—長期生存実験—. 人工臓器 1980;9:971-4.
24. 岩谷文夫, 星野俊一, 薄場彰, 井上仁, 浜田修三, 板橋邦宏, 安藤正樹, 芳賀志郎, 神岡斗志夫, 萩原賢一, 元木良一, 本多憲児, 佐藤博, 飯武勝, 遠藤昌郎, 吉根浩太郎. 人工血液の酸素運搬能, 循環系に及ぼす影響について—特に仔牛を用いた体外循環実験—. 人工臓器 1980;9:172-5.
25. 菅野恵. Fluosol-DA20% (FDA) による長時間 (120分) 体外循環に関する研究. 人工臓器 1982;11:772-7.
26. 薄場彰, 元木良一, 井上仁, 遠藤幸夫, 三浦純一. 出血性ショックにおける人工血液 (Fluosol-DA20%) の効果—特に循環機能に及ぼす影響について—. 人工臓器 1987;16:1543-6.
27. 薄場彰, 三浦純一, 井上仁, 元木良一. 人工血液. 日外科系連合誌 1986;15:79-82.
28. 薄場彰, 元木良一. 人工血液. 新井達太 編. 図説臨床看護医学 XVII 人工臓器と臓器移植. 東京: 同朋舎, 1987:167-71.
29. 光野孝雄. 人工血液の実用化. 自然 1981:62-9.
30. 薄場彰, 羽田一博, 岩谷文夫, 元木良一, 本多憲児. 体外循環・臓器保存. 循環制御 1982;3:36-46.
31. 薄場彰, 山村裕宏, 三浦純一, 元木良一, 本多憲児. 人工血液 (PFC乳剤) の免疫能に及ぼす影響. 人工臓器 1984;13:1263-6.
32. 三浦純一. Perfluorochemical 乳剤の免疫抑制作用とその機序. 福島医誌 1985;35:345-53.

新しい赤血球保存液加濃厚赤血球(CRC-MAP)とその期限切れ製剤より調製したSFHの性状

仲井邦彦, 松田典子, 高橋恒夫, 関口定美

緒言

従来の濃厚赤血球(CRC)の有効期限は21日間であるが, 最近わが国でも赤血球保存液であるMAP液が開発され有効期限が42日に延長された。現在, 血液センターから供給される赤血球製剤もMAP加濃厚赤血球(CRC-MAP)への移行が進められている。そこで, 期限切れCRC-MAPを材料としてstroma-free hemoglobin (SFH)を調製し, 残存リン脂質について解析を行った。MAP液の特徴を簡単に概説し, そのSFHについて紹介する。

新しい赤血球保存液の特徴

欧米諸国では, 赤血球保存液であるSAGM液またはその変更処方であるADSOL液, Optisol液を用いて赤血球を35~42日間長期保存する技術がすでに実用化されている。MAP液はこれらを参考に日本赤十字社によって開発された¹⁾。各保存液の組成をTable 1に示す。SAGM液等の利用は, 赤血球液状保存の有効期限が延長すること, より多量の血漿を回収できること, 血液粘性が低下し輸血が容易なこと等の利点があるものの²⁾, 保存中に溶血しやすく(6週保存で200 mg/dl以上), 酸素親和性の維持に必須な2,3-DPG含量が保存中に枯渇するなど問題点も多い。そこでMAP液開発に際しては溶血を抑えるためmannitol濃度が上げられ, 2,3-DPG維持を考慮してリン酸塩の添加やpHの検討が加えられた。確かにCRC-MAPにおける溶血は42日保存でも70-80 mg/dlであり³⁾, SAGM液による保存に比較して半分以下となっている。しかし, 2,3-DPGは21日保存後ほとんど検出されなくなり, 2,3-DPGの維持は難しいようである。ただし, 輸血された赤血球は循環中で2,3-DPGを産生するとされ, 臨床上的問題は無いと考えられている³⁾。大量輸血による血管内溶血が心配されるが, 通常の使用では副作用⁴⁾や生体内半減期⁵⁾についても良好な成

績が報告されている。

しかし, 近年, CRC-MAPに大凝集塊の形成⁶⁾, *Yersinia*など腸内細菌の低温保存での増殖⁷⁾などが指摘されている。大凝集塊発生の詳細な機序は明らかではないが, 混入した白血球の崩壊とfibrinogenなど血漿蛋白質が複雑に関与する現象とされている。また, *Yersinia*による汚染は, 血漿中に内因性の抑制因子が存在しており, CRC-MAPでは血漿を除去して保存するため細菌が増殖し易くなったためと考えられている。現在, 品質管理の立場から詳細な検討が進められている。

いずれにしても, 赤血球製剤の有効期限が液状保存で最長42日間に延長されたことは大きな成果であり, 輸血に大きな影響を与えよう。特に貯血式自己血輸血の運用面では, 従来のCRCでは保存期間が短く貯血量は最大でも1200 ml (大部分は600-800 ml)が限界であったが, CRC-MAPでは液状保存のみで2000 mlまで拡大可能と期待されている⁸⁾。今後, 同種血輸血回避の重要な手段として自己血輸血の一層の普及に貢献すると思われる。

期限切れCRC-MAPからのSFH調製

当血液センターでは昨年秋よりCRC-MAPの供給を開始し, 従来のCRCの製造は現在行なわれていない。従って, 人工酸素運搬体の材料となるSFHも期限切れCRC-MAPから調製することになる。そこで, ウイルス除去膜であるBMMを応用したSFH調製法⁹⁾を適用し, CRC-MAPから作成したSFHに残存するstromaを定量する目的でリン脂質の解析を行った。

期限切れCRC-MAP (保存52日目) は生理食塩水にて3回洗浄し, 2容の蒸留水にて4℃, 10分間溶血, その後NaClを加えて等張とした。この溶血液を平均孔径75 nmのBMMフィルター(膜面積0.3 m², 旭化成)により加圧循環濾過しSFHを得た。得られたSFHのmethemoglobin生成率は1%以下であった。リン脂質は脂質成分を有機溶媒抽出し, 順相HPLCにてリン脂質を定量し

Table 1. Compositions of CPD (citrate-phosphate-dextrose) and several preservation mediums

Components (g/l)	CPD	MAP	SAGM	ADSOL	Optisol
Na ₃ Citrate-2H ₂ O	26.30	1.50	—	—	—
Citrate-H ₂ O	3.27	0.20	—	—	—
Glucose	23.20	7.21	—	—	8.18
Glucose-H ₂ O	—	—	9.00	22.00	—
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	2.51	0.94	—	—	—
NaCl	—	4.97	8.77	9.00	8.77
Adenine	—	0.14	0.17	0.27	0.30
Mannitol	—	14.57	5.25	7.50	5.25

Kunihiko Nakai, Noriko Matsuda, Tsuneo T. Takahashi, Sadayoshi Sekiguchi, 北海道赤十字血液センター (〒063 札幌市西区山の手2条2丁目)

Table 2. Four major phospholipids in the hemolysate and SFH prepared from outdated CRC-MAP

Phospholipid	Hemolysate (nmol/ml)	SFH (nmol/ml)	Removal rate (%)
PS	414.3±53.4	2.7±0.4	99.3
PE	567.9±286.6	2.4±1.6	99.6
PC	471.5±151.3	4.1±2.1	99.1
SM	435.9±143.1	2.2±0.3	99.5
Total	1889.6±527.7	11.4±3.5	99.4

Hemoglobin content was 7.4 g/dl for the hemolysate and 5.6 g/dl for the filtered solution. Mean±SD (n=4).

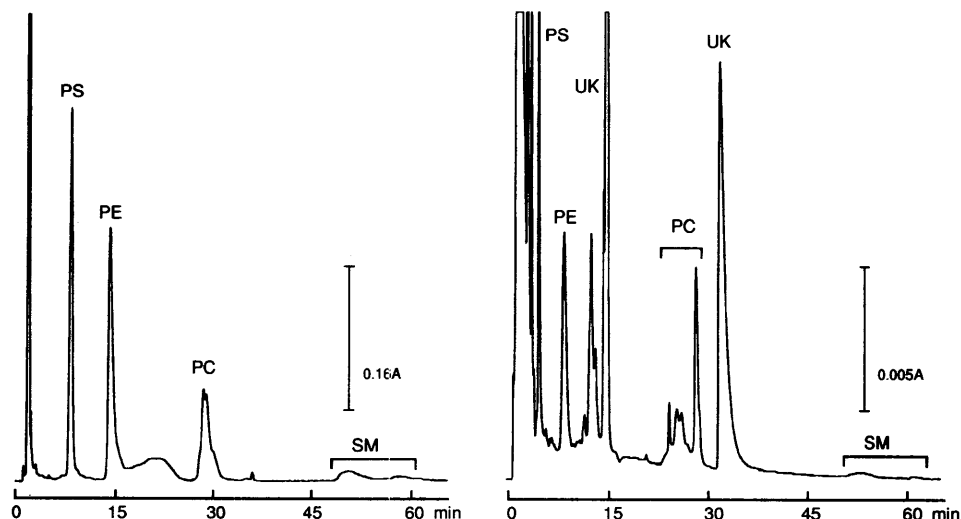


Fig.1 Separation of stromal phospholipids in the hemolysate (left) and the SFH (right) by normal-phase HPLC. PS, phosphatidylserine; PE, phosphatidylethanolamine; PC, phosphatidylcholine; SM, sphingomyelin; UK, unidentified peak.

た⁹⁾。Table 2にリン脂質濃度と除去率を、Fig.1に分離パターンを示す。

Phosphatidylserine (PS), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylcholine (PC), 及びsphingomyelin (SM)の4種のリン脂質が赤血球膜における主要な構成リン脂質であり、その合計により残存stromaを推定すると残存率は0.6%と計算された。この値は従来のCRCから調製したSFHと比較して若干高めである⁹⁾。ただし、4種リン脂質合計は新鮮なCRCから調製したSFHで高値を示す傾向にあり、溶血液の遠心処理(36,000 x g, 30 min)上清の結果ではあるが、1日保存のCRCを用いると41.1 nmol/ml (Hb 5.7 g/dl), 21日保存では19.4 nmol/ml (Hb 5.2 g/dl), 48日保存では5.1 nmol/ml (Hb 5.1 g/dl)とHb溶液中のリン脂質量は減少する。BMMで直接ろ過処理し調製した場合、そのSFHの残存リン脂質は36,000 x g遠心上清の概ね1/4~1/5であり、今回CRC-MAP (保存52日目)から調製したSFHは従来のCRCでは期限切れ前の製剤から調製したものに相当するものであった。

HPLC chromatogramでは、溶血液のリン脂質分離パターンは従来のSFHと同一であり、特に変化は見当たらない。一方、SFHのリン脂質分離パターンでは4種の主要なリン脂質に加え、従来のSFHでも見られる複数の紫外外部吸収ピークが観察された。Fig. 1でPCの後ろに来るピーク並びにPEに引き続く何本かのピークがCRC-MAP由来SFHでは特に顕著であった。何れも市販の標準物質と同一の保持時間を有しておらず現在未同定である。これら未同定成分の一般的な特徴は、溶血液の酸処理や加熱処理で増加すること、古いCRCから調製したSFHでは高値を示すことであり、ろ過処理で漏出してくる微小なstromaでの膜脂質成分の分解が想定される^{*}。

以上の結果は、CRC-MAPから調製したSFHでも依然4種リン脂質が認められ、HPLCによる分析では複数の未同定成分も見ら

れることから厳密にはstroma-freeとは言えないものの、その残存量や分離パターンは従来のSFHと比較して大きな差はないことが示された。

SFHにはHPLCによって未同定成分が存在することが示されたが、もしstroma由来の成分であるならばstroma残存の正確な評価は難しい。stroma-freeという定義は1967年にRabinerら¹⁰⁾によって与えられたものであり、粗精製Hb溶液の輸注により引き起こされる腎毒性が0.22 μ mのろ過処理によるstromaの部分的除去により回避できることから定義された。しかし、その後の詳細な検討ではSFHは尿量減少¹¹⁾、creatinine clearance低下¹¹⁾、血管収縮¹²⁾、血小板減少と一過性の軽度DIC¹³⁾、補体活性化¹⁴⁾、血漿creatinine増加¹²⁾、肝細胞壊死¹³⁾、GOT/GPT増加¹⁵⁾などの副作用を引き起こすことが確認されている。このうち腎障害はHbの見掛け上の分子量を高め糸球体でのろ過を抑制することで回避される。また、血管収縮は血管内皮由来弛緩因子である一酸化窒素をHbが不活化することに起因するとされる。従って、副作用のいくつかはSFH中のHbそのものに起因すると考えられる。しかし、Hb溶液の精製度を上げることで血管収縮等の副作用が軽減されることも報告されている¹⁶⁾。われわれはPCのリゾ体がSFHに存在し血管弛緩を抑制する可能性を示したが⁹⁾、stromaなど非Hb因子が複合的に作用する可能性がある。そのためFDAはHb誘導体溶液に存在する不純物の特定を求めているが¹⁷⁾、順相HPLCによって示された複数の未同定成分の詳細なcharacterizationは困難かもしれない。生体への影響という観点からstroma-freeの概念を見直す必要があるだろうが、人工酸素運搬体開発に際してはHb溶液をもう一段階精製するか、もしくはliposomeなどで包埋し外部環境との隔離をはかる必要があるかもしれない。

参考文献

1. 関口定美, 千葉真彰. 新しい輸血用血液製剤とその特徴. 日本

* Nakai K, Sekiguchi S, submitted for publication.

医事新報 1993;3628:21-4.

2. C. F. Höglman, O. Åkerblom, K. Hedlund, I. Rosén and L. Wiklund. Red cell suspension in SAGM medium. *Vox Sang* 1983;45:217-23.
3. 中條聖子. I. 赤血球M-A-Pの性状. In: 血液製剤品質管理情報 No. 10. 札幌: 北海道赤十字血液センター, 1993:12-3.
4. 清水勝, 藤井寿一, 溝口秀昭, 増田道彦, 外山圭助, 吉川治, 川西慶一, 藤巻道男, 新井盛夫, 半田誠, 月本一郎, 重田勝義, 馬場真澄, 伊藤武善, 鶴岡延熹, 日野研一郎, 寺田秀夫, 武藤良知, 柴田洋一, 高本滋, 菊池正夫, 森真由美, 平井真希子, 藤井浩, 中川雅夫, 辻肇, 辻俊三, 松本昇. 新しい赤血球保存液(MAP)添加による長期保存濃厚赤血球の安全性ならびに有効性についての多施設共同臨床評価. *臨床血液* 1992;33:148-56.
5. 笹川滋, 柴雅之, 西岡久壽彌, 清水勝. 長期保存MAP加濃厚赤血球の有効性について. *日輸血会誌* 1991;37:411-3.
6. 高橋雅彦, 竹ノ内康司, 江畑実, 柴雅之. RC-M-A-Pの凝集塊について. In: Technical Information. 中央血液センター医薬情報部, 1993:1-8.
7. 名雲英人, 小川徹, 茶谷真, 松田裕一, 日野学, 坪倉兌雄, 敷島宏和. 赤血球M-A-P中のYersinia enterocoliticaの動態. In: Technical Information. 中央血液センター医薬情報部, 1993:1-5.
8. 仲井邦彦, 松田典子, 阿部英樹, 小林正友, 池田久實, 守沢和也, 仲地理, 石川元, 関口定美. ウイルス除去膜BMMを用いたSFHの調製. *人工臓器* 1992;21:318-22.
9. Nakai K, Matsuda N, Ohta T, Amano M, Takahashi TA, Sakuma I, Kitabatake A, Ito S, Nakazato Y, Sekiguchi S. Lysophosphatidylcholine, a component of stromal phospholipids, as a candidate vasoconstrictive factor present in stroma-free hemoglobin. *Artif Organs* 1994;(in press).
10. Rabiner SF, Helbert JR, Lopas H, Friedman LH. Evaluation of stroma-free hemoglobin solution for use as a plasma expander. *Exp Med* 1967;126:1127-42.
11. Savitsky JP, Doczi J, Black J, Arnold JD. A clinical safety trial of stroma-free hemoglobin. *Clin Pharmacol Ther* 1978;23:73-80.
12. Hess JR, MacDonald VW, Winslow RM. Dehydration and shock. An animal model of hemorrhage and resuscitation of battlefield injury. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol* 1992;20:499-502.
13. White CT, Murray AJ, Greene JR, Smith DJ, Medina F, Makove GT, Martin EJ, Bolin RB. Toxicity of human hemoglobin solution infused into rabbits. *J Lab Clin Med* 1986;108:121-31.
14. Feola M, Simoni J, Dobke M, Canizaro PC. Complement activation and the toxicity of stroma-free hemoglobin solutions in primates. *Circ Shock* 1988;25:275-90.
15. Kosuda M, Kobayashi M, Ito K, Ikeda H, Sekiguchi S. In vivo effects of modified hemoglobin as an artificial oxygen carrier. *Jpn Artif Organs* 1988;17:1690-5.
16. Macdonald VW, Winslow RM, Marini MA, Klinker MT. Coronary vasoconstrictor activity of purified and modified human hemoglobin. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1990;18:263-82.
17. Fratanoti JC. Points to consider in the safety evaluation of hemoglobin-based oxygen carriers. *Transfusion* 1991;31:369-71.

1993年12月3-4日, 東京

「血液代替物シンポジウム」報告

本年7月に設立された日本血液代替物学会による「血液代替物シンポジウム」が、12月3~4日東京のフォーシーズンズホテルにおいて開催された。本学会初めての学術集会であるが、参加者は延べ200名にのぼり、学会外からの参加者も多く成功裡に終了した。そのシンポジウムの概要を報告する。

土田英俊学会長の開会の辞につづき、まずT.M.S. Chang教授 (McGill Univ.)から講演を頂いた。Chang教授はご専門のliposome包埋型に加えcell-freeタイプでもhemoglobin(Hb), SOD, catalaseの重合体を作成し酸素毒性を低減させる試みなど極めて独創的で意欲的な研究を展開しておられるが、今回は人工酸素運搬体の総論と先生の専門とするencapsulated Hbについて特に詳しく講演をいただいた。modified HbではHbが裸の形で血中に投与されているのに対し、カプセル化では外環境から隔離されており、第2世代血液代替物として位置づけられること、現在、生体代謝性にすぐれたpolymor membraneによるナノカプセルの開発を行っておりその成績の一部が紹介された。



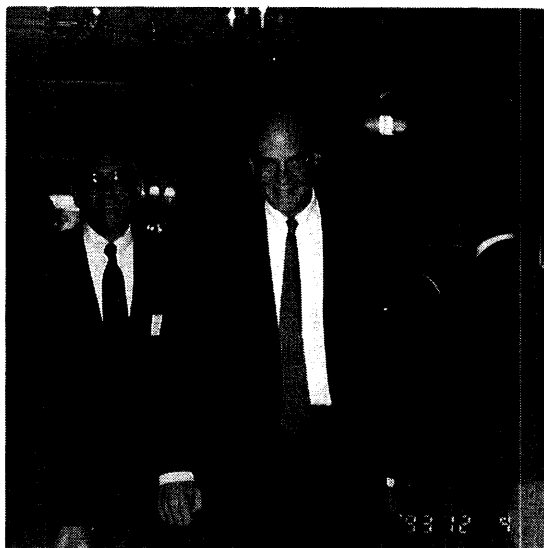
Chang博士(左)とFarmer博士

関口定美所長(北海道赤十字血液センター)からは「血液事業と血液代替物」と題して、日本の血液事業の現状と其中での血液代替物の位置づけについて講演を頂いた。血液事業の目指すところは、輸血副作用の根絶とより効果的な輸血にあるが、そのためにはドナーリクルート、スクリーニング強化、ウイルスの除去・不活化、白血球の除去・不活化など広範囲なとりくみによる同種血輸血の安全性の向上に加え、自己血輸血の普及、血液代替物の開発、サイトカイン療法、組換え製剤の利用など総合的なとりくみが必要であり、その中で血液代替物の位置づけが今後重要となることであつた。また、Hbの供給源としては今後組換えHbが出てくると思われるが、期限切れ赤血球製剤も使用可能であり、その量は1992年で55万L程度であることが報告された。

R.M. Winslow教授(UCSD)からは、Hb化学修飾体による有効性を中心に現在までの到達点と、今後の課題を紹介頂いた。教授は、昨年San Diegoで開催された第5回国際血液代替物シンポジウムの大会長を務め、米国におけるPhase I studyの全体像にもっとも詳しい。特に現在注目されている副作用の血管収縮と血圧上昇の機序、また、末梢毛細血管における修飾Hbの酸素輸送機構について最近の知見が報告された。まだ未解明な部分が多く、また臨床治験でのHb誘導体の有効性を測るcriteriaも明確ではないので今後この分野の仕事の重要性が増すと想像される。

光野孝雄教授(神戸大学名誉教授)は、パーフルオロケミカル(PFC)の開発と今後の展望について講演された。日本は

人工酸素運搬体研究において常に世界をリードしてきたが、PFCは日本で開発され世界で初めて臨床応用された代用血液といえる。開発における困難をいかに克服されたかをご紹介頂き我々にとっても貴重な教訓となった。残念ながらPFCは代用血液としては蓄積性などの問題から限界があり、今年からは日本における製造・供給も中止となった。しかし、第2世代のものが特定臓器の局所酸素化や原液を診断治療用など医薬品として用いる試み



Fratantoni博士(左)とWinslow博士

が成功しつつあり、今後の発展を期待するとの意見であつた。尚、PFCは米国でPTCAでの適応が認められているが、採算性などの問題から米国(Alpha Therapeutics社)でもいずれ供給が停止されるように聞いており、第一世代PFCは米国でも姿を消すことになる。

第一日目の最後に、J.C. Fratantoni博士(FDA)から医薬品として認可を与える立場からの講演があつた。重要ポイントとして、Hb修飾体による副作用の機構が未解明であること、安全性は赤血球製剤との比較がなされること、そして赤血球製剤はきわめて安全であること、また、安全性と有効性は切り離して論じられるべき

ではないし、適応を特定化しその上で risk/benefit を検討することが重要との指摘であった。現在、phase IIに進みつつあるものからpreclinicalな段階に達しているものまで多くの候補があり、今後の展開を見守る必要がある。

講演の最後として、第2日目にM. Farmer博士(Baxter Healthcare)により、DCLHb™の開発の到達点が紹介された。このHb誘導体の最大の目標はhemorrhagic shockにおける輸血の代替ということであり、pigを用いた詳細な実験データと、phase I studyの結果が報告された。血管収縮による血圧上昇以外特記すべき副作用はなく、現在phase IIへ進んでいる。Hb修飾体の各臓器への分配も良好ということであり有効性も十分とされているが、血管収縮に伴いA-V shuntが開き毛細血管に血液が十分に分配されないという疑問にはまだ十分な回答が得られていない。

講演につづいて、清水 勝教授(東京女子医大)の座長のもと、「人工赤血球の安全性と適応」と題してパネル討論が企画された。一般論としての有効性についてはこれまで開発サイドでかなり検討されてきたが、有効性の評価法や安全性並びに適応病態については明らかではなく、専門家の立場からの貴重な問題提起が行われた。

第1部の「安全性の確認」

では、日本での人工代替物認可の一般論はFDAの基準に準ずること(小室勝利先生、国立予防衛生研究所)、化学の立場からの安全性についてHbとEDRFの相互作用などが今後の課題であること(岩下雄二博士、味の素中央研究所)、動物実験法の概説と、Hb誘導体は半減期が短いが一におきに安定化Hbを輸注することで同種血が回避できることが紹介された(松下通明先生、北海道大学医学部)。

第2部の「適応病態」の臓器保存では、安定化Hbを用いた臓器保存の例と共に異種移植の際に血漿交換を行うことで急性の拒絶反応を有意に抑制でき、この分野での応用が期待されること(阿岸鉄

三教授、東京女子医大)、代謝の停止か維持か、複数臓器での保存か個別臓器の保存か、低体温かどうかなど、臓器保存の分野では未解明の重要命題が概説され、また、臓器内血液を利用した保存法で有効時間を考慮した酸素運搬体への期待が述べられた(平 明教授、鹿児島大学医学部)。

外科手術の分野からは、hemorrhagic shockを中心とした人工酸素運搬体の適応についての概説と、Fluosol-DAを用いて救命し得た症例の報告(元木良一教授、福島医科大学)、完全合成系であるlipid-hemeを用いた最新知見を含め外科領域における応用の紹介(小林紘一教授、慶応義塾大学医学部)があった。麻酔の分野からは、colloidal osmotic pressure(COP)は高くても障害とはならない可能性があること、血管収縮のメカニズムは必ずしも

なお、初日にはポスターセッションも行われ、計9題の演題が発表された。人工代替物を専門とする者だけの議論ではなく、各分野の専門家が参加し活発な議論が行われた(写真はポスターセッション風景)。また、(株)ミドリ十字からはFluosol-DAと組み換えアルブミン、テルモ(株)からはNeo Red Cellが展示されたことを付け加えたい。

本シンポジウム全体を通して印象に残った点は2つあった。第1は人工酸素運搬体に対する関心が開発サイドのみならず、使用する側でも多岐の分野に渡って大きな期待が持たれている点であった。臓器保存への応用、同種血回避の手段としての応用、またフロアからは獣医領域での意義が強調された。ただし、適応に関する論議が具体化するにつれ、問題点もまた具体化してきており、その解決には今後更に多くの方々参加が必須であることもひしひしと痛感された。

第2の点は、cell-freeのHb誘導体では血管収縮が起こるが、それは副作用の観点のみならず毛細血管への十分な血流を阻害し酸素供給という有効性そのものと密接に関わるということであった。COPに高くても問題ないのではないかとの問題提起は今後検討を重ねる必要があるが、少なくともこれまでの開発サイドの固定観念を揺るがすものであったし、Baxterではcell-free

誘導体の適応を一層具体化しつつある。cell-freeのHb誘導体研究は単なる開発から新しい段階へと移りつつあることを痛感に感じた。

しかしながら、現状では開発のテンポは必ずしも順調ではなく、いかに日本で独自の酸素運搬体を育てていくか、開発サイドの努力のみならず、学会としての支援も大切であることも感じられた。また、日本ではliposome型の研究が中心になりつつあり、cell-free型の研究の活性化も望まれる。日本血液代替物学会とその会員の方々の今後のご活躍を心から期待したい。(編集部:文責 仲井邦彦)



1日目ポスターセッションより

すること、粘性が低下すると心拍出量が増加しA-V shuntが開く危険があり十分な検討を行うこと、など重要な問題提起があった(高折益彦教授、川崎医科大学)。内科領域では、半減期の短い現在のHb修飾体では内科での慢性貧血には適応は難しいが、自己免疫疾患では急激な溶血を呈することがあり、検討する意義があるとの報告があった(池田康夫教授、慶応義塾大学医学部)。最後に血液事業への影響というテーマで関口定美所長(北海道赤十字血液センター)から、輸血副作用の根絶と有効な輸血をめざすシステムの中で代替物の位置づけの整理がなされた。

「人工血液」投稿規定

内容

本誌は、血液代替物開発研究に貢献する論文、関連する情報、学会会員のための会報、学会諸規定等を掲載する。原稿の種類は、論説、総説、原著、報告、技術解説、編集室への手紙、その他とするが、形式にはこだわらず創意ある投稿を広く集める。

投稿資格

本誌への投稿者は本学会会員であることが望ましいが、投稿を希望する者は誰でも投稿することが出来る。

論文の掲載

- 1) 原稿掲載の採否は編集委員会が決定する。
- 2) 掲載は完全稿の受け付け順に掲載することを原則とし、編集上の都合によって若干変更することがある。
- 3) 原著論文について、他誌に既発表あるいは投稿中の論文は掲載しない。

執筆規定

DTP (Macintosh)による編集作業によって作製するため、ワープロを用いフロッピーによる投稿を原則とする。ただし、手書き原稿による投稿でも受け付ける。欧文による投稿を歓迎する。

- 1) 原稿はワープロを用いて作成し、使用したソフト名を記載してフロッピーにより提出すること。その際、ハードコピー2部を添え右肩上に「論説」、「総説」、「原著」等を明記すること。Macintosh以外を用いるときは、テキストファイル形式でも保存し提出すること。
- 2) 原稿はA4版の大きさとし、第1頁には表題、英文表題、著者名、全著者所属、英文著者名、英文所属、ついで筆頭著者の住所、英文住所を記入する。手書き原稿の場合はB5版、1行20字、20行とする。
- 3) 総説、原著、および報告については、第2頁以降に和文抄録、Keywords (英文で6個程度)を付け、最終頁または別紙に英文抄録を付けること。英文抄録は英文ワープロを用

いて、別の「ABSTRACT」ファイルとしてハードコピーとともに提出しても構わない。

- 4) 句読点はコンマ(,)ピリオド(.)とする。
- 5) 文中の英語は、Times, Helvetica, Courier, Symbol フォントを原則とし、英文半角小文字とする。ただし、文頭および固有名詞は大文字で書きはじめること。独語は独文法に従うこと。
- 6) 数字はアラビア数字を使い、度量衡の単位はm, cm, mm, μ m, l, ml, μ l, g, mg, μ g, ng, pg, fg, N/10などを用いる。 μ などのSymbolフォントは文字化けに注意すること。
- 7) FigureとTable: 引用順にそれぞれ番号を付けること。表題、説明、図表、中文字は全て英文とし、説明文はTableのタイトルを含め「Legends」ファイルとして別にフロッピーに入れること。本文ハードコピー上に挿入箇所を明記すること。Figureは直接オフセット印刷とする。Tableは編集部にて入力し原図とする。
- 8) 文献: 本文に引用した順序に番号を付け、文中では²⁾, ³⁻⁵⁾, ^{1, 4-6)}などとする。文献の記載法はthe Vancouver styleに従う(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Br Med J 1988;296:401-5.またはAnn Intern Med 1988;108:258-65.に詳しい)。全著者名。論文題名。誌名。西暦発行年; 巻数: 頁~頁。とし、誌名の省略は医学中央雑誌またはIndex Medicusに準拠する。単行本の場合は全著者名。題名。編集者名。書名。発行地: 発行書店、年号; 頁~頁。の順とする。記載法に誤りがある場合は訂正を求めることがある。

- 1) 太田和夫。移植医療と社会。医学のあゆみ 1993;164:442-6.
- 2) 砂本順三, 岩本 清。リボソームの調製。野島庄七, 砂本順三, 井上圭三 編。リボソーム。東京:南江堂, 1988;21-40.
- 3) Learmont J, Tindall B, Evans L,

Cunningham A, Cunningham P, Wells J, Penny R, Kaldor J, Cooper DA. Long-term symptomless HIV-1 infection in recipients of blood products from a single donor. Lancet 1992;340:863-7.

- 4) D'Agnillo F, Chang TMS. Cross-kinked hemoglobin-superoxide dismutase-catalase scavenges oxygen-derived free radicals and prevents methemoglobin formation and iron release. Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol 1993;21:609-21.
- 5) Reichert CM, Kelly VL, Macher AM. Pathologic features of AIDS. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. AIDS. Philadelphia: Lippincott, 1985;111-60.

- 9) 論文にたびたび繰り返される語は略語を用いてよいが、初出の際は省略しないこと。
- 10) 既発表の図表、その他を引用、転載する場合には、あらかじめ著作権所有者の許可を得ること。また、掲載論文の著作権は本学会に帰属する。
- 11) 英文抄録、欧文論文等は編集部で外部に校正を依頼することがある。

校正

校正は初校まで著者に依頼する。

印刷費

掲載料は無料とし、論説、総説、原著、報告等については別刷り30部を贈呈する。それを越える分については著者の希望により50部単位で作成し、その費用は著者の負担とする。カラー写真掲載・アート紙希望などの場合は、著者の実費負担とする。希望別刷り数は校正刷りに明記のこと。論文原稿は封筒の表に「投稿」と朱書きし、書留(簡易)郵便で下記のいずれかに送付する。

日本血液代替物学会事務局内
「人工血液」編集部

〒169 東京都新宿区大久保3-4-1
早稲田大学理工学部555S棟708室
または

「人工血液」編集部
〒063 札幌市西区山の手2-2
北海道赤十字血液センター研究部内

平成6年度 会費納入のお願い

会員各位におかれましては、平素から多大のご支援、ご協力を賜わり厚くお礼申し上げます。新年度(1994年4月～1995年3月)の年会費(正会員¥10,000)をお払い込み頂く時期となりました。早速ながら差し込みの郵便振替用紙をご利用のうえ、納入下さいます様お願い申し上げます。あるいは、下記銀行へお振込みも可能です。

「あさひ銀行 大久保支店 465-(普)-1003857 日本血液代替物学会」

お振込み控えにて受領書に代えさせていただきます。なお、特に請求書、受領書の必要な折はお申出下さい。

異動(訂正)連絡のお願い

勤務先・現住所など変更(訂正)がありましたら、差し込みの委任状あるいは郵便振替用紙の通信欄を利用してご連絡下さい。

正会員勧誘のお願い

会員の皆様のお身近でご関心のある方にも是非会員に成って頂きたく、ご勧誘のほど宜しくお願い申し上げます。入会申込書は事務局宛にご請求下さればお送り致します。

●事務局たより

日本血液代替物学会 93/3 理事会

日時 平成5年12月2日(木) 18:00～21:00

会場 椿山荘 木春堂

出席者 阿岸鉄三, 小林紘一, 清水 勝, 関口定美, 土田英俊, 友田燐夫, 仲井邦彦, 西出宏之, 藤村 一, 元木良一, 湯浅晋治, (武岡真司)

議事 [I] 報告事項 前回議事録の確認
[II] 報告事項 シンポジウムの収支計画/会員動向
[III] 審議事項 シンポジウム運営/年次大会運営方針/ニュースレター出版/会員勧誘の件/その他

人工血液第3回編集委員会

日時 平成6年1月28日(金) 15:30～17:30

会場 早稲田大学 理工学部 55S棟708室

出席者 薄場 彰, 柿崎 徹, 武岡真司, 仲井邦彦, 西出宏之, 横山和正

議事 Vol.2企画, 連載企画検討/広告掲載を確認/購読会員拡大/proceedingsの扱い討議/渡辺先生に編集委員への就任依頼/その他

編集後記

●平成6年2月より編集委員の一員に加えていただきました。学会の顔である機関誌の編集に携わることの重大さをひしひしと感じております。機関誌は年次大会を除けば会員同志の意見を交換する数少ない場です。また、外へ向けて我々の意見を広めるチャンスでもあります。血液代替物学会は医学、生物学、理工学はもちろん産業側からも会に参加いただいております。医学の分野だけをとってみても、内科系、外科系、基礎医学系と様々な領域にわたっています。それぞれの分野にとってはcommon senseであって少し違った分野から見ると新たな発見につながることはよくあることです。機関誌の発行にあたっては各領域の知恵を持ちよればこれまでにないようなuniqueなものが作れるのではないのでしょうか。会員の皆様方の御協力をお願い申し上げます。血液代替物学会の目指すところは、その設立趣意書にも示されているように、生体の持つ血液よりも高性能で、副作用が無く、臨床の場で容易に使用できる血液

代替物を開発し、実際に使用される患者に対して利益をもたらすことにあるといえましょう。数多くある医学系、理工学系の学会でもこれほどに会の目的、目標が明確である学会はあまりありません。この『人工血液』の発行が、我々の夢の実現に向けての一助となるよう微力を尽くしたいと思います。(MW)

●編集委員として新たに防衛医科大学校外科学教室の渡辺先生にお願いすることになりました。次号は6月上旬にはお送りできる予定です。ようやく編集作業も軌道に乗り始め、連載企画として「獣医医療における血液代替物」の連載を開始致します。北海道大学獣医学部の藤永教授に企画をご担当頂きました。また、次号は年次大会抄録号を兼ねております。ご発表頂いた演題は査読後に本誌にFull Paperとして掲載されることが決まっています。そのため大会当日に査読用論文のご提出をお願いすることになりますが、詳細は次号をご参照下さい。(KN)

編集委員会

●薄場 彰, 柿崎 徹, 武岡真司, 仲井邦彦 (委員長), 西出宏之, 横山和正, 渡辺真純●

日本血液代替物学会 News Letter 人工血液 vol. 2 (1) 1994年3月23日発行

■発行 日本血液代替物学会

〒169 東京都新宿区大久保3

早稲田大学理工学部55S棟708号

TEL (03)3203-4141 (EX) 73-6838 FAX (03)3209-5522

■編集・制作「人工血液」編集委員会

〒063 札幌市西区山の手2条2丁目

北海道赤十字血液センター内

TEL (011)613-6640 FAX (011)613-4131

■印刷 サイマル・インターナショナル

〒107 東京都港区赤坂1-8-10 第9興和ビル

TEL (03)3586-5799 FAX (03)3505-4794

再生紙を使用