

目 次

人工血液

第2巻 第3号 1994年9月

総説 血液の酸素加	小林紘一	54
原著 PFCを利用した液一液型人工肺の試作	和田誠之	59
Methemoglobin還元機構を有した人工赤血球(NRC)の開発	緒方嘉貴	62
展望 ヘモグロビンの新しい利用法に向けて	友田輝夫	67
連載 獣医療における血液代替物		
血液浄化技術の適応と輸血の現状	安田 準	70
小動物の外科手術と輸血療法	佐々木伸雄	74
報告 「海外旅行者のための輸血ガイドライン」の解説	落合 永	77
事務局たより		81

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 2 No. 3 September, 1994

Review: Oxygenation of the Blood	Kouichi Kobayashi	54
Original Article:		
Experimental evaluation of liquid-liquid type artificial lungs using perfluorochemical	Seishi Wada	59
The development of the Neo Red Cells (NRC) with enzymatic reduction system of the methemoglobin	Yoshitaka Ogata	62
News and View: Recent advances on the utilization of hemoglobin	Akio Tomoda	67
Series: Veterinary Medicine and Blood Substitutes		
Application for blood purification and transfusion in small animal medicine	Jun Yasuda	70
Blood transfusion of the surgical patient of dogs and cats	Nobuo Sasaki	74
Report:Explanation of blood transfusion guidelines for international travellers	Hisa Ochiai	77

[効能・効果] 貯血量が800ml以上で1週間以上の貯血期間を予定する手術施行患者の自己血貯血

[使用上の注意] —抜粋—

1. 一般的な注意

- (1) 本剤の投与は手術施行予定患者の中でも貯血式自己血輸血施行例を対象とすること。なお、造血機能障害を伴う疾患における自己血貯血の場合には、本剤の効果及び安全性が確認されていないため投与しないこと。
 - (2) 本剤投与中はヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値を定期的に観察し、過度の上昇（原則としてヘモグロビン濃度で14g/dl以上、ヘマトクリット値で42%以上を目安とする）が起らないように注意すること。このような症状があらわれた場合には、休薬あるいは採血等適切な処置を施すこと。
 - (3) ショック等の反応を予測するため十分な問診をすること。なお、投与開始時あるいは休薬後の初回投与時には、本剤の少量で皮内反応を行い、異常反応の発現しないことを確認後、全量を投与することが望ましい。
 - (4) GOT, GPTの上昇等の肝機能異常を認めた場合には、本剤投与の中止等適切な処置を施すこと。
 - (5) 本剤の効果発現には鉄の存在が重要であり、鉄欠乏時には鉄剤の投与を行うこと。
- (2) 貯血式自己血輸血に伴う一般的な注意
- 1) 術前貯血式自己血輸血の対象は、その施設の従来の経験あるいは記録等より輸血を施行することが確実と予想される患者に限ること。
 2. 次の患者には投与しないこと
 - (1) 本剤又は他のエリスロポエチニン製剤に過敏症の患者
 - (2) 血栓塞栓症又はその既往歴を有する患者
 3. 次の患者には慎重に投与すること
 - (1) 高血圧症の患者
 - (2) 薬物過敏症の既往歴のある患者
 - (3) アレルギー素因のある患者
 - (4) 血栓塞栓の可能性のある患者
 4. 副作用
 - (1) 循環器：血圧上昇、また、ときに動悸があらわれることがある。
 - (2) 高血圧性脳症：急激な血圧上昇により、頭痛、意識障害、痙攣等を示す高血圧性脳症があらわれ、脳出血に至る場合があるので、血圧、ヘマトクリット値等の推移に十分注意しながら投与すること。
 - (3) 皮膚：ときに皮疹、瘙痒感、痤瘍等があらわれることがある。
 - (4) 肝臓：ときにGOT, GPTの上昇等の肝機能異常があらわれることがある。
 - (5) 消化器：ときに嘔気、嘔吐、食欲不振、下痢があらわれることがある。
 - (6) 感覚器系：ときに頭痛・頭重感、めまい、体熱感、ほてり感、発汗、発熱、関節痛、筋肉痛、全身倦怠感があらわれることがある。
 - (7) その他：眼底出血ときに口内苦味感、鼻出血があらわれることがある。ときに血清カリウムの上昇があらわれることがある。
 8. 通用上の注意
 - (1) 本剤を投与する場合は他剤との混注を行わないこと。

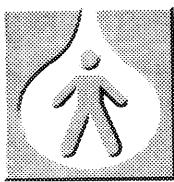
赤血球をつくる!!

手術施行予定患者における自己血貯血

〈特徴〉—(手術施行予定患者における自己血貯血)—

1. 世界で初めて自己血貯血に承認された遺伝子組換えヒトエリスロポエチニン製剤です。
2. 自己血採血に伴うヘモグロビン濃度の低下を抑制します。
3. 自己血貯血期間におけるヘモグロビン量を増加させます。
4. 整形外科領域における同種血輸血の術中・術後の節減・回避が認められています。

※用法・用量、その他の使用上の注意、取扱い上の注意等については製品添付文書をご覧下さい。



遺伝子組換えヒトエリスロポエチニン製剤

薬価基準収載

エボジン®
EPOGIN Injection 一般名：エポエチン ベータ(遺伝子組換え)

1500
3000
6000

CHUGAI 中外製薬

〔資料請求先〕
〒104 東京都中央区京橋2-1-9

CEP 4087

血液の酸素加—ECMOから人工赤血球へ—

小林絢一

Kouichi Kobayashi

Oxygenation of the blood –From ECMO to artificial oxygen carrier–

ヒトが生命を維持して行くためには、組織に対する絶え間のない酸素供給が必須である。組織に対する酸素供給は

$$TO_2 = CO \cdot Hb \cdot 1.34 \cdot Sat. \bar{a}O_2 / 100 \text{ (ml/min)}$$

で表される(TO_2 : 酸素運搬量, CO : 心拍出量, Hb : ヘモグロビン濃度, $Sat. \bar{a}O_2$: 動脈血酸素飽和度)。

血液の酸素加はいろいろな機序により障害されるが生命が危機に晒されるような急激な酸素運搬量の低下は前述の式より、心拍出量の低下を来す種々の病態、急性の大量出血および肺における血液の酸素加の障害すなわち呼吸不全などである。これらに対する治療としては心拍出量の低下には病態に応じて晶質液、膠質液や薬剤の投与、場合によってはIABP(intraaortic balloon pumping), 人工心臓の使用やさらに心移植も考慮される。出血によるヘモグロビンの低下に対しては赤血球輸血が効果的であるが現在人工酸素運搬体が開発されつつある。動脈血酸素飽和度の低下の主な原因である呼吸不全に対しては酸素投与や人工呼吸器が使用されるが肺機能障害が高度な場合には体外循環を用いた血液の酸素加 extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) が行われる。さらに埋込み型の人工肺の開発や肺移植も行われている。また短時間であれば、肺以外の組織を利用した血液への酸素の取り込みの方法も検討されている。

本稿では血液の酸素加に関する著者の現在までの臨床経験および基礎実験のうち急性呼吸不全に対するECMOの臨床例、腹腔を利用した血液の酸素加(peritoneal oxygenation)の実験、および人工赤血球の開発に関する基礎データについて報告する。

1. 呼吸不全に対するECMOの臨床

血液の酸素加の場である肺が障害され呼吸不全に陥った時には酸素投与や機械呼吸などが行われる。しかし、機械呼吸でも酸素加が十分でない場合には対外循環を用いた血液の酸素加、ECMOが必要となる^{1,2)}。

われわれは重症の急性呼吸不全の患者で機械呼吸で100%の酸素による換気にも拘らず PaO_2 が50 mmHgを維持できないような8例に対して静脈-動脈バイパス(venoarterial bypass)によるECMOを施行した。対象となった患者は術後肺炎、外傷後呼吸不全、ビールス性肺炎、羊水栓塞などの症例である。

Fig. 1およびFig. 2は外傷後の呼吸不全の26歳の男性におけるECMOによる治療経過を示したものである³⁾。この症例には受傷後3日目にECMOによる治療を開始した。呼吸機能や肺循環に関連するKeio University School of Medicine Department of Surgery, 35 Shinanomachi, Shinjuku, Tokyo 160, Japan.

する各種のparameterはECMOにより改善傾向を示し、ECMO開始後3日目にECMOよりの離脱が可能となった。この症例でECMOが成功した理由の一つは肺損傷後3日目と早期にECMOを開始したため、肺病変がまだ可逆性であったことである。Fig. 3はECMOを開始する前の胸部X線写真で両側性の浸潤影が認められるがECMO終了後のFig. 4では浸潤影は改善している。

Fig. 5は27歳の女性のECMOによる治療経過を示したものである⁴⁾。この女性は妊娠10週で粟粒結核から播種性血管内凝固症候群(DIC)を併発し、呼吸不全になったため機械呼吸を行ったところ縦隔気腫を来し、PEEP(positive endexpiratory pressure, 終末呼気陽圧)を用いることが困難になり、ECMOによる治療を開始した。下大静脈より脱血し酸素加した血液は腹部大動脈に還血した。途中で動脈血酸素分压が維持できなくなったため腋窩静脈に

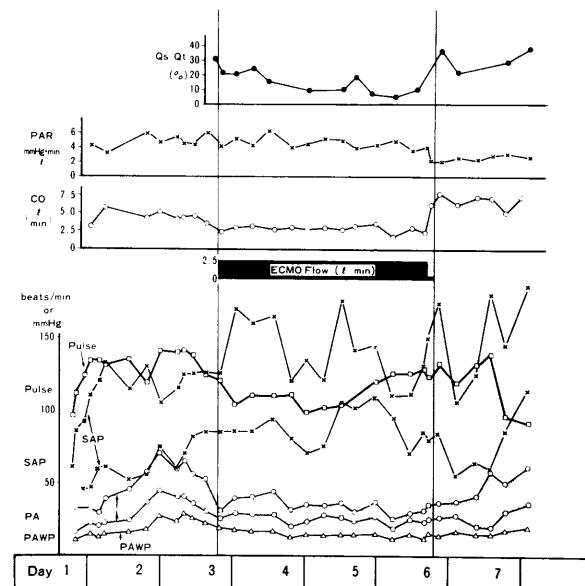


Fig. 1. Clinical ECMO data in a 25-year-old male patient with posttraumatic respiratory insufficiency. ECMO was started on the third day following trauma (chest contusion and multiple bone fractures). ECMO flow was 2.5 L/min (about 50% of the patient's own cardiac output). Pulmonary arterial pressure and intrapulmonary shunt fraction were improved on ECMO. The patient was weaned from ECMO after 3 days of bypass. PAWP, pulmonary arterial wedge pressure; PA, pulmonary arterial pressure; SAP, systemic arterial pressure; CO, cardiac output; PAR, pulmonary arterial resistance; Qs/Qt, intrapulmonary shunt fraction.

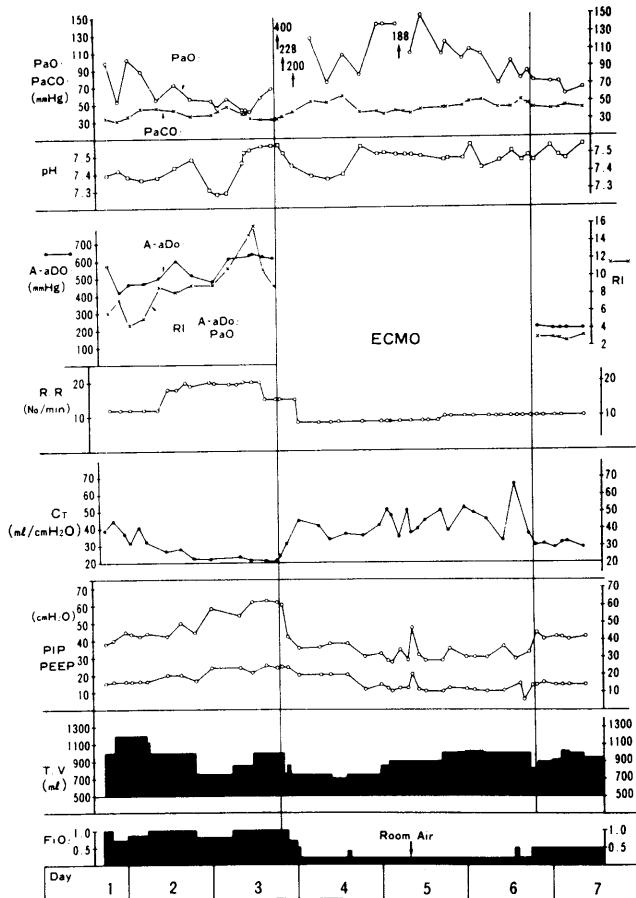


Fig. 2. Clinical ECMO data in the same patient. ECMO could decrease inspired oxygen fraction and air way pressure, and could increase pulmonary compliance and arterial oxygen pressure. FiO_2 , inspired oxygen fraction (%); TV, tidal volume; PIP, peak inspiratory pressure; PEEP, positive endexpiratory pressure; C_T , chest compliance; RR, respiratory rate; $A-a\text{DO}_2$, alveolar-arterial oxygen difference.

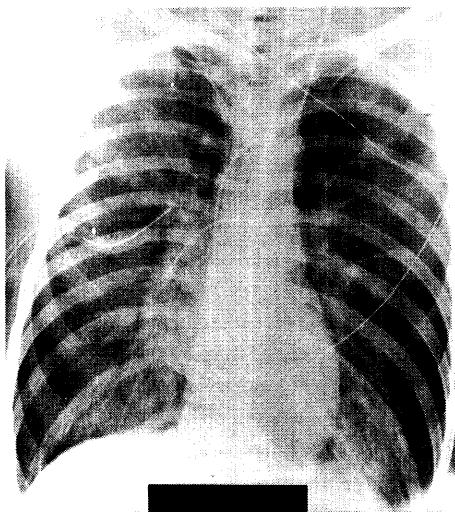


Fig. 3. Chest X ray film before ECMO. Bilateral infiltrations were noted.

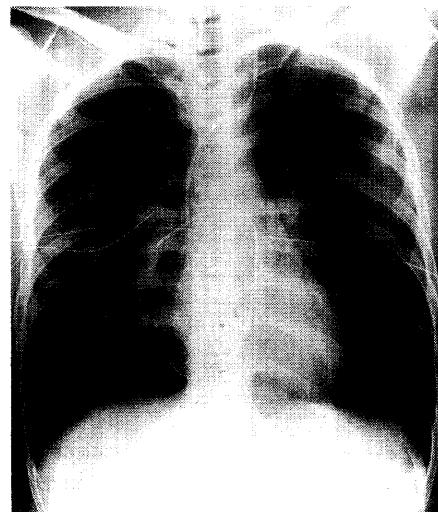


Fig. 4. Chest X ray film after 3 days of ECMO. The infiltrations were cleared.

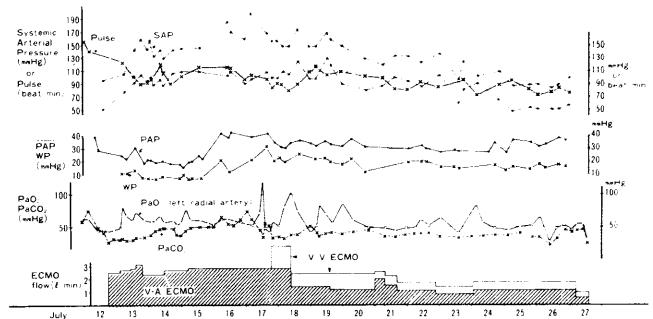


Fig. 5. Clinical ECMO data in a 27-year-old female with DIC. Despite of 15 days of ECMO, the patient died of multiple organ failure. Veno-venous bypass was added on the 7th day of ECMO. WP, pulmonary arterial wedge pressure; PAP, mean pulmonary arterial pressure.

も還血する静脈-静脈バイパス(veno-venous bypass)を追加し、mixed bypassとした。これにより動脈血酸素分圧の改善を見たが最終的には多臓器不全を来しECMO開始後16日目に死亡した。この症例ではECMO施行の約1ヶ月前より発熱を認めており肺結核の発症はこの頃と推定される。

8例のうち外傷後の呼吸不全で受傷後3日目にECMOによる治療を開始した1例にのみECMOから離脱が可能であったが他の7例ではECMOの離脱は不可能であった。ECMOからの離脱が可能であった症例(図中では○で示す)はECMOを施行することにより肺内シャント率の改善(Fig. 6, AはECMOを開始する前の、BはECMO施行中の間点での、CはECMOからの離脱または中止の直前の値を示す)、肺complianceの上昇、肺動脈圧や肺血管抵抗の低下などが認められ、ECMO施行中は吸入気酸素濃度もroom airに低下させることができた。他の7症例(○印以外の症例)では肺病変が非可逆の変化を来たしており、多臓器不全のために救命できなかった。これらの症例では肺内シャント率は上昇し、肺complianceは低下、肺動脈圧や肺血管抵抗の増加などが認められ、ECMO施行中にも吸入気酸素濃度を下げることができなかった(Fig. 6)。

全例においてECMOによる血液の酸素加の維持は可能であったが、肺に線維化などの非可逆性の変化が生じたり肺感染が高度になりECMOよりの離脱が困難となった。このようにECMOによる治療が成功するには肺病変が非可逆的になる前にECMOを開始することが重要である。bypassの方法については現在veno-venous bypassが行われることが多くなった。これは代謝により生じた炭酸ガスを膜型肺により除去し、酸素の取り込みは患者肺を一分間に数回換気させることにより行い気道内圧を低く抑さえ肺傷害を予防しようとする方法(low frequency positive pressure ventilation with extracorporeal

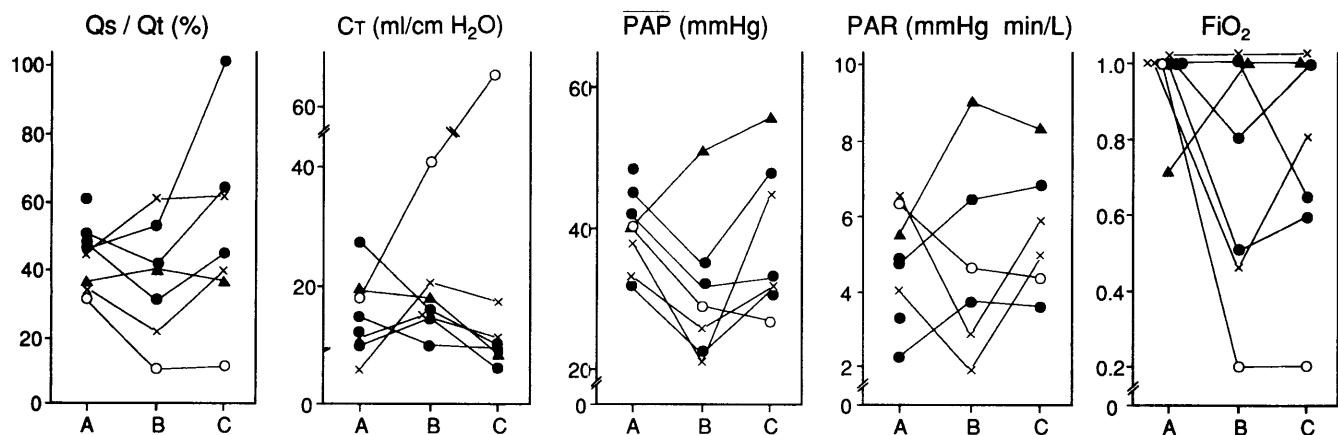


Fig. 6. Changes of intrapulmonary shunt fraction (Q_s/Q_t (%)), chest compliance (C_T), mean pulmonary arterial pressure (\overline{PAP}), pulmonary arterial resistance (PAR) and inspired oxygen fraction (FiO_2) in patients undergoing ECMO. An open circle (○) indicates data from a patient who was weaned from ECMO. Data were taken before ECMO was started (A), mid-treatment of ECMO (B) and just before weaning from or stopping ECMO (C). Only patient weaned from ECMO showed improvement in all parameters.

carbon dioxide removal, LFPPV-ECCO₂R)で、この方法により50%以上の生存率が報告されるようになった^{5,6)}。

2. 肺での酸素加が期待できない時の腹腔を介する酸素加

肺病変が重篤で酸素加が期待できない場合には前述のようにECMOが考慮されるが、場所、人手、高額の医療費などが問題となる。そこで簡単に肺以外の臓器で血液の酸素の取り込みができないかどうか、しかも簡単な方法がないかどうかを検討した。そのような一つの方法として循環が保たれていれば肺以外の臓器より酸素を取り込ませるextrapulmonary oxygenation、例えば腹腔内の血管より酸素を取り込ませるperitoneal oxygenationが考えられるのでその方法について述べる^{7,8)}。

兎に気管切開し人工呼吸を行った。最初はroom airで換気し、混合静脈血酸素飽和度(SvO_2)を安定させた後、10%の酸素で換気して低酸素血症を作成した。次いで換気の条件はそのままとし、腹腔内に酸素加した全合成系の酸素運搬体であるliposomeheme(L/H)を灌流したところ低下していた混合静脈血酸素飽和度が上昇した(Fig. 7)。Fig. 8は3羽の兎において行った実験の結果を示した。L/Hにより運搬された酸素が腹腔内の血管に移行することにより混合静脈血酸素飽和度が上昇したものと考えられ、このこと

より低酸素血症に対するperitoneal oxygenationの可能性が示唆される。

先に述べたECMOも血液の酸素加に関しては強力な方法であるが、本法は循環が維持されているという絶対条件はあるが比較的簡単に施行でき、呼吸不全の治療に用いられることが期待される。

3. 出血性ショックに対する全合成系の酸素運搬体liposomeheme(L/H)およびlipidheme microsphere(LH-M)の投与

事故や手術による予期せぬ大量出血に対しては循環血液量増加のための晶質液や膠質液の投与だけでなく、酸素運搬体としての赤血球の投与が行われている。出血量の多い時には晶質液または膠質液の投与で心拍出量は増加するもののそれだけでは必要な酸素消費量を維持できず生体は動脈血-混合静脈血酸素含量較差を拡大する(酸素抽出率を上げる)ことにより酸素消費量を維持す

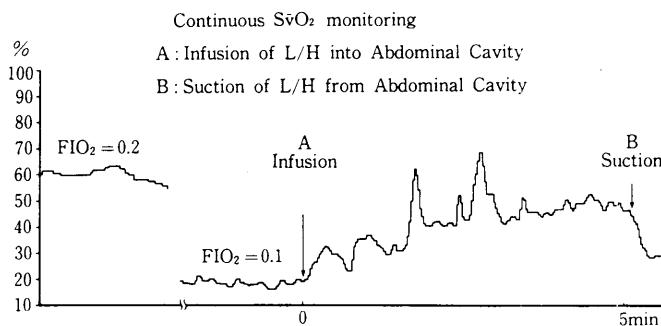


Fig. 7. Continuous SvO_2 monitoring. A: Infusion of L/H into the abdominal cavity. B: Suction of L/H into the abdominal cavity.

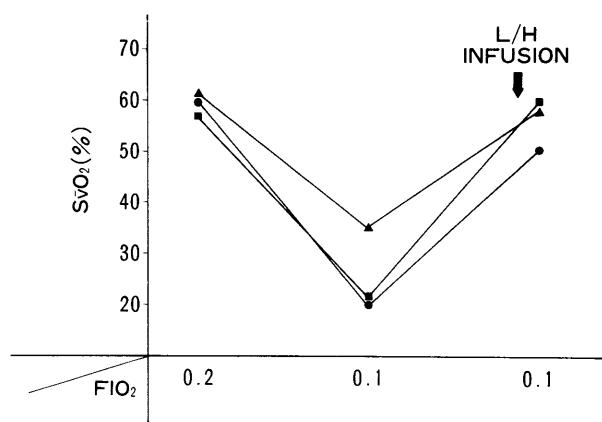


Fig. 8. Changes of mixed venous saturation. After infusion of L/H saturated with oxygen into the abdominal cavity, the SvO_2 increased to normal level despite of low inspired oxygen fraction.

る。すなわち混合静脈血酸素分圧を下げるにより酸素消費量を維持しようとするわけであるが、組織がいつまでもこのような低酸素状態に置かれるることは好ましいことではなく酸素運搬体としての赤血球の投与が必要となる。このような時に、血液型の判定や交叉試験を必要としない、また保存の容易な人工酸素運搬体があれば有益である。

土田ら^{9,10)}は酸素運搬体としてヘムそのものを合成し、このヘムの運搬体としてリポソームまたは小脂肪球を用いることにより上記の条件を満たすような全合成系の酸素運搬体を作成した。前者ではliposome embedded hemeといい、ヘムを直径40 nmのリポソームの二重膜の中に包埋し(L/H, Fig. 9), 後者はlipidheme microsphereといい、ヘムを臨床で用いられている脂肪乳剤の油滴(直径100-110 nm)の周囲に配置することにより静脈内投与を可能にした(LH-M, Fig. 10)。どちらとも P_{50} は50 mmHg前後、血管内滞留時間は10-12時間である。

これらの生体内における酸素運搬機能を犬における脱血交換実験により検討した^{11,12)}。ビーグル犬より30 ml/kg(循環血液量の40%に相当)を脱血し、出血性ショックを作成した。ビーグル犬をL/H投与群(30 ml/kg), 生理食塩水投与群(30 ml/kg), 脱血のみの無治療群の3群に分けて観察した。脱血により酸素運搬量が減少し、混合静脈血酸素分圧も低下した。L/Hまたは生理食塩水投与により酸素運搬量、酸素消費量とともに無治療群に比較して増加した(Fig. 11)。さらにL/H投与群においては混合静脈血酸素分圧が生理食塩水投与群、無治療群よりも有意に増加していた(Fig. 11)。このことはL/H投与群では酸素消費量を維持するためL/Hからの酸素が有効に利用され、なおかつ混合静脈血の酸素分圧の低下(従って組織の低酸素血症)が予防されていたことを示していく。

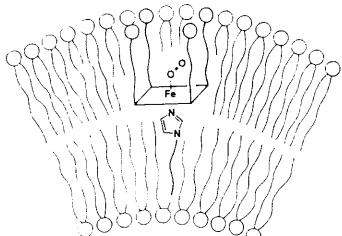


Fig. 9. Structure of liposome embedded heme (L/H). The diameter of the L/H is 40 nm. Five hundreds to 1000 of lipid heme are embedded in bilayers of the L/H.

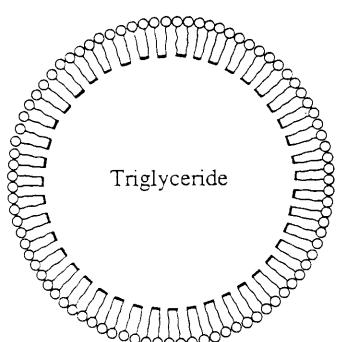


Fig. 10. Structure of the lipidheme microsphere (LH/M). The size of fat microsphere is 100 to 110 nm. Lipidhemes cover the fat microsphere.

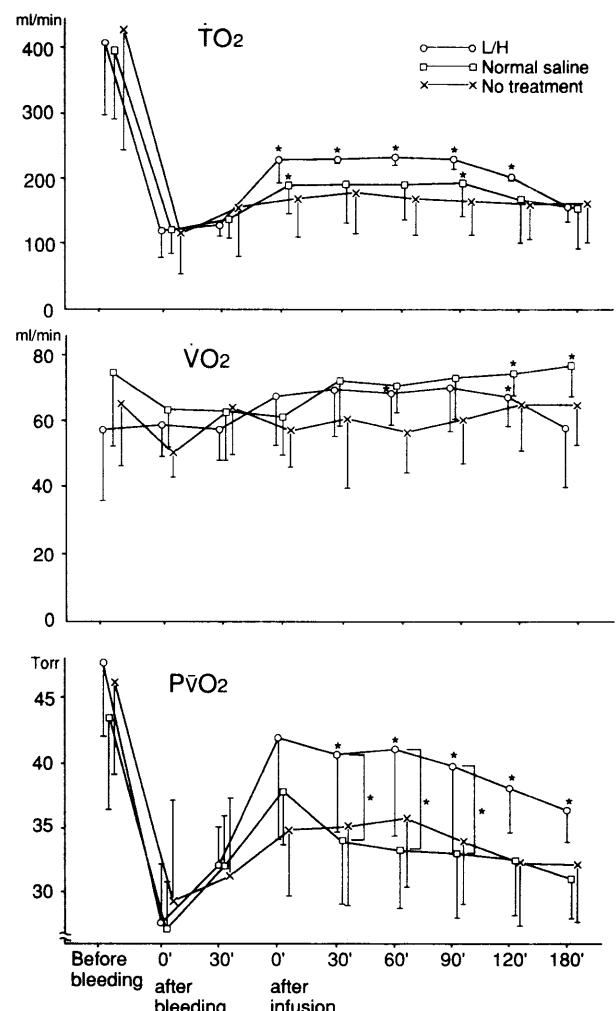


Fig. 11. Changes of oxygen transport (TO_2), oxygen consumption (VO_2) and mixed venous saturation (PvO_2) with time in the 3 groups.

る。L/Hが運搬した酸素の量は全酸素運搬量の16から19%であり(Fig. 12), L/Hからの酸素消費量は全酸素消費量の13から24%(Fig. 13)を占めていた。これは血液中のヘモグロビン濃度とL/Hの濃度との比と相関していた。この実験によりL/Hの酸素運搬体としての有効性が証明された。

LH-Mについても同様の実験を行ったがLH-Mの酸素運搬量は全酸素運搬量の11から16%を占め(Fig. 14), LH-Mからの酸素消費量は全酸素消費量の11から17%(Fig. 15)を占めておりLH-Mも生体内で酸素運搬体として機能していたことが確認できた。

今後は血液凝固や免疫系に関する影響や催奇形性、発癌性などを含めた安全性の検討などが必要である。

おわりに

生体における酸素供給はいろいろな機序により障害されるが、そのうち呼吸不全に対するECMOによる治療の臨床例と人工酸素運搬体によるperitoneal oxygenation、および出血性ショックに対する人工酸素運搬体による酸素加の実験について述べた。ECMO

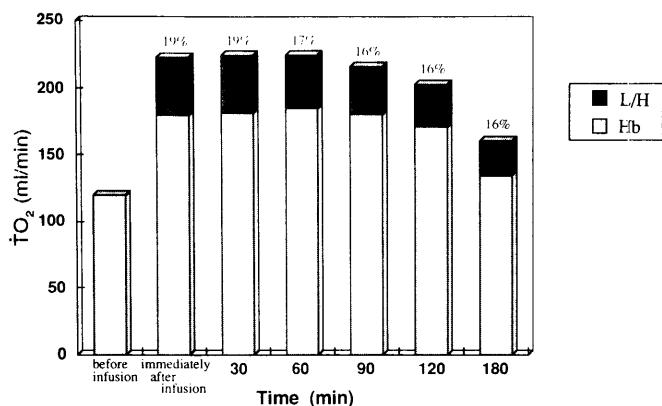


Fig. 12. Changes of oxygen transport to tissues with time and contribution of the L/H in oxygen transport, which was 16 to 19% of total oxygen transport.

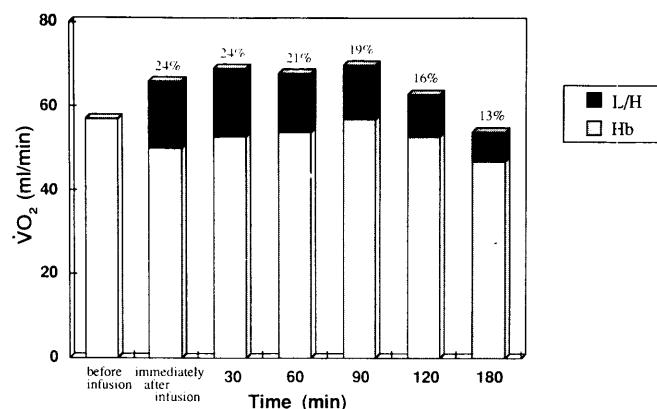


Fig. 13. Changes of oxygen consumption by tissue with time and contribution of the L/H in oxygen consumption, which was 13 to 24% of total oxygen consumption.

の臨床に関しては1970年代のveno-arterial bypassによる治療の教訓を踏まえ、現在はLFPPV-ECCO₂Rによる治療で救命率が向上している。人工酸素運搬体に関しては欧米、日本を中心開発が盛んで近い将来臨床応用可能なものが開発されることが期待される。

参考文献

1. 小林紘一. 呼吸不全に対するECMOによる治療の現況. 呼吸と循環 29:835-43, 1981.
2. 小林紘一. ECMOの現況. 臨床胸部外科 14:179-83, 1994.
3. 小林紘一. 急性呼吸不全に対するECMO. 臨床胸部外科 1:368-80, 1981.
4. Bilge FB, Bedenbaugh PH III, von Recum AF. Peritoneal oxygenation. A feasibility analysis. Biomater Artif Cells Artif Organs 17:413-27, 1989.
5. Bartlett RH, Anderson HL III. Extracorporeal membrane oxygenation revisited. Ann Thorac Surg 153:738-42, 1992.
6. Wagner PK, Knoch M, Sangmeister C, Muller E, Lennartz H, Rothmund M. Extracorporeal gas exchange in adult respiratory

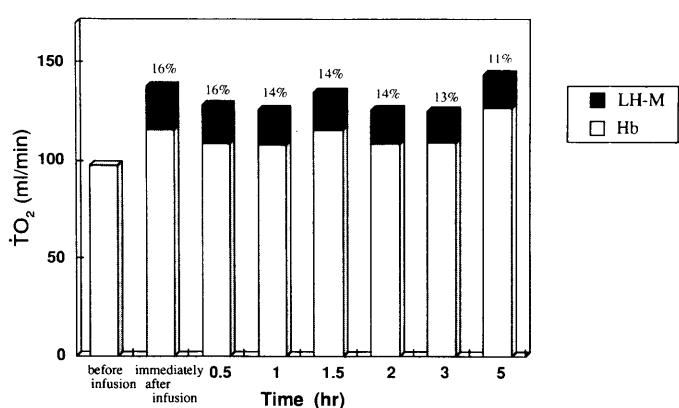


Fig. 14. Changes of oxygen transport to tissue with time and contribution of the LH-M in oxygen consumption, which was 11 to 16% of total oxygen transport.

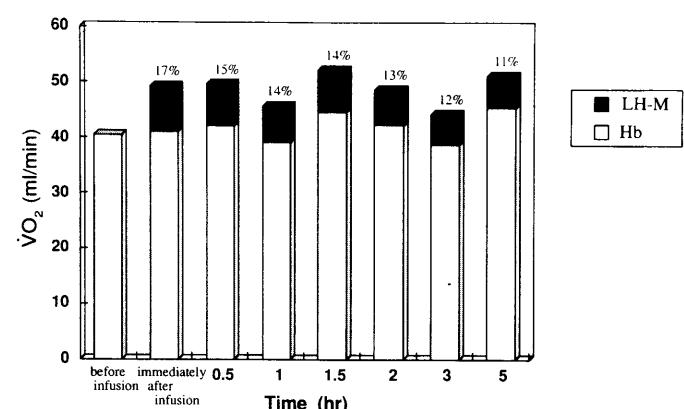


Fig. 15. Changes of oxygen consumption by tissue with time and contribution of the LH-M in oxygen consumption, which was 11 to 17% of total oxygen consumption.

distress syndrome: Associated morbidity and its surgical treatment. Br J Surg 77:1395-5, 1990.

7. 小林紘一, 川村雅文, 中山光男, 堀之内宏久, 加藤良一, 野守裕明, 石原恒夫, 今村洋二, 井上正. 急性呼吸不全に対する15日間におよぶECMOによる治療経験. 膜型肺 10:76-9, 1985.
8. 小林紘一, 渡辺真純, 石原恒夫. 人工赤血球. 外科治療33:1363-9, 1991.
9. Tsuchida E. Liposome-embedded iron-porphyrins as an artificial oxygen carrier. Ann New York Acad Sci 446:429-42, 1985.
10. Komatsu T, Matsubuchi E, Nishide H, Tsuchida E. Lipid-heme/microsphere; a new totally synthetic oxygen carrier under physiological conditions. Chem Lett 1325-8, 1992.
11. 渡辺真純. 全合成系人工酸素運搬体(リポソーム包埋ヘム)の臨床応用に関する実験的研究－脱血犬における生体内酸素運搬能の検討－. 日外会誌 94:966-76, 1993.
12. Kobayashi K, Kakizaki T, Komatsu T, Nishide H, Tsuchida E. Two types of totally artificial red blood cell substitutes. Liposome embedded heme (L/H) and lipidheme/microsphere (LHM). Artif. Cells Blood Substitutes Immob Biotechnol 22:895-911, 1994.

原著

PFCを使用した液一液型人工肺の試作

和田誠之^a, 末田泰二郎^a, 福永信太郎^a, 村上博宣^a, 岡田浩佑^b
梶原博毅^b, 松浦雄一郎^a

Experimental evaluation of liquid-liquid type artificial lungs using perfluorochemical

Seishi Wada^a, Taijiro Sueda^a, Shintaro Fukunaga^a, Hironobu Murakami^a, Kousuke Okada^b
Hiroki Kajihara^b, Yuichiro Matsuura^a

優れた酸素運搬体で高比重、疎水性のPerfluorochemical (PFC; FC75)を用いて、3種類の液一液型人工肺装置を試作し実験的検討を行った。1) 液一滴型人工肺：PFCを静脈血内に直接導き酸素加し、その後比重差で分離して酸素加血のみを送血する人工肺で、酸素加能は優れていたが(血液流量Q = 300 ml/minにて酸素添加能Qp/Qt = 0.72-0.78, 炭酸ガス排出能 $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.06-0.14$)、血液とPFCの分離が不十分な欠点があった。2) 回転円盤液層人工肺：円筒内をPFCと血液が層層で流れ、回転円盤が回転して血液を酸素加する。酸素加能と炭酸ガス排出能は十分とはいえたが(Q = 100 ml/minにてQp/Qt = 0.63-0.83, $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.13-0.15$)、PFC栓塞はできにくくなかった。3) 気泡ポンプ型人工肺：気泡ポンプの原理で血液を酸素加し、回路を循環させる。血液充填量が少なく動力源が必要な利点があつたが、炭酸ガス排出能が不十分(Q = 40 ml/min, 酸素流量2 L/minにてQp/Qt = 0.54-0.72, $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.10-0.12$)で酸素加血中に僅かにPFCの混入を認めた。

The authors devised three liquid-liquid artificial lung in which blood is directly oxygenated with oxygenated perfluorochemical (PFC; FC75), a substance harmless to the blood. 1) In the droplet type artificial lung, blood is oxygenated by the infusion of PFC droplets into the blood oxygenating chamber; PFC is then spontaneously separated from blood because of a difference in specific gravity. Experimental results obtained using mongrel dogs indicated this artificial lung to have a high efficacy of oxygenation and moderate efficacy of carbon dioxide removal ($Qp/Qt = 0.72-0.78$, $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.06-0.14$, with blood flow of 300 ml/min). Pathological examination showed microthrombi containing PFC in the lung and liver. 2) The disc type artificial lung is composed of a cylinder and 18 rotors connected to an axle. The rotation of the disk causes blood and PFC to contact. Experimental results showed high efficacy of oxygenation and moderate efficacy of carbon dioxide removal ($Qp/Qt = 0.63-0.83$, $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.13-0.15$, with blood flow of 100 ml/min). Pathological examination showed no deposition of PFC in the capillaries of the lungs or liver. 3) The air lift pump artificial lung is devised using the principle of air lift pump works. This type has advantages, such as simple structure, no motor, a small priming volume. Experimental results showed that good efficacy of oxygenation and moderate efficacy of carbon dioxide removal ($Qp/Qt = 0.54-0.72$, $\Delta CO_2/PaCO_2 = 0.10-0.12$, at a blood flow of 40 ml/min and an oxygen flow of 2 L/min). —Key Words: Perfluorochemical, Artificial lung, Oxygenator, Air lift pump.

1. 緒言

PFC (perfluorochemical) は、人工赤血球の原材料として用いられ、常温で高比重、疎水性で大量の酸素を溶存させることができる液体である。我々はこれらの特性に着目し、PFCをガス交換媒体として用いた人工肺装置を試作しその性能を検討した。人工肺装置は、酸素加したPFCを直接血液と接触させ赤血球とのガス交換を行わせた後、比重差によりPFCと血液を分離する方法で改良

を重ねて現在までに3タイプの装置を試作している。

製作年代順に、それぞれ1) 液一滴型人工肺、2) 回転円盤液層人工肺、3) 気泡ポンプ型人工肺、と名付け実験的検討を行った。

2. 実験

2.1. 液一滴型人工肺

対象と方法

PFCとしては、沸点102°C、比重1.77(25°C)、動粘度0.8 cSt (25°C)、酸素溶解能40 ml/100 ml(25°C)のFC-75(住友3M社製)を使用した。実験動物は体重8-8.5 kgの雑種成犬を用いた。

^a広島大学医学部第一外科、^b保健学科、〒734 広島市南区霞1-2-3、^aFirst Department of Surgery、^bInstitute of Health Sciences, Hiroshima University, School of Medicine, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan.

液一滴型人工肺は酸素加したPFCを血液槽内上部より粒状に落下させ血液との直接接触によるガス交換を行わせ、比重差で分離した上層の血液のみを生体に送血し、PFCは再び酸素加槽に送られ酸素添加と炭酸ガス排出を行い回路内を循環させる構造である(Fig. 1)¹⁾。雑種成犬を用いた性能試験を行い酸素添加能(Q_p/Q_t)および炭酸ガス排出能($\Delta CO_2/PaCO_2$)を算出した。これら換気特性の算出には循環器病センター方式²⁾を用いた。90分間の体外循環を行い、PFC側ポンプ流量を300 ml/minに固定し、血液流量(Q)を300 ml/minと450 ml/minの条件下で比較した。試作した人工肺では、回路内血液充填量800 ml、PFC充填量700 mlを必要とした。また、性能試験後に実験犬は犠牲死させ、肺および肝の光学顕微鏡による病理学的検討を加えた。

結果

Q_p/Q_t は $Q = 450 \text{ ml/min}$ で0.64-0.68、 $Q = 300 \text{ ml/min}$ で0.72-0.78と有効な酸素加を得られたが、炭酸ガス排出能はそれぞれ0.04-0.09および0.06-0.14と充分ではなかった。

病理学的検討では肺動脈内にPFC塞栓によると考えられる血管内腔拡張像を認め、肝動脈、門脈内にも同様に血管内塞栓と臓器虚血所見を認めた。

2.2. 回転円盤液層人工肺

対象と方法

回転円盤液層人工肺は、PFCと血液の接触面積の増大と血液中のPFCの混入を防止する目的で試作した。直径7.4 cm、長さ18.4 cm、容量700 mlの塩化ビニール製の円筒内に直径5 cm、厚さ2 mmの円盤が18枚入った構造で、上部と下部に血液とPFCの流入口と流出口がある。回転円盤は心棒でつながっており心棒を低速モーターで回転させて血液と酸素加PFCを接触させた(Fig. 2)³⁾。PFCとしてはFC-75を使用した。

実験動物として体重8-8.5 kgの雑種成犬を用いて性能試験を行なった。120分間の体外循環を行い、PFC側ポンプ流量を100 ml/minに固定し、血液流量(Q)を100 ml/min、200 ml/min、300 ml/minに変化させ前記と同様に血液ガスパラメーターの算出と病理学的検討を行った。

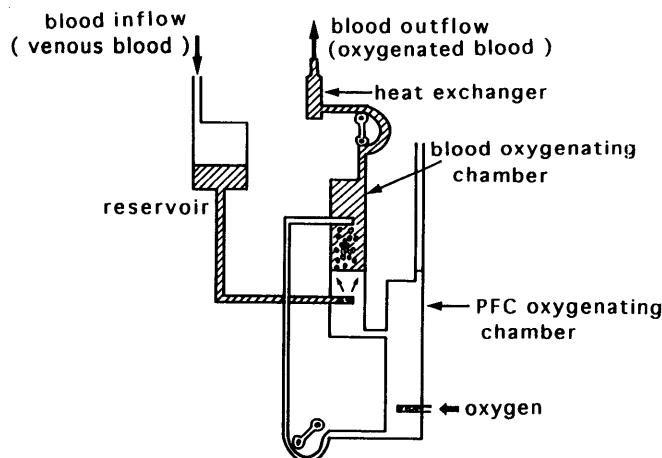


Fig. 1. Structure of the droplet type artificial lung.

結果

Q_p/Q_t は $Q = 100 \text{ ml/min}$ で0.63-0.83、 $Q = 200 \text{ ml/min}$ で0.53-0.66、 $Q = 300 \text{ ml/min}$ で0.48-0.51と血液流量を増加させると酸素添加能は低下したが $Q = 100 \text{ ml/min}$ では有効な酸素添加能が得られた。炭酸ガス排出能は $Q = 100 \text{ ml/min}$ で0.13-0.15、 $Q = 200 \text{ ml/min}$ で0.08-0.12、 $Q = 300 \text{ ml/min}$ で0.05-0.08であった。

病理学的検討では肺動脈、肝動脈、門脈内にPFCの混入、血管閉塞による臓器虚血所見は認められず正常構造を保っていた。

2.3. 気泡ポンプ型人工肺

対象と方法

上記の人工肺は血流ポンプの他にPFC循環用のポンプを必要とし、血液とPFCの流量の調節が必要であった。この煩わしさを回避する目的で気泡型人工肺を試作した。人工肺は、連結した二重管内にPFCを充填してA管下端より酸素を流す。すると酸素気泡とPFCが混ざり合い比重の小さい気泡混合液体をつくり、B管内のPFCとの比重差で浮き上がって上方の連結部分を通してA管からB管内に流入する。PFCは気泡ポンプの原理により動力源を必要とせずに酸素加され循環回路をつくる(Fig. 3)⁴⁾。このB管内に血液を導きPFCとガス交換を行い比重差で分離した上層の血液を血液注入側と同じ流量で吸い上げて管内の血液レベルを一定に保った。PFCとしてはFC-75を使用し、性能試験は体重8 kgの雑種成犬を用いた。

血液流量(Q)を40 ml/min、50 ml/min、60 ml/minに変化させ比較した。また予備実験を行い、血液充填量20 ml、PFC充填量130 ml、酸素流量2 L/minで揚程2 cmが得られ、この設定で性能試験を行った。前記と同様に血液ガスパラメーターの算出を行った。

結果

血液流量(Q)を40、50、60 ml/minに変化させると Q_p/Q_t はそれぞれ0.54-0.72、0.44-0.65、0.42-0.60に変化し有効な酸素添加能が得られた。炭酸ガス排出能は40 ml/minで0.10-0.12、50 ml/minで

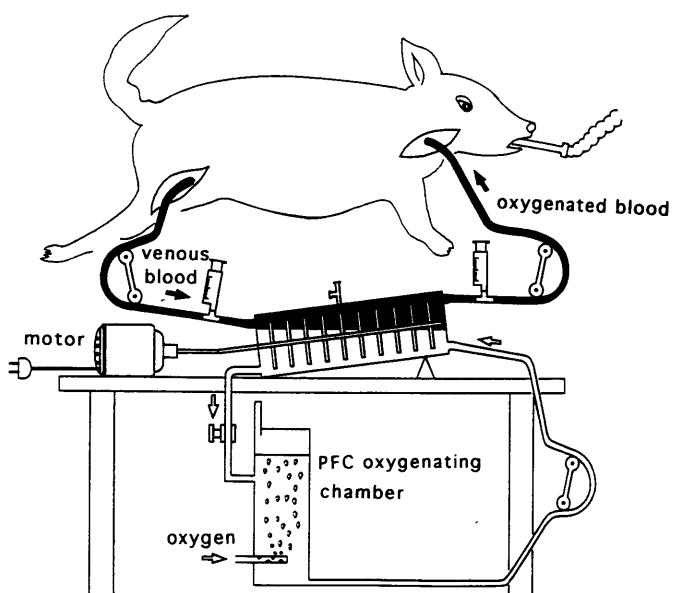


Fig. 2. Structure of the disc type artificial lung.

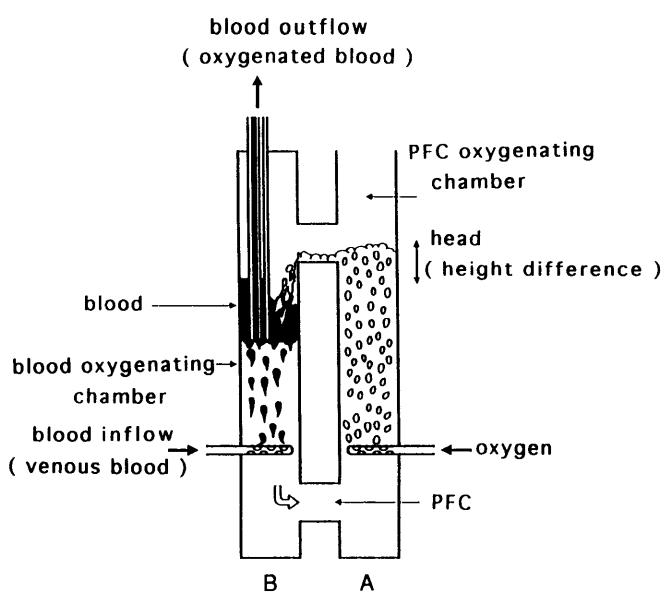


Fig. 3. Structure of the air lift pump artificial lung.

0.08-0.11, 60 ml/minで0.06-0.08で、効果は不充分と考えられた。また、酸素加された血液のなかに僅かにPFCの混入が認められた。

3. 考察

現在臨床において使われている人工肺は気泡型と膜型人工肺の2種類に分けられる。気泡型人工肺では血液が酸素気泡と直接接觸し、血漿蛋白の変質と破壊、溶血が問題とされる。膜型人工肺では血球への障害は少ないが、長時間の膜と血液の接觸により膜面へ血漿成分が付着し目詰まりを生じたり、膜面より血漿の漏出を生じたりして酸素加能は低下していく。そこで我々は、PFCが血液に不溶性、biochemical inert、高比重で酸素を大量に溶存さ

せることができる特性に着目し、PFCをガス交換媒体として用いることにより血液と酸素気泡を直接接觸させることなく、膜を使わない人工肺の開発を試みた。製作年代順に1)液一滴型人工肺、2)回転円盤液層人工肺、3)気泡ポンプ型人工肺と名付け実験的検討を行った。1)液一滴型人工肺では酸素加能は満足できたが、PFC循環回路内にポンプが必要なため装置が複雑で回路内の充填血液およびPFC量は多量に必要であり、PFCと血流レベルの細かい調節が必要であった。またPFCが血中に混入し臓器障害を生じる問題点があった。2)回転円盤液層人工肺では回路充填量を液一滴型の半量にでき、PFCと血液の分離も良好となったが、PFCと血流の細かなバランス調節や動力源、ポンプを多く必要とする装置は更に複雑なものとなってしまった。3)気泡ポンプ型人工肺においてはPFC循環回路内にポンプが必要ないため装置は簡略化され、血液20 ml、PFC130 ml量と充填量は充分に小さくできたが、試作した装置では血液側にPFCが僅かに混入する問題が生じた。

以上、新しい発想と工夫によりPFCを利用した人工肺開発に取り組んでいるが、未だに満足できるものは得られておらず、ひとつの問題を補うための改良は新たな問題を生じる結果になっている。しかし我々はこれからも臨床応用の可能な、PFCを利用した液一滴型人工肺の研究を続けていきたいと考えている。

参考文献

1. 末田泰二郎、福永信太郎、中島康、浜中喜晴、石原浩、松浦雄一郎. 液一滴型人工肺の試作. 人工臓器 1990;19:464-7.
2. 木下正之、梅津光生、田中隆、中谷武嗣、野田裕之、福田幸人、高野久輝、阿久津哲造. 新しい膜型人工肺のガス交換能の検討－灌流方式の相違を中心に. 人工臓器 1987;16:666-8.
3. Sueda T, Fukunaga S, Matsuura Y, Kajihara H. Evaluation of two new liquid-liquid oxygenators. ASAIO J 1993; 39:923-8.
4. Sueda T, Fukunaga S, Mitsui N, Matsuura Y. Development of an air lift pump oxygenator. ASAIO J 1993; 39:M725-8.

原著

Methemoglobin還元機構を有した人工赤血球 (NRC)の開発

緒方嘉貴, 岡本武, 鈴木一比好, 上谷利治

The development of the Neo Red Cells (NRC) with enzymatic reduction system of the methemoglobin

Yoshitaka Ogata, Takeshi Okamoto, Kazuhiko Suzuki, Toshiharu Kamitani

我々は、赤血球の糖代謝経路であるEmbden-Meyerhof pathwayに着目し、これらの酵素活性を維持したstroma-free hemoglobinを調製し、これに基質、補酵素としてNAD, glucose, adenine, inosine, phosphoenolpyruvate等を添加することで、嫌気的糖代謝系の作動を確認した。その結果、產生したNADHを利用することでNRCのmethemoglobin変性（メト化）の防止が可能となり、かつNRC中において2,3-diphosphoglycerateを再生することで、酸素親和性の調整にも成功した。

In order to use the Embden-Meyerhof pathway of erythrocyte effectively, stroma-free hemoglobin was prepared from outdated human red blood cells and encapsulated by liposomes together with NAD as the coenzyme and glucose, adenine, inosine and phosphoenolpyruvate as the substrates without damage to the enzymes. The adeninetriphosphate and 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) are formed within NRCs, then we confirmed the motion of the enzymatic system within NRCs. The NRC with an enzymatic reduction system restrained successfully the formation of methemoglobin by using the NADH produced in the anaerobic metabolic pathway of glucose. The ability of oxygen transport was improved by regeneration of 2,3-DPG within NRC. – Key Words: Blood substitute, Methemoglobin, Liposome, Enzymatic reduction system, Artificial red cell.

1. 緒言

厚生省を通じて日本赤十字社より入手した期限切れ濃厚赤血球製剤より、赤血球膜除去hemoglobin (stroma-free hemoglobin: SFH)を調製、濃縮した後、リポソームによりカプセル化し人工赤血球 (Neo Red Cell: NRC)として開発を進めている。

天然赤血球から単離したhemoglobinをベースとした赤血球代替物の研究開発が盛んに行われている¹⁻⁷⁾。しかしhemoglobinを用いた酸素運搬体はhemoglobinの酸化という共通の問題点を持っている。天然の赤血球では内部に還元機構を有するため酸化したhemoglobin (methemoglobin)は常に1%以下に抑えられている。しかし還元酵素系の一部が欠落した先天性methemoglobin血症患者ではmethemoglobinの含量が10~30%にも及ぶことがわかっており、還元機構が一部欠落した場合でも天然の赤血球において1日に3%程度のmethemoglobinが生成していると言われている。methemoglobin還元のため生体中において酵素的に働くものとしてNADH-cytochrome b₅還元酵素、NADPH-flavin還元酵素、また非酵素的に還元するものとして還元型glutathione, ascorbic acid等が知られている。我々は、今までに還元型glutathione, ascorbic acidだけでなく120種類以上に及ぶ非酵素的な還元及びラジカルスカベンジャーによるメト化抑制を試みたが、そのすべてが持続時間が短いか、全く効果がなかった。そこでmethemoglobinの還元

機構の本体であるNADH-cytochrome b₅還元酵素系に着目し、赤血球中に一部残っているKrebs回路の酵素であるmalate dehydrogenaseあるいはfumarazeを活かし⁸⁾、malateあるいはfumaric acidを添加し、NADをNADHに還元することでNRCのmethemoglobinの抑制に成功した。しかし、malateを用いた酵素系ではその持続時間が12時間程度であり充分ではなかった。そこで少なくとも24時間以上にわたり効果的にメト化を防止できる方法をさらに検討した。本報告では本来の赤血球の糖代謝系(Embden-Meyerhof pathway)に着目し、これらの酵素活性を維持したSFHを調製し、これに基質及び補酵素としてNAD, glucose, adenine, inosine等を添加しNRCを調製することで、NRC中において嫌気的糖代謝系を作動させることに成功し、さらにNRCのメト化の抑制に成功したのでここに報告する。

2. 方法

2.1. NRCの調製

赤血球膜除去hemoglobin溶液(SFH)の調製

濃厚赤血球製剤15 Lを、連続遠心機を用いて生理食塩水で洗浄し、混在する血漿成分及び血小板、白血球等のバフィーコート成分を除去した洗浄赤血球を得た。この洗浄赤血球5Lに対して純水10 Lを添加し溶血させた。孔径0.45 μmの血漿分離器(プラズマフロー、旭メディカル)及び分画分子量30万(孔径5 nm)のフィル

テルモ(株), 〒259-01 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500, R&D Center
TERUMO Corp., 1500 Inokuchi, Nakai-machi, Ashigarakami-gun, Kanagawa
259-01, Japan.

ター(ミリポア)を用いて赤血球膜成分を除去し、更に0.2 μmフィルターにより滅菌し、hemoglobin濃度8% (w/v)のSFH溶液12 Lを回収した。得られたSFH溶液はsodium bicarbonateを添加しpHを7.4に調整した後、ホローファイバー型ダイアライザー(CL-C8N、テルモ)を用いて純水に対して透析を行った後、限外濾過により濃縮し、hemoglobin濃度50% (w/v)の濃縮SFH溶液1.8 Lを得た。

上述の工程を経て調製した濃縮SFH溶液200 mlに対してβ-NAD (1 mM, 133 mg), D-glucose (100 mM, 3.6 g), adenine (2 mM, 54 mg), inosine (5 mM, 268 mg), MgCl₂·6H₂O (1 mM, 40 mg), KH₂PO₄ (9 mM, 247 mg), Na₂HPO₄ (11 mM, 310 mg)を添加し均一になるように混合した。

濃縮SFH溶液のリポソーム化

水素添加率90%以上の精製大豆由来phosphatidylcholine (HSPC), cholesterol (Chol), myristic acid (MA), tocopherol (Toc)の均一混合粉末 [HSPE:Chol:MA:Toc = 7:7:2:0.28] 45gに45mlの純水を加え、60~70°Cに加温し膨潤させた。この膨潤脂質に調製したSFHを加え15秒間攪拌混合した。この脂質-濃縮SFH混合液をマイクロフリュイダイザー (Microfluidizer 110Y, Microfluidics co.) を用いて、氷冷下12,000 psi (約844 kg/cm²)の圧力でリポソーム化した。

上記の処理液に対して、等量のdextran加生理食塩水(3% (w/v))を加え、遠心分離 (10,000 rpm (13,000 g) × 30 min, 4°C)を行った。効率良くhemoglobinを含有したリポソームは、この遠心処理により沈殿物として回収された。リポソーム化されなかった遊離hemoglobin及び原料脂質を含む上澄はデカンテーションにより除去した。以上の洗浄操作を3回繰り返した後、0.45 μmのデュラボアメンブランフィルター (Minitan system, ミリポア)を用いて濾過し、懸濁液中に混在する粗大粒子を除去した後、0.2 μmフィルターにより滅菌した。濾液をホローファイバー型ダイアライザー(CL-C8N)により限外濾過、濃縮しhemoglobin濃度5% (w/v)の精製NRC 900 mlを得た。

なお、調製の各工程は冷蔵状態(4°C)に維持し、無菌的環境で実施した。また、試薬・器具類は滅菌処理を行い、重金属イオン・無機イオン等の残留の無い無菌的超純水 (<15meg Ω°C·cm at 25°C, パイロジェンフリー)を調製に使用した。

2.2. hemoglobin酸化の測定

hemoglobin濃度が5% (w/v)のNRC2 mlを、マウス尾静脈より投与し24時間後に腹部大動脈より血液を採取し下記の方法で酸化率を算出した。

heparin添加全血に8~10倍容の純水を添加、攪拌し赤血球を溶血後、18,000rpmで30分間(4°C)高速遠心を行いNRCを沈殿物として回収した。この操作を3回繰り返し、完全に血液成分を洗浄除去した。得られた試料に10% (w/v) Triton X100-HEPES緩衝液 (0.5 M, pH 7.4) 2 mlを加え攪拌後、さらにフレオン2 mlを添加し約1分間攪拌した。この溶液を3,000rpmで15分間遠心処理し、上清1.8 mlに対しHEPES緩衝液 (0.5 M, pH 7.4)を1 ml加えて調製した溶液の可視領域 (700 nm~460 nm)における吸収スペクトルを測定し、酸化率を算出した。またこの方法によるhemoglobinの変性

は1%以下であることを確認している。

2.3. ATP, lactate, 2,3-DPGの測定

ATP-SFH 10 mlを37°Cにてインキュベート、経時的に0.2 ml採取し、これに2 mlの6 N perchloric acidを加え除蛋白した後、sodium carbonateで中和した。この除蛋白した溶液をODSカラム (ODS-1301-N, センシュウ科学)を用いた高速液体クロマトグラフィーによりATP量の定量を行った。また、NRC中のATP量はNRC 0.5 mlに10% (w/v) Triton X100-HEPES緩衝液 (0.5 M, pH 7.4) 2 mlを加え攪拌後、さらにフレオン2 mlを添加し約1分間攪拌した。この溶液を3,000rpmで15分間遠心処理し、上清1.8 mlを分画分子量5000の限外濾過膜にて除蛋白した後同様の方法でATP量を測定した。

Lactate—上記除蛋白した溶液をラクテートテスト「BMY」(ベー

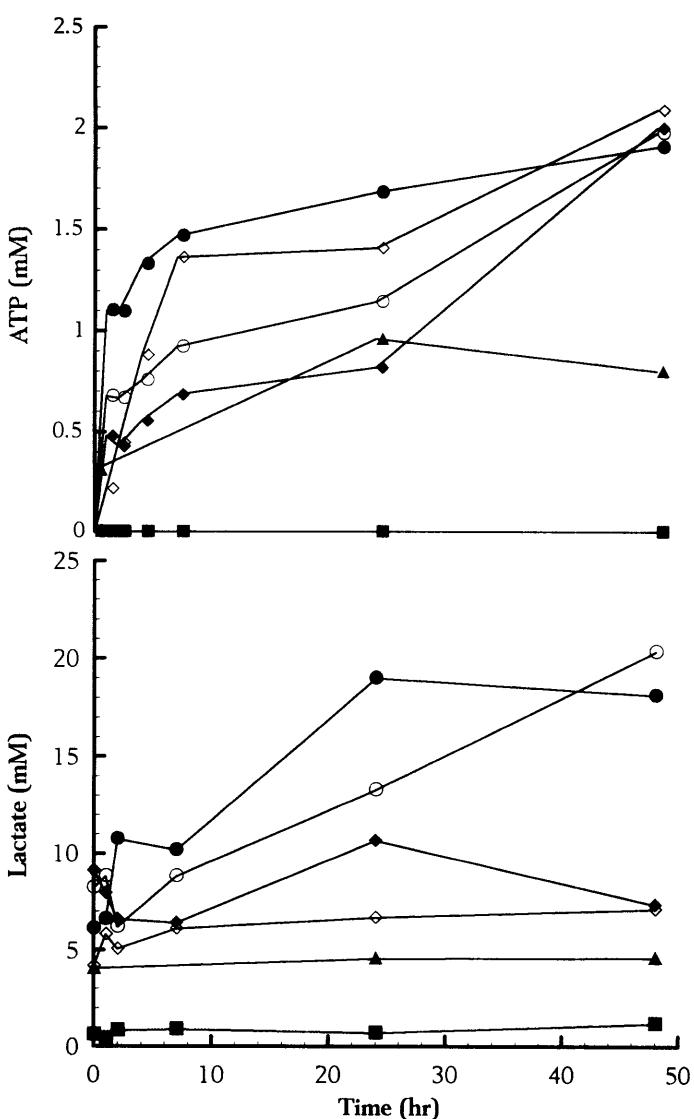


Fig. 1. Changes of ATP and lactate of SFH and NRC at 37°C.
■, SFH control; ○, SFH with glucose(GL); ◆, SFH with AD; ▲, SFH with IN; ◇, SFH with PEP (5 mM); ◇, SFH with GL, AD and IN; ◉, SFH with GL, AD, IN and PEP (20 mM); ●, SFH with GL, AD and IN; ▲, NRC with GL, AD and IN.

リンガーマンハイム)によりlactate濃度を測定した。NRC中のlactate量も上記と同様に測定した。2,3-DPG—上記除蛋白した溶液を2,3-DPGテスト「BMY」(ベーリンガーマンハイム)により2,3-DPG濃度を測定した。NRC中の2,3-DPG量も上記と同様に測定した。

2.4. 酸素親和性(P_{50})の測定

NRCをhemoglobin濃度0.05% (w/v)になるようにpH 7.4 (37°C, pCO₂: 40 Torr)のリン酸緩衝液に懸濁し、37°Cにて1時間インキュベートした後、酸素分圧を300 Torr～0 Torr (pCO₂: 40 Torr)まで変化させその時の吸収スペクトルを測定し酸素飽和度及び酸素親和性(酸素飽和度50%時の酸素分圧: P_{50})および酸素運搬効率(肺の酸素分圧を100 Torr、混合静脈血の酸素分圧を40 Torrとしたときの酸素運搬を行っているhemoglobinの割合: OTE)を算出した。

3. 結果及び考察

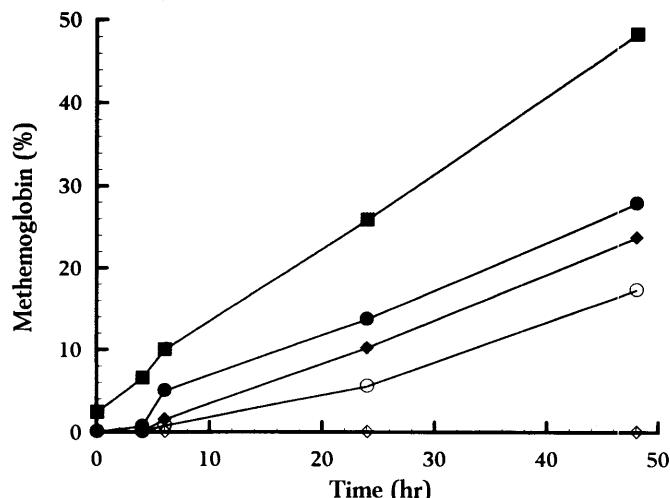


Fig. 2. Methemoglobin formation of NRC *in vitro* at 37°C.

■, NRC control; ○, NRC with NAD, glucose(GL), adenine(AD) and inosine(IN); ●, NRC with NAD, GL and ATP; ◆, NRC with NAD, GL, AD, IN and PEP; ◇, SFH with NAD, GL, AD and IN.

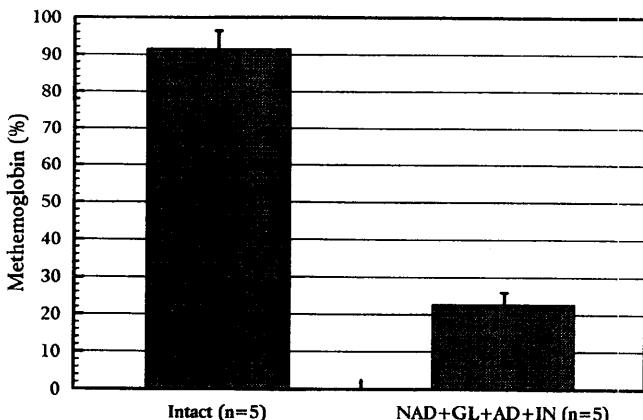


Fig. 3 Methemoglobin formation of NRC at 24 hours after injection in mice. Mean±SD.

赤血球中における嫌気的解糖経路(Embden-Meyerhof pathway)の第一段階はglucoseが2分子のATPを利用することにより、2分子のglyceraldehydeを生成する段階である。すなわち解糖系を動作させる必須条件はglucose及びATPの存在である。つまり酵素活性を有したSFHに対してglucose及びATPを添加することで解糖系の第一段階を動作させることが可能であるが、しかし高エネルギーリン酸であるATPは分解を受けやすく、ATPが分解してAMPとなった場合ATPは赤血球中においては再合成されない。そこで長期保存した赤血球中のATPを増加させる血液保存液成分として知られるinosine, adenine, phosphoenolpyruvate(PEP)等をglucoseと共にSFHに添加しATP産生系をSFHに付与する試みを行った。これらをSFHに添加し37°Cにてインキュベートした後のATP濃度を測定した(Fig. 1)。その結果、inosine, adenine及びPEPを添加したSFH中においてはATP含量の増加が観察され、その量は48時間以上にわたり維持されていた。また、ATP濃度の立ち上がりはglucose, adenine, inosine系が最も良かった。NRC中のATP濃度も若干低めではあるが同様に保たれていた。Embden-Meyerhof pathwayの第二段階では、glyceraldehyde 3-phosphateが2分子のlactateとなる過程において2分子のATPが作られ、2分子のNADがNADHとなり、このNADHはpyruvic acidの還元反応に利用される。つまりlactateの生成はこのEmbden-Meyerhof pathwayの作動の結果起こっていると考えられる。そこで、上記ATPと同様の系におけるlactateの生成量を測定した(Fig. 1)。Lactateはなにも添加しないSFH以外すべてで検出され、Embden-Meyerhof pathwayの作動が確認された。

つまり、酵素活性を有したSFHに対してglucose, NAD, adenine, inosineを添加することでSFH中あるいはNRC中においてEmbden-Meyerhof pathwayを作動させ、その結果生成したNADHを利用してmethemoglobin還元酵素系を作動させ

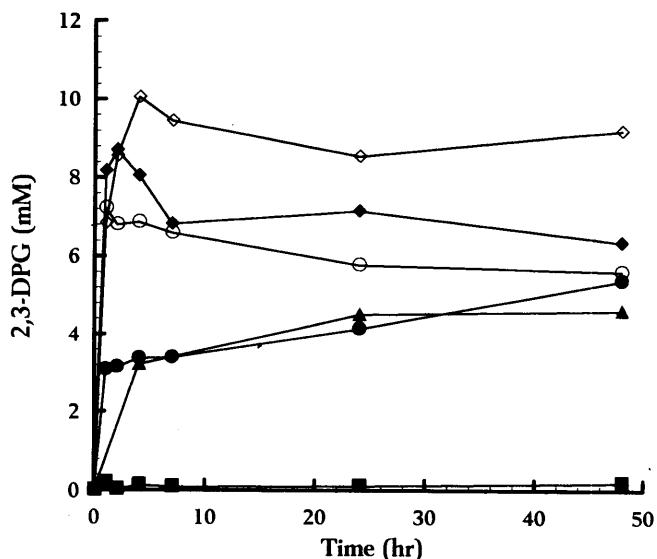


Fig. 4. Changes in 2,3-DPG of SFH and NRC at 37°C.
■, SFH control; ○, SFH with glucose(GL), adenine(AD), inosine(IN) and PEP(5 mM); ◇, SFH with GL, AD, IN and PEP(20 mM); ●, SFH with GL, AD and IN; ◆, SFH with GL, AD, IN and PEP(10 mM); ▲, NRC with GL, AD and IN.

methemoglobinの還元を起こすことが可能となった。Fig. 2にこの還元系を組み込んだNRCのin vitroにおけるmethemoglobinの生成率を示した。この結果、glucose, NAD, adenine, inosineを添加したNRCが最もmethemoglobinの生成が少ないことがわかった。しかし、SFHに対してglucose, NAD, adenine, inosineを添加した場合では48時間以上にわたりmethemoglobinの生成が見られないことからNRCにおいては調製過程において酵素系の活性の低下あるいはなんらかの抑制があるものと考えられた。次に、従来型のNRC投与24時間後において90%以上のmethemoglobinの生成を示す、マウス単回投与系においてこの還元系組み込みNRCのmethemoglobin生成を調べたところ、5例の平均で22%のmethemoglobinの生成に抑えることに成功した(Fig. 3)。また、従来型のNRCでは4°C保存中におけるメト化の進行(1~2%/month)が保存期間(1年)に大きく影響していたが、この還元機構を有したNRCでは現時点において3ヶ月以上にわたり全くメト化が進行しないことを確認している。

Embden-Meyerhof pathwayにはRapoport Luebering Cycleと呼ばれる側路があり、そこで生成する2,3-DPGが赤血球の酸素運搬の調整に大きな役割を果たしているのは周知の事実である。しか

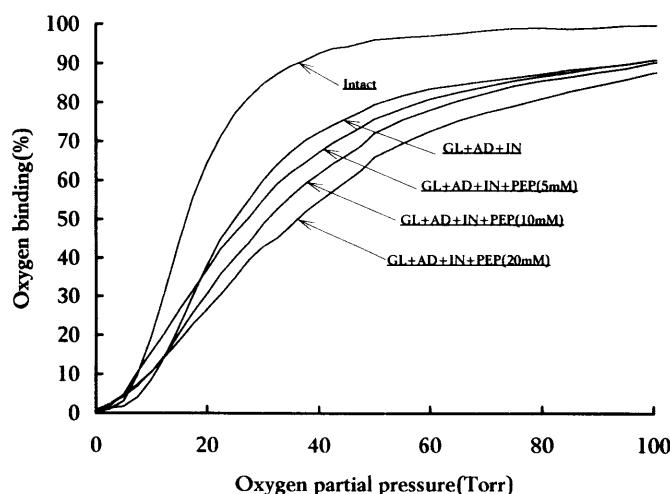


Fig. 5. The effect of PEP on oxygen binding property by NRC.

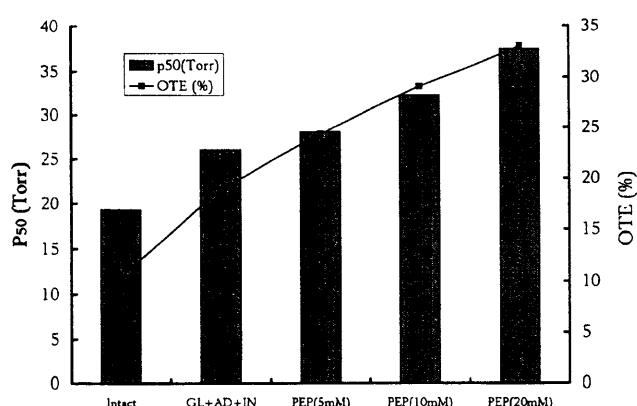


Fig. 6. The effects of PEP on P_{50} and OTE by NRC.

し、期限切れの赤血球あるいはSFHにはこの2,3-DPGがほとんど存在しないことがわかっている。そのためhemoglobinベースの人工酸素運搬体ではその酸素親和性を下げ、有効な酸素運搬を行わせる工夫が必須となっている。しかし、単純に2,3-DPGを添加しても安定性の面などから実用化は難しかった。そこで我々は、Embden-Meyerhof pathwayの作動とともにRapoport Luebering Cycleの作動確認を2,3-DPG量の測定から行った(Fig. 4)。その結果、37°Cでインキュベートすることで明らかに2,3-DPGが生成しており、Rapoport Luebering Cycleの作動を確認した。さらに2,3-DPG濃度はPEPの添加量を増大させることで増加することがわかった。つまり、Embden-Meyerhof pathwayではPEPから上では可逆的であるためPEPの濃度を増加させることで逆反応が起こり、2,3-DPGの生成量の増加が起こっていると考えられる。これらの添加系のNRCの酸素解離曲線をFig. 5に示した。2,3-DPGの生成量に伴って酸素解離曲線の右方変移つまり酸素親和性の低下が起こっていることがわかる。この時のそれぞれの酸素親和性(P_{50})、酸素運搬効率(OTE)はFig. 6に示す通りであった。ここからPEPの添加量を調整することでNRCの酸素運搬能を調整可能であることがわかった。

またこの様な右方変移はpHの低下によっても観察されることが知られている。つまりNRC中において代謝の進行により生成したlactateはpHの低下を引き起こし、その結果としてさらに酸素解離曲線が右方変移する可能性が示唆されるが、24時間、37°Cにてインキュベートした後のNRCの P_{50} に大きな変化は見られなかった。これはNRC中にリン酸緩衝液を20 mM添加していること、さらにSFH濃度が7 mMと高いことでかなりの緩衝効果を有しているので大きなpH変化が起こらないためと考えられる。

4.まとめ

赤血球中に存在する嫌気的解糖系酵素を失活させることなくSFHを調製、glucose, NAD, adenine, inosineと共にリポソーム化することによりNRC中においてEmbden-Meyerhof pathwayおよびRapoport Luebering Cycleの作動を確認し、その結果としてNADH-cytochrome b₅還元酵素系によるNRCのmethemoglobinの抑制と、2,3-DPGの生成による酸素親和性の調整に成功し、より天然の赤血球に近い人工赤血球の開発に成功した。今後、この還元機構を有するNRCのメト化抑制効果の向上、保存安定性の確認、量産化、安全性試験を順次行っていく予定である。

参考文献

- Djordjevich L, Miller IF. Synthetic erythrocytes from lipid encapsulated hemoglobin. *Exp Hemat* 1980;8:584-92.
- Snyder S, Welty E, Walder R, Williams L, Walder J. HbXL99: A hemoglobin derivative that is cross-linked between the subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:7280-4.
- Matsushita Y, Eshima K, Shindo T, Yamamoto Y, Hasegawa E, Nishide H, Tsuchida E. Clearance and tissue distribution of functionalized polymeric liposomes from the blood stream of rats. *Biochim Biophys Acta* 1987;901:166-77.
- Sakai H, Takeoka S, Seino Y, Tsuchida E. Suppression of

- methemoglobin formation by glutathione in a concentrated hemoglobin solution and in a hemoglobin-vesicle. Bull Chem Soc Jpn 1994;67:1120-5.
5. Rabinovici R, Rudolph A, Ligler F, Smith E, Feuerstein G. Circ Shock 1992;37:124-33
 6. Spring A, Rabinovici R. Liposome encapsulated hemoglobin: a potential artificial blood substitute. Drugs of the Future 1993;18: 249-53.
 7. Ogata Y, Goto H, Sakaguchi K, Suzuki M, Ohsaki K, Suzuki K, Kamitani T, Takahashi A. Characteristics of Neo Red Cells, their function and safety: in vivo studies. Biomater Artif cells Immobilization Biotechnol (in press).
 8. 浅倉稔生, 水上茂樹. メトヘモグロビン還元機構. In: 中川春寿, 中尾喜久編. 血液の生化学 -基礎と臨床- 東京: 朝倉書店 1969; 322-36.

ツムラは、ツムラ漢方製剤エキス顆粒(医療用)128品目+3品目により、高齢化社会の深まりつつある現実の治療に貢献しつつ、漢方製剤の科学的な実証を通して、21世紀に至る長寿社会の治療手段としての役割をはたしていきたいと願っております。

胃炎のさまざまな症状に

胃腸の弱いもので、食欲がなく、みぞおちがつかえ、疲れやすく、貧血性で手足が冷えやすい場合に



●胃排出能促進作用と胃粘膜防御作用をあわせ持ります。¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾

●複雑な病態を示す慢性胃炎などの消化器不定愁訴に有用です。⁽⁶⁾⁽⁷⁾

●胃炎の内視鏡所見に改善効果を發揮します。⁽⁷⁾⁽⁸⁾

〔文献〕 1)原澤 茂・他：消化器科 12, 215(1990) 2)須山哲次・他：Progress in Medicine 11, 507(1991)
4)坂上 博・他：Progress in Medicine 11, 497(1991) 5)佐藤 弘・他：Pharma Medica 6 増刊号, 87(1988)
7)三好秋馬・他：診断と治療 79, 789(1991) 8)竹本忠良・他：消化器科 12, 223(1990)

効能・効果

胃腸の弱いもので、食欲がなく、みぞおちがつかえ、疲れやすく、貧血性で手足が冷えやすいものの次の諸症：
胃炎、胃アトニー、胃下垂、消化不良、食欲不振、胃痛、嘔吐

用法・用量

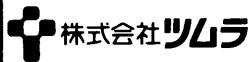
通常、成人1日7.5gを2~3回に分割し、食前又は食間に経口投与する。なお、年齢、体重、症状により適宜増減する。

使用上の注意

(1)一般的注意 1)本剤を服用後、症状の改善が認められない場合は、他の医療用漢方製剤を考慮すること。2)甘草を含有する漢方製剤を長期間投与する場合は、血清カリウム値や血圧の測定などを十分に行い、異常が認められたときは投与を中止すること。3)複数の漢方製剤を併用する場合は、含有生薬の重複に注意すること。(特に甘草を含有する漢方製剤の併用には、より注意を必要とする。) (2)副作用 電解質代謝：長期連用により低カリウム血症、血圧上昇、ナトリウム・体液の貯留、浮腫、体重の増加等の偽アルドステロン症があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止すること。また、低カリウム血症の結果としてミオパチーがあらわれるおそれがある。(3)高齢者への投与 一般に高齢者では生理機能が低下しているので減量するなど注意すること。

(以上、「使用上の注意」全文記載)

*組成、取扱い上の注意等は添付文書をご覧下さい。



資料請求
学術資料は、弊社M&R(医薬情報担当者)へ
お問い合わせください。下記住所宛て郵送下さい。
●本社・医薬事業部：〒102 東京都千代田区二番町12番地7 ☎03(3221)0001㈹

RY-043IA-1

ヘモグロビンの新しい利用法にむけて

Recent advances on the utilization of hemoglobin

友田輝夫

Akio Tomoda

ヘモグロビンは古くから最も良く研究されてきたタンパク質であり、その機能や構造についての研究は数えきれないほどある。しかしながら、ヘモグロビンの特性に基づいた医学的あるいは産業的に有効な利用方法についての研究はここ十数年前に緒についたばかりといえる。とくにヘモグロビンを利用した血液代替物の研究は医学的に重要な位置を占めつつある。一方、動物血液の大廃棄による水系環境汚染もかなりの問題となってきており、これらの血液利用法の開発が急がれる。ここでは、ヘモグロビンの特性を利用したヘモグロビンの有効利用法のいくつかについての現況を述べたい。

1. 動物血液と環境汚染

故吉川春寿教授の名著「からだと食物」（岩波新書）で1950年代の米国シカゴ市の屠殺場ユニオンストックヤードの風景が明快に述べられてある。それによると、この屠殺場における家畜の屠殺数は年1千万頭にのぼったそうである。

牛一頭からとれる血液量は牛の体重を1トンとして約60リットルと見積もられるので、当時のシカゴでは牛血液で換算して年間6億リットルの血液がミシガン湖に廃棄されていたことになる。この量は1990年の米国における石油一日生産量が12億リットルであることを考えても、膨大な数字である。現在、全世界で屠殺場で廃棄されると推測される血液量は天文学的な量であり、河川、湖沼、海洋の富栄養化の問題を考えると廃棄される血液の有効利用法の開発は重要かつ緊急な課題である。

ここで、6億リットルの牛血液に含まれる有機成分と無機成分濃度の概算は次のようになる。

- 有機化合物として：グルコース、900トン；乳酸、900トン；グルタチオン、50トン。
- 有機リン酸化合物として：ATP、50トン；ADP、10トン。
- 有機リン脂質として（2万トン）：フォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミン等。
- 無機化合物として：塩化ナトリウム、125トン；塩カリウム、7.5トン；塩化マグネシウム、5トン；無機リン酸、7.5トン。
- タンパク質として：ヘモグロビン、15万トン；その他の酵

東京医科大学生化学、〒160 東京都新宿区新宿6-1-1, Department of Biochemistry, Tokyo Medical College, 6-1-1 Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan.

素、1250トン。

これらの化合物の中でもグルコース、無機リン酸およびヘモグロビン（鉄の供給源として）は微生物の恰好な栄養分となりうる。最近問題となっている近海で頻発する赤潮も生活排水以外に廃棄血液由来の栄養分が関与している可能性が高い。

2. ヘモグロビンの有効利用法

ヘモグロビンは赤血球に大量に含まれるヘム蛋白質であり、その役割は酸素の脱着である。ヘモグロビンは配位しているヘム鉄が二価の状態では酸素、一酸化炭素を結合するが、三価の状態ではこれらのガスの結合は出来ない代わりに、シアンを強く結合する。また、著者はヘモグロビンがいくつかの芳香族化合物を特異的に代謝する機能があることを示してきたが^{1,2}、このようなヘモグロビンの作用は肝臓の代表的ヘム蛋白質であるチトクロームP450の役割に似ている。このようなヘモグロビンの機能をうまく利用すると、水系環境汚染の原因の一つと考えられる廃棄血液を大量かつ有効に利用できる。その可能性の一端を以下に述べる。

シアンの大量処理法

シアンは少量でも致死的作用をもつてるのでその取り扱いは注意を要する。シアンは産業的にはメッキ工場やIC製造工場などで大量に使用され、複雑かつ大規模な処理プラントで処理されて廃棄される。著者らはメトヘモグロビン（=三価鉄ヘモグロビン）がシアンを迅速かつ強く結合する性質をもっていることから、シアン結合性赤血球顆粒を製造した（Fig. 1）^{3,4}。この顆粒はクロムおよび有機水銀の吸着剤としても有効である。

この顆粒の製造方法は、1) ウシやブタなどの赤血球を、まず0.2%グルタルアルデヒド溶液で処理し、赤血球が水中でも溶血しないように処理する段階、2) 亜硝酸ナトリウムで赤血球内の二価鉄ヘモグロビンをメトヘモグロビンに変える段階、3) メトヘモグロビン含有赤血球を高濃度アルジン酸溶液と混合し、この混合液を0.2モル濃度の塩化カルシウム溶液に滴下して、赤血球顆粒を形成させる段階、からなる。このようにして製造されたヒトヘモグロビン含有赤血球顆粒は数ミリ大であり、シアンを含む水中に入れると瞬間にシアンを結合する。シアンを結合すると、この顆粒は茶褐色から赤褐色に変化する。

このシアン吸着性顆粒のシアン結合率はFig. 2に示した。1グラ

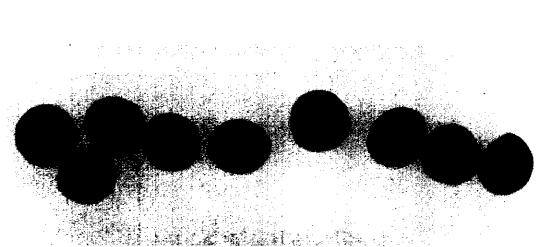


Fig. 1. メトヘモグロビン含有赤血球顆粒.

ムのシアン吸着顆粒は約5 mgのシアンを吸着出来る。このようなシアン吸着顆粒を綿の袋に大量に入れて、シアン排水の貯水プールで攪拌すると短時間で大量のシアンが吸着される。後はこの顆粒を袋ごと高温で焼却すればシアンは炭酸ガスと窒素に分解される。

また、水溶液に含まれる比較的高濃度のシアンを短時間で検定する試験紙をウシ血液を利用して製作した (Fig. 3)。また、シアンの迅速、かつ簡便な測定方法をメトヘモグロビンのシアン吸着作用と色調変化を利用して開発した⁷⁾。最近の火災では有毒なシアンが大量に放出され、シアン中毒で死亡するケースが報告されているが、メトヘモグロビン溶液、あるいはメトヘム系人工血液を輸血すると治療効果が上がると推定される。同様に二価ヘモグロビンの輸血は一酸化炭素中毒の緊急治療に有効かも知れない。

ヘモグロビンの薬物代謝機能を利用した抗生素質、制癌物質の製造

著者らはヘモグロビンの酸化還元反応と共にオルトアミノフェノール類が赤褐色のフェノキサジン化合物に代謝されることを示した^{2,4)}。オルトアミノフェノールおよびその類縁化合物はヘモグロビンを酸化、あるいはメトヘモグロビンを還元する作用があるが、その反応過程でオルトアミノフェノールおよび類縁化合物はキノイミンにまず変化し、それがもとのオルトアミノフェノールあるいは類縁化合物と2分子縮合してフェノキサジンを形成

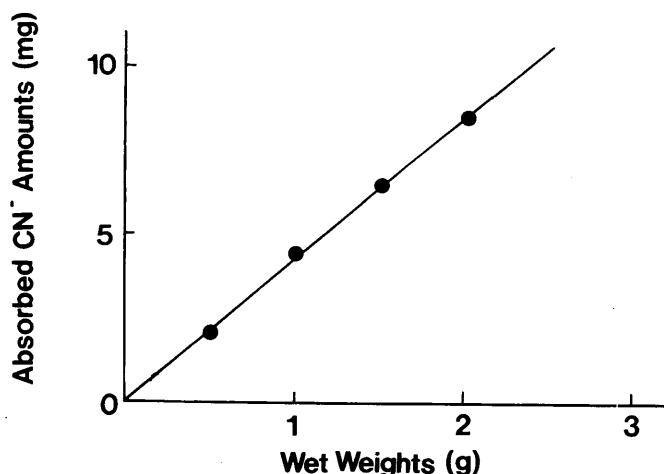


Fig. 2. メトヘモグロビン含有赤血球顆粒のシアン結合量。シアンを含む水溶液に種々の重量のメトヘモグロビン含有赤血球顆粒を加えて、1時間室温にてインキュベートした。水溶液中のシアン濃度の減少から結合量を推定した。

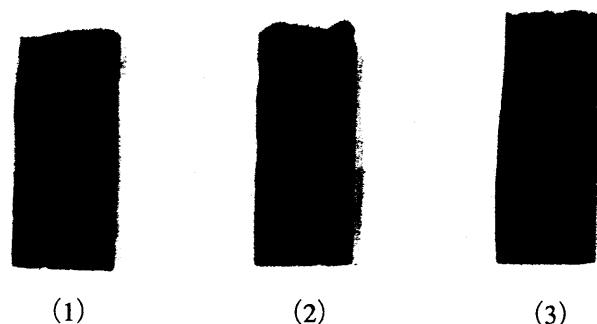


Fig. 3. メトヘモグロビン含有赤血球のシアン検定試験紙。

- (1) シアンを含まない水溶液にシアン検定試験紙を浸した。
- (2) 0.1 mg/ml H₂O濃度のシアンを含む水溶液にシアン検定試験紙を5分間浸した。
- (3) 1 mg/ml H₂O濃度のシアンを含む水溶液にシアン検定試験紙を1分間浸した。

する。著者らは動物血液から得たヘモグロビンを使用して、フェノキサジンを大量に合成することが出来た。このようにして製造されたフェノキサジン化合物はフェリシアンカリなどの酸化剤で合成されるフェノキサジン化合物とは異なり水溶性が高く、生物学的作用も異なる。

フェノキサジン化合物の代表例はアクチノマイシンDである (Fig. 4A)。この物質はActinomyces antibioticusから抽出された強力な制癌剤であるが、副作用も強いために現在ではDNA依存性RNAポリメラーゼの阻害剤として実験的に使用されるのみである。Fig. 4Bに著者らがヘモグロビン反応液より抽出、精製した2-アミノ-5-メチルフェノール由来のフェノキサジン化合物の化学構造式を示す。オルトアミノフェノールから合成された2-アミノフェノキサジンは1960年にケスチオマイシンとして示された抗結核剤である⁸⁾。現在、試験管内実験および動物実験によりこれらのフェノキサジン化合物に抗腫瘍作用があることが示ってきた⁹⁾。

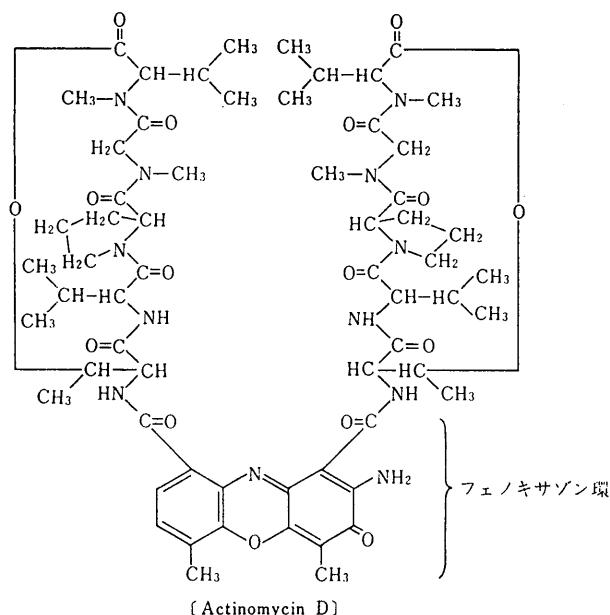
その他のヘモグロビン利用法

動物血液のヘモグロビンは大量に回収できるので、食用としても注目されている。しかしながら、ヘモグロビンからヘムを大量に分離する技術はいまのところ報告されていないことから、ヘモグロビンの食品への応用は壁に当たっているのが現状である。著者らは最近、ヘモグロビンからヘムを容易に、しかも大量に分離する技術を開発したので、別の機会に報告したい。最近、Biopure社から基礎培養地添加用超精製牛ヘモグロビンという標品が市販されており、これもウシヘモグロビンに付加価値を与えた例であろう。

3. これからの展望

赤血球には種々の有機化合物、酵素、ヘモグロビンが存在するので、現在大量に河川に廃棄されている血液は産業的にも魅力ある資源となるであろう。ヘモグロビンの応用的研究はわが国では土田らを中心として、人工血液の臨床応用で成果を挙げつつ

A



B

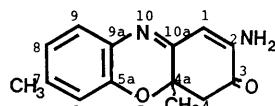


Fig. 4. アクチノマイシンDと2-アミノ-5-メチルフェノール由来のフェノキサジン化合物の化学構造式.

A: アクチノマイシンD

B: 2-アミノ-4,4 α -ジハイドロ-4 α ,7-ジメチル-3-H-フェノキサジン-3-オン

ある¹⁰⁾. ヘモグロビンの研究も人工血液の研究を含め、応用面を考える段階に入ってきたと考えられる。

謝辞

本研究の一部は旭硝子財団の研究助成金の援助を得て行なわれた。記して謝意を表したい。

参考文献

- Tomoda A, Yubisui T, Ida M, Kawachi N, Yoneyama Y. Aniline hydroxylation in human red cells. *Experientia* 1977;33:1276-7.
- Tomoda A, Yamaguchi J, Kojima H, Amemiya K, Yoneyama Y. Mechanism of o-aminophenol metabolism in human erythrocytes. *FEBS Letters* 1986;196:44-8.
- Tomoda A, Arisawa M, Koshimura S. Oxidative condensation of 2-amino-4-methylphenol to dihydrophenoxazinone compound by human hemoglobin. *J Biochem* 1991;110:1004-7.
- Tomoda A, Hamashima H, Arisawa M, Kikuchi T, Tezuka Y, Koshimura S. Phenoxazinone synthesis by human hemoglobin. *Biochim Biophys Acta* 1992;1117:306-14.
- 友田輝夫, 橋本和夫, 谷島清郎. シアン・重金属化合物吸着性顆粒の製造方法. 特許公報 (特許180086号).
- Tomoda A, Hashimoto K. The determination of cyanide in water and biological tissues by methemoglobin. *J Hazardous Materials* 1991;28:241-9.
- Tomoda A, Kawai H, Yamanaka S, Itoh H, Hashimoto K. Red cell granules: A new bio-absorbent for absorbing cyanide. 1994 (in submission).
- Anzai K, Isono K, Okkuma K, Suzuki S. The new antibiotics, Questiomycins A and B. *J Antibiot (Tokyo)* 1960;Ser.A13:125-32.
- 友田輝夫, 米山良昌, 山口宣夫, 越村三郎. ヒト赤血球によるaminophenol誘導体由来の抗腫瘍性物質の生成. 日本癌学会総会記事 1988;606.
- 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.

血液浄化技術の適応と輸血の現状

Application for blood purification and transfusion in small animal medicine

安田 準

Jun Yasuda

1.はじめに

犬や猫の小動物領域における血液浄化療法は、1970年頃に腹膜透析法の臨床応用から始まった^{1,2)}。その後20年間ほどは獣医療における唯一の血液浄化療法として、その適応症例数は多くはないものの治験例が報告されてきた^{3,4)}。1989年に泉工医科工業社製の小動物専用血液透析装置が開発された⁵⁾ (Fig. 1)。この装置は血液ポンプと10 Lの再循環式透析液槽をもち、体格の小さい犬や猫専用に膜面積が0.05, 0.1, 0.2および0.5 m²で、各々のプライミング量が8, 10, 17および39 mlとヒト用のものと比べると非常に小さいダイアライザ (Fig. 2) とプライミング量が20 mlの血液回路

が用意されている。現在までに約60台が全国の小動物診療施設に導入され、大学家畜病院では北海道大、北里大、東京農工大、日本獣医畜産大、麻布大、大阪府立大、山口大と鹿児島大で使用されている。治験例は動物血液浄化研究会（本年より獣医腎泌尿器研究会に名称変更）などで報告されているが、大学家畜病院からの報告が主で、個人診療所における利用状況の詳細は不明である。しかしながら小動物に対する血液透析法は長時間人手を必要とし、また長時間診療室を占拠することなどからルーチンに実施されているケースは少ないと思われる。このほか小動物臨床で行われている血液浄化療法としては血液濾過法があるが^{6,7)}、血液透析法よりも更に長時間を要し、保定を必要とするなど動物特有の

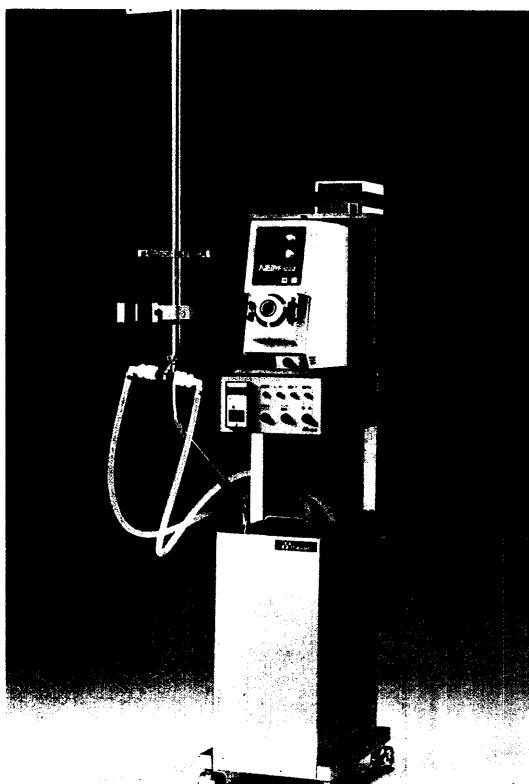


Fig.1. 小動物用血液透析装置NBM-1000.

北海道大学獣医学部家畜病院, 〒060 札幌市北区北18条西9丁目, Veterinary Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

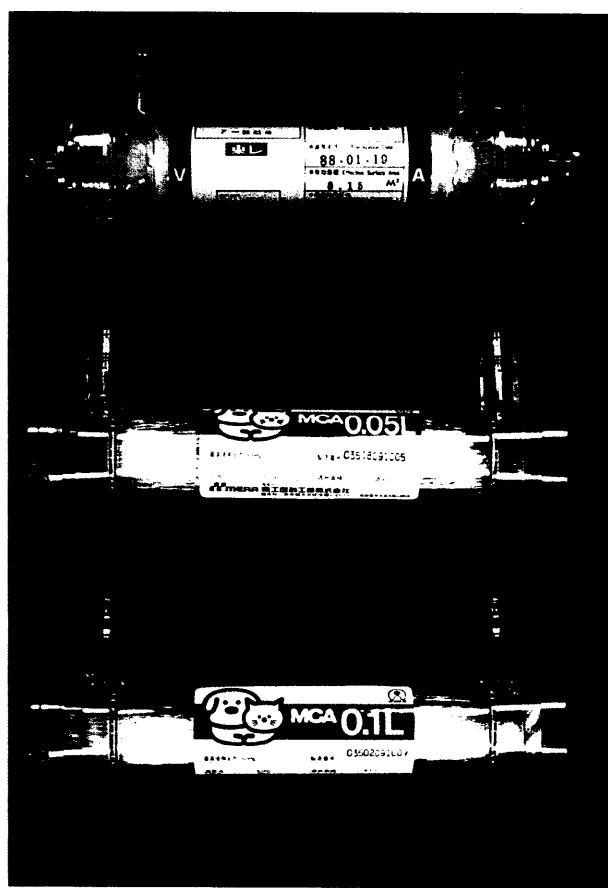


Fig.2. 小動物用ダイアライザ.

事情により一般的には普及していない。本論文では腹膜透析法と血液透析法に話題を絞り、小動物に対する手技について言及する。

2. 腹膜透析法の獣医臨床応用と問題点

ヒトでは持続的可動性腹膜透析法が在宅療法として普及してきたが、獣医療では実験例を除くと臨床例の報告は少ない⁸⁾。一方間欠的腹膜透析法は大がかりな機器を必要とせず、個人開業が多い獣医臨床でも実施可能な血液浄化療法であるが、臨床に広く使われるためには解決すべき問題点も多い。犬への臨床応用例としてこれまでに報告されている方法は、犬の腹腔内に39℃に加温した市販の腹膜透析液（ペリソリタ：清水製薬）40～60 ml/kgを腹部が張ってくるまで注入する。透析液を40～60分間腹腔内に留置した後、60～70 ml/minの速度で排液する。腹膜透析は最初の24時間で最低5～7回繰り返し、尿毒症の症状が改善されてきたら回数を減少する^{1,4)}。効率よく透析液を注入、排液するために様々な形状のカニューレやカテーテルの使用が報告されている^{1,4,9)}。しかしながら犬ではフィブリンが析出しやすく、また大網がヒトより発達しているのでカテーテルに絡みやすく、排液が十分にできなくなって透析効率が低下する場合が多い。さらにヒトと異なり動物は四肢で起立するため、腹部が常に下方を向く。このためカテーテル周囲あるいはカテーテル抜去後の創面から残留透析液が漏出したり、腹膜への上行性細菌汚染の原因となったりする。カテーテルを留置する場合には、無菌的に管理することは困難を究める。またヒト用透析液の浸透圧、電解質組成などが小動物の透析効率にどのように影響するか検討すべき課題もある。このような動物特有の問題点に加えて、腹膜透析では常に体蛋白質の透析液中への漏出が合併症としてあげられる。犬や猫用のアルブミン製剤が市販されていないので、蛋白質の補充が問題となる。現状ではこのような場合に輸血を実施することはまれであるが、アルブミン製剤に替わる人工代替物があれば利用できると期待される。

Table 1. サイドホール付き留置針による脱血量

実験犬	体重(kg)	脱血量(ml/min)	血液流量(ml/kg/min)
A	12	37	3.08
B	14	38	2.71
C	10	30	3.00
D	10	32	3.20

3. 血液透析法の獣医臨床応用と問題点

先に述べたとおり小動物臨床に血液透析法を取り入れた歴史はまだ浅いので、標準化された血液透析法は確立されていない。各施設においてブラッドアクセス、抗凝固法、適応基準、透析間隔などを試行錯誤しながら検討しているのが現状である。筆者の教室で行っている血液透析法の概要はFig. 3の通りである。

3.1. ブラッドアクセス

ヒトのブラッドアクセスは動静脈を吻合する内シャント法が一般的である。犬の橈側皮静脈－正中動脈、大腿静脈－大腿動脈、頸静脈－頸動脈で検討したところ、吻合部に十分な大きさの静脈の拡張が形成されなかったり、動脈の表在化が困難であったり、あるいは特に頸部で透析後の止血が十分できず血腫が形成されたりと、適切な内シャントの作成はできないない¹⁰⁾。動物で外シャントを維持することは短期間の実験例を除くと管理面で危険性があり現実的ではない。このような事情から猫を含めて体重10 kg以下の中小型動物では一方の頸静脈から脱血し、他方の頸静脈に返血するV-V方式のshuntless-shunt法を採用している^{10,11)}。体重が10 kg以上の動物では橈側皮静脈を脱血や返血に用いることも可能である。血液ポンプを用いて脱血するため、通常の留置針では陰圧により針先に血管壁が吸い付いて十分な血液量が得られないで、18～20 Gのサイドホール付

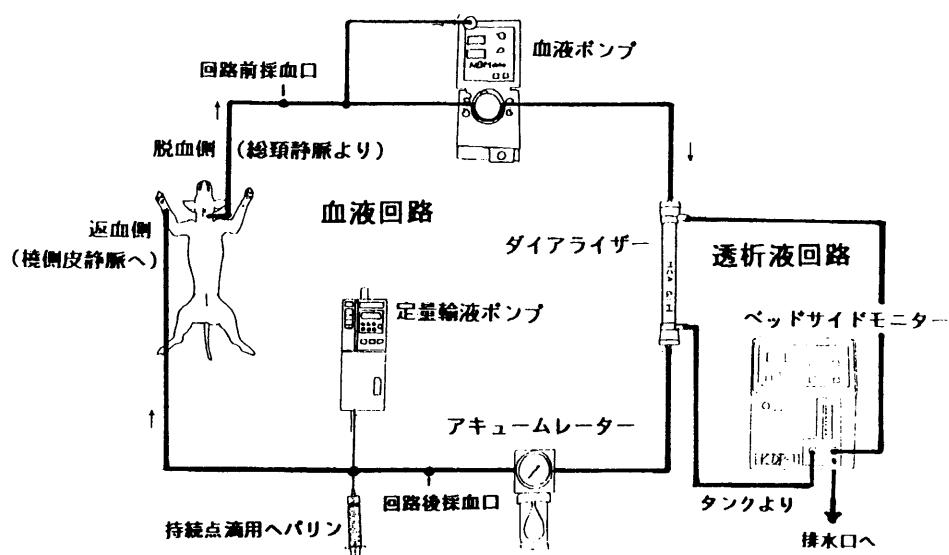


Fig.3. 血液透析回路図。

きの留置針を使用している。返血は18~20 Gの通常の留置針を用いている(Table 1)。筆者らは3 ml/kg/minの血液流量が得られることを目標にしている。このほかのブラッドアクセスとしては頸静脈へのダブルルーメンカテーテルや橈側皮靜脈からアプローチするアンスロンカテーテルでの報告がある¹²⁾。我々の留置針を用いる場合より得られる血液流量は多いが、いずれの方法によつてもカテーテルの固定や管理面で長期間の透析に用いることはできない。

3.2. 血液回路と抗凝固法

小動物専用に設計された血液透析装置であるが、慢性腎不全症例の猫では、往々にして貧血が高度であり、最小のダイアライザーを選択しても、血液回路に灌流する分として、さらに血液が20ml必要なため透析を断念する場合がある。輸血のシステム化あるいは血液代替物が容易に入手できれば、体格面からの制約は大幅に減少する。体外循環回路に用いる抗凝固剤は、ヘパリンナトリウムを使用している。血液のAPTTとAT-III活性をモニターして投与へパリン濃度を検討し、透析開始時に体外循環回路に注入するへパリン投与量は75~80 IU/kg、維持投与量は50~60 IU/kg/hを目安にしている¹³⁾。AT-III活性が低下しているとへパリンの抗凝固能が減弱するので、これよりも高濃度のへパリン投与が必要になる。大量かつ頻回のへパリン使用はAT-IIIを消費・枯渇させるので、透析自体がAT-III活性を低下させる¹⁴⁾。透析終了時のへパリンの中和には硫酸プロタミンを全へパリン投与量の1/3を投与する。尿毒症で消化管出血のある症例ではAT-III活性が低下している場合もあり、透析後は単にへパリンを中和するよりも輸血を実施する方が適切であろう。しかしながら獣医臨床においては輸血はシステム化されておらずこの様な場合に輸血することは容易ではない。筆者らの行っているV-V方式のshuntless-shuntでは血液流量がヒトの透析と比較すると極端に少ないため、安全域が広く最近ヒトの透析で使われているメシル酸ナファモスタットを16 mg/hの濃度で用いても、透析中に回路内凝固が生じて透析不能となったので、適応できないと考える。

3.3. ダイアライザーと透析液の循環様式

小動物専用血液透析装置の透析液の循環方式は再循環式であ

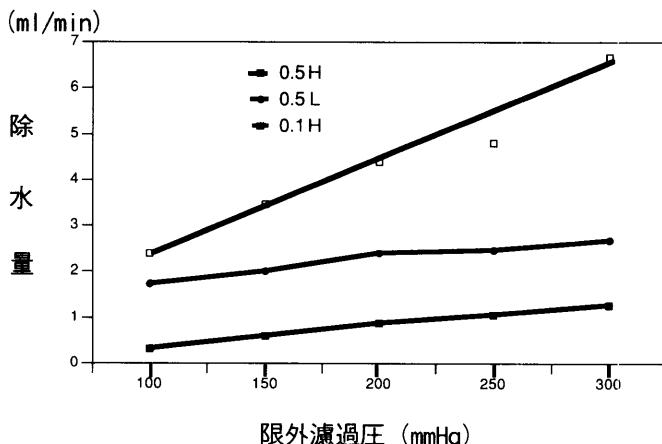


Fig.4. ダイアライザーの膜面積および膜厚と除水量との関係。

る。コンパクトで透析液も経済的に使用できるこの方式は、開発段階では経済性が優先される獣医臨床ではファーストチョイスであったかもしれない。しかしながら少し体格の大きな動物や、重度の尿毒症症例に用いると、透析液中への老廃物の蓄積が早く、頻繁に透析液の全交換が必要となる。また過度の除水防止のため透析液側が陽圧になっており、使用するダイアライザーの膜厚も16 μmと厚く、透析効率の観点からは優れたものとはいえない。もともと犬や猫のブラッドアクセスはV-V方式で血液流量を十分に得ることができず透析効率は低い。透析中に動物が自由に動かないように、術者ないし補助者による保定が不可欠であり、長時間の透析は動物にとっても、獣医師にとってもストレスの大きな仕事であり、透析効率の良い短時間透析が望まれる。筆者らは透析液を再循環させずに、300 ml/minの流速でシングルパス方式で流し、ダイアライザーの膜面積は変わらないものの、除水能に優れた膜厚が7 μmの薄手のタイプを用いて透析効率の向上を検討している。また透析効率を上げるために、血液回路にアクチュエーターを設置して、限外濾過圧を250~300 mmHgに上昇させた透析を試みている。例えば限外濾過圧を300 mmHgにした場合、0.5 Hの透析膜では1時間に約400 ml除水されるのに対し、0.5 Lの非除水膜では約120 mlにすぎない(Fig. 4)。体液が除水された分を後希釈にて補充を行う。従来の方法で犬、猫に血液透析をした場合、尿毒性老廃物の指標としている血液尿素窒素、血漿クレアチニン、無機リンなどが50%除去されるのに要する時間は約3~4時間であったが、筆者らの方法では2~3時間で同様な効果が認めら

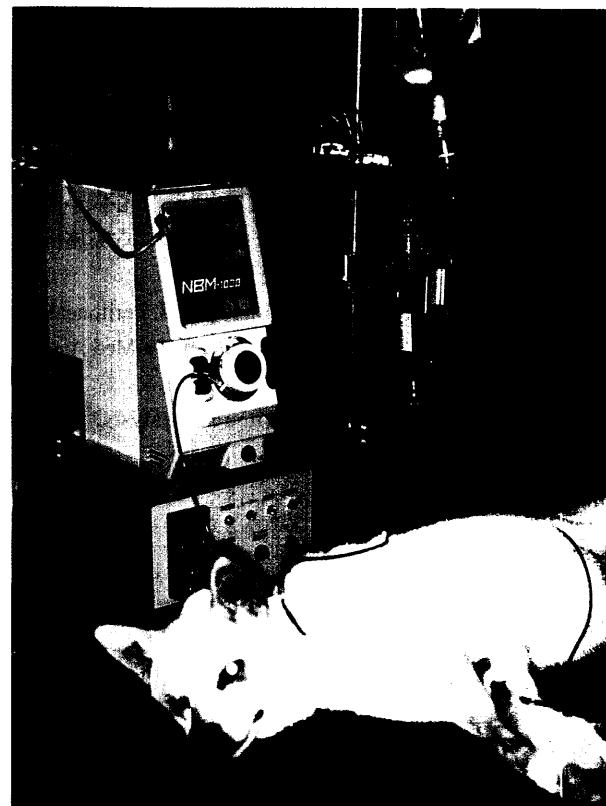


Fig.5. 血液透析中の腎不全犬。左前肢橈側皮靜脈から脱血し、血液透析回路を経由して頸靜脈に返血している。

れている¹⁵⁾。

3.4. 血液透析の適応基準

犬や猫の腎不全時の適応基準について詳細な検討はしていないが、長期間使用に耐えるブラッドアクセスが確立していない現時点では、薬物療法に反応しない急性腎不全が最も有効な適応症例であろう¹⁶⁾ (Fig. 5)。また様々な原因により腹水が貯留した犬の症例に対して、腹水を無菌的に吸引した後、ダイアライザーにて除水・濃縮し、これを静脈内に再び返還する、濃縮腹水再注入法が効果を示した¹⁷⁾。保存療法では維持が困難な慢性腎不全に対しても飼主の希望により血液透析の適応を考慮するが、長期におよぶ経済的負担が大きく、臨床応用が広く普及するにはまだ時間がかかると思われる。ヒトでは1週間に2回、4時間の透析が一般的であるが、犬や猫は経済性を加味し、経口吸着剤との併用で1週間に1回、2~3時間の透析で、臨床症状が維持されることが、血液透析療法が獣医臨床に認知される条件であろうと考えている。

4. 最後に

小動物では輸血のシステム化がなされておらず、緊急事態にはそれぞれの診療施設で確保している輸血用の犬や猫に頼っている。従って輸血の恩恵にあずかるのは第一義的に輸血が必要な極く僅かの症例のみであり、輸血した方が臨床症状の好転につながると思われる症例までは、なかなか実施できないのが現状である。腹膜透析や血液透析などの血液浄化療法では、全血補給の要求は貧血高度の症例を除くと比較的少ないが、アルブミンやAT-IIIなどの血液蛋白質の補給は治療成績を左右する重要な要因である。血液代替物あるいは成分輸血などの導入が望まれる。

参考文献

1. Gourley IM, Oarker HR. Peritoneal dialysis. In: Current veterinary therapy VI. Kirk RW ed. Philadelphia; Saunders W B, 1977;1144-9.
2. 新山雅美, 戸尾祺明彦, 秦良治, 黒沢努, 伊藤歌江子. 小動物における間欠的腹膜灌流法の臨床応用 犬における実施例. 北獣会誌 1973;17;182-6.
3. Crips MS, Chew DJ, DiBartola SP, Birchard SJ. Peritoneal dialysis in dogs and cats: 27 cases (1976-1987). J Am Vet Med Assoc 1989; 195;1262-6.
4. Parker HR. Current status of peritoneal dialysis. In: Current veterinary therapy VII. Kirk RW ed. Philadelphia; Saunders W B, 1980;1106-11.
5. 小林敏博, 小山秀一, 本好茂一, 内野富弥, 吉田昭雄, 平林白一. 小動物用血液透析装置の開発. 第一回動物血液浄化研究会要旨 1989;7-8.
6. 河合賢治, 高羽孝成, 戸井典子, 春名章宏. 急性腎不全の犬および猫に対するCAVHの実験的応用例3例. 第九回小動物臨床研究会年次大会プロシーディング 1988;198-9.
7. 上月茂和, 小出和欣, 小出由紀子, 鶴野光興, 金尾滋, 桑野康人, 榎本浩文, 山根義久, 野一色泰晴, 松村弘. 第十回小動物臨床研究会年次大会プロシーディング. 1989;393-404.
8. 佐藤典子. CAPDカテーテルと腹膜透析の現況. 第十回小動物臨床研究会年次大会プロシーディング. 1989;455-8.
9. Uechi M, Iida E, Watanabe T, Kuwajima S, Nakayama T, Kanno Y, Tanaka K, Wakao Y, Takahashi M. Peritoneal dialysis using a recycling system in dogs. J Vet Med Sci 1993;55;723-7.
10. 谷晴之, 真下忠久, 飯島めぐみ, 千葉司, 田辺輝雄, 中尾喜一, 安田準, 戸尾祺明彦. 慢性腎不全の小動物に対する血液透析のブラッドアクセスの検討. 動物血液浄化 1993;2;3-10.
11. 武田亮, 谷晴之, 山本恵司, 濑戸亮一, 安田準, 戸尾祺明彦. 血液透析の小動物臨床への応用. 動物血液浄化 1991;1;31-8.
12. 小林敏博, 小山秀一, 竹村直行, 福井健二, 平林白一, 内野富弥, 本好茂一. 血液透析におけるブラッドアクセスの検討. 第二回動物血液浄化研究会要旨 1991;25-31.
13. 谷晴之, 真下忠久, 飯島めぐみ, 森田豊, 田村知子, 山崎忠良, 安田準, 戸尾祺明彦. 小動物の血液透析におけるヘパリン投与法の検討. 動物血液浄化 1993;2;11-8.
14. 北岡建樹. ダイアローグで学ぶ腎不全と透析療法の知識. 東京: 南山堂 1990;130-1.
15. 真下忠久, 安田準, 飯島めぐみ, 山崎忠良, 橋本晃, 戸尾祺明彦. 小動物臨床における血液透析に関する研究 シングルバス方式の応用についての検討. 第116回日本獣医学会講演要旨. 1993;223.
16. 安田準. 急性腎不全に対する内科療法. 第48回獣医麻醉外科学会講演要旨. 1993;24(Supple);50-1.
17. 安田準, 南直秀, 入江隆幸, 坂部直純, 濑戸亮一, 戸尾祺明彦. 犬の難治性腹水に対する濃縮腹水再注入の効果. 小動物臨床. 1990;2;74-7.

小動物の外科手術と輸血療法

Blood transfusion of the surgical patient of dogs and cats

佐々木 伸雄

Nobuo Sasaki

犬、猫等の小動物の外科手術に関する最近の発展はめざましく、従来であれば治療をあきらめて安楽死を選択すべき症例に対して多くの試みがなされるようになった。その理由の一つは、外科手術手技や手術用機器の発展であるが、最も大きな要因は麻酔法を含めた周術期の動物管理法の向上によるものである。その一つが輸血を含む体液異常時の管理法にあることは多くの認めるところである。ここでは、実際に我々の病院で行われている外科手術ならびに輸血の現状を述べ、本シリーズの話題提供の一つとしたい。

小動物外科手術の現状

著者の所属する東京大学農学部附属家畜病院外科においては、1年に約1,300頭の犬、猫等の症例が来院する。Table 1は1993年度における疾患別の分布を示したが、腫瘍症例が疾患数全体の31%と非常に多い。この理由の第一は、最近の飼育法の向上、栄養管理の向上あるいはワクチンを含めた伝染病、寄生虫病の予防法が向上したことによって動物の寿命が飛躍的に伸びたことにある。また我々の病院の症例中80%以上は開業獣医師から紹介されて来院するため、放射線療法、化学療法等を含めた集学的治療の必要な癌症例が集中するためと考えられる。

Table 2にはこれらの腫瘍の部位別割合を示した。またTable 3に

は1993年度の手術例の部位別割合を示した。腫瘍の中では犬の乳腺腫瘍が最も多いが、これは犬の腫瘍の中で乳腺腫瘍は皮膚腫瘍に次いで第2位であり、また雌犬だけでみれば最も多い腫瘍であることによるものである。その他の腫瘍としては皮膚腫瘍が多い。また手術例では来院症例数を反映して腫瘍手術が52.9%に達している。輸血を考える必要のある腫瘍としては腹腔内腫瘍（肝癌、脾臓の血管肉腫等）ならびに鼻腔・口腔腫瘍などが比較的多い。また、これらの腫瘍では腫瘍の壊死、破裂あるいは慢性的な出血のため、術前にすでに高度の貧血を呈しているものも認められる。

一方、輸血を必要とする手術としては他に慢性的な消化器障害等による低栄養のため貧血を呈する症例や何らかの理由による胸腔、腹腔内出血などがあるが、救急症例を受け付けていないいた

Table 2. 犬、猫の腫瘍の部位別割合（1993年度）

腫瘍部位	%	腫瘍部位	%
呼吸器	4.4	消化器	10.4
泌尿・生殖器	5.1	神経	0.5
骨格	3.2	軟部組織*	29.3
乳腺腫瘍	39.6	内分泌	0.5
血液・リンパ系	5.3	その他	1.7

総腫瘍数434における割合。*皮膚、皮下、筋および体壁（腹壁等）を含む。

Table 3. 犬、猫の手術部位別割合（1993年度）

手術部位	%
呼吸器・心・血管	1.0
消化器	5.6
泌尿・生殖器	6.9
神経	2.0
筋・骨格	19.1
皮膚・皮下	5.6
ヘルニア	4.4
腫瘍*	52.9
その他	2.5

総手術数408例における割合。*いずれの部位であっても腫瘍例はすべてこの項に含まれる。

Table 1. 犬、猫における1年間の各疾患の割合（1993年度）

疾患名	%	疾患名	%
心・血管	2.8	呼吸器	2.2
消化器	6.6	泌尿器	4.8
生殖器	4.0	神経	12.4
筋・骨格	12.6	皮膚・皮下	4.4
体壁	3.3	眼	3.4
耳	2.4	内分泌	1.1
免疫	2.2	血液・リンパ系	0.3
感染症	1.4	腫瘍*	31.0
その他	5.1		

総疾患数1399における割合。*いずれの部位であっても腫瘍疾患はすべてこの項に含まれる。

東京大学農学部獣医外科学教室、〒113 東京都文京区弥生1-1-1, Department of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

め、交通事故などによる大量出血を呈する症例は比較的少ない。

周術期管理の変遷

犬、猫に対する輸血は従来重度の貧血に対する緊急処置として病院に飼育されている動物、あるいは飼主の同居犬から採血し、実施されていた。したがって、輸血を受けることのできる症例の数はきわめて限られており、また貧血も相当進行した状態でない限り、輸血を行うことは少なかった。一方、そのような状況下での輸血では、供血動物の健康状態、とくにウイルス、寄生虫感染症等について十分な検索はなされておらず、また血液型についての十分な情報もなく、交差適合試験を省略することも多かったため稀ではあるが輸血に伴う副作用も認められた。

このような時代の外科手術においては、しばしば貧血の高度な症例は手術の適応とならなかった。また、外科手術時にはできるだけ短時間に手術を終了し、かつ出血は例え小静脈からの出血でもまめに止血し、出血量を最小限にすることに注意が払われていた。

しかし本シリーズの序として藤永が述べているように、小動物医療を取り巻く環境が大きく変わりつつあり、より高度な医療を求める声は徐々に高まっている²⁾。それに答える形で医療水準はより高度になっており、例えは麻醉の分野でいえば、現在多くの獣医師がイソフルラン吸入麻酔を主として用い、かつ心電図、呼吸、体温のモニターは当然として、呼気中の炭酸ガス濃度、麻酔ガス濃度の測定、動脈血酸素飽和度、換気量などの測定（血圧測定は間接法の信頼性が低く、一般化していない）をルーチンに実施する病院も増加しつつある。また、術中術後の血圧低下等の緊急時に対する治療に関しても、ドバミン、ドブタミンの使用が広く用いられ、さらに術後の酸素吸入も酸素を高濃度に保つケージが使用され、より容易にかつ確実な管理がなされるようになった。このような方法が一般化して以来、麻酔管理時の安全性は大きく向上し、例え長時間の手術でも不安なく実施することが可能となっている。体液の管理に関しても、動物の体動があっても輸液が継続できる留置針の使用が一般化して以来、24時間輸液はごく一般的に実施されており、また必要があれば高カロリー輸液が実施される。また、このような輸液のできない場合、あるいは望ましくない場合は、胃フィスティルを装着し、これを通して栄養改善をはかることも行われる。さらにこのシリーズの中で述べられる人工透析法も徐々に改善されつつある。

一方、腫瘍の外科的治療についても変わりつつある。すなわち、従来は外科的摘出が主体で他の治療が併用されることはきわめて少なかった。現在においても外科手術が基本であることに変化はないが、ある程度化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的治療が基本となりつつある。もちろん動物を長期的に入院させておくことは、動物を飼う側からすれば感情的にも経済的にも好ましいことではない。したがってこれらの治療は主に通院下で実施するため、ヒトの医学に比較すれば、それほど徹底して行われるわけではなく、それが治療成績が伸びない大きな理由となっている。

しかし例えは、炎症性乳癌のようなきわめて悪性度の高い乳癌に対してもこれらを組み合せた療法により従来に比較してより長

期間良好に状態を保つ試みも行われている³⁾。また、最近増加傾向にあると思われる肝細胞癌についても、従来より積極的に手術を実施し⁴⁾、より高い生存率を得る努力がなされている。さらに下顎あるいは上顎部の腫瘍に対しても積極的な外科的手術が行われ、同時に放射線療法とシスプラチニ等を主体とする化学療法を併用し、長い生存率を得ている症例も存在する。

これらの積極的かつ広汎な摘出術時には、当然輸血を実施せざるを得ないことが多い。あるいは化学療法による著しい白血球、血小板減少を呈する症例もしばしば認められ、これらに対する輸血も実施しなければならない。しかし動物用血液バンクが設立されていない日本では（米国ではカリフォルニア州に犬、猫用の血液バンクが設立されている），依然として輸血は常時、無制限にできる状態にはない。

小動物の輸血療法の実際

以上のような背景から、小動物臨床における輸血療法は依然として最小限に止めざるを得ない状況にある。とくに開業獣医師にとって、理想的状態で供血動物を常時飼育し続けることは困難である。また、例え定期的な血液検査等を実施したとしても、ヒトエイズと同様、ネコエイズウイルス(FIV)のように新たに発見されるウイルス等の存在も否定できず、輸血療法に消極的にならざるを得ない。さらに、血液型判定の結果を待つ時間を考えると血液交差試験がより実際的であるが、忙しい時間の中で獣医師自身がその試験を行うことに時間的制約がある。したがって大学等の比較的余力のある施設において比較的積極的に輸血が実施されているに過ぎない。

我々の病院における輸血は以下のようである。現在供血用動物としては、大型犬（体重約30kg）を5頭、日本猫3頭を飼育している。犬では現在市販されているワクチンを必ず年1回接種し、かつフィラリア症の予防を実施する。供血は過去の供血歴からある程度の間隔をあけるように努めているが、動物1頭当たり時に月1～2回になることがある。猫についても同様であり、FIV、ネコ伝染性腹膜炎ウイルス（FIP）およびネコ白血病ウイルス（FeLV）非感染であることを確認してある。

これらの動物から採血する場合、まず少量採血を行ってドナーとの血液交差試験を実施する。同時に、血液一般検査ならびに肝、腎機能に関する血液化学検査を実施する。交差反応が陰性でかつ供血動物に貧血を含めて異常所見がない場合、必要血液量を鎮静下（通常α2アドレナリン受容体作動薬であるメデトミジンおよびミダゾラムを用いる）で採血し、新鮮全血輸血を実施する。

通常外科手術患者においてはHt 20%，Hb値7 g/dlを目やすとし、術前にこのレベル以下であれば、術前に輸血を行う。もし、Ht 25%，Hb10 g/dl以下であって、かつ術中にある程度の出血が予測される場合、術前ないし術中輸血を実施する。また腹腔内の大きな腫瘍の摘出等で術中の出血が予測される場合、あらかじめ採血しておき、術中の状況にあわせて輸血を行う。

輸血療法の問題点と将来

このような形の輸血を行う上で最も大きな問題点は、いかに適切に供血動物を確保し、飼育、管理するかにある。とくに猫は

SPF猫等を入手しないとしばしばFIV, FeLV感染が存在する。また大型犬の飼育、管理は収用ケージの点、あるいは毎日のエサ、糞尿の世話、運動の確保等大きな労力を要する。しかも、病院の症例数に合わせてある程度の頭数がないと、十分な輸血療法を実施することは困難である。とくに猫では一頭から採血できる血液量が限られており、輸血の必要な症例が重なった場合、十分な血液量の確保は困難である。また、頻回の輸血が必要な症例等ではすべての供血動物と血液交差試験で陽性となる場合もある。現状では、実験用のビーグル犬やSPF猫を飼育しており、そこから適合する血液を採取してどうにかやりくりをしている。

したがって米国のような動物用の血液バンクの早期の設立が、とくに開業獣医師を中心に強く望まれている。著者には米国の血液バンクの実際のシステムについて十分知識はないが、企業ベースであっても東京、大阪のような都市ではある程度採算ベースに合うのではないかとも考えられ、早期の設立を待ち望んでいる。

一方、血液代替物は獣医学領域においても輸血のピンチヒッターとして多くの貧血動物を改善させられるものと考えられる。

前述したように、輸血に伴う多くの諸問題や血液バンクシステムの構築が必ずしも容易に解決できない現状と、獣医学領域で扱う動物は犬、猫だけでなく、牛、馬、羊などの家畜から野生動物、さらには鳥、は虫類まで多様であることを考慮すると、安全な血液代替物の開発は獣医学にこそ緊急かつ重要な問題であると思われる。

参考文献

1. Madewell BR, Theilen GH. Tumors of the mammary gland. In: Theilen GH, Madewell BR eds. Veterinary Cancer Medicine. Philadelphia: Lea and Febiger, 1987;326-44.
2. 藤永徹. 獣医学教育と獣医療の現状. 人工血液 1994;2:44-6.
3. 廉澤剛, 大橋文人, 佐々木伸雄, 竹内啓. 犬の炎症性乳癌の一治療例. 獣医麻醉外科誌 1989;20:117-21.
4. 浦野利晃, 佐々木伸雄, 大橋文人, 河村美奈, 長瀬雅之, 落合真理, 中市統三, 廉澤剛, 西村亮平, 竹内啓. 犬の肝細胞癌 6 例の診断ならびに治療成績. 獣医麻醉外科誌 1992;23:151-8.

ヒトエリスロポエチン製剤 エスボ[®] 注射液 1500・3000

●一般名: エポエチンアルファ(遺伝子組換え)
(劇)(指)(要指) ESPO INJECTION 健保適用品

- ①赤血球系に選択性の分化・増殖を促す、特異性の高い薬理作用を備えています。
- ②優れた貧血改善効果と Quality of Life の向上が見られます。
- ③貧血改善にともない、輸血の大幅な減少と回避が期待できます。
- ④主な副作用としては血圧上昇、頭痛などが見られます。
- ⑤液剤であるため使用が簡単です。

効能・効果: 透析施行中の腎性貧血

アクティブライフ 人生へのルネッサンス



【使用上の注意】

- 1.一般的な注意 (1)本剤の投与は貧血症に伴う日常生活活動の支障が認められる腎性貧血患者に限定すること。なお、投与対象はヘモグロビン濃度で10g/dl(ヘマトクリット値で30%)未満を自安とする。(2)本剤の投与に際しては、腎性貧血であることを確認し、他の貧血(失血性貧血、汎血球減少、アルミニウム蓄積症等)には投与しないこと。(3)ショック等の反応を予測するため十分な問診をすること。なお投与開始時あるいは休業後の初回投与時には、本剤の少量を静脈内に注入し、異常反応の発現しないことを、確認後、全量を投与することが望ましい。(4)本剤投与中はヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値を定期的(投与初期には週1回、維持投与期には毎週に1回程度)に観察し、必要以上の造血(ヘモグロビン濃度で12g/dl以上、あるいはヘマトクリット値で36%以上を目安とする)にならないように十分注意すること。必要以上の造血を認めた場合は、休業するなど適切な処置をとること。(5)本剤投与により血圧上昇を認める場合がある。また、高血圧性脳症があらわされることがあるので、血圧、ヘマトクリット値等の推移に十分注意しながら投与すること。特に、ヘマトクリット値は徐々に上昇させる注意すること。また、投与中止後もヘマトクリット値が上昇する場合があるので、観察を十分行うこと。血圧上昇を認めた場合には、本剤の投与を中止するなど適切な処置を行うこと。(6)本剤投与により高カリウム血症を認める場合があるので、食事管理を適切に行うこと。(7)本剤投与によりシャントの閉塞や血液透析装置内の残血を認める場合があるので、シャントや血液透析装置内の血流量には十分注意すること。このような場合にはシャントの再設置、抗凝固剤を增量等の適切な処置をとること。(8)本剤の効果発現には鉄の存在が重要であり、鉄欠乏時には鉄剤の投与を行すこと。

- 2.次の患者には投与しないこと 本剤又は他のエリスロポエチン製剤に過敏症の患者

- 3.次の患者には慎重に投与すること (1)高血圧症の患者 (2)薬物過敏症の既往歴のある患者 (3)アレルギー素因のある患者

- 4.副作用 (1)循環器 血圧上昇、また、ときに動悸があらわれることがある。(2)高血圧性脳症 急激な血圧上昇により、頭痛、意識障害、痙攣等を示す高血圧性脳症があらわれ、脳出血に至る場合があるので、血圧、ヘマトクリット値等の推移に十分注意しながら投与すること。(3)皮膚 ときに癢痒感、皮疹、癢瘍等があらわれることがある。(4)肝臓 ときにGOT、GPTの上昇等の肝機能異常があらわれることがある。(5)消化器 ときに嘔気、嘔吐、食欲不振、下痢があらわれることがある。(6)その他 眼底出血、ときに頭痛、めまい、発熱、熱感、はだれ感、全身倦怠感、関節痛、筋肉痛、口内苦味感があらわれることがある。ときに血清カリウムの上昇があらわれることがある。

用法・用量、上記以外の使用上の注意は添付文書をご覧下さい。

販売元・資料請求先

三共株式会社
〒104 東京都中央区銀座2-7-12

製造元
麒麟麦酒株式会社
〒150 東京都渋谷区神宮前6-26-1

94.2

「海外旅行者のための輸血ガイドライン」の解説

Explanation of Blood transfusion guidelines for international travellers

落合 永, 田所憲治

1. はじめに

AIDSの世界的な拡がりは、現在深刻な問題となっており、世界保健機関（WHO）には、1994年6月末現在、985,119人のAIDS患者者が190カ国から報告されている¹⁾。発見の発端となった欧米での患者の増加は横這い傾向にあるが、アジア、アフリカ地域はさらに増加する勢いである。わが国のAIDS患者数は713人¹⁾で、アジアではタイに次いで二番目に多く、感染者数、患者数とも増加傾向にある。

わが国では凝固因子製剤を介してのHIV感染が7割以上を占めているのが特徴であるが、1985年7月から凝固因子製剤のウイルス不活化処理を導入し、さらに1986年11月から全供血者にHIV抗体スクリーニングを導入している。

このように日本を含む先進国では、HIV抗体スクリーニング実施とウイルスの不活化処理という対策が講じられ、血液製剤の安全性は飛躍的に改善された。

しかし、開発途上国は多くの場合は血液製剤を売血に頼っていることに加え、経済力、保健医療施設が不十分なために血液のスクリーニング体制等が充実していない。したがってこれらの国々へ旅行中に不慮の事故が起き、輸血をしなければならない状態に陥った場合には、HIVをはじめとするウイルスに感染する確率は高いといえる。

そこで諸外国、特に開発途上国への旅行を計画する人々の間で、自国から血液製剤を取り寄せられるシステムの確立に関する要請があり、それに応えて1988年にWHOは“海外旅行者のための輸血ガイドライン”を発表した。本稿では、本ガイドラインの各々について解説することとする。

2. 海外旅行者のための輸血ガイドライン（太字は翻訳部分）

[序文]

エイズの流行に関して社会の意識が高まるなか、輸血によるエイズ感染について関心が持たれるようになった。

開発途上国においては、血液製剤を全てスクリーニングする体

Hisao Ochiai, Kenji Tadokoro, 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部医薬情報課長、〒150 東京都渋谷区4-1-31. The Japanese Red Cross Central Blood Center, Transfusion Information Service, 1-31, Hiroo, 4-Chome, Shibuya-ku, Tokyo 150, Japan.

制が充実していないことから、それらの国への旅行を計画する人々から、緊急事態に備えて、彼等自身の血液あるいは自国からの血液製剤を用意出来るようにするための要請がなされている。しかしながら、これらには容易に解決できない技術と倫理上の問題点が提起されており、結局、海外旅行者に用いられる血液製剤の安全性は、訪問国の血液事業の質によって決まるといえる。

このことから、自国から血液製剤を取り寄せるような一時的なシステムよりも、訪問国の血液事業を支援することが、まず第一に考えるべき重要な事であるが、これを達成する努力がなされる一方で他の異なる方策を考えることも必要である。

[基本原則]

- 1) 予期しない緊急事態時の輸血は稀であり、外傷や分娩又は消化管出血のような重症の大量出血をみる場合にのみ必要とされる。
- 2) 多くの場合、血液製剤の代わりに輸液を使用することで十分である。
- 3) 開発途上国のはほとんどは、スクリーニングでの技術的限界から、血液製剤によるHIV感染と他の感染症のリスクが増大しているが、感染症については現在の最も信頼性の高いスクリーニングを行っても、リスクがまったくないわけではない。
- 4) 血液製剤の輸送は、二国間の血液事業全体を司る機関の同意のもとで扱われることが実用的である。このメカニズムは、個々の患者の緊急的必要性のために利用してはいけないし、公認の血液事業計画に沿っていない個人あるいは個々の組織によって運用されるべきものではない。

解説：

医師は、他人の血液の輸血（同種血輸血）は一定のリスクを伴うものであることを認識した上で、リスクを上回る効果が期待できるかどうかを十分に考慮し、輸血の実施と輸血量を決定すべきである。事故、消化管出血による大量出血において放置すれば死亡することが予想されるときは輸血を躊躇すべきではない。手術前にヘモグロビン濃度(Hb) 10 g/dl、ヘマトクリット(Ht) 30%以下の時は手術に対応できるように輸血をするのが一般的であったが、最近ではこれ以下でも（心臓などに問題がなければHb 8g/dl程度でも）輸血をせずに済ませることが多くなってきている。手

術中の出血も600 ml以下なら原則として輸液のみを行い、循環血液量を保持すれば輸血は不必要とされている。しかし、こうした判断も熟達した医師、スタッフ、医療施設が前提となっている。一般にその国の医療状況を越えた安全性を期待することは難しい。二国（赤十字）血液センター間で血液製剤を融通する事があるが、それは患者がRhマイナスであるがその国ではRh型検査ができない時や、血液型が非常に稀でその国には無いときなどに限られる。

[結論]

- 1) 旅行者のために、自国から血液製剤を携帯すべきであるという医療側からの意見はない。
- 2) 血液製剤は、限られた保存期間及び保存法のため特別な設備が必要性であることから、個人旅行者等が独自で血液製剤を保存することは不可能である。
- 3) 輸血は絶対的な必要性がある時のみ適応すべきであり、このことは、感染症に対する血液スクリーニングが広く行われていない国で、より効果的である。

解説：

血液製剤の保存期間は限りがあり、全血(WB)、濃厚赤血球(CRC)の保存期間は21日、赤血球保存液を加えた赤血球(RC-MAP)のそれは42日であるが、いずれも特別な冷蔵庫で4～6°Cで厳密に保存することが必要である。血小板は3日であり、常に24～26°Cで振とうしていなければならない。病院は保険制度上

も日赤血を万が一の危険に備えて出庫することは出来ない。自己血輸血は新たな感染症の心配がない。しかし、旅行者一個人が緊急事態時に備えて自己血を用意・保管するためには、上記の技術上の問題点があり、不可能である。

[提案]

- 1) 緊急の救命処置においては、血液製剤よりもむしろ輸液を用いることを考慮すべきである。
- 2) 非常に輸血を必要とする場合、輸液の使用、又は早急に帰国することも考えられる。
- 3) 輸血を避けることができないならば、担当医はHIVを含む感染症のスクリーニングを確実に実施するためのあらゆる努力をすることが望ましい。
- 4) 海外旅行者の心構え：
 - a. 怪我の危険を最小限に抑えるための積極的な措置をとること。
 - b. 緊急事態に備えて医療上の計画を立てておくこと。
 - c. 訪問国における血液事情を確認しておくこと。

解説：

わが国は、今や一人当たりの国内総生産(GDP)では、世界の最高水準となり、所得水準の向上や自由時間の増大等により、海外旅行者数は年々増加している(Table 1)³⁾。

4)では、海外旅行者の増加に伴い、海外での事故・事件への遭遇が増加している状況において、訪問国における医療事情の把握

Table 1. 日本人海外旅行者の旅行先

旅行先	平成3年		平成4年		平成5年	
	人数(人)	前年比(%)	人数(人)	前年比(%)	人数(人)	前年比(%)
韓国	1,455,090	99.6	1,398,604	96.1	1,492,069	106.7
中国	640,859	138.3	791,531	123.5	*912,000	115.2
台湾	825,985	90.3	795,018	96.3	697,916	87.8
香港	1,259,837	94.6	1,324,399	105.1	1,280,905	96.7
フィリピン	197,540	97.8	221,578	112.2	243,412	109.9
マカオ	451,348	100.4	453,220	100.4		
シンガポール	871,313	89.7	1,000,775	114.9	1,000,973	100.0
タイ	543,097	85.5	568,049	104.6		
オーストラリア	528,500	110.1	629,867	119.2		
ニュー・ジーランド	114,718	106.4	128,962	112.4	135,934	105.4
アメリカ	3,319,934	102.7	3,652,828	110.0	3,542,546	97.0
うちハワイ	1,385,340	96.2	1,637,030	118.2	*1,570,000	95.9
うちグアム	582,270	91.3	676,659	116.2	549,343	81.2
カナダ	397,546	96.4	394,778	99.3		
フランス	1,016,778	80.4				
イタリア	559,665	87.9				
ドイツ	666,625	79.2	*726,114	108.9		
イギリス	440,000	76.9				
スイス	415,016	83.4	502,815	121.2	488,609	97.2
スペイン	186,485	76.5	222,176	119.1		

1. 世界観光機関、経済協力開発機構(OECD)、太平洋アジア観光協会及び各国政府（地域）観光機関資料による。

2. *は推計である。

Table 2. 諸外部における供血者検査項目(○: 実施している, ×: 実施していない, 空欄: 不明)

の重要性について述べている。

旅行会社、現地大使館、現地在住日本人などに連絡を取り、疫病（マラリアなど）、交通、治安についての情報を得、不必要な危険を避けると共に、特に危険が予想され得るときは現地の医療事情、現地の日本人が治療を必要とするとき利用する医療機関などについても把握しておくことが重要であろう。検査項目だけが安全性の尺度とはいはず、献血者がウイルス、細菌を持っている頻度や技術者の採血、検査技術や試薬の保存状況も安全に大きく関与するが、参考までに諸外国の輸血検査状況をTable 2に示した。

HIV検査については、タイは抗原検査も実施している。梅毒血清反応は、アメリカでは1978年のAABBスタンダード改訂から行っていないが、他の国は行っている⁴⁾。

3. おわりに

本ガイドラインは輸血療法を行う上での基本的理念を示しているものと解すべきである。スクリーニング体制の十分な国においても、輸血の必要性があるならば、輸血の選択肢を考慮して、できるだけ安全な方法をとるべきである。そして、旅行者

自身は自國にいる間に、訪問国の医療事情についての情報を集めて訪問国の正しい医療情報を把握する必要がある。また、開発途上国における全供血者血液スクリーニング体制の確立に関して、先進国の技術的援助を含む支援が必要であることも考えさせられる。

参考文献

1. WHO. AIDS-Global data. The current global situation of the HIV/AIDS pandemic. Weekly Epidemiological Record 1994;26:190-2.
2. WHO. Blood transfusion guidelines for international travellers. WHO 1988.
3. 観光の状況. 観光白書平成6年版, 総理府編. 大蔵省印刷局 1994;27-34.
4. 西村要子、松尾裕子、山口一成、高月清、久田正直. 輸血検査業務に関する諸外国の現状. 日本輸血学会雑誌 1989;35: 675-80.
5. Public Health Service interagency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. Morb Mortal Wkly Rep 1991;40:1-17.

●事務局たより

日本血液代替物学会 総会 議事録

日時：平成6年6月17日(金) 13:00－13:30

会場：ホテルオークラ別館2階 春日の間

1. 開会

2. 会長挨拶

3. 議事

- 1) 平成5年度事業報告承認の件(資料1にて承認)
- 2) 平成5年度収支決算承認の件(資料2aおよび2bにて承認)
- 3) 平成6年度事業計画(資料3a)および収支予算決議の件(資料3bにて承認)
- 4) その他
 - ・評議員5名を追加選任－川野武彦(ミドリ十字 代表取締役社長), 高橋晃(テルモ 常務取締役), 篠原昌史(日本油脂専務取締役), 馬場正三(浜松医科大学 教授), 川村明夫(札幌北楡病院 院長)
 - ・平成6年度年次大会(東京)一大会長 阿岸鉄三(東京女子医科大学 教授), 副大会長(平成7年度大会長) 元木良一(福島医科大学 教授)
 - ・血液代替物試供サンプルの評価－製造者からの申し入れを受け、当学会はこれを具体的に推進する方針。

4. 閉会

資料1－平成5年度事業報告(平成5年7月21日～平成6年3月31日)

1. 日本血液代替物学会発起人会および設立総会－平成5年7月21日(水)慶應義塾大学病院新棟11階中会議室にて開催、明治記念館にて懇談。
2. 血液代替物シンポジウム－平成5年12月3日(金)4日(土)フォーシーズンズホテル(椿山荘)にて開催、講演6件(うち4件海外), パネル討論、ポスターセッション、参加者延べ200名。
3. 会誌「人工血液」の発行－準備号(26頁, 400部), 第1巻第1号(25頁, 1000部), 第2巻第1号(22頁, 700部)を発行した。

4. 理事会

- 93/1: 平成5年8月2日(月) シンポジウムプログラム委員選出／第1回年次大会大會長選任

- 93/2: 平成5年9月30日(木) シンポジウムプログラム／会員勧誘

- 93/3: 平成5年12月2日(木) 年次大会運営方針／ニュースレター出版

- 93/4: 平成6年3月24日(木) 平成6年度年次大会／行事計画／収支決算／予算案

5. 血液代替物シンポジウムプログラム委員会－平成5年9月30日(木)シンポジウムプログラム、運営について

6. 編集委員会

- 93/1: 平成5年8月2日(月) 編集委員選任／編集方針協議／創刊号発行準備

- 93/2: 平成5年10月28日(月) 制作方針協議／印刷所決定／第2号企画／連載企画

- 93/3: 平成5年1月28日(木) 連載企画／広告募集／購読会員拡大／第3号企画

- 93/4: 平成6年3月24日(木) 財政面での協議／年間発刊計画と企画

資料2a－平成5年度会計報告収支決算表(自平成5年7月21日 至平成6年3月31日)

収入		支出	
摘要	金額	摘要	金額
正会員会費	1,120,000	会誌出版費	806,960
賛助会員会費	3,000,000	集会費	1,249,852
維持会員会費	6,000,000	シンポジウム補助金	3,400,000
購読会員会費	114,000	事務人件費	281,600
入会金	25,000	事務費	270,946
寄付	100,000	運営資金組込	2,000,000
利息	2,728	次期繰越金	2,352,370
合計	10,361,728	合計	10,361,728

資料2b－貸借対照表(平成6年3月31日現在)

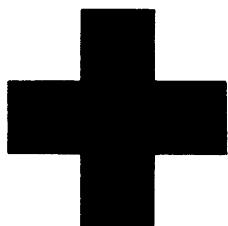
貸方		借方	
摘要	金額	摘要	金額
現金	506,967	運営資金	2,000,000
郵便振替	57,560	次期繰越金	2,352,370
銀行普通預金	1,787,843		
銀行定期預金	2,000,000		
合計	4,352,370	合計	4,352,370

資料3a－平成6年度事業計画(平成6年4月1日～平成7年3月31日)

1. 定期総会の開催－平成6年6月17日(金)ホテルオークラにて開催の予定。
2. 第1回年次大会の開催－大会長 小林紘一, 平成6年6月16日(木)・17日(金) ホテルオークラにて開催の予定。
3. 「人工血液」の発行－第2巻第2号(6月), 第3号(9月), 第4号(12月), 第3巻第1号(3月)の発行予定。1000～1200部印刷, 第2巻第3号より一般原著の掲載(査読有), 連載／特集企画。
4. 会議－総会1回, 評議員会1回, 監事会1回, 理事会4回, 会誌編集委員会4回, 年次大会実行委員会2回。
5. その他

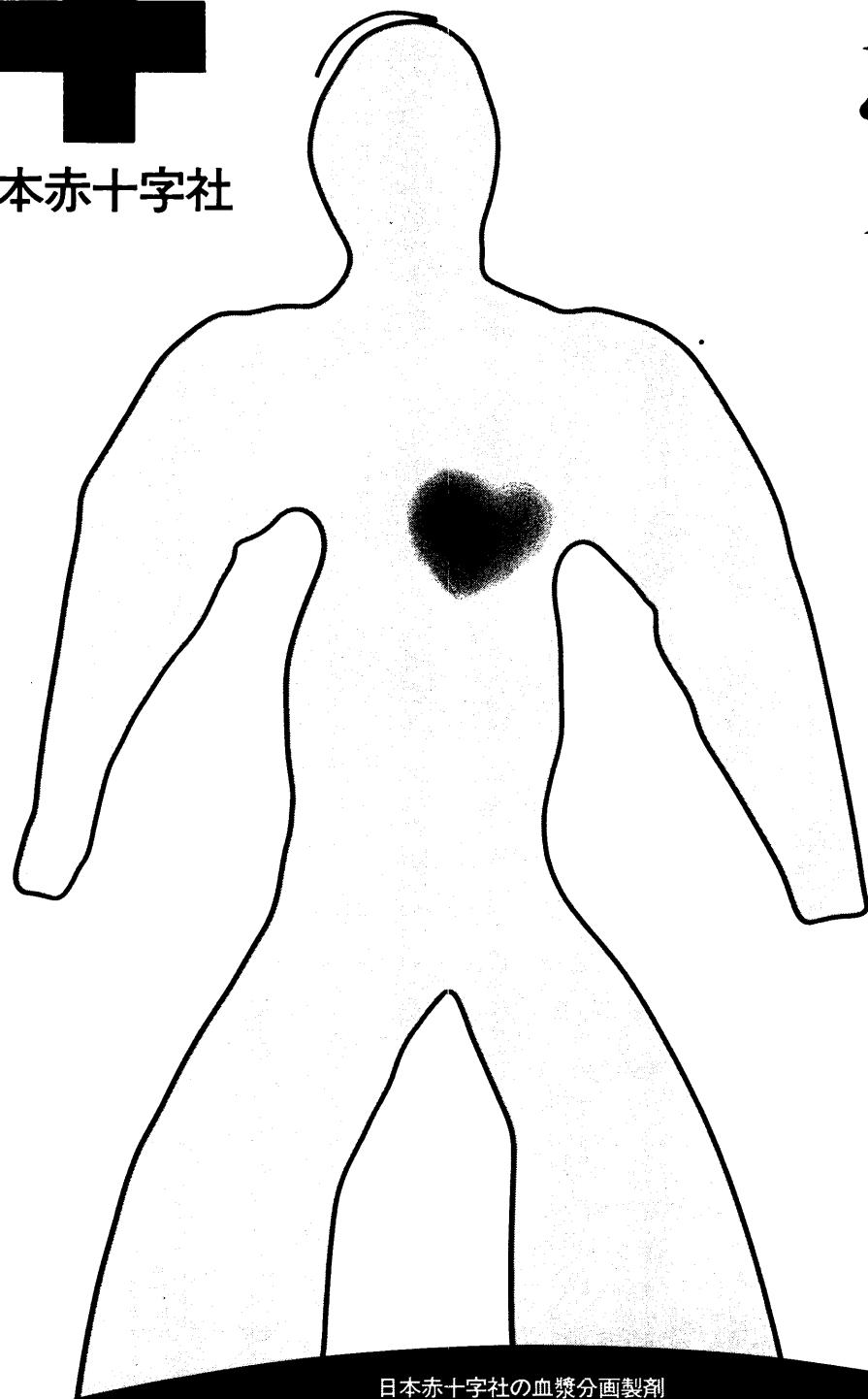
資料3b－平成6年度予算案(自平成6年4月1日 至平成7年3月31日)

収入		支出	
摘要	金額	摘要	金額
前期繰越金	2,352,370	会誌出版費	4,100,000
正会員会費	1,250,000	集会費	850,000
賛助会員会費	3,200,000	年次大会補助金	1,000,000
維持会員会費	6,000,000	会員増強費	800,000
購読会員会費	120,000	事務人件費	2,400,000
入会金	70,000	事務費	560,000
広告代	550,000	雑費	30,000
利息	40,000	運営資金組込	2,000,000
		予備費	1,842,370
合計	13,582,370	合計	13,582,370



日本赤十字社

(日本赤十字社は、献血による安全で高品質な血漿分画製剤の製造を目指しています。)



愛 献血者

献血者のお心をお届けします。

採血から供給まで一貫した
クオリティコントロールとプロセスバリデーション。

日本赤十字社の血漿分画製剤

指 赤十字アルブミン

指 ガンマーフ「日赤」

指 人免疫グロブリン「日赤」

指 抗HBs人免疫
グロブリン「日赤」

指 クロスエイトM 250

指 クロスエイトM 500

指 クロスエイトM 1000



- ・急性脾炎
- ・慢性再発性脾炎の急性増悪期
- ・術後の急性脾炎
- ・汎発性血管内血液凝固症(DIC)

薬価基準収載

蛋白分解酵素阻害剤
劇(指) **注射用 エフオーワイ^R**
注射用メシリ酸ガベキサート

- 効能・効果 ① 蛋白分解酵素(トリプシン、カリクレイン、プラスミン等)逸脱を伴う下記疾患
急性脾炎、慢性再発性脾炎の急性増悪期、術後の急性脾炎
② 汎発性血管内血液凝固症

DICに劇(指) 蛋白分解酵素阻害剤
注射用 エフオーワイ 500^R
注射用メシリ酸ガベキサート

- 効能・効果 汎発性血管内血液凝固症

● 使用上の注意(抜粋)

- 一般的注意 まれにショックがあらわれることがあるので、観察を十分行い、このような症状があらわれた場合には直ちに投与を中止し、適切な処置を行うこと。
- 次の患者には投与しないこと メシリ酸ガベキサートに対し過敏症の既往歴のある患者。

その他の使用上の注意、用法・用量等詳細は添付文書をご参照ください。

資料請求先

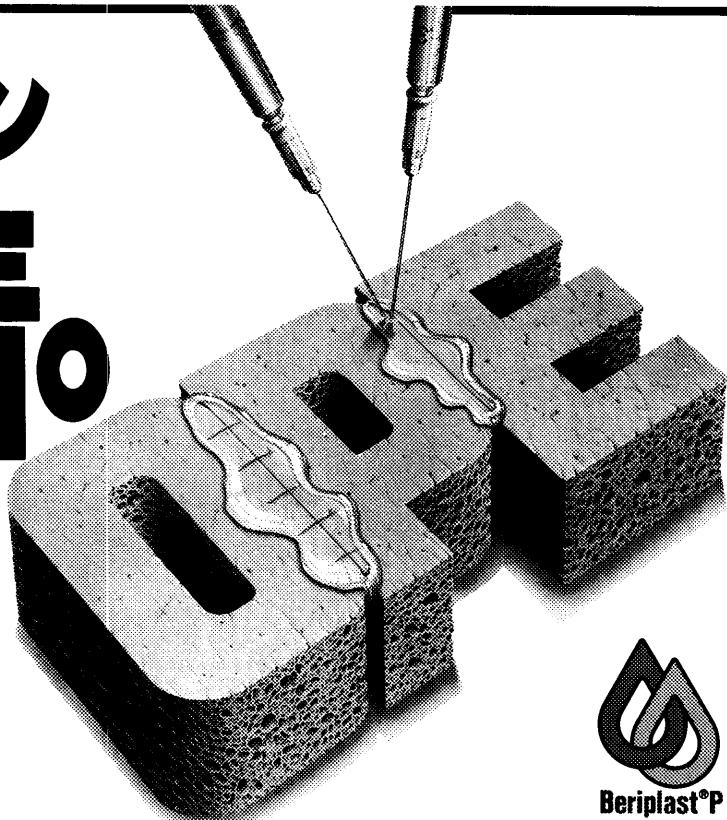


小野薬品工業株式会社

〒541 大阪市中央区道修町2丁目1番5号

940301

フィブリン 接着。



ベリプラス[®]Pは、組織を接着・閉鎖して、手術時における血液等の漏出を防ぎ、創傷治癒効果を發揮します。

特長

- ①生理的機序に基づいた創傷組織の接着・閉鎖が迅速に行われる。
- ②創傷組織の修復に重要な血液凝固第XIII因子を高濃度に含有している。
- ③セット化されているため調製が簡便である。
- ④溶解性に優れている。
- ⑤可塑性・弾力性があり、創傷組織によく密着する。
- ⑥湿潤状態での適用も可能である。
- ⑦バスツリゼーションを施しているため、HIVやHBV等の各種ウイルスに対する安全性が確認されている。

指 生理的組織接着剤

ベリプラス[®]P

薬価基準収載

【効能又は効果】

組織接着

(ただし、疊合あるいは接合した組織から血液、体液または体内ガスの漏出をきたし、他に適切な処置法がない場合に限る。)

* * 【使用上の注意】

1.一般的注意

1)本剤を血管内に投与しないこと。

2)間隔をおいた使用によりアナフィラキシー様症状を起こす恐れがあるので、観察を十分に行うこと。

2.次の患者には適用しないこと。

1)本剤の成分又は牛膝を原料とする製剤(アプロチニン等)に対し過敏症の既往歴のある患者。

2)下記の薬剤による治療を受けている患者。

凝固促進剤(凝器抽出製剤、蛇毒製剤)、抗

線溶剤、アプロチニン製剤

3.次の患者には慎重に適用すること。

重篤な肝障害、汎発性血管内凝固症候群(DIC)が考えられる病歴を有する患者。

4.相互作用

次の製剤との併用により血栓形成傾向があらわれる恐れがあるので、併用は避けること。

凝固促進剤(凝器抽出製剤、蛇毒製剤)、抗線溶剤、アプロチニン製剤

5.副作用

ショック…まれにショックを起こすことがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には直ちに投与を中止し、適切な処置を行うこと。

6.感染に関する注意

非A非B型肝炎等の未知のウイルス感染の可能性を完全に否定することはできないので、観察を十分に行うこと。

7.適用上の注意

1)溶解時に著しい沈殿の見られるものは使用しないこと。

また、一度溶解したものは時間をおいて再使用しないこと。

2)本剤を体外循環終了時等の噴出性あるいは流出性出血の激しい部位の接着・閉鎖に使用する場合は、適切な方法で血流を遮断した上で適用すること。

3)本剤の過量使用は避けること。

4)本剤の調製は、調製器セット内の使用方法説明書に従って行うこと。

8.その他

配合成分の一つであるトロンビン製剤で過敏症、発熱、嘔吐、頭痛等が報告されている。

【包 装】

0.5ml製剤 1ml製剤 3ml製剤 5ml製剤

** 1994年3月改訂

★用法・用量、その他詳細は現品添付文書をご参照ください。

★資料はヘキスト・ジャパン株式会社 医薬情報担当者にご請求ください。

1994年3月作成 BR-JA4(A①-1)0394-キ-タセ

製造：
ベーリングベルケ社

輸入販売：
ヘキスト・ジャパン株式会社
〒107 東京都港区赤坂八丁目10-16

BEHRING
f.Behring

お知らせ

第2回日本血液代替物学会年次大会は下記のよう開催される予定となっております。

日 時 平成7年6月19日(月)～20日(火)

会 場 東京

大会長 阿岸 鉄三 先生 (東京女子医科大学)

●編集後記●第1回年次大会が盛況のうちに終了しました。本号では年次大会大會長を務められた小林紘一先生から大会長講演として総説のご寄稿を頂きました。大会中にご発表頂いた一般演題につきましては、今回は2編の掲載となりました。編集委員および外部の先生方による査読を行い、速報性を重視した迅速な作業を進めています。その他、連載企画「獣医医療における血液代替物」2編、友田理事からヘモグロビンの利用法

に関するユニークなご提案、日本赤十字社中央血液センター医薬情報部田所先生から海外の血液検査事情を含めたレポートを頂きました。

編集委員の方々と本誌制作を開始して4号目となり、まもなく1年を迎えるとしています。会員の皆様のご好意のもと、本誌がますますおもしろく、また価値あるものとなるよう努力して参りたいと思います。なお、本号では初めて一部カラー印刷を試みております。(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 (3) 1994年9月28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701号

TEL (03)3203-4141 (EX) 73-6831 FAX (03)3209-5522

■編集・制作「人工血液」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