

目 次

人工血液

第3巻 第1号 1995年3月

会告

インタビュー 出血と生体反応—人工酸素運搬体の役割を考える	高折益彦 1
総説 組織虚血の予知と酸素運搬体投与による予防	馬場正三 9
原著 ポリオキシエチレン修飾ヘモグロビン(PHP)中の遊離鉄が誘起する酸素ラジカルに関する研究 山路香里 13	
人工赤血球(ARC)の急性期安全性試験—網内系および血液学的検討—	
守沢和也 18	
連載 獣医療における血液代替物	
獣医内科領域で血液代替物に期待すること 前出吉光 25	

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 3 No. 1 March, 1995

Announcement

Interview:

Hemorrhage and reactions - Possible roles of artificial oxygen carrier	Masuhiko Takaori 1
--	--------------------

Review:

Monitoring of tissue hypoxia and therapeutic potential of intestinal perfusion with oxygen substitutes	Shozo Baba 9
--	--------------

Original Article:

Free iron induced oxygen radicals in Pyridoxalated Hemoglobin-Polyoxyethylene conjugate	Kaori Yamaji 13
---	-----------------

Influence of polymerizable phospholipid vesicles encapsulated hemoglobin on the immune system in murine	Kazuya Morizawa 18
---	--------------------

Series: Veterinary Medicine and Blood Substitutes

Blood substitutes are awaited with great interest in the field of veterinary medicine	Yoshimitsu Maede 25
---	---------------------

【機能・効果】 肝血量が800ml以上で1週間以上の肝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) 本剤使用時の注意

1) 本剤の投与は手術施行予定患者の中で肝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）が起こ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、休業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業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を望ましい。

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、鉄欠乏時に鉄剤の投与を行うこと。

(2) 肝血式自己血輸血に伴う一般的な注意

1) 術前肝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実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) 血栓塞栓症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、搔痒感、痤瘡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. 適用上の注意

(1) 本剤を投与する場合は他剤との混注を行わないこと。



※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。

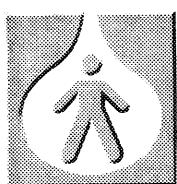
遺伝子組換えヒトエリスロポエチニン製剤

薬価基準収載

劇
指
要
指

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

第2回日本血液代替物学会年次大会 会告（第3次）

I 会期：1995年6月19日（月）・20日（火）

II 会場：フォーシーズンズホテル 〒112 東京都文京区関口2-10-8
Tel: 03-3943-2239
Fax: 03-3943-7523

III プログラム

大会長講演：人工血液の単純補充以外の使用法 （阿岸鉄三/東女医大）

特別講演：医療行政からみた血液代替物の開発・使用 （松谷有希雄/厚生省）

特別講演：Recent development of modified hemoglobin blood substitutes
(Thomas MS Chang/McGill Univ., Canada)

教育講演：人工血液の臨床治験ガイドライン （清水 勝/東女医大）

教育講演：獣医学における血液需要と人工血液への期待 （山根義久/東農工大）

教育講演：エホバの証人と人工血液 （秋本純一/市立吹田市民病院）

教育講演：The clinical use of diaspirin cross-linked haemoglobin in aortic
aneurysm repair. （Magnus A Garrioch/England）

シンポジウム：血液代替物開発における医・工・産連携のストラテジー
(司会：元木良一/福医大、西出宏之/早大)

ワークショップ：血液代替物の臨床的ニーズ—質と量—
(司会：小林紘一/慶大、仲井邦彦/道赤十字センター)

一般演題：広い意味での血液代替物に関する演題

シンポジウム・ワークショップは、一部指定・一部公募。一般演題は公募。

IV 演題提出：演題は指定の抄録用紙（非会員は、大会事務局に請求してください）に記入の上、1995年3月31日までに、大会事務局に提出のこと。

第2回日本血液代替物学会年次大会
大会長 阿岸鉄三

事務局

〒162 東京都新宿区河田町8-1
東京女子医科大学腎臓病総合医療センター内
Tel: 03-3353-8111 内線38315
Fax: 03-3358-9582

出血と生体反応—人工酸素運搬体の役割を考える

高折益彦

聞き手 薄場 彰

■急性大量出血について

薄場 今日は出血の治療ということに関して医学部以外の方を対象にわかりやすく解説していただきたいと思います。

まずははじめに、先生は出血に関して豊富なご経験をお持ちだと思いますが、急性大量出血というのはどういうときが多いのですか。

高折 やはり一番多いのはなんと言っても外科手術時の血管損傷と、交通事故を含む外傷でしょう。

薄場 手術時での頻度は結構多いものでしょうか。それとも珍しいものなのでしょうか。

高折 いいえ、手術の場合はあまり多くありません。順天堂大学の湯浅教授の統計がありますが、普通の手術でその93%は1000 mL以下の手術であります。つまり、1000 mLを越えるような出血が大量出血に入ると思いますが、それはわずか

7%であるのが普通です。手術を大きな手術のみに限定するともう少しその率は上がってくるのですが。

薄場 難しい手術であればやはりあらかじめ大量出血が予想されるわけですが、外傷の場合は突然発症しますね。

高折 そうですね、これは全く予想がつきませんし、もっと極端な場合、どれだけ出血して病院へ来られたのかということがわからないことがあるわけです。血は土の中へしみこんじやっている場合がありますから、このような場合は患者さんの臨床症状からだいたいこれくらい出血してたんじゃないかと予想をたてるのと、もうひとつは治療を行ってみて、ある量の輸血なり輸液なりをやってみてこれだけに回復した、そうするとこれくらい出血してたんじゃないかと予測するのが普通だと思います。

薄場 先生の今までの豊富なご経験の中で、出血にまつわるエピソードがもしありましたらお聞かせ願いたいのですが。

高折 主題とはずれるかもしれません、輸血をしないで手術をやるということは昔も行われたわけです。その中で私が経験して一番印象的だったのは、輸液すなわち晶質液、つまり電解質だけでコロイド（膠質物質）を含まないものでも、ある程度体液や血液の補いをして救命していた例がありました。これは大阪のある町の中で配管工事をやっているときにそこに埋めてあった鉄片が飛んできて頸動脈に刺さり、出血性ショック状態で来たのを血液がないものですから、10,000 mLの輸液、これは全くの晶質液で電解質だけなんですがこれを補ったというものでした。これは非常にラッキーなことで、助かりました。

薄場 それは輸血をせずに助かったわけですか、それともいずれ輸血したのですか。

高折 むろん後になって輸血をしました。またコロイド物質（膠

本インタビューは第1回日本血液代替物学会における特別講演のテーマを中心に、1994年9月、川崎医科大学において取材させて頂きました。高折先生、並びに薄場先生に深謝申し上げます。

(高折益彦 教授)

Masuhiko Takaori, 川崎医科大学麻酔学教室, 〒701-01 岡山県倉敷市松島577. Department of Anesthesiology, Kawasaki Medical School, 577 Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-01, Japan.

Akira Usuba, 福島県立医科大学第1外科教室, 〒960-12 福島市光が丘1. First Department of Surgery, Fukushima Medical College, 1 Hikarigaoka, Fukushima 960-12, Japan.

質液)も入れております。

薄場 輸血できなかったのはどういう理由ですか。

高折 血液型を判定する間もなかつたということがあり、ショック状態であったことです。大分昔のことですが思い出すと30分位で3,000-4,000 mL位入れていたという気がしますね。

■出血性ショック

薄場 それでは話をもどしまして、出血についてお話をお願いしたいのですが、出血が生体に及ぼす影響として最も重篤なのが出血性ショックだと思いますが、これは出血量や出血時間でだいぶ病態が異なると思うのですが、先生いかがでしょうか。

高折 もちろん出血量は一番大きな問題でしょう。その量がどのくらいのスピードで出るかというのも非常に重要です。というのは、生体にはある程度血液量が減るとそれに対して循環血液量を補ってやろうという機構があります。そのひとつは赤血球を脾臓とか肝臓とかいう赤血球の貯蔵臓器から送りだしてくる、さらにまた骨髄のようなところから新生してくるという機構があります。しかしそれはそんなに速くはありません。我々の血液は血球と血漿にわかれていますけれども、まず、血液量をはやく回復させるために何といつても血漿をすぐに補おうとします。その血漿はどこから来るかというと、血管の外にあるいわゆる間質というところがあるのですが、この間質部分、組織と組織の間の間質液が流入してきて血漿となる、というのがひとつの代償機構としてあるわけです。

薄場 その量と時間そしてそれを補う物質ということなのですが、出血性ショック、これはいったいどう定義されているのでしょうか。そして何を基準にして診断したら良いのでしょうか。

高折 ショックの定義というのもまた非常にいろいろありますて、一概には言えないのですが、やはり循環血液量というものが非常に重要なといわれています。

例えば、機能的循環血液量（実際血液の循環に役立つ血液の量）の減少を基盤とした末梢循環不全、つまり機能的循環血液量が減ってきたために血液を末梢組織へ送ることができない、それによって起こってくる末梢組織の代謝障害、とくに酸素不足というものがひとつの定義になります。重要なことは、末梢組織に代謝障害があるということです。だから、血圧が低いとか、頻脈であるとか、冷汗をかいているとか、顔色が真青とか、それは確かにショックの症状ではあるけれどもそれらは本質的なものでないです。ショックの真髄というのが何であるかといいますと、末梢の組織で細胞の代謝ができないということです。そのもとを造っているのが出血で血液量が減っている場合を出

血性ショック、ところが同じように酸素を送れない状態でも心臓がもうだめになつていて送れない、例えば心臓の筋肉が傷んでいてそれで血液が送れないということになれば、心臓に原因があるからこれは心原性ショックという名称になります。

薄場 出血性ショックと心原性ショック、あるいはseptic shock、神経原性ショックなどいろいろありますが、同じように代謝障害があると思いますがその出血性ショックの特徴はどこにあるのでしょうか。

高折 さきほど申し上げたように、その出血性ショックで循環血液量が減る、そのために心臓は打っていても血液がないので空回りしてしまう、だから血液を送りだすことができない。送りだすにもその血液がない、という状態が出血性ショックの最も特徴的な状態だと考えられます。

薄場 出血性ショックを診断する場合ですけれども、どのようなモニターを使って診断するのが最も実際的でしょうか。

高折 血圧、これは非常に重要なと思います。次にどれくらいの血液が心臓にあるかということ、これが重要ですからこのごろは非常に一般的になってきました中心静脈圧というものを測ります。これは非常に臨床的だと思います。

さらに最近では、心臓から血液が実際にどのくらい送りだされているか、いわゆる心拍出量を直接測る機械があるので、そういうものを使ってモニターするのが一番いいのではないかと思います。でもこれはあくまで循環の中心部だけの話なので、末梢組織にどれだけ酸素がいってあるかをモニターすることは非常に困難です。ですから、そこに今日のショック治療のピットホール（陥穴）があるわけです。例えばその末梢から返ってくる静脈血の酸素飽和度、つまりどれだけ静脈血に酸素が含まれているか、逆にどれだけ酸素が使われてきたかというようなものもある程度指標になります。

薄場 循環血液が減少して代謝障害とおっしゃいますが、具体的にどのような不利益を生体にもたらすのでしょうか？

高折 代謝障害と言いましたが、少し言葉が足りなかったようです。実際いろいろな意味の代謝障害がありますて、この場合とくに酸素が不足してくるために酸素を使った代謝ができないということが一番表面的になります。つまり酸素を使わずになんとかエネルギーを取り出せないかというような生体の反応、末梢の細胞の反応が起こるわけです。これがいわゆる嫌気性代謝という形であらわれてくるわけです。こうなりますと、普通では存在しない物質がどんどん血液の中に出できます。例えば、乳酸というような物質がありますね、これが血液の中へ流れてくると血液のpHが下がってきます。つまり血液が酸性に傾いてくるわけです。そのような血液が心臓に返ってきますと、心臓の収縮力も

ある限界までは保てますけれども、血液のpHが7.20以下になってくると収縮力の低下が起こってまいります。そうしますとまた心臓自身も打ち方が弱くなってきて、いわゆる悪循環を形成することになります。

薄場 いわゆるショックの悪循環ということでしょうね。

高折 そうですね。

■出血に対する防御反応

薄場 それでは話を生体側の方に移しますが、生体のいろいろな防御反応というものがありますが、従来より神経内分泌反応といいましてそのような防御機構がありました。その効果と限界はどのくらいまで働いて、神経内分泌反応とはいいったい何なのかということをお話下さい。

高折 神経内分泌反応の中心になるのはいわゆる圧反射、つまり圧受容体反射といわれるものです。われわれには大血管とともに大動脈とか頸動脈の部分に圧が下がってきたということを察知する特殊な神経器官があります。その神経器官の細胞が圧が下がることによって刺激されるわけです。そうするとそこからの神經興奮が起こりまして、中枢つまり脳

の中の自律神経中枢に伝達されます。特にその中でも交感神経系部分が興奮いたしますと、その交感神経は末梢の方へ刺激を送るわけです。つまり交感神経中枢が脳にありましてその末梢纖維がずっと全身にまわっていて、網の目のようにはりめぐらされているわけです。この交感神経の中枢が刺激されると、全身の交感神経の末端からノルアドレナリンという物質が出てきて、これが血管を収縮させます。そうすると血管抵抗が増えて血圧が上がり、血中に移行したノルアドレナリンは心臓に到達して心臓の収縮力を強くします。また、圧受容体からの刺激は副交感神経の中枢も同時に興奮させ、ここからの刺激が副腎に到達し、その髄質からアドレナリンを分泌させ、これがまた心臓の収縮力を増強させ少しでも多くの血液を心臓から送り出そうとします。これがいわゆる神経反射なのです。そもそもアドレナリンというのは内分泌物質ですからそういう物質を出すということがいわゆる神経内分泌反応になるわけです。

ところがそれ以外にまだひとつ経路がありまして、副交感神経の刺激は副腎の髄質にもいってます。そしてその皮質からいわゆるストレスホルモンといわれるような物質が出てきます。このストレスホルモンというのがいわゆるステロイドなのです。

これは副腎への直接刺激によっても出ますし、先ほど刺

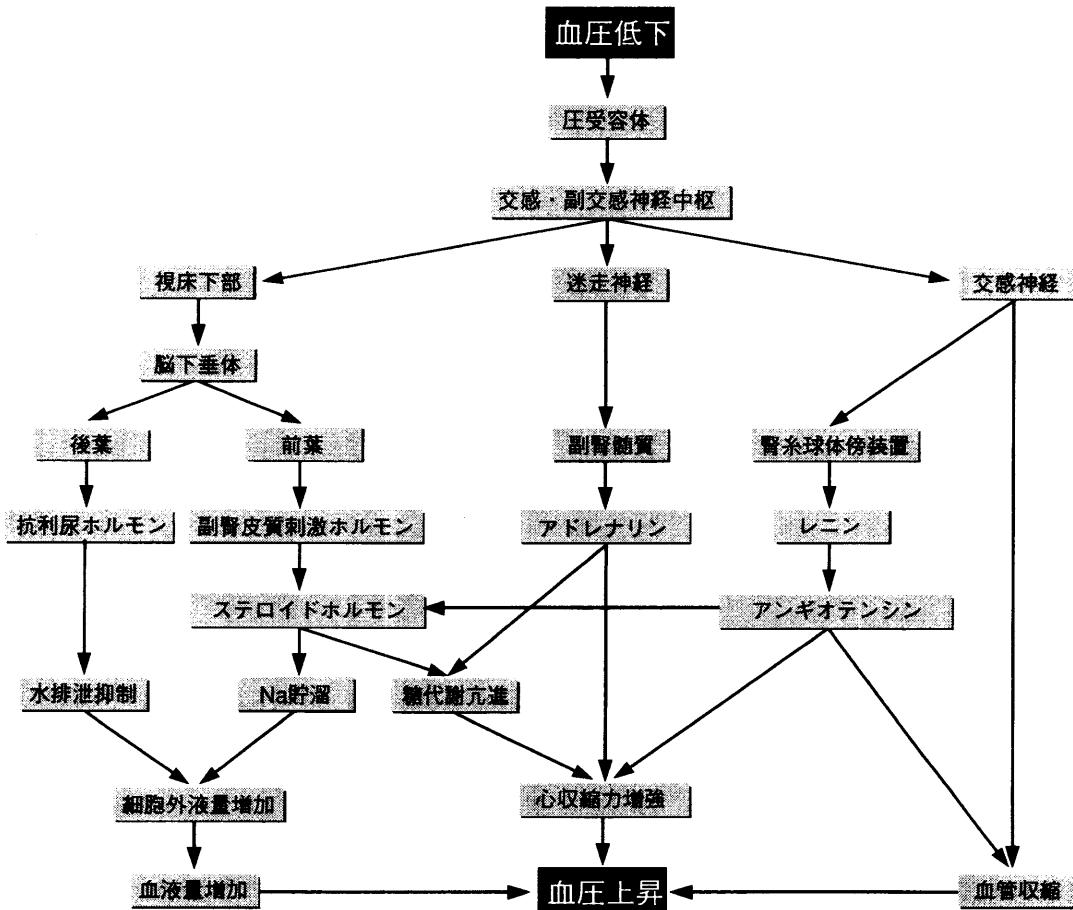


Fig. 1. 出血に対する生体の防御機構。

激されました大脳の交感神経中枢から今度は視床下部というところに刺激が伝わりまして、その視床下部からさらに脳下垂体へいきまして、その脳下垂体前葉から副腎皮質を刺激するホルモンが出て、そのホルモンによってステロイドが分泌される。これがひとつの内分泌反応として出るわけです。なぜストレスホルモン、すなわち副腎皮質ホルモンが出ることによって良いのかといいますと、このストレスホルモンは我々にエネルギーを与えてくれる、つまり糖代謝を盛んにしてくれる、ひとつの防御反応なのです。

一方、先に述べましたノルアドレナリンによる血管収縮は腎臓の血管を収縮させます。すると腎臓の一部の糸球体傍装置、およびその近傍の組織圧が低下し、これが刺激になって同装置からレニンが分泌され、これがいわゆるレニンーアンギオテンシンーアルドステロン系という一連の内分泌反射系を構成し、体内にナトリウムを貯え、細胞外液、ひいては循環血液量を維持、あるいは増加させるように作用します。またこの途中、アンギオテンシン(アンギオテンシン-II)は直接血管を収縮させ血圧上昇を助けます。

防御反応として先程触れた脳下垂体の前葉ではなくて後葉から抗利尿ホルモンというものも出されます。抗利尿ホルモンというのは利尿を止めるホルモンという意味で腎臓から水が排泄されるのを抑さえてしまうのです。水を出すのを抑さえても少しでも体のなかの水を増やす、つまり循環血液量を増やす一助とする防御反応があるといえます。以上の防御機構をまとめますとFig. 1になります。

薄場これまで主に生体の大きな生体防御機構ということですが、最近はもう少し研究が進みまして、細胞レベルでの代謝ということが大切になってきたというわけですね。そこでいろいろなmediator(伝達物質)が研究されておりますがこのmediatorというものはどういうものでまたなぜそういうものが出現するのかということについて触れてみて頂けないでしょうか。

高折 防御機構として話題の中心になっているmediatorですけれども、これにもいろいろなものがあります。ですから一概には申せませんが、例えば、血管を拡張させるような機構があります。というのは先程言いましたようにノルアドレナリンというのが分泌されると血管が収縮してしまうのです。これは血圧を上げるうえにおいては有効かもしれません。すれども末梢の細胞に血液を送るという意味では逆効果をもっています。こういうことを防ぐために血管を拡張するmediatorが分泌されることがあります。これには局所的mediatorとそれから中枢的なmediatorがあります。

例えば、局所的なmediatorとして今最も盛んに研究されているのが、というより研究されてしまったという方がいいかもしれません、プロスタグランジン系統の問題でありましょうし、それから現在ではさらに進んで血管そのものを変化させようとしているものに血管内皮細胞や白血球が分泌するいくつかのmediatorがあるわけです。そういうものが複雑に絡み合って末梢の細胞の生活を維持する、酸素の

供給を維持する、あるいは血液の流れを良くするということが実際には行われているのです。

薄場 そもそもは生体防御反応あるいは生体間の反応ということで生体のためにつまり利益をもたらすような働きのはずなのですが、これがたまたま不利益をもたらすことになるだろうということなのですが、いかがでしょうか。

高折 そうですね、非常に難しいのですが、私自身は生体内には生体にとって不利益になる反応というのはひとつもないと思っているのです。ただある程度の反応がオーバーシュートしてしまう、つまり行き過ぎてしまうと場合によっては生体の他の部分がそれに耐えきれなくなり、その部分で破綻をきたす、そうするとこれはせっかくある場所はうまく調節したにもかかわらずそちらの部分で調節できなくなつて結果的には生体全体がダメになってしまうというようなことが起こってきます。

薄場 実際の臨床経験を考慮に入れて、このmediatorとしてモニターする上でどのようなものをご推奨なさいますか、それともあまりに複雑で、まだ明確なことは言えないのでしょうか。

高折 ひとつ問題なのはmediatorというものをモニターにするのはそのmediatorがどれだけ出ているかということ、あるいはどれだけのmediatorが流れているかということ、さらにはmediatorが作用する場所にどれだけいっているかということを知らなければならないわけです。実際問題として臨床の場ではそれを測ることはほぼ不可能です。たとえ測れたとしてもその結果ができるのは一日後というようなことになります。私はmediatorをショックの判定基準にするのは臨床的には不可能ではないか、むしろ即時的にデータでの循環動態のほうとか、あるいは血液のpHであるとかそういうものの方が臨床的には価値があると思います。mediatorの代謝的なもの、例えばカテコールアミンにしても測定に最短時間でだいたい20分くらいかかりますから、そういうものはまだちょっと臨床的な意味は持たないように思います。

薄場 Mediatorは生体の不利益というような働きではないとおっしゃられましたが、現在はこのmediatorの発生を抑えるという治療法が研究されています。先生は、基本的にはこの治療法には反対ということですね。

高折 私は反対ですね。オーバーシュートしない程度の抑さえ方は意味があると思うのですが、もしこれを徹底的に抑さえてしまうと非常に問題が大きいと思います。たとえばtumor necrosis factor(TNF)というものにしましても抗体ができるわけです。その抗体を使ったからといってうまくいくかといいますと必ずしもうまくいかないです。TNFをある程度は遊離させておいたほうが治療には効果的だと私は感

じております。

■酸素代謝とシャント形成

薄場 それではお話を組織・細胞レベルに進めさせていただきますが、細胞レベルでは何といつても酸素代謝つまり運んできた酸素を利用するかしないかということが問題ですが、先生は先ほど混合静脈血の酸素飽和度が上がると細胞は酸素を利用できなかった、運んだけれど利用していない、消費していないと説明されました。この酸素の供給と消費のアンバランスはなぜ起こるのでしょうか。

高折 一番大きい原因は動脈から静脈へのシャントですね。なんらかの原因、たとえば末梢血管のなかで毛細血管部分が詰ってしまう、あるいは過度に血管が開き過ぎてしまうというような場合、また、血液の粘度があまりに下がり過ぎてしまう場合、というようなことが重なって起こる、または別々に起こるという現象がありますと本当に酸素を供給してくれるはずの毛細血管を通らずに血液の利用されない短絡血管を通ってしまうことが起こります。そうすると混合静脈血液の酸素飽和度がむしろ上がっててしまうことになります。これは一見酸素不足ではないような印象を受けるわけですが実はそうではなく酸素不足になっているのだということがありますうるわけです。すなわちこのようにことはむしろ組織酸素の供給には不利であるということになるわけです。

薄場 どうしてそこのシャントというのが開いてしまうのでしょうか。本態は何なのでしょうか。

高折 もともとシャントが開くメカニズムというのは末梢の毛細血管に過剰の血液が流れてきたときにそれによって毛細血管への障害を防ぐ防御機構としてあったのだと思うのです。それがいつも過剰のときにはちゃんと防御機構として働いてくれるのですが、そうではなくいろいろな病的な状態になるとあたかもそれと同じ様なことが末梢血管では感ずるわけです。それであわてて短絡路を開いてしまうのです。またちょうど短絡路の入り口のところに括約筋というのがありますて、それが開いたり閉じたりする調節機構があるのでけれども、それが開いてしまって、流してしまうというのが一番大きな原因だと思います。

薄場 従来からそのシャントとステロイドの関係がいわれていますが、あるいは最近では関係があるかどうかわかりませんが、一酸化窒素の問題があるのですがこれはどのようにお考えですか。

高折 昔言われたステロイドの効果ですが、ステロイド自身に静脈側の血管拡張作用があるのでといわれました。何らかの原因で末梢の毛細血管の静脈側の部位が収縮を起こしそのため毛細管圧が高くなりシャントすなわち短絡血管を血

液が流れるようになります。これに対してステロイドは毛細血管の静脈側を広げることによってシャント血流を減らして本当の毛細血管に血液を流すといわれたのですけれども、どうもその考え方は現在ではあまり信用されていないようです。

次の最近の話題はNOつまり一酸化窒素ですけれども、この一酸化窒素についてもまだ研究の途上にあります。はたしてシャントにつながるのかどうかということはわかりません。ただ一酸化窒素が作用する場所というのがわりと血管系としては末端の部分、しかもわりと一枚の、一層の内皮細胞のようなところでも起こるようになってますから、そのような意味からいえば治療効果はあると思います。ただ現実にそれによって十分効果があったということを証明するには至ってないと私は思っています。

薄場 このような酸素代謝のアンバランスというのは各臓器同じように起こるのでしょうか。それとも起こりやすい臓器とか臓器別に特徴があるのでしょうか。

高折 これは完全に臓器別があります。はっきり言いまして重要な臓器は良く血流が得られますが、皮膚のようなものでは早くから血流が遮断されるというのが現実です。特に本日話題となっている出血性ショックということになりますときめんでして、皮膚と筋肉というのは早くから血流が減少してしまう、それに対して重要臓器である脳はいつまでも血流が維持されます。このような各臓器別の差があります。

■出血性ショックの治療

薄場 今度は治療について話を移させていただきます。出血性ショックの治療の原則をどのようにお考えですか。

高折 何といっても出血性ショックのもととなっているのは循環血液量の減少ですから、まずこれを治すということが第一です。もうひとつは、出血した血液というのは酸素運搬能があるわけですので、酸素運搬するヘモグロビンを補うということが第二番目だと思います。

薄場 輸血をして喪失したものを補うわけですが、補うとすぐ回復するものなのでしょうか。それとも時間がかかるものでしょうか。

高折 これはやはり時間がかかります。一回出血という現象が起りますと低血圧になります。そうしますと重要ではない臓器の血液がほとんどゼロに近くなってしまい、特殊なところだけに血液が集められるわけです。これがなかなか解消されないわけです。すなわち、ある臓器にはいつまでたっても血管収縮が起こっていてそこがもとに戻らないということが起こります。

また、輸血をすると一次的にある特殊な部分だけに血液

が増えるのです。例えば心臓を中心としたいわゆる中心血流量といわれるところが非常に早く増えてしまいます。そのため今度は腹腔臓器の方の血液量、血流は減ったままであるという現象が起こるわけです。ですから、心臓が弱っている人にあまり急速に輸血をすると肺水腫を起こすと從来いわれてきたのですが、これは当然のことなのです。

薄場 すぐには回復しない部分があるということですけれどもそれをすぐに回復させる手段、治療法はあるのでしょうか。

高折 私自身はそれについていろいろなことをやってきましたけれども、現実問題としてあまりいい治療法はなかったと思います。ただ心臓のポンプ作用を強くすることによって、心拍出量を増加させ、ある程度その異常状態となっている血液の分布を改善するひとつの手段になったように思います。けれども、この薬を使うからすぐにその異常状態を回復するということにはなかなか到達しなかったように思います。

薄場 先生はご講演のなかで α -ブロッカーやCa拮抗剤のことをお触れになりましたけれども、このことについてもう少し詳しく教えてください。

高折 確かに α -ブロッカーとして当時はフェノキシベンザミンという古典的薬ですけれどもこれを出血性ショックの動物に使いますと、血液の特に赤血球の分布が犠牲になるべき臓器までよく行き届いたということが認められていました。また、Ca拮抗剤もわりと末梢の毛細血管の部分を広げることによって赤血球を誘導するのには非常に有効であったというデータも得られております。

薄場 ステロイドのことについて先ほどお触れになられたのでここでは省略しまして、治療の結果回復するわけなのですがその回復するかしないかの目安というのはありますか。

高折 私は全くないと思っております。これは私が実は医者になった当初から強くいわれたことでありますて、回復するかしないかという目安をみるのには、その回復しないという状態をつかまなければいけないのです。ところが回復しない、irreversibleということをつかむ研究はできないのは当然です。ただ、ある程度回復するかどうかは予測できると思います。なぜかといいますと、みているモニター類が次第にいわゆる正常に近づくということになれば、これは一応回復の兆候があるとみなしていいのではないかと思いまます。

薄場 回復の兆候ということなのですが、何を指標として回復するということになるのですか。

高折 それは先ほど申しましたが、いちばん問題になるのは臨床的であるか、研究的であるか、動物実験的であるかによつ

て違うと思うのです。例えば臨床的な問題から申しますと循環動態がより正常に近づくというのがひとつ、また代謝的な問題としての一番簡単なのが血液のpHだということになります。そういうものの正常化が重要なのではないかと思います。

■Fluorocarbonと高濃度酸素

薄場 今度は人工血液に話を進めさせていただきたいと思います。15~16年前からいわゆる人工血液としてfluorocarbonが使われまして、私共も臨床で盛んに使いましたが、ひとつ非常に心配だったことがあります。それは網内系に対する影響もさることながら、fluorocarbonを使う場合には高濃度の酸素を、すなわち純酸素を吸入させなければならないということです。これに対する見解が研究者によって異なっていました。ある人はかまわないといい、ある人はかえって障害があるといい、先生ご自身はどのようにお考えになりますか。

高折 私はfluorocarbonを使うことに賛否を申し上げるのではなく、高濃度の酸素を吸うことによる障害というものをもう一度考えてみたいと思います。まず正常状態の人、とくに肺が悪くない人に高濃度の酸素を吸わせるとどういうことが起こるかということです。

第一に酸素というのをご存じの通り21%空気の中にはありますが、この21%では何ら障害を起こさないわけです。もっと極端にいいますと40%までなら障害を起こさないのです。ところが40%を越えますと、必ず何らかの障害を起こしてくるということが過去の研究からわかっています。例えば100%の酸素を吸わせますと72時間で肺に障害が起るとされています。

もうひとつは脳の中の代謝系、酵素系にも障害が起こっているということが立証されている点です。そういうことが何によって起こってくるのかといいますと、酸素濃度つまり酸素がある分圧に達しますと細胞に障害が起こることです。ですから、その高い分圧の酸素を細胞に近づけないということが極めて重要だと思います。

そういう意味で私はどうしてもfluorocarbonのように高い分圧を必要とする、あるいは高い濃度の酸素を吸入しなければいけないということになれば、ある限られた時間内だけにとどめるということが必要でなかったかと思います。

■人工酸素運搬体と低粘性

薄場 高濃度酸素の話はこのくらいにいたしまして、今度はヘモグロビンを主体とした人工血液の特徴とて、粘度が低い、それから酸素運搬能が高いということがあります、まず粘度についてお伺いします。

我々は、粘度が低ければ末梢循環の負荷がとれて末梢まで酸素が届けられるのではないかと単純に考えたのですが、先生はどのように考えておられますか。

高折 確かに粘度が低いことによってある程度は末梢循環を改善させることができるでしょう。ただ、粘度が低いと末梢血管抵抗つまり血流に対する抵抗が減るわけです。抵抗が減るということは血圧が下がることなのです。そうしますと、それに対して先ほど申しましたようにその圧受容反射というものが働いてきまして、心臓が強く打ってくるわけです。のために血流が増えるのです。血流が増えるということは非常にいいようになるわけです。ところがそうではなくて、血管系に余分な血流がくるとこれを側方へ流してしまってシャント血流ができます。だからそのためには困る毛細血管の血流量が減る可能性があるという心配が出てきます。

それから血液粘度が低下することに伴う重要なことがあります。心臓は血液粘度が低下しますと力強く収縮してより多くの血液を拍出しようとするのですが、それには多くのエネルギーが必要です。そのエネルギーは冠動脈という心臓に対する栄養血管から得ています。そしてその冠動脈の血圧は心臓が収縮から弛緩に移ったときに心臓の組織、すなわち心筋に到着するのです。冠動脈は大動脈から心臓に入ってくるのですが、血液の粘度が低下したときの大動脈の血圧変化はFig. 2に示すように心臓の収縮期には粘度が下がっていないときとあまり変わっていないのですが、心臓の弛緩期（拡張期）には著しく下がってしまいます。すなわち冠動脈へ流れる血液が減ることになります。心臓は一生懸命に働いて血液を送りますが、その心臓には栄養が来ないという危機的な状態が生じることになります。これが血液の粘度が著しく下がるとよくないという理由の一つです。末梢への血流が増える、末梢の微小循環が良くなるからと言ってどんどん血液の粘度を下げることは良くないというわけです。

■人工酸素運搬体一酸素運搬能と酸素代謝

薄場 もうひとつの特徴は酸素運搬能が高いということですが、これは我々は単純に酸素運搬能が高ければ投与量が少なくても十分に効果が得られると思いますが、その場合組織が実際に必要としている酸素はなにに対してどのように補えればよろしいのでしょうか。また、実際にそれだけの酸素を必要としているのかどうかということも含めて代謝の面から詳しくお話ししたいと思います。

高折 実際問題として組織へ酸素が十分いっているかいかないかということを測定することは非常に困難です。

ひとつ的方法として組織の酸素分圧を直接測るという方法がありますが、これがはたしてその細胞の酸素分圧を測っているのかどうかという疑問が残ります。実際、細胞のひとつひとつ酸素分圧あるいは酸素濃度を測るという方法がありますけれども、これは特定の細胞に限局されますのでその周りの細胞はどうだったかと、つまり針を差し込んで中の酸素分圧を測るわけですが、それ自身がもう細胞に障害を与えているので、その障害を与えられた細胞での酸素分圧ではないかというクレームを受けるわけです。だから難しいわけです。

そうするともうひとつ元へかえって組織の酸素を測るという方法があります。これは実際できます。実験段階ではひとつのモニターに十分なりうると思います。

あるいはそのもっとオーバーオールに、体の全体をひとつのものと考えてやるとなれば、また元に戻りますけれども、先ほどの混合静脈血、ある特殊な臓器からの灌流静脈血の酸素含有量、酸素飽和度、あるいは酸素分圧を測って判定することはできると思います。

また、リンパの分圧を測るという方法がありました。実際私どもも行いましたけれども、リンパの分圧を測っても

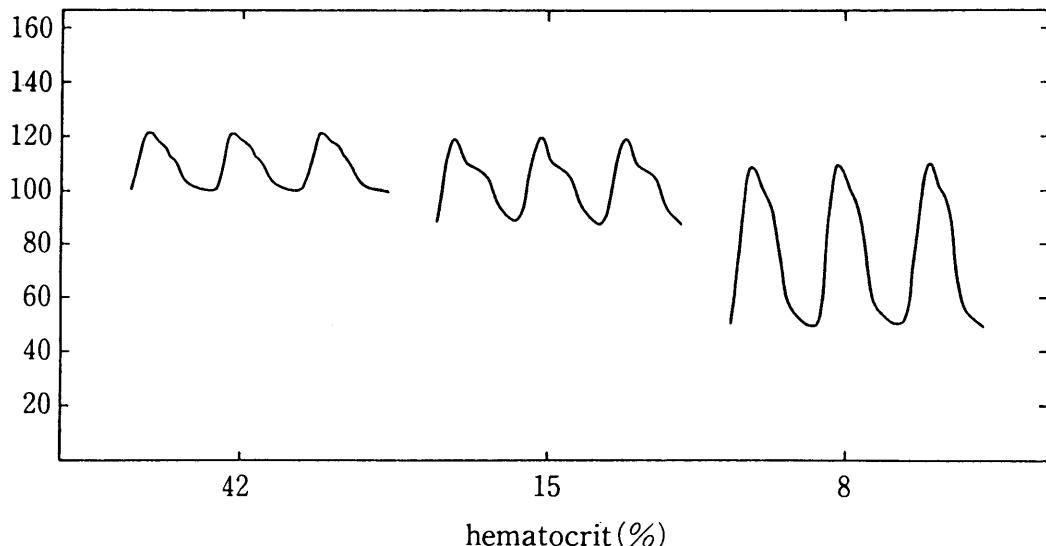


Fig. 2. 血液希釈時の動脈波形の変化。縦軸は動脈圧(mmHg)を示す。血液粘度が低下し末梢血管抵抗が低下すると拡張期血圧が低下し、脈圧が増加する。

先ほど申し上げました灌流静脈血の酸素の増減とリンパの酸素の増減とがパラレルにいくとはいえないという状態がありました。だから私は必ずしもリンパ流、つまり組織間液の酸素濃度を測ってその組織で酸素が不足しているか不足していないかということはちょっとモニターするのに難しいと思いました。

薄場 そこがいちばん我々としても困っているわけです。ショックとなりますと代謝が亢進しておりますから、通常より酸素消費量が高まっているはずですが、酸素を与えておけばいいということで過剰に与えているかもしれないのですがそのあたりを先生教えてください。

高折 過剰に与えたらマズイという意味ですか？

薄場 ええ、そういうことはあるのですか？

高折 少なくとも酸素分圧を異常に上昇させない限りそれはないと思います。有名なsupernormal oxygen deliveryというカリフォルニアのShoemakerの論文が1987年に出ていますが、それが出る前に1970年の初め頃までにoxygen deliveryとoxygen consumptionのアンバランスがかなりいわれていたわけです。そしてその1987年以前の2~3年にショック状態特に敗血症性ショックの場合には普通のoxygen deliveryでは組織は酸素不足になる、だからその普通の値の少なくとも1.3~1.7倍くらいの酸素を与えるべきであるという論説が出されました。しかし、その後特に最近2~3年はそれはないとまた否定的な見解がかなり出ています。ですから私はsupernormalなoxygen deliveryというのは決して悪いとは思わないのですけれども、必要がどうしてもあるかといいますと必ずしもそこのところは断言できません。

薄場 生体に不利ではないけれども効果となるとどうかということですね。

高折 疑問を持っています。

薄場 そのあたりが人工血液の一番売り物であったと思うのですが、昨年7月にボストンで国際血液代替物学会が開かれまして、カリフォルニア大学サンディエゴ校のWinslow教授が講演しましたけれども、人工血液の効果を何で判断するかと

いうことですが、要するに人工血液は血液より優れていなければならぬ、その優れている効果をただ単に酸素運搬能において優れているとかそういうことだけで判断してもいいのかと彼が問題提起をしていました。結局人工血液を投与した患者の退院がはやまったり、傷の治りがよかつたり、副作用が少なかつたりそういうことで判断すべきであってただ単に酸素をいっぱい運んだからそれで良いというのは間違っているのではないかと。これは恐らく人工血液の学会では永遠のテーマになるかもしれません、この当たりどうお考えですか。

高折 私も確かに言われる通りだと思います。人工血液にしても他のいかなる人工的なもの、あるいは人工臓器にしても、生体のもっている血液、心臓、肝臓よりもよりいいものと言ってもそれは決していいことはないと思うのです。生体のひとつひとつの機能は、その生体の正常状態を保つためにいちばんよくできていると思います。これはなにも立証はありませんけれども私の信念なんです。というのは、少なくとも我々という人間あるいは人間ではなくてもいいのですが、そのもうひとつ前の未開発の状態の動物だったかもしれません、そういうものが持っている心臓なら心臓、血液なら血液はそれこそ何億年という歴史を経て一番いいところに集約してきたと思うのです。だから、今新しくひとつ一つのところをその機能よりいいものをこしらえたとしても、他のorganが、あるいは機能が適応できないと言うのが現実だと思うのです。

だから今の赤血球のあのヘモグロビンのdissociation curveというのは、これは私の偏見かもしれませんけれども、現在の我々の生体に最も適したカーブになってしまったのだと思います。そのカーブになるまではそれこそ何千万年とか何億年とか歴史を経てきていると思うのです。それによって他の組織も長い歴史を踏んででそこに適合しているわけですから、ひとつだけを取り上げて我々がデータ的に見ていいからといってそれは決していいわけじゃないと思います。やっぱり自然が一番いいんじゃないかというのが私の考え方なのです。

薄場 これは先生の長い経験からた信念といいますか提言というものでしょう。このことは我々も忘れないで常に自問自答していかなければならない永遠の問題だと思います。先生、今日は本当にありがとうございました。

組織虚血の予知と酸素運搬体投与による予防

馬場正三
青木克憲
*Shozo Baba
Katsunori Aoki*

Monitoring of tissue hypoxia and therapeutic potential of intestinal perfusion with oxygen substitutes

組織虚血

組織虚血とは組織の酸素要求にみあう十分な酸素を供給できない状態である。それには酸素の供給自体が障害される場合、酸素を利用できない状態、組織の酸素要求が異常に増加した状態などが考えられる。まず酸素の供給は酸素カスケードがあり、動脈血酸素飽和度PO₂ 95 torrのものが細胞レベルにいたると1 torr程度となり、その間にいろいろな要因の影響を受けることがわかる。特にショックなどによる微小循環系の細動脈の収縮は細胞酸素濃度に大きく影響することが容易に理解される。

高等動物は好気性解糖というエネルギー効率の良いgeneratorをもつようになつたため、1分子のグルコースがTCAサイクルを通り代謝されると36モルのATPが產生されるが、逆に細胞はanoxicな状態に対して非常に弱いというアキレス腱を持つようになったといわれる。細胞はある程度のanoxic stateには耐えることができるreversible stateがあるが、長時間無酸素状態に置かれると、やがてATP dependentのカルシウムポンプが作動しなくなり、細胞膜の崩壊をきたし細胞死を迎える。その際のミトコンドリアの変化をFig. 1に示す。

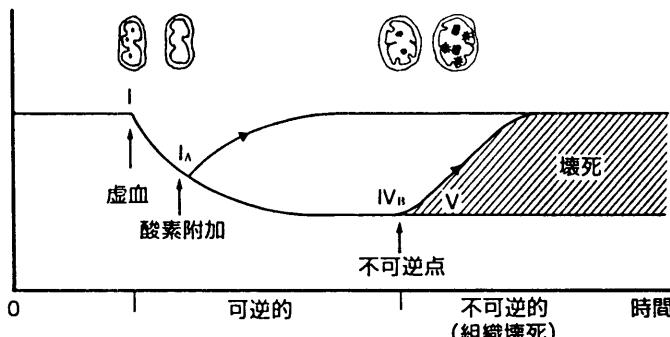


Fig. 1. Anoxic stateにおけるミトコンドリアの変化

- I 正常状態-正常なelectron-dense granuleが散在する。
 - IA 形状の変化はないが顆粒が消失する。
 - IVB 内部構造の膨化とカルシウム沈着がはじまる。
 - V 大きな綿状凝集塊の発生、カルシウム沈着の増加。
- (Pathophysiology of Shock, Anoxia and Ischemiaより引用、改変)

浜松医科大学医学部第2外科、〒431-31 浜松市半田町3600, 2nd Department of Surgery, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu 431-31, Japan.

酸素は両刃の刃であることはよく知られるところであり、Bulkley(1)は虚血による組織障害をischemic componentとreperfusion componentの和として捉えている。すなわち、anoxic stateによりhypoxanthineが蓄積された状態でreperfusionにより酸素供給されると、活性酸素が発生し、白血球の血管内皮への接着が起り、白血球の有する種々の細胞障害因子により微小循環系の損傷、ひいては組織損傷を引き起こすと考えられている。従つて酸素で治療しようという場合、虚血状態を正しくモニターすることが必要となる。

消化管粘膜pH (pHi) モニタリング

消化管は消化、吸収の重要な場であるが、その他にも血流の調節、免疫など生体にとって重要な機能を有している。消化管への血流量は心拍出量の1/3を占め、消化管の毛細管容量は全循環血液量をも収納しうるといわれている。生体がショックに陥ると消化管血管は収縮し、autotransfusionの役割をする。

虚血に対する感受性は消化管組織により異なるが、粘膜は特に酸素欠乏に弱く、酸素が供給されている間は十分量のATPが产生されるが、酸素の供給が止まるとATP産生が減少、ADPが上昇し、さらにlactic acidosisになり、組織pHが低下する。すなわち、cytochrome redox stateが低下した状態になる。

臨床的に消化管の虚血状態を把握するのにいくつかの方法が開発されている。Doppler血流計、Laser Dopplerによる血流測定、下腸間膜動脈 (IMA) stump pressureなどは開腹時における腸管阻血の予知手段であり、術前あるいは術後の経過観察には用いられない。また組織の酸素不足の状態は血流量の減少のみに起因するのではなく、その他の要因にもよる。例えば酸素分圧、ヘマトクリット、血小板、白血球、内皮細胞の状態、毛細管の分布、組織のmetabolic needsの量、などが挙げられる。

虚血による組織の不可逆的変化が起こる前に、虚血を立証する最良の方法は組織内での酸素量を間接的ではあるが可及的に正確に測定することである。今日この測定方法はmetabolic markerであるADP/ATP比、lactate量、cytochrome redox state(ケトン体比)あるいは組織内pH (pHi)などの測定によって行われている。(Fig. 2)

pHiの測定法には胃腸管粘膜壁内に直接針を刺して測定する方法もあるが、長期間の測定には再現性の点で問題がある。ここに述べる方法は炭酸ガスが組織の透過性が良いという特性を利用してつくりだされた間接的測定法である。Fig. 2のように、ゾンデ

方 法

Tonometer (Tonometer Inc. Massachusetts, USA)

1. 術中手的に Sigmoid Colon に留置する。
2. 下図のごとく、Henderson-Hasselbalchの式より pH を算出する。

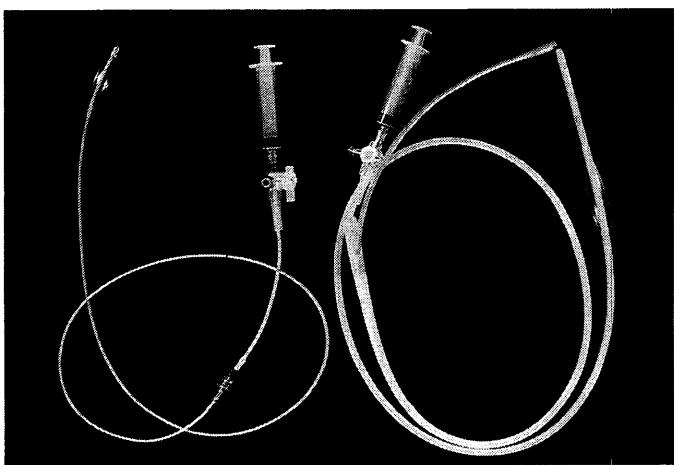
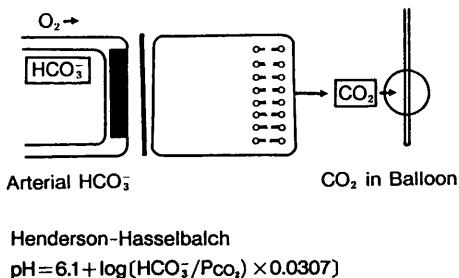


Fig. 2. Tonometerとその測定法。右の太い方が胃用、左がS状結腸用である。胃用のTonometerは胃管と同様に挿入、留置する。S状結腸用は術中に挿入、留置する。

先端に炭酸ガス透過性の良いシリコンバルーンを装着し、これをS状結腸内に挿入留置する。バルーン内に注射器を用いて生理的食塩水10mlを注入し、1分後に採取する。採取した生食水を血液ガス分析器にてCO₂濃度を測定し、同時に測定する動脈血HCO₃⁻値により、Henderson-Hasselbalchの式を用い粘膜内のpHを算出するものである。これによれば、継続的、頻回の測定が可能で、針による腸管壁内刺入よりも安定した値が得られる。

この装置は、Fiddian-Green(2)および馬場により共同開発されたTonometer (Tonometer^M)と呼ばれ、Tonometrics Inc. (Bethesda, USA)により販売されている。基本的には同じ構造であるが、胃用、S状結腸用の2種類がある。(Fig. 2)

Perfluolochemical(PFC)による消化管(特に胃ストレス潰瘍)虚血の予防

1. 実験的研究

ラット拘束水浸ストレス潰瘍

ラット拘束水浸ストレス潰瘍を作成する際、水浸開始と同時に無処置群(A群)、生食水胃洗浄群(B群)、PFC-O₂胃洗浄群(C群)を作成し、その効果を組織学的に判定した。PFC-O₂の酸素解離曲線をFig. 3に示す。その結果、PFC-O₂群において明らかに予防効果が認められた。追加実験としてB群について生食水の代わりに人工血液の溶解液を用いたが同様の結果を得た。(Fig. 4)

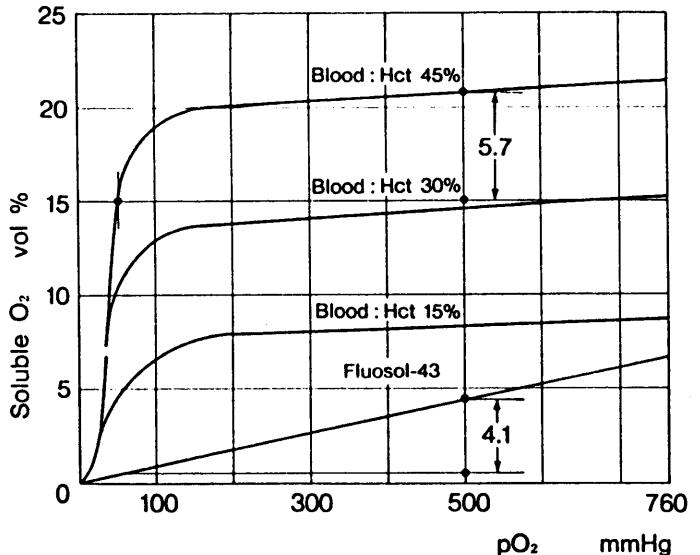


Fig. 3. 全血および人工血液(O₂-PFC)の酸素解離曲線。

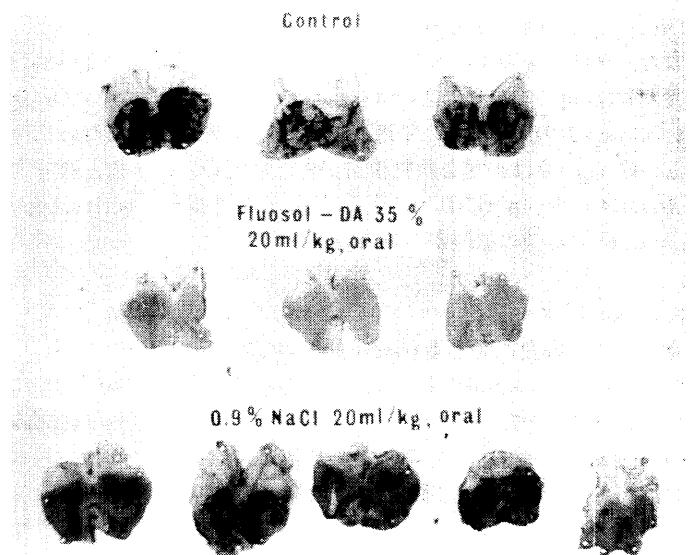


Fig. 4. ラットストレス潰瘍に対するPFC-O₂の有効性。中段がC群(FDA-O₂)で潰瘍が発生していない。対照群ではいずれも出血Erosion、潰瘍を認めている。

Shock-reperfusion modelによる実験

基礎実験として成犬18匹を用いmicroprobeによるpH実測値とTonometerによる間接的胃壁pH算出値の相関を調べた。

測定回数は108回、相関係数はFig. 5に示すごとく0.74と正の相関を認めた。そこで犬で血圧40 mmHgに3時間維持後、脱血した血液を輸血により再灌流するshock & reperfusion modelを作成した。この実験モデルにTonometerを挿入し、同時にmicroprobeによるpHの直接モニタリング、reflectance spectrophotometerによる粘膜の酸素飽和度(SiO₂)の測定を経時的に行つた。

胃壁内pH(pHi)はショック作成時、時間とともに低下するが、ショック作成後1時間の時点でのpHi 7.24 ± 0.02 (mean \pm SD), Fiddian-Greenらのいうcritical levelに達したため、ここでFDA-O₂による洗

浄を開始した。洗浄群(C群)ではその後pHiは 7.25 ± 0.02 を維持したが、無洗浄群(B群)では、downhill courseを辿り、pHi 6.79 ± 0.02 まで低下した(3)。(Fig. 6)

Reperfusion後 sacrificeし、胃潰瘍発生の有無を検討した結果、C群では胃潰瘍の発生を認めなかったのに対し、B群では潰瘍の発生を認めた。

この間のヘモグロビン量ならびに酸素飽和度の推移を示したものがFig. 7である。1時間の時点での酸素飽和度は 15 ± 6 と低下するが、洗浄と同時に 27 ± 6 と上昇した。一方、ヘモグロビン値は 30 ± 6 と低下したままであることから、胃腔内に投与した酸素が粘膜血流中に移動したと考えられる。酸素の粘膜を通しての門脈血中移動は別の実験により $^{18}\text{O}_2$ を用いたFDA-O₂により証明した(4)。

小腸虚血再灌流実験

SMA遮断による小腸虚血再灌流ラットモデルにおいて、Wistar雄性ラットのSMAを45分間遮断し、PFCを用いた腹膜灌流の効果を検討した実験では、非腹膜灌流群をGroup 1、生食灌流群をGroup 2、PFC灌流群をGroup 3とした。24時間生存率はそれぞれGroup 1、14.3%、Group 2、20.0%、Group 3、70.0%であった。また、再灌流後のエンドトキシン値および腸管膜リンパ節細菌培養率はGroup 3で有意に低い値を示した。組織学的検索ではGroup 1、Group 2の小腸において構造の破壊が著明に見られたのに対し、Group 3では正常な粘膜構造が保たれていた。また、肺ではGroup 1、Group 2において著名な血球の浸潤や、perivascular edema、リンパ管の拡張がみられた。

2. 臨床的研究

胃の虚血性病変に対するTonometerの応用

R.G. Fiddian-Greeniによれば、46人の心臓手術患者の術後胃pHiの測定では平均 7.52 ± 0.10 であり、平均 -2SD の7.32がcritical point valueであると報告している。この数値を基準とした場合、7人の愁訴ある患者で29回pHi測定の全てに異常値が、また愁訴が改善された6人の患者で47回のpHiの測定で、45回の正常値が測定され

たと述べている。

当科において、腹部大動脈瘤手術後の患者2例に試用したが、両者とも術後、胃虚血の臨床症状が現れず、pHiも7.32以上であった。

さきにわれわれは9例のmajor surgery術後患者において胃ゾンデの潜血を測定し、潜血陽性となった時点でFDA-O₂洗浄を数回行うことにより、7例において潜血の陰性化を認めた。

しかし、酸素を虚血が進行した時点で投与するとfree radical発生の危険が考えられるため、正確にTonometerを指標にしてFDA-O₂洗浄の適応を決定するのがよいと思われる。ただし、この際FDA-O₂溶解液中のHCO₃⁻がmonitoringの障害となる。そこでHCO₃⁻ bufferの代わりに生食水を用いたFDA-O₂洗浄液を試作し、これを用いた。

胃pHiの測定

種々な要因による組織虚血によって胃にストレス潰瘍を形成し、そこから出血し、いくつかのrisk factorを持つ集中治療室の患者にとっては予後に重大な影響を及ぼすことが多い。この潰瘍形成、出血の予知を、pHiをmonitorすることにより可能か否かの検討がいくつかの施設で試みられている。以下、pHi測定が有効であった症例を提示する。(Fig. 8)

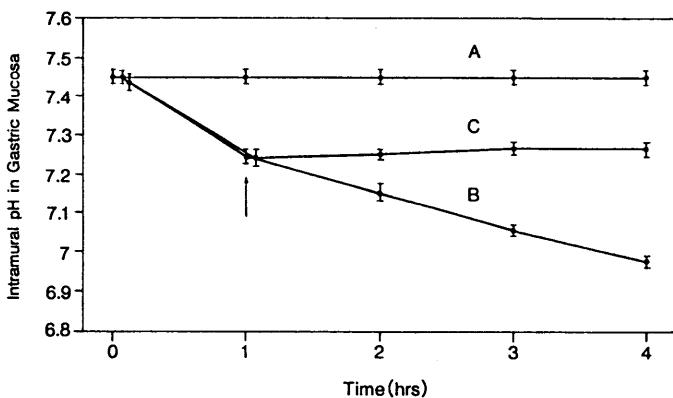


Fig. 6. Shock-reperfusion modelにおけるpHiの測定とPFC-O₂の効果。

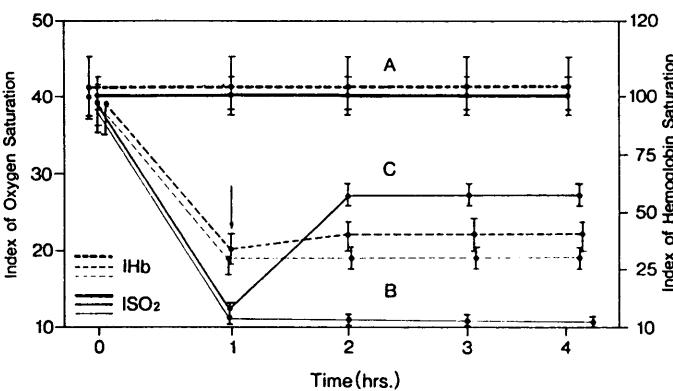


Fig. 7. Shock-reperfusion modelにおけるSiO₂の測定とPFC-O₂の効果。

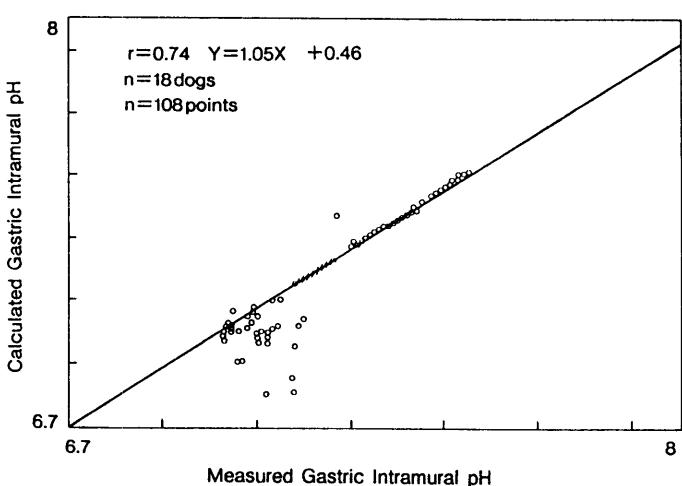


Fig. 5. Gastric Tonometerによる胃壁内pH(pHi)測定。間接測定値とpHメーターによる直接測定値の相関。

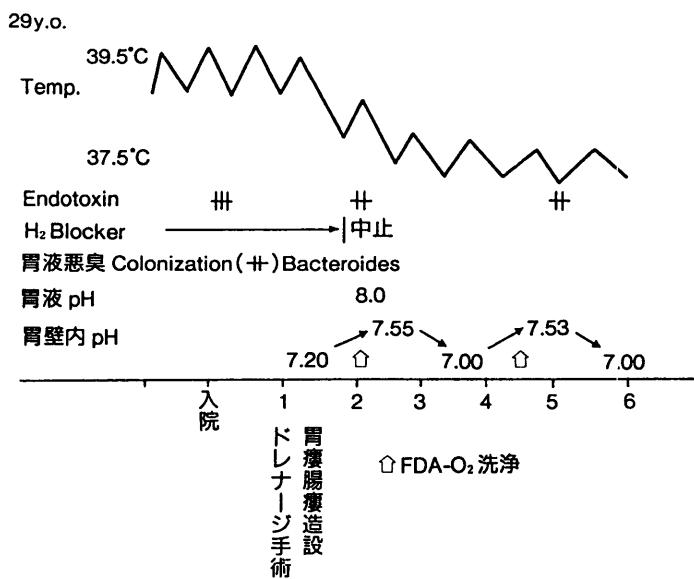


Fig. 8. MOF症例(29歳、女)における酸素化人工血液による胃洗浄の効果。

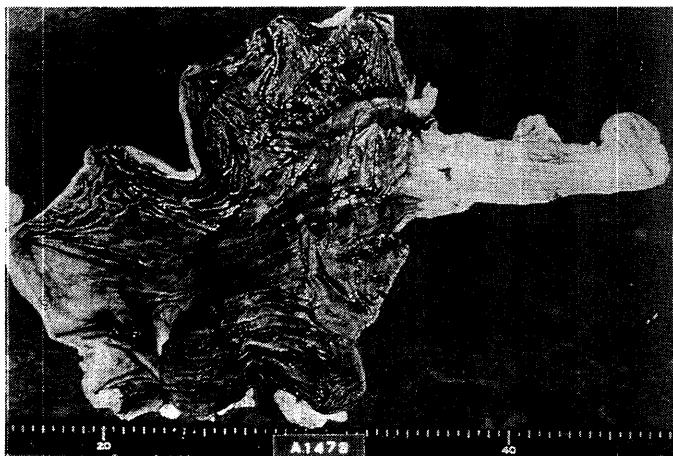


Fig. 9. MOF, Fig. 8と同症例剖検時胃粘膜。

[症例1 29歳、女]

家族性大腸腺腫症患者で術後腹部に巨大なデスマトイド腫瘍を形成し、上腸間膜動脈根部を巻き込み、切除が不可能であった。このデスマトイド腫瘍が軟化し、多数の小腸一デスマトイド(一部囊腫化)瘻孔を作った。またこの囊腫が感染をおこし破裂、汎発性腹膜炎を引き起こし、重篤な状態で来院した。

多発穿孔があり腸間膜が一塊となっていて腸切除もstomaによるfecal diversionも不可能であるため、ドレナージのみ行ってやむなく閉腹した。

Fig. 8に術後経過を示す。ドレナージにより下熱したが血中endotoxinは陽性のままであり、H₂ blockerは胃液pH8.0とcolonizationをおこしたため中止した。

胃壁pH(pHi)はtonometer monitoringにより7.24と落ちた時点で数回FDA洗浄し、pHi7.44と回復したが、原発性膿瘍を根治できぬため結局救命できなかった。しかし剖検にて胃粘膜はFig. 9のごとくほぼ正常に保たれており、FDA-O₂洗浄が有効であったと考えられた。

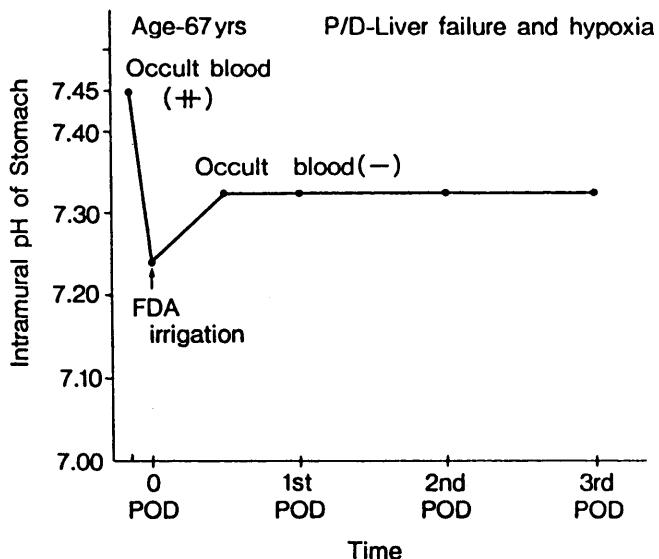


Fig. 10. MOF改善例(67歳、男)におけるpHiの変化。
えられた。

[症例2 67歳、男]

肝腫瘍、肺合併症、腎障害で術直後意識障害をきたすと同時に胃壁pH(pHi)が7.0と低下した為、FDA-O₂による洗浄を2回施行、更にFischer比は低下していた。分岐鎖脂肪酸(BACO)投与などの全身の治療を行い、意識障害も改善し、軽快退院した(Fig. 10)。

考察

酸素で治療を行う場合、Friedlichらが証明した活性酸素の問題が心配となるが、Bulkleyらは虚血による組織障害をischemic componentとreperfusion componentの和として捉えており、組織障害がreversibleである治療域(treatment window)があると述べている。TonometerによってpHiをmonitoringすることにより、hypoxanthine系から活性酸素が産生するよりも早い段階で虚血状態を把握することが可能であると考えられ、この時点でのperfluorochemicalによる酸素投与は有効であり、今後更に詳細な研究が必要である。

参考文献

1. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: A selective review. Br J Cancer 8(Suppl) : 66, 1987.
2. Fiddian-Green RG, Amelin PM, Cutler BS. Prediction of the development of sigmoid ischemia on the day of aortic operations. Arch Surg 121:654-60, 1986.
3. Matin AFM, Baba S, Niaz AC. Experimental studies on the prediction and prevention of stress ulcers using tonometry, reflectance spectrophotometry and oxygenated perfluorochemicals. Jpn J Surg 21:661- 8, 1991.
4. Baba S, Mizutani K. The intraluminal administration of perfluorochemicals to the ischemics to the gastrointestinal tract. Aust NZJ Surg 51: 468-72, 1981.

Free iron induced oxygen radicals in Pyridoxalated Hemoglobin-Polyoxyethylene conjugate

Kaori Yamaji, Yuji Iwashita

Contents of free iron in Pyridoxalated Hemoglobin-Polyoxyethylene conjugate (PHP) were quantified according to Gutteridge's method. The average free iron content of the six consecutive batches was 0.6 ± 0.1 ppm of the reconstituted solution (hemoglobin concentration: 8 g/dL). Effects of the free iron in PHP was evaluated with occlusion-reperfusion experiments of isolated rat hearts in Langendorff mode. The free iron over 100 μM in PHP deteriorated functions of the isolated hearts such as the heart rate and the coronary outflow and induced arrhythmia. At the 100 μM free iron level creatinine phosphokinase in the outflow perfusate also increased twice compared with that of the neat PHP. Peroxidated products in heart tissues also increased in the same manner. The 5 μM free iron in Krebs-Henseleit solution (used as a control solution of PHP) showed the same degree toxicity as the 100 μM free iron in PHP did. Key words; Free iron, Isolated heart, Pyridoxalated Hemoglobin-Polyoxyethylene conjugate, Arrhythmia, Oxygen radicals, Hemoglobin-based blood substitute.

Introduction

We have been studying the relationship between the structure and bioactivities of Pyridoxalated Hemoglobin-Polyoxyethylene conjugate (PHP) as an oxygen carrier (1). Hemoglobins and their breakdown compounds such as hemin and free iron are reported as the source of various oxygen radicals in vitro(2, 3). Particularly free iron has been known as a catalyst of Harber-Weiss reaction, through which hydroxyl radical is formed. From the viewpoint of safety, effects of the free iron are one of concerns about hemoglobin-based blood substitutes.

In this paper, the determination of the free iron in the finished product of PHP was carried out by the Gutteridge's method (4) and the physiological effects of the free iron and methemalbumin were studied with the occlusion and reperfusion of isolated rat hearts in Langendorff mode.

Method and materials

Quantification of the free iron content in PHP: Free iron contents in the consecutive six lots of PHP finished product were determined according to Gutteridge's method (4). This method is based on the fact that iron-bleomycin complex quantitatively degrades DNA. All the reagents except for samples under test were treated with Chelex 100 (Biorad Richmond, USA). Bleomycin, desferrioxamine mesylate (DFO), hemin, ascorbic acid, DNA, ADP, EDTA, magnesium dichloride and thiobarbituric acid were purchased from Sigma Chem. Co., (St. Louis, MO, USA) and Koso Chemicals (Tokyo, Japan). All reagents were dissolved with distilled water of injection in Falcon tubes (Becton Dickinson Co., Lincoln Park, USA) and shaken with a mixed

bed resin, Chelex 100 (Bio-rad, Richmond, USA). The ascorbic acid solution was freshly prepared by dissolving 350 mg in 5 mL distilled water, shaking with 200 mg of Chelex, centrifuging to remove the Chelex, and then diluting 1:50 with Chelex treated distilled water. A solution containing 1 mg/mL bleomycin sulfate was purified by adding 50 mg Chelex resin and centrifuging it. The DNA solution contained 1 mg/mL calf thymus DNA. The DNA solution was mixed with 0.4 g Chelex, left at 4 °C overnight, and then spun at 2000 x g to remove the resin. The supernatant was used as the DNA substrate.

The reaction mixture contained the following reagents, added in the order stated, to a Falcon tube using pipette tips: 0.5 mL of DNA solution, 0.05 mL of bleomycin solution, 0.1 mL of 150 mM magnesium dichloride, 0.1 mL of sample, 0.05 mL of 100 mM HCl, 0.1 mL of distilled water, and 0.1 mL of ascorbic acid solution. Tubes were mixed before and after the addition of 0.1mL ascorbate and then incubated at 37°C for 2 hours with shaking. After 1 mL of 0.1 M EDTA was added to stop the reaction, the contents were transferred to glass tubes and mixed with 1 mL of 0.8% thiobarbituric acid in 50 mM NaOH and 1mL of 25% HCl. The solutions were heated at 100 °C for 15 min,

Table 1. Components of perfusates

	Krebs-Henseleit	PHP (SHb) solution
Hemoglobin (g/dL)	0	4
NaCl (mM)	120	120
NaHCO ₃ (mM)	24.9	24.9
KH ₂ PO ₄ (mM)	0.9	0.9
MgSO ₄ (mM)	1.2	1.2
KCl (mM)	3.5	3.5
CaCl ₂ (mM)	2.9	2.9
Glucose (mM)	11.1	11.1
Viscosit (cp)	1.0	2.0

Central Research Laboratories, Ajinomoto Co., Inc., 1-1 Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki 210, Japan.

Received July 1, 1994, accepted November 21, 1994.

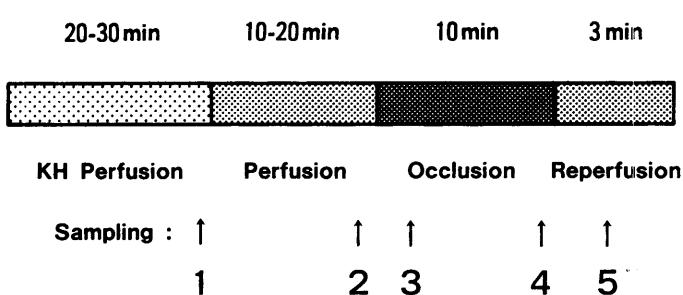


Fig. 1. Time course for perfusion of isolated heart in Langendorff mode and sampling timing.

cooled, and the chromogen was measured by its absorbance at 532 nm (5). A calibration curve for the free iron determination was prepared with Ciba-Merck Fe standard solutions, (Japan Industrial Standard).

Six consecutive lots of PHP88 (Lot number; 28952, 28953, 28973, 289z1, 289z2 and 289z3) were assayed. Each reconstituted PHP88 solution was filtered by centrifugation at 5000 rpm (Ultrafree C3LGC, Millipore Corp., Bedford, USA). The filtrate was used for the assay. The optimal pH for the reaction was between 7.1 and 7.4, and the amount of added HCl solution was varied to achieve this range.

The effects of the free iron of PHP on isolated hearts : Effects of the free irons in PHP finished product were evaluated with isolated rat hearts in Langendorff mode. Perfusates were PHP solution and FeCl_3 -ADP fortified PHP solutions (0.1, 0.5, 5 and 100 μM FeCl_3). Krebs-Henseleit (KH) solution and FeCl_3 -ADP fortified KH solutions were employed as control solutions. In order to investigate the effects of

hemin-albumin complex, methemealbumin was prepared by the reaction of hemin with human albumin at 4 °C in the dark and added to the KH solution and PHP. Fundamental components of the perfusates are shown in Table 1. Osmolality and pH were adjusted at 300 mOsm and 7.4, respectively. The solutions were oxygenated with oxygen and the temperature was kept at 37°C.

Six groups of male Wistar rats (Charles-River Japan, 6 weeks old, n=6 each) were used. Thirty minutes prior to killing the animals, 300 unit heparin was infused into the peritoneal cavity. Animals were killed by a blow on the head and their hearts were removed. The hearts were mounted on a Langendorff perfusion system and perfused at a constant perfusion pressure of 80 mmHg. Occlusion was done by applying negative pressure (200 mmHg) to the left anterior descending coronary artery (6). The epicardial electrocardiogram was monitored. The coronary outflow was measured by timed collection of the dropped perfusate from the heart. Biochemical analysis of escaped enzymes in the perfusates was carried out with an automatic analyser (JCA-VX-100, Japan Electron Co.). Samples for the analysis were collected in predetermined schedule shown in Fig. 1. Peroxidated products in tissues were extracted from homogenated hearts with SDS and acetic acid and determined with thiobarbituric acid (4). Pathological examination of perfused hearts were optically and electron microscopically done.

Statistical Analysis : Results are shown as mean \pm SEM. Paired t-test, Student's t-test, and Aspin-Welch t-test were applied for coronary outflow, heart rate, and escaped enzymes. Unpaired t-test was used for analysis of peroxidated products.

Results

1. Free iron contents in PHP final product

A calibration curve for free iron determination is shown in Figure 2. Reliability of this method was confirmed by changing the date of analysis and by recovery test of the added predetermined iron to the sample solution. The free iron contents in the six consecutive batches of PHP were shown in Table 2. Average content of the free iron in PHP was 0.6 ppm per dose. The results indicated that the amount of free iron is not so high (below 1 ppm per 8 g PHP) and consistent among batches.

2. Effects of free iron on isolated heart

Hemoglobin-based oxygen carriers contain free iron as a degraded

Table 2. Free iron contents in PHP solutions (hemoglobin 8 g/dL)

Lot No.	Free iron (ppm)
28952	0.52
28953	0.64
28973	0.64
289z1	0.83
289z2	0.60
289z3	0.53
Average (SD)	0.63 (0.11)

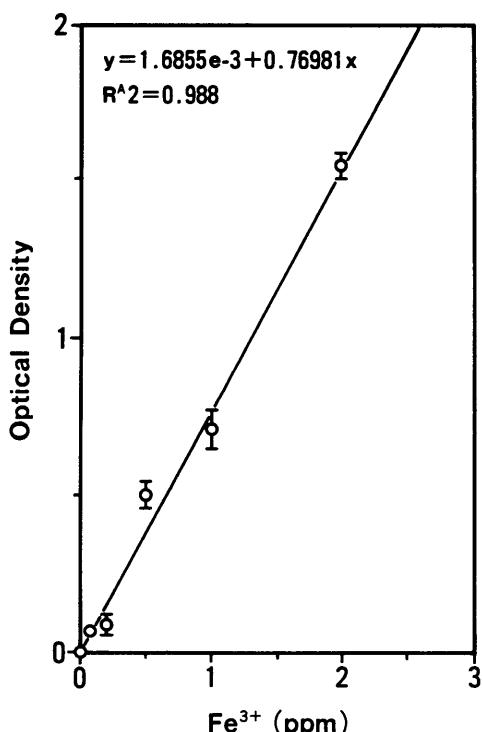


Fig. 2. Calibration curve for free iron analysis.

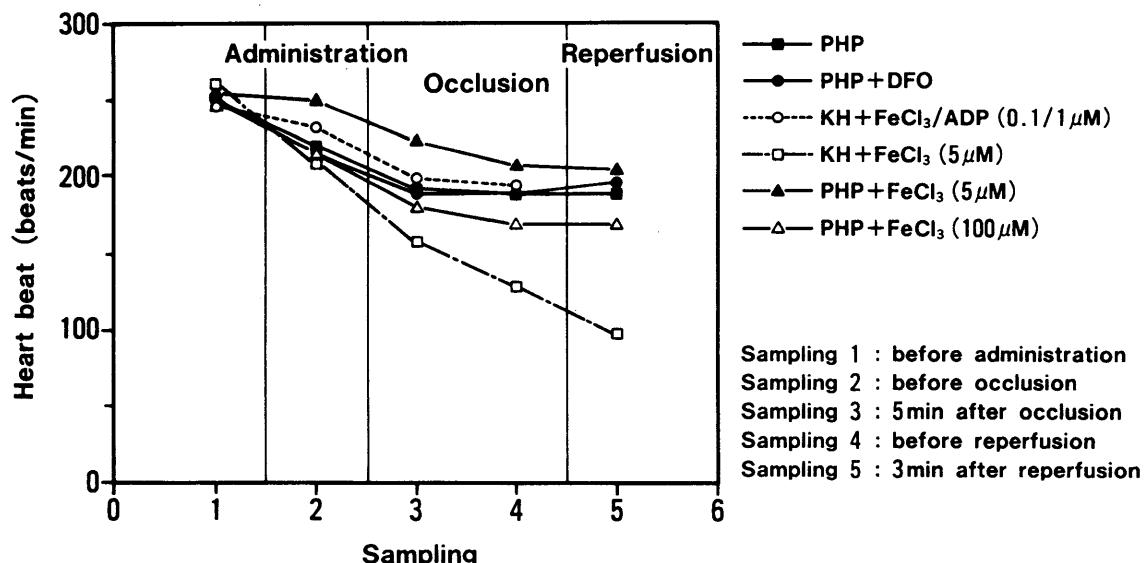


Fig. 3. Changes of heart rate during perfusion.

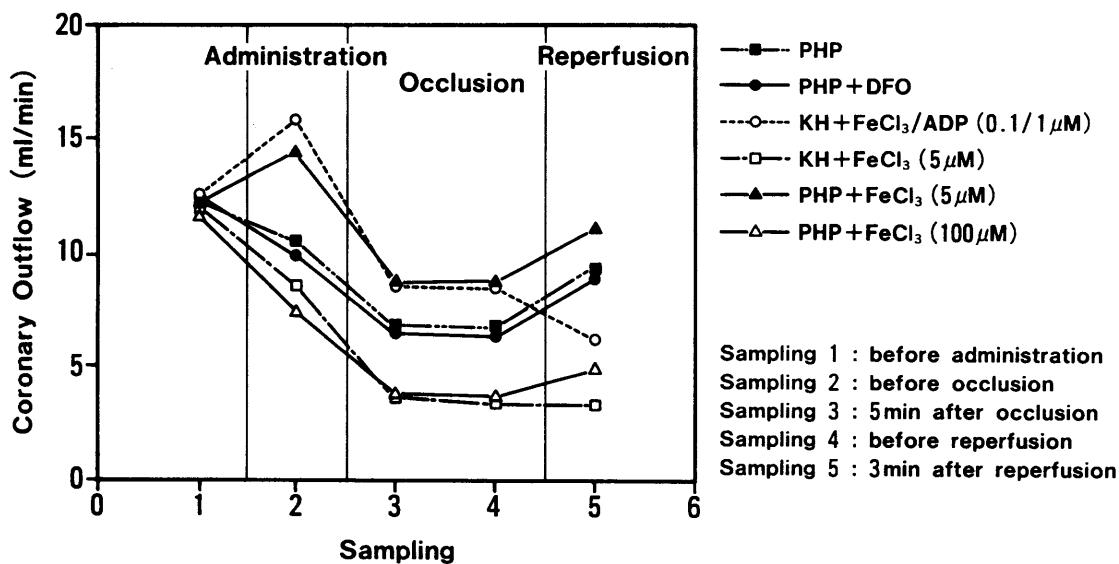


Fig. 4. Changes of coronary outflow during perfusion.

product of hemoglobin but the content is not so high. Nonetheless there remained questions whether the free iron of this level is injurious or not. In order to know the effects of the free iron in PHP, extra free iron was added to perfusates for the perfusion experiments.

The perfusion experiment was carried out according to the time course shown in Fig. 1. Clear changes with the various free iron concentrations in the perfusates in heart rate and coronary outflow were observed more frequently during the reperfusion than during the occlusion. And also more serious effects of the free iron on the isolated hearts were observed in the use of KH solution compared with the use of PHP solution. The largest decrease of the heart rate and coronary outflow occurred during the perfusion at 5 and 100 μM free iron in the KH solutions. At 100 μM free iron level of the KH solution, all the functions of perfused hearts stopped at 3 minute after the beginning of perfusion. On the other hand perfusion with PHP containing 100 μM

free iron induced a moderate decrease of the heart rate as shown in Fig. 3.

Perfusions with an iron-free PHP solution, which was prepared by treatment with desferrioxamine and the untreated PHP afford about the same heart rate. The free iron below 1 ppm in PHP therefore would not affect the heart rate. Also the 100 μM free iron in PHP induced the same degree of arrhythmias as 5 μM free iron in the KH solution did.

The coronary outflow rapidly decreased during the occlusion but a small outflow remained due to collateral flow. At the beginning of reperfusion, an immediate recovery of the outflow was observed except 5 and 100 μM free iron contained KH solutions. The 100 μM free iron in PHP moderately recovered the coronary outflow but 5 μM free iron in PHP did not affect the recovery as shown in Fig. 4.

Biochemical analysis showed that CPK in the perfusate gradually increased as the free iron content in the perfusate including PHP

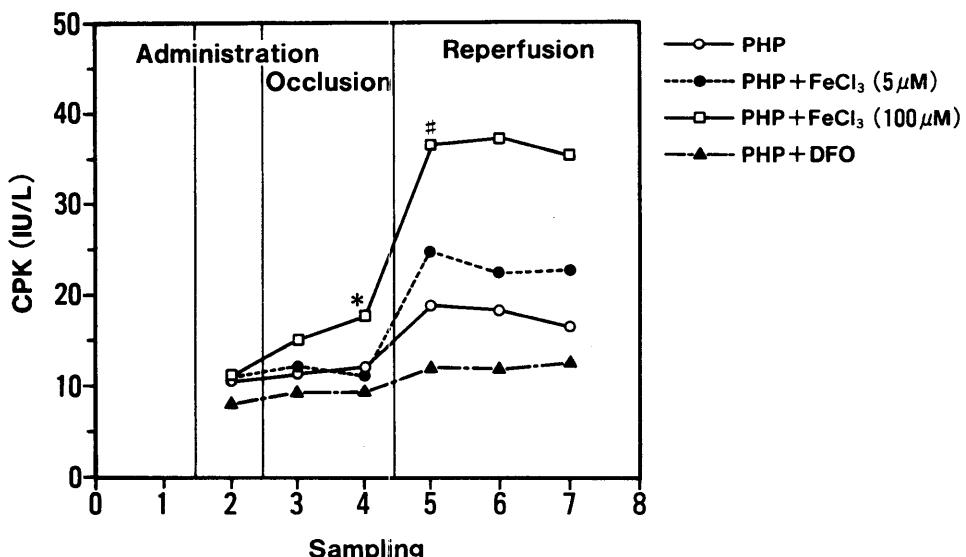


Fig. 5. Changes of creatinine phosphokinase (CPK) during perfusion. *p<0.05, #p<0.01 compared with PHP.

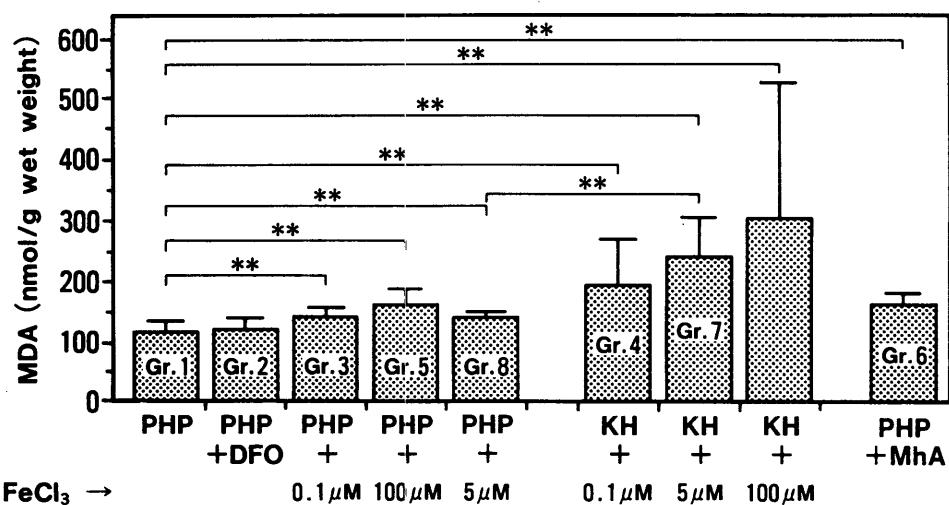


Fig. 6. Contents of peroxidized products in perfused hearts. ** p<0.01 when compared each other.

increased from zero (DFO-treated) to 100 μM as illustrated in Fig. 5. Contrarily CPK in the perfusate increased even at 5 μM free iron of the KH solution.

Peroxidated products including malonaldehyde in the hearts after the perfusion were extracted and analyzed with TBA method. The results were illustrated in Fig. 6. No difference between peroxidated products in the hearts treated with PHP and those with DFO-PHP. The 100 μM free iron in PHP clearly increased the content of the peroxidated products in the heart and also methemealbumin in PHP increased the peroxide. The 5 μM free iron in KH solution resulted twice to the increase of the peroxidated products.

Pathological examination indicated that there were some edemas around small artery in PHP group and also in control groups. Vacuoles were observed in the heart muscle cells treated with the PHP containing 100 μM free iron.

The reason why the activity of the free irons in PHP were lower than

that in KH solution could not be clarified yet but chelating ability of hemoglobin and polyoxyethylene moieties with free iron should be considered. Considering the difference of viscosity between both perfusates following conclusion was obtained.

Conclusions

1. PHP, which originally contained 0.6 ppm free iron, did not induce any noted effects on the functions of isolated hearts.
2. The free iron in the KH solution showed stronger effects on the isolated hearts than that in PHP did.
3. One of target organs of iron-induced free radicals was blood vessel system.

Acknowledgement

The authors sincerely thank Mr. Akie Y. of Fuji Life Science Inc., for his contribution to the perfusion experiments.

References

1. Iwashita Y. Pyridoxalated hemoglobin-polyoxyethylene conjugate as an oxygen carrier. *Artif Organs* 1991;1:89-114.
2. Fassen AE, Sundby R, Panter SS, Condie RM, Hedlund BE. Hemoglobin: A lifesaver and an oxidant. How to tip the balance. *Boimater Artif Cells Artif Organs* 1988;16:93-104.
3. Bucher JR, Ming T, Aust SD. The requirement for ferric iron in the initiation of lipid peroxidation by chelated ferrous iron. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;111:777-84.
4. Gutteridge MC, Rowley DA, Halliwell B. Superoxide-dependent formation of hydroxy radicals in the presence of iron. *Biochem J* 1981;199:263-5.
5. Ohkawa H, Ohnishi N, Yagi K. *Anal Biochem* 1979;95:351.
6. Yamakawa T, Kadokawa Y, Garcia-Alves M, Yokoyama M, Iwashita Y, Nishi K. Effects of polyoxyethylene-modified superoxide dismutase on reperfusion induced arrhythmias in isolated rat and guinea-pig hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21:441-52.

ポリオキシエチレン修飾ヘモグロビン(PHP)中の遊離鉄が誘起する酸素ラジカルに関する研究

山路香里, 岩下雄二(味の素(株)中央研究所)

要約 ヘモグロビン誘導体を用いる赤血球代替物に含まれる遊離鉄の含量と、生体内でこれを触媒として生成する酸素ラジカルの作用につき研究した。ガターリッジの方法による分析では、ポリオキシエチレン修飾ヘモグロビン (PHP)は、平均0.6 ppmの遊離鉄を含む事が示された。PHP中の遊離鉄の生理作用については、ラット摘出心のランゲンドルフ灌流モデルを用いて評価した。PHP中では、1 ppm以下の遊離鉄は心拍数や心灌流量には影響せず、100 ppmの遊離鉄で初めてその影響が認められた。一方、対照液であるクレブス-ヘンゼライト液中では5 ppmで影響が認められた。逸脱酵素や心組織中の過酸化物の定量でも同様の傾向が観察され、PHPには遊離鉄の酸素ラジカル生成能を抑える性質があると結論された。

人工赤血球(ARC)の急性期安全性試験 —網内系および血液学的検討—

守沢和也, 粟井浩二, 赤間和博, 遠藤さおり, 矢野嘉宏, 徳山悟, 佐藤征

Influence of polymerizable phospholipid vesicles encapsulated hemoglobin on the immune system in murine.

Kazuya Morizawa, Koji Awai, Kazuhiro Akama, Saori Endoh, Yoshihiro Yano, Satoru Tokuyama
Tadashi Satoh

重合性リン脂質を主成分とするリポソームにヘモグロビンを内包させた人工酸素運搬体（ARC）を脱血モデル動物に静脈内投与し、急性期安全性試験並びに、カーボンクリアランス試験及びエンドトキシン致死試験を行い、網内系貪食能に及ぼす影響を併せて検討した。ARCの高用量群（2,000mg/kg）において、投与1日後カーボンクリアランス値は対照群の約65%に低下したが、3日後には回復傾向が見られ、対照群に対して有意差が認められなかった。一方、エンドトキシン致死試験では、投与後いずれの用量においても50%致死量は対照群と比較して有意差は見らなかつた。ARC投与により一時的に脾臓の貪食能は飽和するが、肝臓の異物処理能はほとんど影響を受けないと考えられる。また、安全性試験において、血液凝固能は影響を受けず、血液学的及び血液生化学検査においては、投与1日後あるいは3日後までに若干の変化が観察された項目もあったが、いずれも投与初期の一過性の変化で、毒性学的に特に問題となる変化とは考えられない。

We examined the effect of polymerized phospholipid vesicles encapsulated hemoglobin (ARCs) on the phagocytic ability of reticuloendothelial system in hemorrhage model murine by measuring carbon clearance rate, and vital resistance to LPS after a single intravenous treatment with ARCs. We also investigated the hematological and biochemical influences. One day after dosing, carbon clearance rate was significantly reduced against control in high dosing group, but it recovered to control level at 3 days after. On the other hand, there was no significant changes in vital resistance to LPS. Even in high dose, there was no changes in LD₅₀ at any time after dosing. In hematological and biological tests, WBC, HCT and HGB values were disturbed within 8 hours after treatment, but it recovered at 24 hours. GOT, GPT, BUN and T-CH changed in a early period after dosing. Other values revealed slight or no changes. These results indicate that ARCs do not induce so significant influences on murine reticulo endothelial system. —Key Words: Polymerizable phospholipid, Encapsulated hemoglobin, Reticuloendothelial system.

1. 緒言

リポソームにヘモグロビン(Hb)を内包したHb小胞体は、溶液粘度やコロイド浸透圧が低く生理的条件下でHbの高濃度化が可能であり、酸化防止剤やアロステリック因子など種々のエフェクターを同時に内包できるなど利点が多い(1, 2)。しかしながら、リポソームは物理化学的に不安定で、リポソーム懸濁液を冷蔵保存した場合、徐々に内包物の漏出が観察される、あるいは凍結融解などにより粒子の崩壊が観察される。我々はこれらリポソームの短所を克服するため、リン脂質のアシル鎖に重合性脂肪酸を含有

する重合性リン脂質をリポソームの主成分とし、高濃度Hb溶液をカプセル化した後に重合処理を行い、リポソーム膜を強化した人工赤血球(Artificial Red Cells; ARC)の開発を進めている。ARCは物理化学的安定性に優れており、凍結融解を繰り返し行っても内容物の漏出や粒子径の変化は見られず、凍結保存が可能である(3-5)。また、ARCはヒト赤血球と同等の酸素親和性を示し、ビーグル犬を用いた交換輸血実験において、Hb濃度に応じた酸素運搬能を有した(6)。さらにARC投与によるラットの肝臓及び脾臓に対する影響について病理組織学的に検討し、組織障害像は観察されず、マクロファージを中心とする網内系細胞によるARCの貪食像が主な所見で、マクロファージに取り込まれたARCは投与14日目以降代謝分解されていることが示された(7)。

日本油脂(株)筑波研究所, 〒300-26 つくば市東光台5-10. Tsukuba Research Laboratory, NOF Corporation, Tokodai 5-10, Tsukuba 300-26, Japan.
論文受付 1994年6月17日, 受理 1995年1月11日。

静脈内投与したARCは網内系組織に取り込まれることから、今回、脱血モデルラット及びマウスを用い、ARC投与による急性期安全性試験及び網内系機能に及ぼす影響について検討した。

2. 実験方法

2.1. ARCの作製

ヒト濃厚赤血球から従来法(8,9)により溶血液を得た後、前法(10-12)に従って遠心分離、BMM(Benbehruig Microporous Membrane, 平均孔径35 nm, 旭化成)処理を行いstromaを除去した。次いで透析用限外濾過膜を用いてイオン濃度調整、緩衝液置換および濃縮を行い、酸素親和性を調節するためピリドキサール5'-リン酸を添加し濃厚Hb溶液を得た(Hb濃度34 g/dL, pH 7.2)。

濃厚Hb溶液を一酸化炭素で保護した後、重合性リン脂質である1-アシル-2-(2,4-オクタデカジエノイル)-sn-グリセロ-3-ホスホリルコリン(日本油脂), 1,2-ジ(パルミトイyl)-sn-グリセロ-3-ホスホリルコリン(日本油脂), コレステロール(和光純薬)およびステアリン酸(日本油脂)を含有する混合脂質からなるリポソームに内包した。この小胞体を孔径5から0.25 μmのポリカーボネート膜を順次通過させ小胞体の粒子径を0.25 μm付近に揃えた。中空糸膜(Plasmafro AP-02, 旭メディカル)で精製した後、4°Cにてγ線照射(⁶⁰Co, 5k Gy)することによって重合処理を行い(13, 14), 酸素雰囲気下にて一酸化炭素を除去した後(9), Hb濃度が5-6 g/dLになるまで濃縮しARC溶液を得た。ARCの溶液物性と性能をTable 1に示す。

2.2. 試験方法

エンドトキシン致死に対する影響は、7週令のICR系雄性マウス(日本チャールスリバー)を用い、網内系貪飢能に対する影響及び安全性試験には、7週令のSD系雄性ラット(日本チャールスリバー)を用いた。いずれの試験においてもARC投与量に相当するHb量を含む血液の採血を行い脱血モデルとし、脱血後5分以内に投与を行った。

ARCの投与量を2,000 mg/kgとし、対照はARC投与量に相当するHb量を含む新鮮なマウスあるいはラット洗浄赤血球浮遊生理食塩水を等量投与した。

エンドトキシン(LPS)致死に対する影響—LPSは大腸菌由來のlipopolysaccharide B 0111:B4(Difco)を用い、ARC投与後3, 7および14日に1-16 mg/kgのLPSを投与した。動物数は各投与条件10匹とした。LPS投与後72時間後までの生存の有無を確認し、各投与量の死亡率を求めるとともに50%致死量(LD₅₀)を算出した。

Table 1. Characteristics of ARC

Particle size (nm)	264.3±50.7
Hemoglobin (g/dL)	5.06
Methemoglobin (%)	<1
P ₅₀ (mmHg)	28
Hill coefficient (n value)	2.79
OTE (%)	27
Oncotic pressure (mOsm)	314
Viscosity (mPa·s, 10 rpm)	2.71
Endotoxin (EU/mL)	Not detected

網内系貪飢能に対する影響—ARC投与後1, 3, 7および14後にカーボン溶液(Perikan, DRAWING INK A 17 BLACK·INDIA)を生理食塩水で20 mg/mlとなるよう調製)80 mg/kgを大腿静脈より投与し、カーボン投与後10, 20, 30及び40分後に血液中のカーボン濃度を測定した。動物数は各群6匹とした。得られた各測定値を片対数グラフ上にプロットし、直線の傾きを算出しカーボンクリアランス値とした。またカーボンクリアランス試験終了直後にラットを放血致死させ、門脈より生理食塩水を灌流した後、肝臓及び脾臓を摘出し、カーボンを含む画分を抽出し両臓器中へのカーボン取り込み量を測定した。

2.3. 安全性試験

動物数は1群5匹とした。

体重—ARC投与後1, 3, 7および14後に動物の体重測定を行った。

血液学的検査—ARC投与後1時間、4時間、8時間、1日、3日および14後に血液中の白血球数(WBC), 赤血球数(RBC), ヘマトクリット値(HCT), ヘモグロビン濃度(HGB)及び血小板数(PLT)について多項目自動血球計数装置(東亜医用電子)を用いて測定した。

血液生化学検査—検査日をARC投与後1, 3, 7および14後に設定した。採取した血液を4°Cにて放置後、遠心分離(3,000 rpm, 10 min)を2回行い、得られた血清を以下の測定に用いた。即ち、アミノ基転移酵素(GOT及びGPT, 酵素法, イアトロザイムTALQ, ヤトロン), アルカリ性ホスファターゼ(ALP, Kind-King法, アルカリ性ホスファターゼ測定用試液, ヤトロン), 総ビリルビン(T-Bil, アルカリアゾビリルビン法, ビリルビンテストワコー, 和光純薬), 尿素窒素(BUN, Urease-Indophenol法, イアトロクロムUN, ヤトロン), トリグリセリド(TG, 酵素法, クリンテックTG-S, ヤトロン), 総コレステロール(T-CH, 酵素法, コレステロールE-テストワコー, 和光純薬), リン脂質(PL, 酵素法, リン脂質B-テストワコー, 和光純薬), 総タンパク及びアルブミン(TP, ALB, それぞれBiuret法とBCG法, A/G B-テストワコー, 和光純薬)を測定した。また、血漿につき遊離ヘモグロビン(F-Hb, テトラメチルベンジン法)を測定した。

血液凝固能検査及びフィブリリン分解物(FDP)測定—ARC投与後1時間、4時間、8時間、1日、3日および14後に、プロトロンビン時間(PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT), 及びトロンビン時間(TT)を血液凝固時間自動測定器(クロテックII, 日本トラベノール)により測定した。FDPについては、ラテックス凝集法(FDPLテスト, 帝国臓器)にて測定した。

剖検及び器官重量の測定—ARC投与後1日, 3日および14後に、採血後開胸及び開腹し、胸・腹腔内の諸器官の異常の有無を肉眼的に観察した。さらに、胸腺、肺、肝臓、脾臓、腎臓及び副腎を摘出後、その湿重量を測定し、各臓器重量を体重100 gあたりに換算した相対重量を算出した。

3. 結果

3.1. LPS致死に対する影響

Table 2にARC投与群及び対照群の投与後3日, 7日及び14日のLPSの1-16 mg/kgを投与したときの致死率、致死率より算出した

Table 2. Effect of ARC on vital resistance to LPS (lipopolysaccharide B4:0111) toxicity in hemorrhage model mice.

	Dose of LPS (mg/kg)											LD ₅₀ (mg/kg)	Relative potency
	1.0	1.5	2.5	3.0	4.3	5.0	6.5	8.0	10	16			
3 days after administration													
Control	0%	0	0	-	0	20	50	50	70	100	7.47	1.00	
ARC	0	0	0	0	20	20	40	-	70	100	7.15	1.05	
7 days after administration													
Control	0	0	10	-	30	40	60	50	70	90	6.49	1.00	
ARC	0	10	0	10	20	20	60	-	90	100	5.96	1.09	
14 days after administration													
Control	0	0	0	-	30	40	50	80	100	100	5.54	1.00	
ARC	0	0	0	-	20	40	50	60	80	100	6.35	0.87	

Each number represents per cent death (n=10 in each).

Washed autologous RBC suspension was used as control.

LPSのLD₅₀、およびARCの相対効力比を示した。投与3日後及び7日後において、対照群に比べてARC投与群はわずかにLD₅₀を低下させ相対効力比が各々1.05、1.09であった。投与14日後においては逆にARC投与群のLD₅₀が増加し、相対効力比は0.87となった。いずれの時点においても、両群間のLD₅₀に統計的な有意差は認められなかった。

3.2. 網内系貪食能に対する影響

Fig. 1にARC投与群のカーボンクリアランス値の対照群との相対値を示した。投与1日後にカーボンクリアランス値は対照群の約66%に低下したが、投与3日後においては低下傾向を示すものの、対照群と有意差は観察されなかった。投与7日後においては逆に亢進が観察され、投与14日後には対照群と同程度に回復した。ARC投与後の肝臓及び脾臓へのカーボン取り込み量をFig. 2に示した。肝臓においては、ARC投与1日後に取り込み量の低下が観察されたが、3日後には回復し、以下亢進傾向が続いた。一方、脾臓では低下は観察されず、ARC投与後有意差は見られなかった。

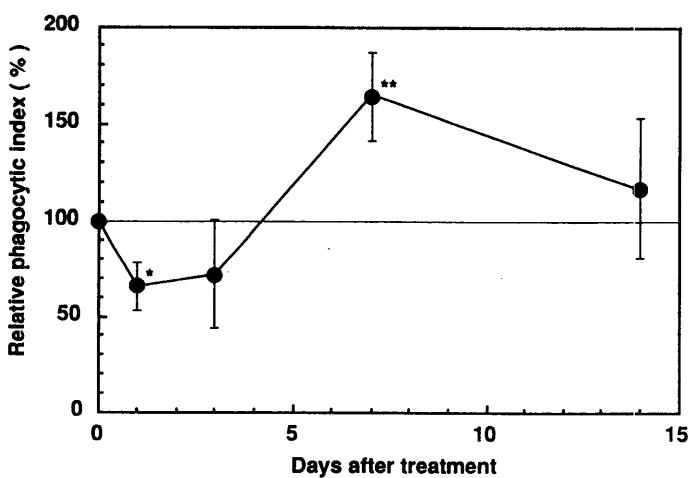


Fig. 1. Relative phagocytic index after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP) in hemorrhage model rats. * p < 0.05, ** p < 0.01, significantly different from the control. Mean±SD, n=6.

3.3. 安全性試験

体重—ARC投与後の体重推移をFig. 3に示した。両群間に差は観察されなかった。なお、行動や食事量など一般状態にも両群とも異常は見られなかった。

血液学的検査—血液学的検査の結果をFig. 4に示した。ARC投与4-8時間後にWBCが有意に上昇し、対照の2倍に達したが、投与1日後には対照群と同レベルに低下した。HGBも投与1日後まで上昇し、投与3日後に対照群と同レベルに低下した。そのほかRBC、HCTなど、投与4-8時間後まで軽微な変動が観察され、投

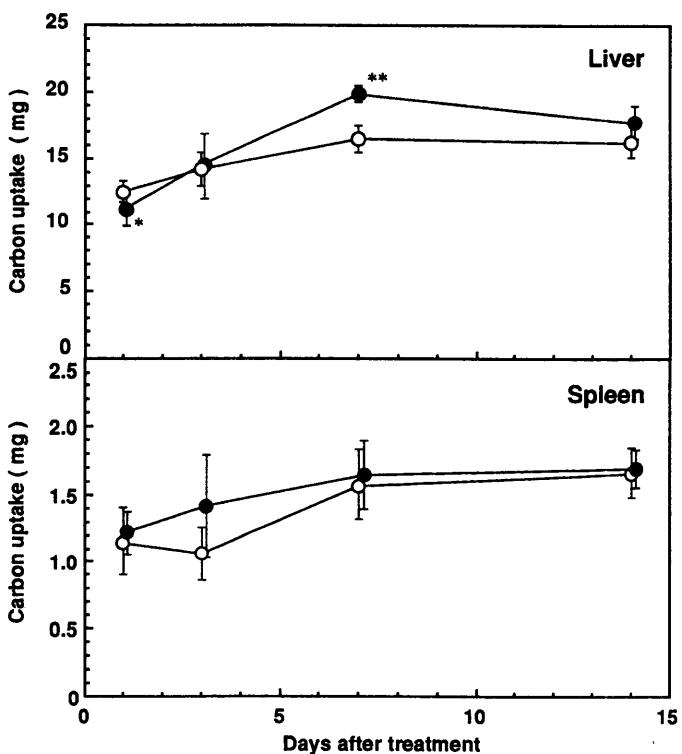


Fig. 2. Carbon uptake into liver and spleen after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP, ●) or washed autologous RBC suspension (○) in hemorrhage model rats. * p < 0.05, ** p < 0.01, mean±SD, n=6.

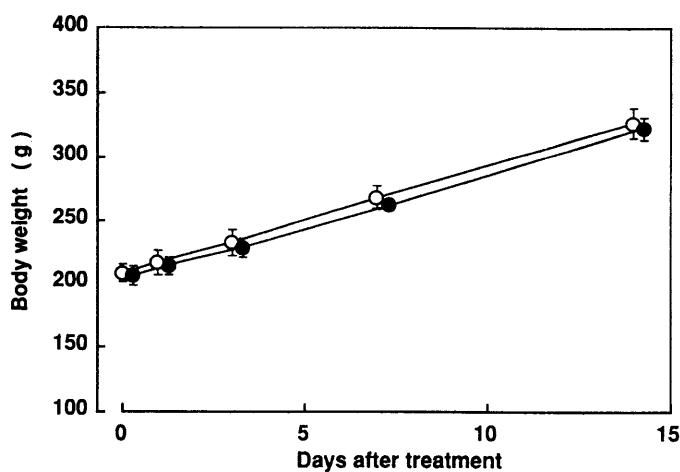


Fig. 3. Body weight changes after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP, ●) or washed autologous RBC suspension (○) in hemorrhage model rats. * p < 0.05, ** p < 0.01, mean±SD, n=6.

与1日後には回復した。

血液生化学検査—血液生化学検査の結果をFig. 5に示した。ARC投与3日後にGOT, GPTの低下が見られ、GOTは7日後には上昇したが、GPTは投与14日後に対照群レベルに回復した。投与1日後にBUN, TG及びT-CHの上昇が観察されたが、3日後には対

照群レベルまで低下した。その他の項目については対照群と比較して特に変化は観察されなかった。

血液凝固能検査及びFDP測定—Table 3に血液凝固能検査の結果を示した。ARC投与後いずれの検査時においてもPT, APTT, 及びTTすべての検査項目について異常値は観察されなかった。また、FDP測定の結果はいずれの検査時においても陰性であった。

剖検及び器官重量検査—剖検の結果、肝臓についてARC投与1日後に肥大と投与3日後まで茶褐色化が観察された。脾臓においては3日後まで黒茶褐色化が観られ、投与14日後においても肥大が観察された。そのほかの臓器については特に変化は観られなかった。

各器官の相対重量をFig. 6に示した。投与1日後から脾臓の重量増加が観られ、投与3日後に極大値を示し、対照群の約2倍に達した。その後低下傾向を示したもの、14日後においても対照群の約1.5倍であった。また、投与1日後に肝臓重量が対照群の1.3倍に上昇した。そのほかの臓器についてはいずれも個体変動内であった。

4. 考察

一般的にリポソームを静脈内投与すると、細網内皮系細胞によって異物処理されるが、ARCも同様に肝臓Kupffer cell、脾臓マクロファージを主とする網内系貪食細胞に捕捉される(8)。今回の検討においても、ARC投与後器官重量

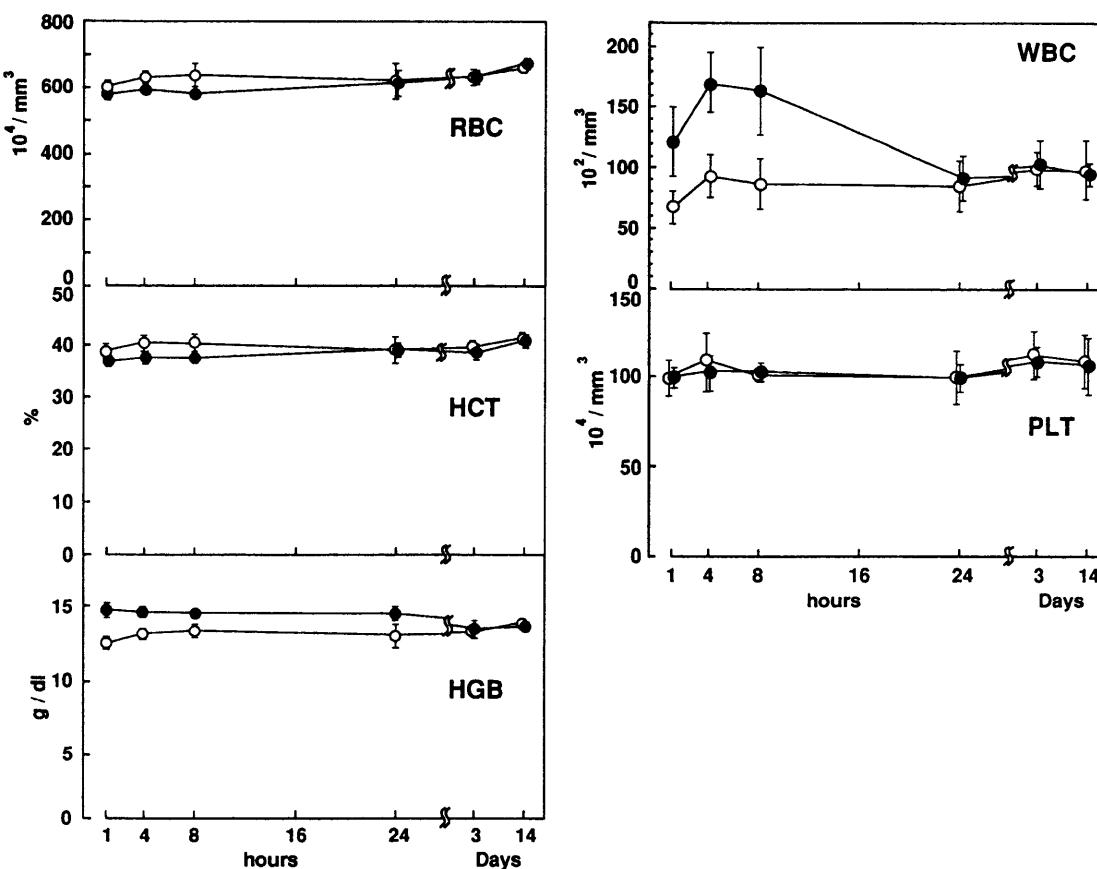


Fig. 4. Hematological findings after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP, ●) or washed autologous RBC suspension (○) in hemorrhage model rats. * p < 0.05, ** p < 0.01, mean±SD, n=5.

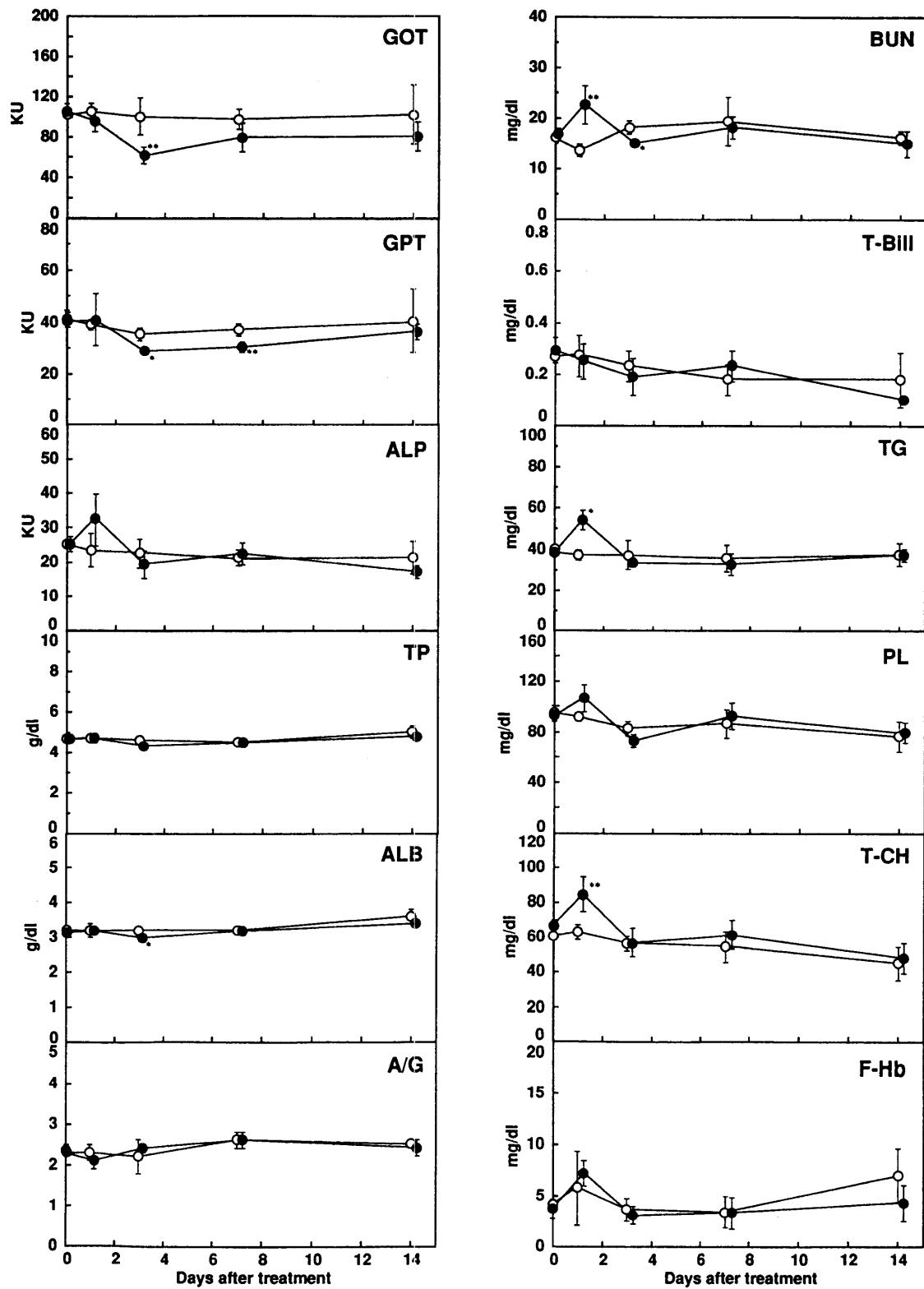


Fig. 5. Biochemical findings after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP, ●) or washed autologous RBC suspension (○) in hemorrhage model rats. * p < 0.05, ** p < 0.01, mean \pm SD, n=5.

Table 3. Changes of blood clotting time after a single intravenous treatment with ARC or RBC in rats.

Samples	Time after treatment	PT (sec)	APTT (sec)	TT (sec)
Control	1 hr	10.5±0.3	18.3±1.7	192.2±42.0
	4 hrs	10.4±0.2	19.7±1.0	187.1±13.8
	8 hrs	10.1±0.2	18.5±1.1	215.3±13.2
	1 day	10.4±0.2	18.6±0.8	192.8±7.7
	3 days	10.6±0.4	19.0±0.7	190.4±8.5
	14 days	10.5±0.3	19.4±0.5	191.6±10.2
ARC (2,000 mg/kg)	1 hr	10.4±0.3	18.8±0.7	189.8±2.4
	4 hrs	10.5±0.3	20.8±1.5	203.6±10.1
	8 hrs	9.8±0.2	27.4±11.2	225.4±12.0
	1 day	10.1±0.1	18.16±0.5	210.7±20.8
	3 days	10.3±0.1	17.7±1.1	222.4±12.1
	14 days	10.5±0.3	19.0±0.4	190.8±12.3

Mean±SD, n=5.

Washed autologous RBC suspension was used as control.

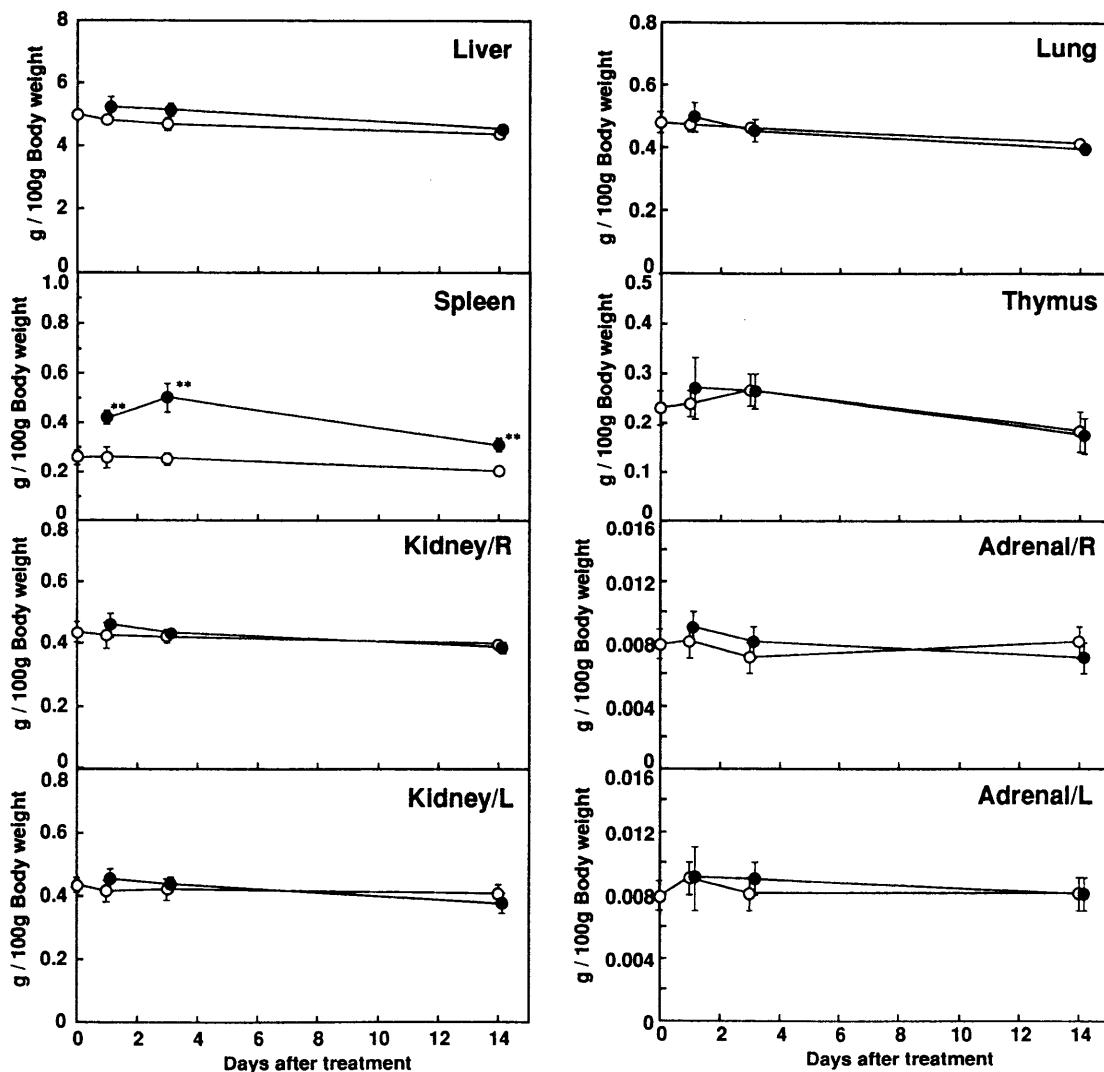


Fig. 6. Relative organ weights after a single intravenous treatment with ARC (Lot. AR-05H63DP, ●) or washed autologous RBC suspension (○) in hemorrhage model rats. R, right; L, left. * p < 0.05, ** p < 0.01, mean±SD, n=5.

の測定の結果より、網内系組織である肝臓及び脾臓重量の増大、肝臓の茶褐色化及び脾臓の黒茶褐色化、脾臓の重量増加が観察されるなど肝臓及び脾臓に捕捉されていることが伺われた。

ラットのカーボンクリアランス試験において、投与3日後までの投与初期にクリアランス値は対照群と比較して低下したが、投与7日後において亢進傾向を示し、投与14日後には対照群と同程度まで回復した。これはARC投与により一時的に脾臓の貪食機能が飽和し、脾臓指向性の強いカーボン粒子のクリアランス値が低下したものと考えられる。その後クリアランス値が亢進傾向を示すのは、マクロファージ活性化によりサイトカインなどの分化誘導因子が放出され、マクロファージが動員されたためであろう。

一方、LPS致死試験はLPSに対してラットよりも感受性の高いマウスを用いて行った結果、ARC投与による影響が観察されなかつたことから、肝臓における異物処理能は飽和しておらず、肝臓指向性の強いLPSの処理が適切に行われたと思われる。また、LPSに対するLD₅₀値が経時に低下するのは、動物の加齢に伴う抵抗性の低下と考えられる。

安全性試験の結果、一般状態になんら異常は認められず体重推移も対照群と差がなかった。そのほか血液凝固能に異常は認められず、FDPも各群陰性であった。従って、ARCは血液凝固系に影響を与える、血栓も生じていないと考えられる。血液学的検査の結果、投与1日以内に白血球数が有意な増加を示し、投与1日後には対照群と同レベルまで低下した。また、血液生化学検査において投与初期にGOT、GPTの低下やT-CHの上昇などが観察された。これらの現象は、固形分の大量投与に起因する何らかの肝機能障害、あるいはマクロファージ活性化に起因する変化とも考えられるが、現時点では詳細な考察は不可能である。いずれにせよ、これらの変化は一過性で特に毒性学的に問題となる変化とは考えられない。

参考文献

1. 関口定美、伊藤敬三. 人工血液－研究の現状とその将来. 月刊薬事 1989;31:711-8.
2. 土田英俊、西出宏之. 血液代替物：ヘモグロビン再利用と全合成ヘム. 生体材料 1992;10:81-8.
3. Nakachi O, Tokuyama S, Satoh T. Characteristics of polylipid/Hb vesicles(ARC)(in vivo and in vitro test). Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol 1992;20:635-40.
4. Morizawa K, Akama K, Kawakami Y. Stability and blood compatibility of polylipid/Hb. Biomat Art. Cells & Immob Biotec 1992;20:641-5.
5. 徳山悟、守沢和也、松本浩幸、仲地理、土田英俊、関口定美. 重合性脂質を利用したヘモグロビン内包小胞体の調製とその特性. 人工臓器 1992;21:309-12.
6. Akama K, Morizawa K, Tokuyama S, Satoh T, Kobayashi K, Sekiguchi S, Tsuchida E. Oxygen transport and in vivo parameters of artificial red cells (ARC). Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol 1994;22:901-7.
7. 守沢和也、徳山悟、赤間和博、栗井浩二、佐藤征. 重合性脂質を利用したヘモグロビン小胞体投与による生化学的影響. 人工臓器 1994;23:858-63.
8. Benesch RE, Benesch R, Renenthal R, Maeda N. Affinity labeling of the polyphosphate binding site of hemoglobin. Biochemistry 1972; 11:3576-80.
9. Riggs A. Preparation of blood hemoglobins of vertebrates. Methods Enzymol 1981;76:5-28.
10. Ling W, Morizawa K, Tokuyama S, Satoh T, Tsuchida E. Modulation of oxygen-carrying capacity of Artificial Red Cells. Polymers for Advanced Technologies 1992;4:8-11.
11. 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. ウィルス除去膜BMMを用いたSFHの調製－stroma除去に関する検討－. 人工臓器 1992;21:318-22.
12. 徳山悟、王林、赤間和博、仲地理、佐藤征、関口定美、土田英俊. 重合脂質を利用したヘモグロビン小胞体の酸素親和性. 人工臓器 1993;22:570-4.
13. Ohno H, Ogata Y, Tsuchida E. Gamma-ray polymerization of phospholipids having diene or triene groups as liposomes. J Polym Sci.:part A, Polym Chem 1986;24:2959-69.
14. 赤間和博、徳山悟、細井文雄、大道英樹. 重合性リン脂質からなるリポソームのγ線重合. 高分子学会予稿集 1992;41:3532.

獣医内科領域で血液代替物に期待すること

Blood substitutes are awaited with great interest in the field of veterinary medicine

前出 吉光

Yoshimitsu Maede

1.はじめに

本誌編集部から標記に関する原稿依頼があり、動物の血液病を研究対象としている立場上、気軽に引き受けたものの、いざ執筆となってから、これはいささか早まったと後悔している。獣医学分野では人工血液の研究はほとんど行われていない上に、獣医臨床の現場でも輸血療法は一般的とはいえないのが現状だからである。もちろん、臨床獣医師は輸血の効果はよく知っているが、それ以上に、輸血の実施に伴う困難も容易に理解できるので、つい敬遠してしまうというのが実情である。これは、安全な輸用血液の入手が非常に困難であること、すなわち、白血病や後天性免疫不全症などのウイルス性疾患や、ピロプラズマ症などの原虫性疾患など、血液介在性の伝染性疾患が広く蔓延していること、また、仮に安全な供血用動物を確保していたとしても、昨今のように動物品種が多種になると、適合輸血の判定が困難となることなどが大きな原因である。

もっとも、以上のような現実をみれば、人工血液は獣医学分野でこそ必要ということになるのかもしれない。また、獣医学が対象とする動物種は各種の哺乳動物はもとより、鳥類や魚類、最近では爬虫類にまで及んできている。これら多種多様な動物の血液の比較研究から、新たな人工血液開発のヒントが得られるかもしれない。

本稿では、輸血療法が奏功する動物の血液疾患を紹介するとともに、2、3の動物赤血球の特性について述べることとした。

2.わが国の動物の主な血液病(1,2)

2.1. ピロプラズマ症

原因 住血胞子虫類のタイレリア (*Thailleria*) 科およびバベシア (*Babesia*) 科の原虫の寄生によって発症する伝染病である。マダニ類が媒介するが、感染動物血液の人工的接種によっても発病する。

症状 原虫が赤血球内で増殖するため、大量の赤血球が破壊されて溶血性貧血や高熱を呈する。原虫の種類により病原性に強弱があるが、一般的にバベシア原虫はタイレリア原虫よりも病原性が強く、重症例では高度の貧血とともに、黄疸やヘモグロビン尿をみる。脾臓摘出動物は特に重篤な症状を示す。

北海道大学獣医学部家畜内科学教室、〒060 札幌市北区北18条西9丁目、
Department of Veterinary Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine,
Hokkaido University, Nishi 9, Kita 18, Sapporo 060, Japan.

種差 わが国ではウシのタイレリア症（小型ピロプラズマ症）が全国的に多発している。近畿地方以西ではイヌのバベシア症（*Babesia gibsoni* 感染症）が特に獣犬に多発していたが、最近は全国的に発生がみられるようになっている。

治療 各種の抗原虫剤は適切に使用すると効果的であるが、同一薬剤の投与により原虫は耐性を獲得しやすい。原虫に初感染の動物は、急激な赤血球減少により高度の貧血を呈することが多いが、このような症例には輸血が著効を示す。

2.2. ネコのヘモバルトネラ症（ネコ伝染性貧血）

原因 リケッチャ目アナプラズマ科に分類されているヘモバルトネラ (*Hemobartonella felis*) がネコの赤血球に寄生するために発生する溶血性貧血である。自然界での感染経路は解明されていないが、感染ネコの血液を接種すると、静脈内、皮下あるいは腹腔内のいずれの接種方法によっても容易に感染が成立する。

症状 脾腫を伴った貧血を呈し、徐々に衰弱する。体温は正常であることが多いが、時に40°C以上の発熱がみられる。黄疸はまれである。病原体のH-felisは赤血球表面に吸着しているが、1~数日間隔で血中からの消失と再出現を繰り返す。赤血球の低張食塩水に対する浸透圧抵抗は著しく低下する。赤血球の直接クームス試験はしばしば陽性を示す。

種差 ヘモバルトネラ属はネコ以外の動物にも寄生するが、それではほとんど病原性がない。極めて近縁の微生物であるエペリスロゾーンはブタやヒツジの溶血性貧血の原因となる。

治療 ほとんどの抗生物質は無効であるがテトラサイクリン系は効果がある。しかし根絶は困難で、回復したネコは長く保菌動物となる。高度の貧血に対しては輸血が効果的である。

2.3. 新生子黄疸

原因 母子間の血液型不適合の為に母獣体内で產生された抗赤血球同種抗体を、新生子が初乳を介して摂取することにより溶血が起きる。不適合な交配が主な原因であるが、胎子組織や血液を用いたワクチンの接種により発生することもある。

症状 初乳摂取後数時間~数日以内に発症し、ヘモグロビン尿、貧血、黄疸を呈する。重症例では死亡率が高い。

種差 ウマでの発生が比較的多いが、ブタ、ウシ、イヌにもみられる。ブタやウシではワクチンの反復接種で発生することがある。

治療 母乳の吸飲を中止するとともに、輸液を行うが、重症例には輸血を実施する。

2.4. 子ウシの奇形赤血球症

原因 出産直後～生後2ヶ月位の子ウシにみられる奇形赤血球増加症である。異常胎子ヘモグロビンや赤血球膜異常が原因として考えられるが解明されていない。

症状 出産直後から呼吸促拍がみられ、元気に乏しく、哺乳力が弱い。適切な治療により急速に回復するが、放置すると発育遅延や、時には衰弱死する。二次感染も起こしやすい。赤血球は不整なヒトデ状や鎌状、ヒイラギの葉状の異様な形態を呈するものが多い。

治療 輸血が最も効果的である。

2.5. 再生不良性貧血

原因 動物では「再生不良性貧血」の定義が必ずしも一定していない。従って、診断基準も確立されていない。通常は、高度の貧血でありながら末梢血液中で赤血球の再生像がみられず、また赤血球のみならず白血球や血小板も減少している貧血の総称である。白血病などの腫瘍性疾患やウイルス感染、化学物質、薬物などによる骨髄造血障害の結果発生する。

症状 白血球や血小板減少を伴う高度の貧血がみられる。皮下や可視粘膜に点状～斑状の出血巣が存在することもある。原因によっては巨脾や肝腫大がみられる。

種差 ウシではワラビの大量採食による骨髄障害（ワラビ中毒）により、出血傾向を伴う貧血が発生する。ネコは白血病ウイルス感染による造血幹細胞障害によって本症を発症することが多い。イヌでは、各種の治療に全く反応しない進行性の高度の貧血がみられることがあるが、特定の品種（マルチーズなど）に発生する傾向がある。また、脾機能亢進によると思われる汎血球減少も発生する。

治療 薬物療法にはほとんど反応しないが、免疫抑制剤が効果的な場合もある。輸血は症状の一時的改善には非常に効果がみられる。

2.6. 血友病

原因 血液凝固因子である第VIII因子が遺伝的に欠乏（血友病A）あるいは第IX因子が欠乏（血友病B）するために発生する出血性疾患である。

症状 口腔粘膜からの出血や鼻出血、消化管内出血による血便、注射部位からの出血、打撲部の皮下あるいは筋肉内出血などの出血症状が出現する。

種差 近親交配のためにイヌでの発生報告が多い。血友病Aがほとんどで、雌イヌにもまれならず発生する。ウマやネコにも発生するがまれである。

治療 同種血漿の静注が最も効果的である。

2.7. 白血病

原因 動物の白血病にはウイルスが原因で発生するものが多い。白血病誘発因子として放射線や各種の化学物質が知られている。

症状 多くの場合、高度の貧血を伴い削瘦がみられる。症例により、リンパ節、肝臓、脾臓や腎臓の腫大、慢性的な下痢、呼吸困難、腹水や胸水などがみられる。

種差 各種動物に発生するが、実験用小動物以外ではウシとネコに発生頻度が高い。白血病ウイルスの関与が大きいことを示している。ウシ白血病は臨床的に、成牛型、子牛型、胸線型および皮膚型に分類されているがほとんどはリンパ性白血病である。ネコでの発生率はウシの2倍も高く、ヒトの約5倍といわれる。リンパ性白血病が主体であるが、骨髄性白血病も最近では多くみられ、赤白血病など病型も多彩である。多くの症例においてネコ白血病ウイルスが検出される。イヌはネコよりも発生頻度は低いが、最近は増加傾向がみられる。イヌではほとんどがB細胞由来の悪性リンパ腫で、全身リンパ節の腫大を示し経過が早い。

治療 イヌとネコ以外は治療の対象とはならない。イヌやネコでは飼い主の希望によって、ヒトと同様の化学療法が行われているが、予後は悪い。

3. 赤血球と動物種差(2, 3)

赤血球の生体内での役割は周知の如くであるが、その機能を十分に発揮するために各動物種の生理学的特性に応じて、形態や代謝には大きな種差がみられる。

3.1. 動物赤血球の形態

基本的構造はヒト赤血球と同じであるが、膜タンパク質や脂質の構成は動物種により差異がみられる。それらを反映して赤血球形態も変化がみられる。両面中くぼみ円盤状の形態は各種とも共通しているが、中くぼみの程度は、イヌが最も顕著であり、ネコやウマはくぼみが浅い。ヤギではさらに浅く、球状に近い。ラクダは偏平な橢円形の赤血球をもつ。多くのシカの赤血球は通常は他動物と同様の円盤型であるが、血液を室温や冷蔵庫に放置すると鎌状に変形する。

赤血球の大きさも種差が顕著であり、また同一種でも品種により差異がある。平均赤血球容積（MCV）はイヌで大きく、60-80 fLであるが、ネコやウシ、ウマは約50 fL程度であり、ヒツジやヤギはさらに小さくて、ヤギでは20-25 fL程度である。インドゾウでは110-168 fLと大きいが、キリンは30 fL前後でありヒツジと同程度である。一般的に、大型の赤血球をもつ動物の赤血球数は少なく、小型赤血球の動物では多い。例えば、インドゾウは200-400万/ μl であるが、ヤギは平均1300万である。平均赤血球血色素濃度（MCHC）は赤血球の大きさと関係なく、各動物とも30-36%の範囲内にあるが、ラクダでは高値（44%）を示す。

3.2. 膜輸送

ナトリウムとカリウムの輸送 赤血球内のナトリウム（Na）とカリウム（K）の濃度は種属差が大きく、同一種内でも差異がみられるものもある。ウマ、ブタ、ウサギなど多くの動物では赤血球内のK濃度は血漿中よりも著しく高く（HK赤血球、100-140 mmole/L），逆にNa濃度は低い（LK赤血球、15-20）。反芻獣（ウシ、ヒツジ、ヤギなど）では、同一種内にHK型とLK型が混在する。一方、イヌとネコは赤血球内のNa、K濃度は血漿

中のそれらとほとんど等しく、高Na、低K濃度を示す。このような両陽イオン濃度の種属差は、赤血球膜に存在するNa、K-ATPase活性の差による。イヌとネコの成熟赤血球はこの酵素を欠いているため、NaとKの能動的な輸送（Naの細胞外への汲み出しとKの取り込み）ができないので高Na低K濃度となっている。

筆者らは、わが国のシバ犬及び雑種犬には、高K低Na赤血球をもつものが存在することを発見した(4)。これらのイヌでは、遺伝的に赤血球Na、K-ATPaseが高活性を示すためにHK型赤血球となっているのである(5)。これらのHK型イヌ赤血球はまた、赤血球内還元型グルタチオン（GSH）量が正常値の約5倍に著増しているが、これについては後述する。

グルコース輸送 多くの動物赤血球はエネルギー源としてのATPを解糖によって得ている。従ってほとんどの動物赤血球はグルコースを取り込むが、成長したブタの赤血球はグルコース輸送体を欠いているのでその取り込みはみられない。また成長した反芻獣の赤血球もグルコースはほとんど通さない。成豚赤血球のエネルギー源はイノシンと考えられている。動物赤血球のグルコース消費量は一般にヒト赤血球よりも低く、また種差が大きい。

アミノ酸輸送 赤血球のアミノ酸輸送機構も種差が著しい。ヒト赤血球はフェニルアラニン、ロイシン及びバリンの取り込み率が高いが、反芻獣ではこれらのアミノ酸取り込みは著しく低い。イヌとネコの赤血球にはNa依存性のグルタミン酸及びアスパラギン酸輸送機構が存在するが、他の動物やヒト赤血球にはみられない。

前述のように、わが国的一部のイヌは遺伝的に赤血球Na、K-ATPase活性が高い。その結果、これらのイヌ赤血球では細胞内Na濃度は細胞外（血漿）よりも著しく高濃度となっている。赤血球内外に形成されたNa⁺の高い濃度勾配を利用して、これらのイヌ赤血球ではNa⁺依存性グルタミン酸、アスパラギン酸輸送が著明に亢進しており、その結果、赤血球内には正常イヌ赤血球の約100倍ものグルタミン酸が蓄積している。グルタミン酸は、赤血球内で酸化障害防止のために重要な役割を果たしているGSHの合成材料となるアミノ酸である。また、GSHは負のフィードバック機構によって赤血球内では一定の量を維持するようにその合成が調節されているが、高濃度のグルタミン酸はそのフィードバック抑制を解除する。これらの結果、HK型イヌ赤血球ではGSH合成が亢進し、GSH濃度は正常の5倍にも増量しているのである(6)。

一方、ヒツジでは赤血球GSH量が通常の3分の1以下に減少している、遺伝性GSH欠乏の品種が存在する。原因として、GSH合成系の酵素（ガンマ・グルタミルシテイン合成酵素）が遺伝的に欠乏している場合と、赤血球のアミノ酸輸送系障害による場合とが明らかとなっている。後者では、GSHの前駆体のひとつであ

るグリシンの取り込み障害がGSH減少の直接的な原因となる。

GSHは赤血球を酸化的ストレスから防御するために必須の物質と考えられているが、面白いことに、酵素欠損によるGSH欠乏ヒツジは何らの臨床症状も呈さず、血液学的な異常もみられない。逆に、GSHが高濃度のイヌは、正常なイヌよりもタマネギ採食によって激しい溶血症状を呈する。タマネギ中には赤血球酸化物質が含まれているが、この物質はGSHと反応することによって強い酸化作用を發揮するようである(7)。このような現象をみれば、GSHはあるいは赤血球にとって必須の物質ではないのかも知れない。

以上、簡単に各動物の赤血球の特徴について述べた。それぞれの種属に特異的な赤血球の性状はそれらの種属が生存していく上で、それぞれ重要な意義を持っている。その意義を一つ一つ明らかにしていくことが、今後の人工血液の開発に必要なことのように思う。

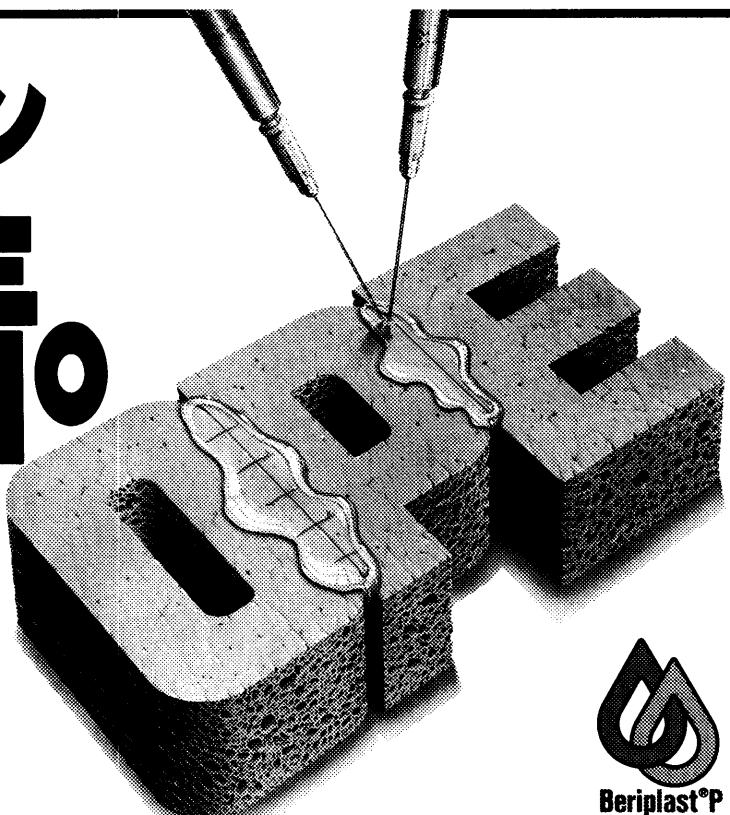
4. おわりに

約30年ほども昔のことである。当時、筆者と同じ教室（家畜内科学講座）に所属していた一人の学生が、貧血しているネコにウマの血液を注入するという「事件」を起こし、仰天させられたことがあった。しかし考えてみれば、もし「種差」という壁さえなければ、獣医臨床分野では血液代替物を得るに何らの困難はないのである。獣医学は、比較動物学でもある。「種差」の壁を乗り越えることに挑戦するのも大きな使命かもしれない。彼の学生は血液代替物探求の偉大な先駆者であった。

参考文献

1. 前出吉光, 稲葉睦. 犬と猫の貧血. 学窓社 東京 1992.
2. Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology, Lea&Febiger Philadelphia, 1986.
3. Agar N S, Board, PG ed., Red blood cells of domestic mammals, Elsevier, Amsterdam. New York Oxford, 1983.
4. Maede Y, Inaba M, Taniguchi N. Increase of Na, K-ATPase activity, glutamate and aspartate uptake in dog erythrocytes associated with hereditary high accumulation of GSH, glutamate and aspartate. Blood 1983;61:493-9.
5. Maede Y, Inaba M. (Na, K)-ATPase and ouabain binding in reticulocytes from dogs with high K and low K erythrocytes and their changes during maturation. J Biol Chem 1985;260:3337-43.
6. 前出吉光, 稲葉睦. グルタチオン代謝研究のモデル動物－高GSHイヌ赤血球を中心に－. 蛋白質核酸酵素 1988;33:1459-65.
7. Maede Y, Kuwabara M, Sasaki A, Inaba M, Hiraoka W. Elevated glutathione accelerates oxidative damage to erythrocytes produced by aromatic disulfide. Blood 1989;73:312-7.

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、創傷治癒効果を発揮します。

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湿润状態での適用も可能である。
- ⑦バスタ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】

組織の接着・閉鎖
(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。) 今回改訂

【使用上の注意】

1. 一般的な注意

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) 本剤の成分又は牛肺を原料とする製剤(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。
今回改訂

凝固促進剤(凝器抽出製剤、蛇毒製剤)、抗凝溶剤、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)が考えられる病態を有する患者。

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. 効作用

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、適切な処置を行すこと。

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

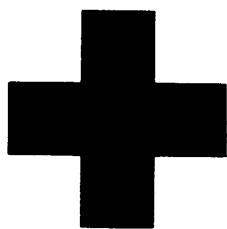
** 1994年3月改訂

★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

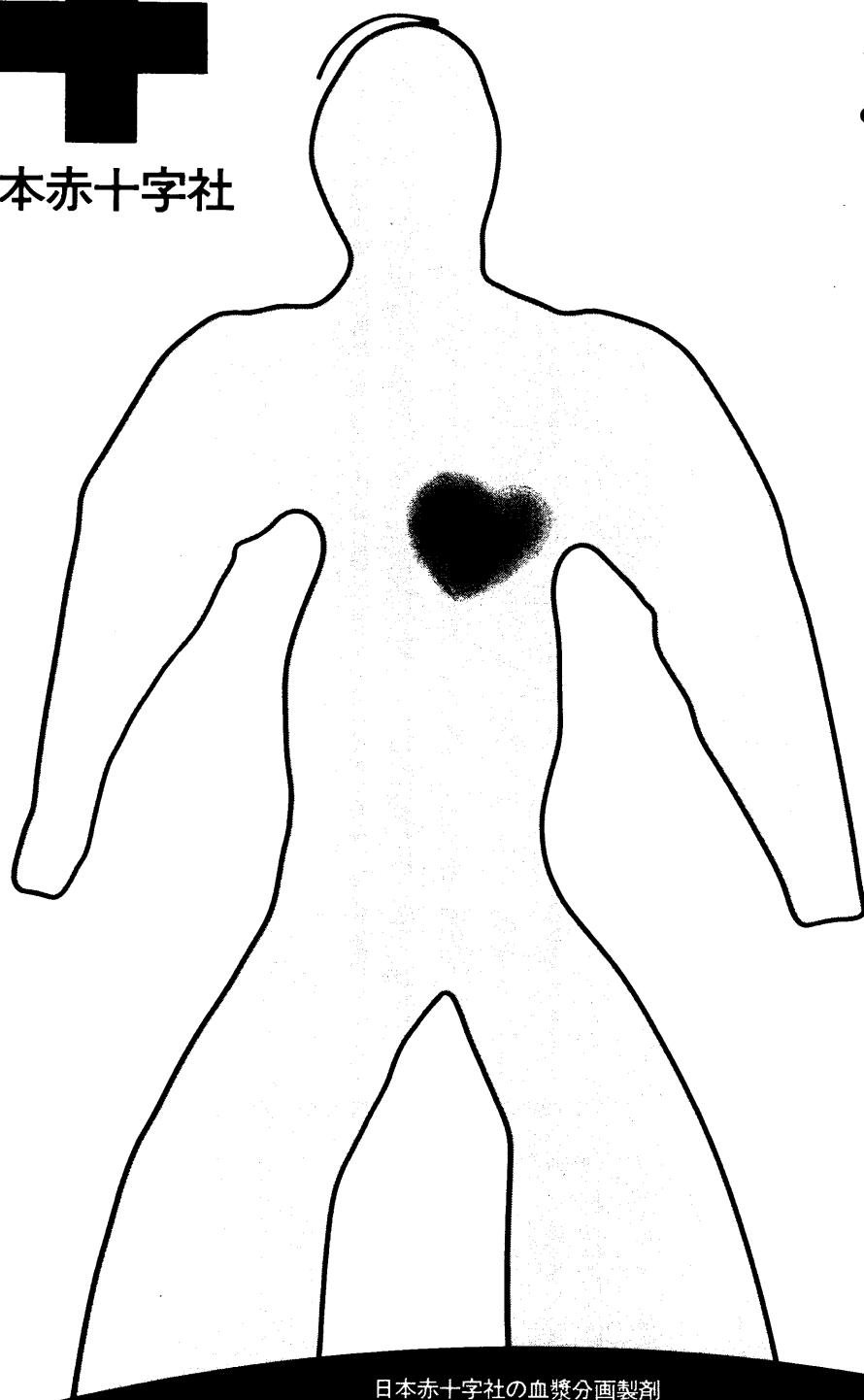
製造：
ベーリングベルケ社
輸入販売：
ヘキスト ジャパン株式会社
〒107 東京都港区赤坂八丁目10-16

BEHRING
Behring



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

の心をお届けします。

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

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



リッシュントウ
ツムラ六君子湯
エキス顆粒(医療用)
(健保適用)

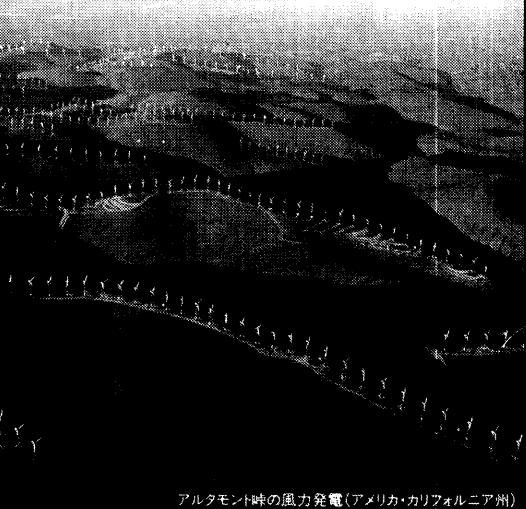
■ 排出能促進作用と胃粘膜防御作用

●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発揮します。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)



アルタモント峠の風力発電(アメリカ・カリフォルニア州)

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。)④副作用 電解質代謝: 長期服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シ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MR(医療情報担当者)へ
お問い合わせください、下記住所宛て請求下さい。

●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-0431A-1

ヒトエリスロポエチン製剤 エスボ[®] 注射液 1500・3000

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

- ①赤血球系に選択性的分化・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



ESPO

【使用上の注意】

- 1.一般的注意 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%)未満を目標とする。(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薬物投与後初回投与時に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2週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)が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、休薬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ら、また、高血圧性脳症があらわ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よう注意すること。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パン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造設、抗凝固剤を增量等の適切な処置をすること。(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うこと。

- 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、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 ときに搔痒感、皮疹、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)その他 眼底出血、ときに頭痛、めまい、発熱、熱感、はだり感、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

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が、形式にはこだわらず創意ある投稿を広くを集め。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。原稿掲載の採否は編集委員会が決定する。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。

投稿規定 Short Version

- 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。
 - 6) 数字はアラビア数字を使い、度量衡の単位はm, cm, mm, μm, L, mL, μL, mol, g, mg, μg, ng, pg, fg, N/10などを用いる。
 - 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すること。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。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。
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. Fowler SA, Andracki M, Hurst G, Honkan VA, Walder J, Casteel DA. Prolongation of the intravascular retention of hemoglobin modified with a long-chain fatty acid derivative. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 1994;22:27-42.
 4. 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) 論文中の略語は初出の際に省略しないこと。
 - 10) 既発表の図表、その他を引用、転載する場合には、あらかじめ版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。

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の費用は著者の負担とする(およそ1部100円)。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。

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会誌

■発行 日本血液代替物学会

■編集・制作「人工血液」編集委員会

■印刷 サイマル・インターナショナル

人工血液 vol. 3 (1) 1995年3月29日発行

〒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)3205-4740

〒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

〒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