

目 次

人工血液

第4巻 第3号 1996年9月

第3回年次大会大会長講演 元木良一 56

総説 輸血医療がもたらす利益と危険性 大戸 齊 65

原著 重篤な出血性ショックに対するリポソームカプセル化ヘモグロビン"ネオ
レッドセル"の効果 薄場 彰 69

学会報告

Current issues in blood substitute research and development 武岡真司 76

第6回国際血液代替物シンポジウム(VI ISBS) -血液代替物臨床試験の現況
の最新情報 薄場 彰 79

第6回国際血液代替物シンポジウム(モントリオール)見聞録 池淵研二 82

事務局より 83

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 4 No. 3 September, 1996

*The Lecture of President-The Third Annual Meeting of The Society of Blood
Substitutes, Japan: Artificial oxygen-carrier from a view point of surgery*
..... Ryoichi Motoki 56

Review:

The benefits and risks of allogeneic blood transfusion ... Hitoshi Ohto 65

Original Article:

*Effect of liposome encapsulated hemoglobin "Neo Red Cells" as a resusci-
tation fluid for severe hemorrhagic shock* Akira Usuba 69

Report:

Current issues in blood substitute research and development
..... Shinji Takeoka 76

The Sixth International Symposium on Blood Substitutes (Montreal)
..... Akira Usuba 79
..... Kenji Ikebuchi 82

外科からみた人工酸素運搬体

元木良一, 薄場彰
Ryoichi Motoki, Akira Usuba

Artificial Oxygen-Carrier from a View Point of Surgery

Transfusion medicine has been a great contribution to the development of surgery. Today, unfortunately the confidence of safety on the transfusion medicine is slightly falling due to problems concerning blood transfusion such as infection, GVHD, and accidental blood type mismatch transfusion. Furthermore, it is also a problem for our surgeons that we are not always able to get enough of bank blood volume when it is necessary on emergency surgery. To solve these problems, artificial oxygen carriers have been developing. However, we have not got an equipment which has both efficacy and safety satisfactorily. In this paper, we present our experimental and/or clinical results using perfluorochemical emulsion "Fluosol-DA" or encapsulated hemoglobin "Neo Red Cells", and we are discussing its efficacy and safety as a candidate for blood substitutes.

はじめに

人工酸素運搬体の開発は本学会の主要テーマのひとつであり、種々の専門分野の会員がそれぞれの立場で関心を寄せていると思われる。本稿では外科の立場からわれわれの経験を中心に述べてみたい。

1. 外科と輸血

A. 外科が受けた輸血の恩恵

外科学は多くの関連分野の進歩に支えられて発展してきたが、なかでも輸血医学に負う所は極めて大なるものがあった。とりわけ大量出血を伴い易い内臓外科手術では術中術後の輸血が不可欠であり、血液型の発見から輸血理論の確立、抗凝固剤や保存液の開発、献血制度の整備普及など、輸血医学の進歩、輸血行政の充実なくしては今日の外科学の発展はなかったといって過言ではなかろう。

B. 輸血の問題点

しかし、輸血が重症患者の危機を救う安全な治療と信じられていた時代はどうやら終焉を迎えたようである。血清肝炎に始まった輸血による感染の恐怖はHIV感染に至って頂点に達し、今や輸血は極めて危険な感染を招来しかねない治療と認識されている。

移植片対宿主病(graft versus host disease, 以下GVHD)は輸血によって受血者体内に入った供血者リンパ球が受血者体内に生着し、受血者を攻撃する疾患で、発症すれば殆ど100%死亡する。従来は著しい免疫機能低下患者に稀に発症するとされてきたが、担癌患者、心血管外科手術、血縁者間、新鮮血などの輸血でも稀ならず発症する。緊急事態で輸血用血液がない場合に近親者から採血し、新鮮血のまま輸血することが一昔前では普通に行われていたが、これはGVHD発症のリスクの高い治療と認識されている。

異型輸血は生命に直結する輸血の合併症である。血型判定から交叉試験、血液申込、払出し、施行直前の確認に至る各段階で予

防策をマニュアル化して事故防止に努力を払っているが、最終的に事故が回避されているにせよ、大事故につながりかねない

“うっかりミス”は根絶されていない。輸血が行われる場面では、患者の容態は概して重篤であり、治療チームが焦燥気味であることが多く、とくに時間外に緊急事態が発生した場合には不慣れなメンバーが不慣れな検査を行わなければならず、事故を発生し易くしている。

輸血用血液確保にも問題がある。血液の保存期限は3週間と定められており、献血制度に依存しているので、必要な血液型の血液が必要な量、常に速やかに供給可能とは限らない。血液センター間の緊密なネットワークにより、遅くとも数時間内には希望の血液が準備されるが、それだけの余裕のない事態も皆無ではない。

C. 何故酸素運搬体の開発が求められるのか

以上のような輸血にかかる諸問題のため、外科医は血液の性能を上回る有効性と安全性を備えた血液代替物が開発され、十分量が手近かに常備され、簡単な手順で速やかに投与できる日の到来を切望している。しかし、優れた血液代替物の開発は治療する側からの使い勝手からのみ要望されるのではない。患者に対して安全な治療を供給する立場から考慮されるべきで、感染、GVHD、異型輸血などの危険のない、安全な血液代替物の開発が望まれており、そのためにも有効で安全な酸素運搬体の開発がすすめられるべきであろう。

2. 人工酸素運搬体投与の適応

A. 出血とショック

人工酸素運搬体投与の適応となる最も多い病態は、ヘモグロビン(hemoglobin, 以下Hb)の減少で、外科領域ではその大部分は出血による赤血球の減少による。近年の外科手術手技の進歩により、従来に比して術中の出血量は著明に減少しているが、それでも肝切除術などでは時に数千mLに及ぶ大量出血がみられるし、大動脈瘤の破裂、外傷性実質臓器破裂などでは術前からすでに大量出血を伴っている。

出血によって循環血液量が一定以下に減少すると循環系が正常

に機能せず、患者は血圧低下や頻脈を主徴とする急性循環不全すなわちショックに陥る。

ショックの重症度は循環血液量の不足とほぼ相関することが臨床例や動物実験で確かめられている¹⁾。失血量が循環血液量の約15%未満であればショックには陥らない。これは交感神経・内分泌系反応を中心とした生体の代償反応により、循環不全がカバーされるためで、1)血管外にあって細胞間隙を満たしている細胞間液(狭義の細胞外液)が血管内へ動員され、循環血液量が増加する。2)血管収縮により血管床の縮小と血圧維持が図られる。3)心拍数増加により1回心拍出量の不足を回数でカバーし分時心拍出量が保たれるなどの機序による。循環血液量が30%失われると中等度のショック、40%の失血では重度のショックに陥る。代償能には個人差があり、高齢者や小児では弱い。ちなみに65kgの成人を例にとると、循環血液量は約5000mL、その15%は750mL、30%は1500mL、50%は2500mLである。

B. 出血性ショックの治療戦略

出血患者に対する治療のポイントは止血と循環血液量の回復である。止血の成否が生死を分けるが、循環血液量の回復も一刻を争う重要な治療となる。そこで一般には投与手順の簡単な細胞外液修復剤(乳酸加リンゲル液)を急速輸注する。ついで晶質液のみでは膠質浸透圧が維持できないので、デキストラン(dextran)やヒドロキシエチル starch(hydroxyethylstarch, HES)などの代用血漿、アルブミン、凍結血漿などを投与する。ついで濃厚赤血球を投与して酸素運搬能を確保する。輸血は繁雑な手続きを要するため緊急時には第一選択とせず、まず血管内を晶質液、膠質液で充満させることに専念する。循環血液量が補正され、分時心拍出量が維持されれば正常の約1/4程度までHbが不足しても酸素供給はカバーされる。

C. 酸素配達量の不足

赤血球の補充が行われない場合でも晶質液と膠質液が大量に投与され循環血液量と心拍出量が維持されれば急死は免れる。しかし、出血が継続していれば血液は希釈されるので単位体積当たりの赤血球数は次第に減少し、当然Hb量も減少するので動脈血酸素含量が低下する。末梢へ送られる酸素量(酸素配達量、oxygen delivery)は動脈血酸素含量と分時心拍出量の積であるからこれも減少する。通常、組織の酸素必要量に対し、酸素配達量は十分に余裕をもって上回っており、酸素配達量が次第に減少してcritical point以下になると、組織の酸素不足を反映して酸素消費量(oxygen consumption、動静脈酸素含量較差と分時心拍出量の積)も減少する。細胞では酸素不足のためミトコンドリアにおけるATPの産生が減少し、細胞機能は低下してついに不可逆的変化が生じて死に至る。

D. 人工酸素運搬体投与の適応

本邦における日常診療では赤血球の補充が不可能なために死に至るような事態は稀である。しかし、1)患者が宗教的理由で輸血を拒否する場合、2)特異体质の患者で血液中に異常抗体が存在し、通常の赤血球を投与できない場合、3)患者血液型が稀なためや治療施設が血液センターから遠隔地にあるなどにより、適合する輸血用血液が直ちに入手できない場合など、いずれも稀ではあるが起こりえないことではない。目下開発中の人工酸素運搬体は

赤血球(即ちHb)の不足状態に際して赤血球機能の代替を果たす目的で開発されており、上記のような特殊症例には極めて有効と思われるが、当然のことながら特殊症例の治療のみを目的に開発されているのではない。現在周術期の輸血など濃厚赤血球が投与されている病態や自己血輸血の適応となっている病態は全て人工酸素運搬体投与の適応となりうる。これらの病態の患者全てに対し、より安全に、より効果的に酸素を運搬しうる製剤の開発を目指していることはいうまでもない。

3. 赤血球及びヘモグロビンの酸素運搬機能とストローマフリーヘモグロビン

A. 赤血球の機能

ヒトにおける酸素運搬の主役は赤血球内のHbである。Hbは極めて効率の高い酸素運搬機能を有するが、赤血球自体もHbをより有効たらしめる優れた構造と機能を持っている。そのため現在開発中的人工酸素運搬体が有効性、安全性の面で赤血球を凌駕するのは容易ではない。

赤血球は中央に凹面を有する円板状を呈しており、内包するHbの容積当たりの表面積が大きく、開発中の封入型人工酸素運搬体が球状であるのに比して、ガス交換に有利な形状となっている。また赤血球の被膜は柔軟かつ強靱で、変形し易く、時にはバラシューのようにくの字形になって毛細管内をくぐり抜ける。赤血球はHbを31~35g/dL程度と高濃度で内包し、正常血液は約15g/dLのHbを含む。仮にHbが遊離の状態で血漿中に分散すれば、7g/dL以上ではHbの粘性のために循環障害が必至である。さらに赤血球内にはHbの親和性を抑制する2,3-ジホスホグリセリン酸(2,3-diphosphoglycerate、以下2,3-DPGと略)が含まれており、Hbの酸素親和性を適正に調節している。そのほかHbの酸素との結合力を失活させるHbのメト化に対して、メトHbを還元する酵素系も含んでいる。

B. ヘモグロビンの機能

Hbは酸素と化学的に結合しPO₂の上昇に従ってHbの酸素飽和度はS字状の曲線を描き上昇する。

Fig. 1はヒト血液の酸素分圧と酸素飽和度との関係を示す曲線で、酸素解離曲線(oxygen dissociation curve)とよばれる。1gのHbは最大1.34mLの酸素と結合するので、血液のHb量を15g/dLと

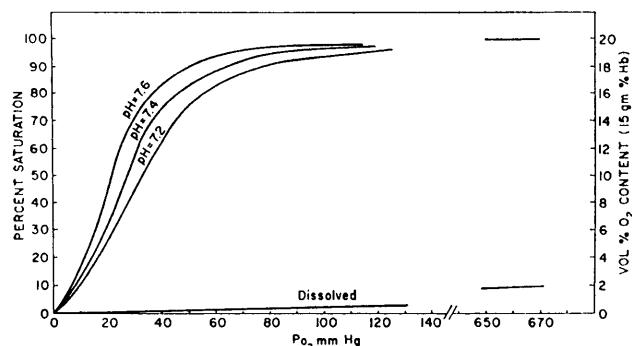


Fig. 1. Oxygen dissociation curves for human blood.

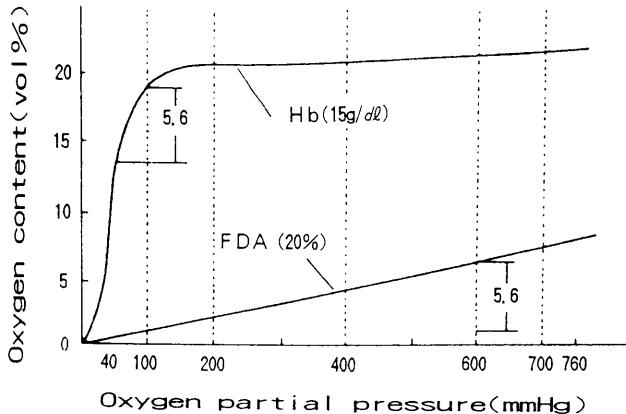


Fig. 2. Oxygen dissociation curves for whole blood and Fluosol-DA (20%). The amount of oxygen dissolved in Fluosol-DA changes linearly with change of PO₂.

し、Hbが酸素で100%飽和されているとすれば、血液は20.1vol%の酸素を含有することになる。Hbの酸素飽和度(oxygen saturation)はPO₂ 100mmHgで97%であるから、動脈血PO₂を100mmHgとするとHbの酸素含量は19.5vol%となり、血漿中に物理的に溶解している酸素0.3vol%と合計して動脈血酸素含量(oxigen content)は19.8vol%となる。

一方、混合静脈血のPO₂は末梢組織と同じく約40mmHgで、Hbの酸素飽和度は約70%であるから、血漿中に溶解している酸素と合計して静脈血酸素含量は14.2vol%となり、その差5.6mLが血液100mLによって肺から末梢へ運ばれ放出される酸素量となる。すなわちHbはPO₂ 100mmHgと40mmHgとのわずか60mmHgの僅差の範囲で極めて効率よく酸素を運搬する。

このような優れた機能を有するHbを人工酸素運搬体として用いることが考えられるが、単に赤血球を溶血させただけでは、赤血球膜の断片(stroma)には活性物質があり、DICを誘発するので、stromaを除去したHbすなわちストローマフリーへモグロビン(stroma free hemoglobin, 以下SFH)として用いる必要がある。しかし、Hbは赤血球外に出てSFHとなると種々の不都合が生じてくる。

まず、酸素との親和性を抑制する2,3-DPGがなくなるのでSFHは酸素と高い親和性を示し、PO₂の低い末梢でも酸素を放出できなくなる。また、赤血球内では4量体をとるがSFHでは2量体となり分子量が減少するので腎糸球体から排泄される。そのため血管内滞留時間が短縮し、腎を障害する。血中Hb量は15g/dLであるが、SFHは7g/dL以上投与すると前述したようにHbの粘性のため円滑な循環がえられない。したがって、SFHの高性能を生かした製品を開発するにはこれらの欠点をカバーする工夫が必要となる。

4. 人工酸素運搬体開発の現況

人工酸素運搬体として開発されたもの、あるいは開発中のものは、素材から3種に分類される。

Table 1. Some composition and properties of FDA(20%)

Perfluorodecalin	14.0 w/v %
Perfluorotripropylamine	6.0 w/v %
Pluronic	2.7 w/v %
Yolk phospholipids	0.4 w/v %
Hydroxyethylstarch (HES)	3.0 w/v %
Solubility of oxygen	45 mL/100mL
Osmolarity	410 mOsm
Oncotic pressure	390 mmH ₂ O
Viscosity	23 cP. at 37°C pH7.4
Particle size	0.12μm

A. 過フッ化化合物を素材とするもの

過フッ化化合物(perfluorochemicals, PFCs)とは炭水化物の水素をフッ素に置換した化合物の総称でフルオロカーボンとよばれる。一般にPFCsでは高い酸素溶解能を有し、水の約20倍の酸素を溶解する。常温では液体で潤滑油に使用されている。この高い酸素溶解能に着目し、これを酸素運搬体として用いる製剤の開発が進められてきたが、本邦ミドリ十字社内藤氏、横山氏²⁾及び神戸大学光野教授³⁾、大柳助教授⁴⁾(当時)らは多数のPFCsについて酸素溶解度、毒性、血中滞留時間などの性状を検討し、PFCsに界面活性剤を加えて細粒としてエマルジョンとし、血中へ投与可能な数種の製剤を開発した。なかでもフルオゾールDA[®](Fluosol-DA[®])は毒性が少なく、臨床応用され性能が検討された^{3,4)}。詳細は次章で述べる。

B. ヘモグロビンを素材とするもの

Hbの優れた性能を生かし、SFHの欠点をカバーした人工酸素運搬体の開発も広く進められている。剤型からさらに2種に大別される。

1)修飾ヘモグロビン(modified Hb), 液体型ヘモグロビン

SFHの欠点をHbに化学的修飾を加えることで解決しようとするものである⁵⁾。

血中滞留時間延長のために重合や分子内架橋により2量体を4量体や多量体にしたり、高分子量のデキストランやポリエチレンギリコールなどとの結合が試みられている。酸素との親和性抑制についてはアロステリック効果剤であるピリドキサール-5'-リン酸などとの結合が試みられている。

本邦では味の素社の岩崎氏、岩下氏ら⁶⁾による安定化ヘモグロビン、外国ではBaxter社のDiaspirin crosslinked hemoglobin⁷⁾などがある。

2) 封入ヘモグロビン(encapsulated Hb), カプセル型ヘモグロビン

SFHをリポソームのカプセル内に封入したものである。濃縮したSFHを用いることが可能なら、アロステリック効果剤を封入して酸素との親和性を抑制するなど高性能のものがえられる。Hbはカプセル内にあるため、Hbが血中のサイトカインやエンドトキシンなど生理的活性物質の影響をうけることがなく、逆にHbがNOを失活させて血管収縮を招いたり、補体や凝固系を活性化する危険もない。しかし製造過程が複雑になるので技術的な問

Table 2. Post-operative courses of caves

No	Body weight (kg)	ECC-time (min.)	FDA left in body (g/kg)	Post-operative courses
3	90	60	6.3	alive wellgrown
4	100	60	9.1	alive wellgrown
5	77	60	11.7	alive wellgrown
6	97	120	11.5	alive anemia
7	55	120	12.7	alive undergrown
2	70	60	12.5	dead 1day
1	60	60	15.0	dead 4 day
8	80	120	16.6	dead 2 day

題が残る。本邦ではテルモ社が開発中で、Neo Red Cellと命名している⁸⁾。

C. 全合成系の酸素運搬体

ヘモグロビンは酸素分子と酸素分圧によって可逆的に結合する。Burkら⁹⁾のコバルトヒスチジンをはじめとして、全合成系の酸素運搬体の開発が進められている。本邦では早稲田大学の土田教授¹⁰⁾を中心に早くから研究されており、リピドヘムの動物実験成績は慶大小林教授ら¹¹⁾によって報告されている。Hbの性能のレベルまで到達するにはなお相当の時間を要するものと推定されるが、完成すれば完全なgerm freeの製品がえられ、原料を期限切れ赤血球に頼る必要もなく、究極の酸素運搬体として期待される。

5. フルオゾールDA

A. フルオゾールDAの概要

フルオゾールDA(Fluosol-DA, 以下FDA)はPFCsを素材とする酸素運搬体である。PFCsの高い酸素溶解能に着目し、これを素材とした人工酸素運搬体の開発が試みられてきたが、PFCsの毒性の問題や乳剤化の問題が隘路となっていた。ミドリ十字社と神戸大学の共同研究により毒性の比較的低いperfluorodecalinとperfluorotripropylamineを素材とし、静注用脂肪栄養乳剤作成の技術を応用してpluronic F-68や卵黄などの界面活性剤を加えて乳剤とすることに成功した。これがFDAで、凍結状態で保存し、使用

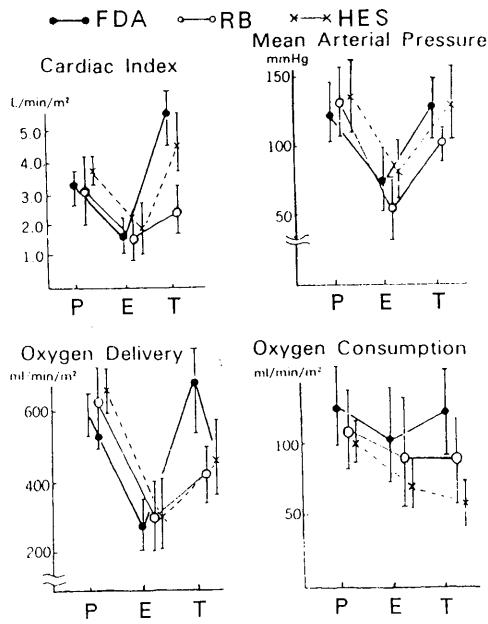


Fig. 3. Effect of Fluosol-DA on hemodynamics and blood gas in canines with blood extraction. P: before extraction; E: after extraction (300mL/kg/10-15min.) T: after transfusion (same amount of extraction); FDA: Fluosol-DA (20%); RB: whole blood; HES: hydroxyethyl starch.

時に解凍し、電解質と膠質浸透圧調整用のアネックス液を添加するものであった。

FDAはヒトに投与可能な人工酸素運搬体として世界最初に開発された製品であった。FDAの主成分と主な物性をTable 1に示す。FDAと全血(Hb量15g/dL, pH7.4)の酸素解離曲線をFig. 2に示す。

FDAでは酸素は“Henryの法則”に従いFDA中に物理的に溶解している。したがってFDAの酸素含量はPO₂の増加に比例して直線的に増加し、PO₂ 760mmHg, 37°Cではほぼ7%となり、これはPO₂ 100mmHg下の全血酸素含量のほぼ1/3に当たる。

一方、前述した通り全血中のHbに溶解する酸素量はPO₂の増加に伴いS字状を呈して増加し、動脈血のPO₂である100mmHgと組

Table 3. Patients of hemorrhagic shock received Fluosol-DA

Case	Age	Sex	Diseases	Blood type	Hct(%)	20%FDA(mL)
No 1	64	M	Gastric ulcer	O, Rh(-)	7	1000
No 2	73	M	Gastric ulcer	O, Rh(+)	18	1000
No 3	16	M	Esophageal varices	B, Rh(-)	37	1000
No 4	64	M	Sigmoid colon cancer	A, Rh(+) Lewis(+)	32	1000
No 5	51	M	Gastric ulcer	AB, Rh(+)	14	1000
No 6	55	F	Esophageal varices	B, Rh(-)	4	900
No 7	38	M	Intraabdominal bleeding	A, Rh(+)	9	1500
No 8	49	F	Rectal cancer	A, Rh(+)	36	400
No 9	42	M	Autoimmune hemolysis and bleeding	O, Rh(+) Coombs(+)	22	1500

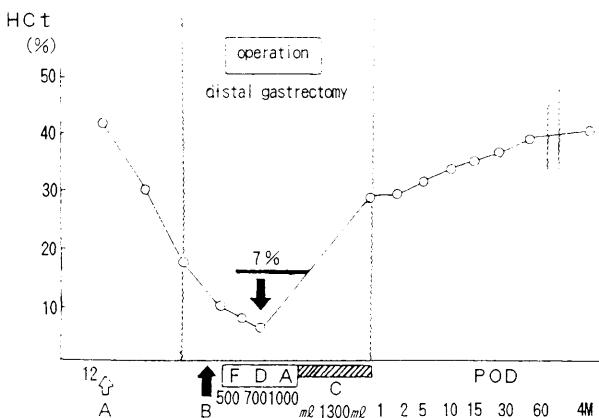


Fig. 4. Course of patient. A:surgery for hypertrophy of the prostate; B: massive hematemesis; C:blood transfusion; HCT:hematocrit.

織のPO₂である40mmHgの間では急峻な勾配を示し、血液100mLは5.6mLの酸素を配達することができる。20%FDAに全血と同量の酸素配達量を期待するには動脈血PO₂を600mmHgとする必要がある。しかしこのような高い動脈血PO₂は通常の状態でえられない。患者の肺機能が良好であるという条件下に、吸入酸素濃度(FiO₂)を100%に近く(純酸素に近い高濃度)した場合によく見られる状態であり、これが臨床上問題であった。

B. フルオゾール-DAの動物実験成績

われわれが行った雑種成犬を用いた出血性ショック実験の大要をFig. 3に示す¹²⁾。

FDAはHESや全血に比して、良好な循環回復効果、酸素運搬量と酸素消費量の増加効果を示しており、少なくとも短期間の救命処置としては有効であるとの結果を得た。

次にわれわれはFDAの有効性と安全性をより詳細に検討するために8頭の仔牛を用いて体外循環を行い、その後に長期間観察した¹³⁾(Table 2)。すなわち循環血液量の70%を脱血しFDAで置換した状態で、人工心肺下に60~120分の体外循環を行い、循環動態を測定するとともに体外循環終了後にFDAを回収し、先に脱血し保存しておいた血液で補充し長期間飼育した。仔牛は実験直後は全例生存した。すなわちFDAは酸素を組織へ配達し、組織はこれを利用したことを示す結果であった。しかし8例中3例は特記すべきことなく長期間生存したが、体内取込み量11.5g/kg以上の5例中3例は死亡、2例は発育遅延がみられた。このことはFDAには少ないながら毒性があり、体内に10g/kg以上のFDAが取り込まれた場合すなわち大量投与時には注意を要することを示唆していた。われわれは臨床例では20%FDA1500mLを安全投与量の上限とした。

C. フルオゾールDAの臨床成績

FDAを投与し、救命えた1例を提示する^{14,15)}。

症例 64歳 男性

主訴 大量吐血

当院泌尿器科で前立腺手術施行、術後経過良好であったが、術後12日、大量吐血あり、急性出血性胃潰瘍の診断で当科へ転科した。

Table 4. Oxygen delivery and oxygen consumption

case	Hct (%)	Fct (%)	PaO ₂ (mmHg)	O ₂ delivery		O ₂ consumption	
				mL/min/m ²	FDA(%)*	mL/min/m ²	FDA(%)
No. 6	4	3.0	194	158	21	74	34
No. 7	9	3.3	347	256	14	139	22
No. 5	14	1.0	181	542	8	258	4
No. 4	32	2.0	68	640	1	130	2

* Percentage of oxygen transported by FDA.

た。転科時血圧は80mmHgとショックに陥っていた。患者の血液型がO型、Rh(-)のために、福島県下に適合する輸血用血液がなく、茨城県より輸送してくるのに数時間要したため、とりあえず輸液のみで待機していたところ、Htは次第に低下して10%以下となった(Fig. 4)。anemic anoxiaに陥る危険が大なため、挿管して純酸素を投与するとともに、FDAを点滴投与しながら、胃切除術兼胃十二指腸吻合術を開始した。手術途中(FDAを1000mL投与した時点)で輸血用血液が到着しFDAから輸血に切り替え、無事手術を終了することができた。術後経過良好で肝・腎などの臓器障害なく全治退院した。

出血性ショックの9例にFDAを投与した(Table 3)。これらのなかには前記症例のほか、家族が宗教的理由で輸血を拒否した自殺企図症例も含まれている¹⁶⁾。FDAの投与量は1500mL以下であった。循環動態を測定した症例について、投与前後の平均値を比較すると心指数3.7L/min/m²から4.9L/min/m²、動脈平均圧70mmHgから87mmHgへ、心拍数109回/minから97回/minへ改善した。ヘマトクリットは25%から20%へと希釈により低下、投与後のフルオクリットは1.8%であった。酸素配達量および酸素消費量に占めるFDAが関与した量をFDAの貢献度として求めると、FDAの貢献度の大きな例は、ヘマトクリットが10%以下と高度の貧血があり、肺機能が良好な患者に挿管純酸素呼吸を行うなど動脈血PO₂を高値に維持できた例であった(Table 4)。換言すれば、貧血が軽度であるか、何らかの理由で動脈血PO₂を高値に維持できない場合はFDAの効果は十分に発揮できないことを示していた。なお血中滞留時間が測定できた2例の血中半減期は約6時間であった。これは成犬での測定値25時間を大幅に下回る値であった。

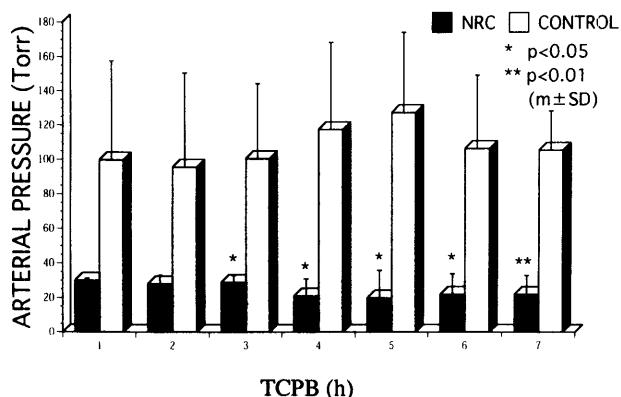
D. フルオゾールDAの有効性と安全性

FDAは本邦で独自に開発された世界初の臨床応用可能な人工酸素運搬体であり、われわれが初のFDA投与救命例を経験できたことは極めて名誉なことであった。本邦では多くの施設で追試されたが、製造許可をうるための有効性、安全性のハードルを越えることができなかつたのは残念であった。

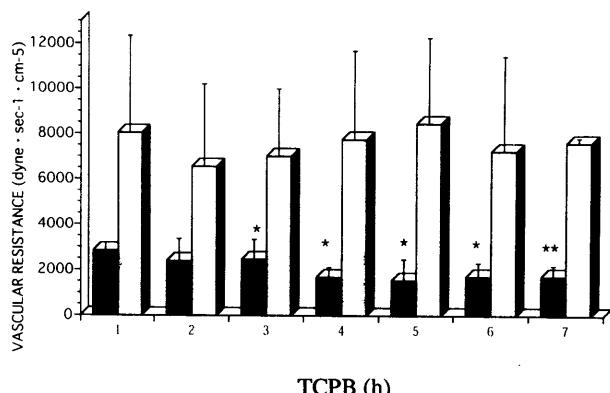
すなわちFDAが運搬する酸素はFDA中に物理的に溶解するにすぎなかった。これがHbの高性能に比較してFDAの性能が著しく劣る理由であり、そのため動脈血PO₂を高値に維持する必要が生じ、臨床応用の大きな隘路となつた。

また軽度であるにせよ毒性があり、これは大量投与を不可能にし、低性能を投与量の増量でカバーする道を閉ざし、さらにRESに取り込まれて血中から消失するFDAの補充を不可能にした。

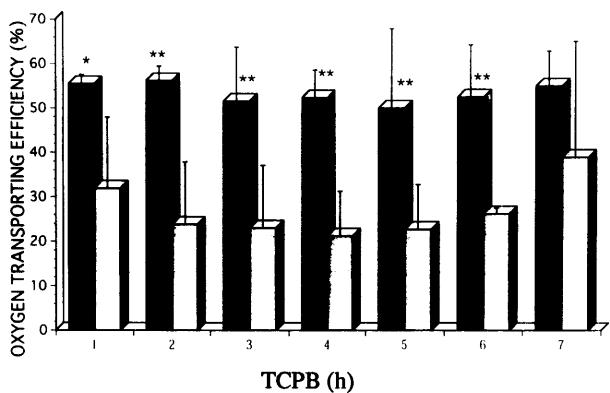
A



B



C



D

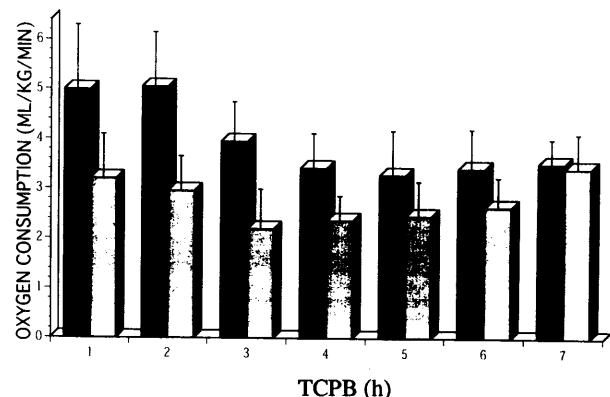


Fig. 5. Changes in hemodynamics during total cardiopulmonary bypass. A:Changes in arterial pressure. TCPB=Total Cardiopulmonary Bypass; B:Changes in vascular resistance; C:Changes in oxygen transporting efficiency; D:Oxygen consumption.

われわれは最終的に、FDAは緊急輸血が必要な状態でありながら、輸血が不可能な状況(宗教的理由を含む)における一時的な緊急処置としては有効であるが、その場合でも輸血の手配をし、1500mL以内の投与量にとどめるべきである、と結論した¹⁷⁾。

6. ネオレッドセル

A. ネオレッドセルの概要

ネオレッドセル(Neo Red Cell, 以下NRC)はHbを素材とする酸素運搬体である封入ヘモグロビン(encapsulated Hb)に属し、SFHをリポソーム内に封入したもので、本邦のテルモ社が開発中である^{8,18-25)}。

NRCの製法は以下の如く報告されている。期限切れ濃厚赤血球を溶血させ、ストローマを除去して濃厚SFHを作成、アロステリック効果剤イノシトールヘキサリン酸(inositol hexaphosphate, 以下IHP)をHbとのモル比0.8で添加する。脂質混合物〔ホスファチジルコリン/コレステロール/ミリストチン酸/α-トコフェロール=7/7/2/0.28モル比〕を水和させた後、SFHに加えて懸濁液とし、フレンチプレス200kg/cm²で処理、残余のSFHを0.1μmのフィルターで分離、0.45μmのフィルターで濾過し、粗大粒子除去と除菌を施行する。さらに表面修飾剤としてポリエチレンギリコール

(polyethylene glycol, 以下PEG)を共有結合させる。NRCの特性をTable 5に示す。内包されるHbが多く、膜が薄い方が製剤としての効率がよいが、末梢毛細管を通過させるためには、粒径が可及的に小さなことが望ましく、そのためにはSFHの濃度を上げたいが30%以上のHb濃度では粘度が指数関数的に増加するためリポソーム化の工程に支障を来すので、量産を考慮するとこの程度が限界であると説明されている⁸⁾。NRCは血液凝固系、補体系を活性

Table 5. Some composition and properties of NRC

Hb concentration	6.0g/dL
IHP molar ratio to Hb	0.8
Lipid mixing ratio	
lecithin, cholesterol, myristic acid and α-tocopherol	=7/7/2/0.28 molar ratio
No of phospholipid bilayers	2-7
Mean particle size	180±88nm
Viscosity	2 cp(20°C)
Encapsulated efficiency	Hb mg / lipid mg=1.3-2.2
Ratio of methemoglobin	below 5%

化するような作用がないことも確かめられており、粒子径の増大を防ぐ工夫もされている²⁰⁾。

B. ネオレッドセルを充填液とした完全体外循環実験成績

NRCの有効性を検討するためにNRCを充填液として完全体外循環を施行した²¹⁾。実験動物は体重9~16kgの成犬12頭で、全身麻酔下に経右房的に上下大静脈に脱血カニューレ、股動脈に送血カニューレを挿入し、膜型人工肺、ダブルローラポンプを用い大動脈起始部をクランプして完全体外循環を行った。充填液は対照群4頭ではHES+同種血1000mL、NRC群8頭ではHES+NRC1000mLであった。灌流量は平均754mL/minで、体重当たり83.8~47.1mLに相当した。主要結果を述べると、灌流量は両群間に著差を認めなかつたが平均動脈圧はNRC群が低値を示し(Fig. 5A)、平均動脈圧を灌流量で除した全末梢血管抵抗はNRC群が対照群の約1/4の低値を示した(Fig. 5B)。灌流液は膜型人工肺で酸素化されているので動脈血酸素飽和度(SaO₂)は両群とも100%を示したが、静脈血酸素飽和度(SvO₂)を比較するとNRC群値は対照群値より低く、したがって動脈静脈血酸素飽和度較差(SaO₂-SvO₂)はNRC群値が対照群値の約2倍を示した(Fig. 5C)。酸素消費量は2時間までNRC群では5mL/kg/min以上を示し、有意差はなかったが対照群より高い傾向がみられた(Fig. 5D)。血中乳酸値はNRC群で有意に低値であった。

C. ネオレッドセルの有効性と安全性

(1) 高度置換実験の意義

赤血球の酸素運搬機能は優れているので、循環機能が維持され心拍出量が保たれていれば、赤血球が正常の3/4程度失われても肺から末梢へ十分量の酸素を配達しうる。したがって、動物実験により人工酸素運搬体が赤血球の機能を代替していることを証明するためには、脱血によって赤血球を十分に除去し、人工酸素運搬体で置換した状態とし、それでも動物が酸素不足に陥らず、臓器障害もなく生存できることを示す必要があると考えている。NRCの優れた酸素運搬能についてはラットやイヌを用いた高度の置換実験で長期生存が確認されていることや^{18, 21)}、今回の体外循環実験でも酸素消費量が維持され、血中乳酸値の上昇がなかったことからも確かめた。

(2) 酸素運搬効率

NRCの特筆すべき性能として酸素運搬効率が赤血球を上回る点が挙げられる。NRCにはアロステリック効果剤IHPが添加されている。Fig. 6はIHPの至適添加量決定を目的とした基礎実験成績であるが¹⁹⁾、急峻なSFHの酸素解離曲線の勾配がIHP添加量と共に緩やかな傾斜に変化していた。

Fig. 7にSFH、赤血球、NRC(0.8モル比で添加)の酸素解離曲線を比較した。酸素運搬効率(oxygen transporting efficiency、以下OTE)はPO₂100mmHgとPO₂40mmHgにおける酸素飽和度の差で、酸素運搬体の性能を示す一指標とされている。赤血球のOTE 25%に対しNRCのOTEは35%で明らかにNRCが上回っていた。体外循環実験でNRC群の動脈静脈血酸素飽和度較差が著しく上回っていたことからも示唆されるようにNRCの臨床使用では患者の吸入酸素濃度(FiO₂)を高め、PO₂を例えば150mmHg付近に維持できれば、OTEをさらに高めることも可能であり、将来はECMO(extracorporeal membrane oxygenationの略、膜型人工肺を使用した体外循環により、高度呼吸不全患者を治療する方法)への応用の

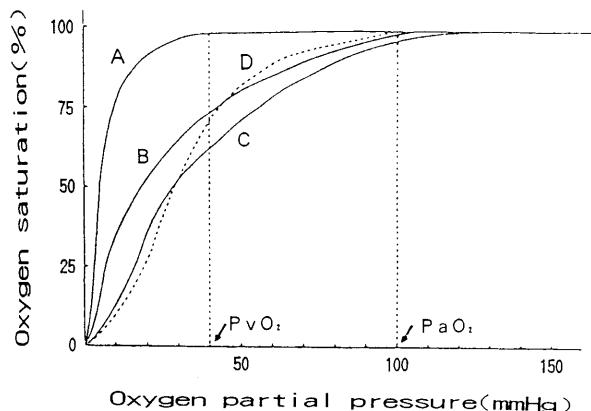


Fig. 6. Oxygen dissociation curves for NRC and red blood cell (RBC). A: IHP ratio=0 (SFH); B: IHP ratio=0.5; C: IHP ratio=1.0; D: rabbit RBC. IHP ratio=[IHP]/[Hb], mol/mol.

可能性もある。

(3) 低粘性と末梢循環ならびに心拍出量

NRCの平均粒子径は0.2μmと小さいため粘度は全血の約1/3の低値であり、より血流速度が遅い末梢ではその差はさらに著明となる。粘性が低いため犬を脱血しNRCで高度に置換すると全末梢血管抵抗の低下がみられ、それに伴い動脈血圧の低下、心拍出量の増加が認められる^{21, 22)}。一般に出血に際しては交感神経の緊張亢進のため、全身の血管が収縮する。その結果、全末梢血管抵抗が上昇し、末梢循環は部分的に途絶する可能性がある。NRC投与による全末梢血管抵抗の低下が末梢循環改善につながるものであれば好ましいことであるが、NRC投与時の末梢循環の状態は明確には把握されておらず、今後の検討を要する問題である。

NRC投与による心拍出量の増加も好ましいことのようだが、一般に血管抵抗の低下に対しては動脈血圧を維持するために心拍出量は増加する。したがってNRC投与による心拍出量の増加を心機能改善と速断してよいか疑問が残る。動脈圧低下に関連して認められる拡張期血圧低下は冠動脈血流量の減少につながる危険もあり、血管抵抗低下の問題はさらなる検討を要しよう。

(4) 粒子間の融合と細網内皮系ブロック

血中に粒子を注入した場合、粒子が相互に融合して粒子径を増し、ついに塞栓を形成する危険がある。FDAでは保存期間中の粒子相互の融合防止のため凍結保存が行われたが、NRCではカプセル表面をポリエチレングリコール(PEG)で修飾する方法で防止している²⁰⁾。

PEGは容易には効果を失わないといわれるが、NRCが長期にわたって血中に滞留する場合は問題かもしれない。幸いNRCの血中半減期は、ラットに30mL/kgを投与した場合、約32時間と測定されており²³⁾、PEGの機能が維持されている間にNRCは血中から消失するようである。

投与後短期間にNRCが血中から消失するのは体外に排泄されるためではなく、細網内皮系(reticuloendothelial system、以下RES)に取り込まれるためである²³⁾。RESは血中の異物や細菌、毒物などを捕捉して貪食する機能を担っており、投与されたNRCによってRESが飽和状態になればRESがブロックされて機能が低下しは

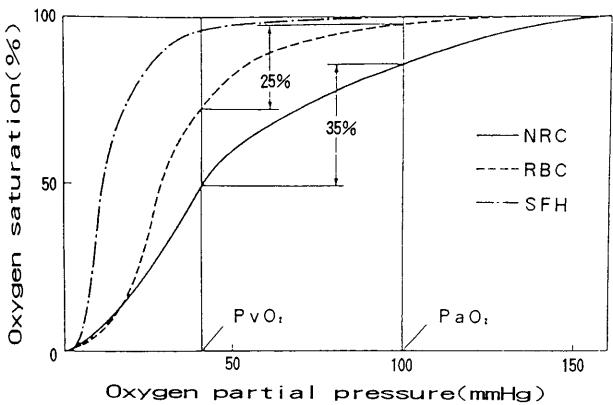


Fig. 7. Oxygen dissociation curves for Neo Red Cell(NRC), stroma free Hb(SFH) and human red cell(RBC).

ないかという恐れがある。ラットでは肝・脾とも取り込まれたNRCは125時間ではほぼ消失していたが、臨床例では肝機能低下症例もあるので注意が必要である。すなわちRESの主力である肝のKupffer細胞のバリアー機能低下時には腸管から侵入する細菌や毒素による菌血症、毒血症発生の可能性が指摘されており(bacterial translocation)，今後検討を要する問題であろう。

おわりに

人工臓器の開発は困難を伴うものであるが、人工酸素運搬体の開発も例外ではなく、あらためて人体の精妙な機構に脱帽の思いである。前途には克服しなければならない問題が山積しているが、患者に安全な治療手段を提供するという研究目的の原点にかえて、会員の力を結集し前進したいものである。

(本稿は第3回日本血液代替物学会年次大会における会長講演に加筆したものである。長年にわたりサンプルのご提供をいただいたミドリ十字社ならびにテルモ社には深甚なる謝意を表する次第である。)

引用文献

- 元木良一, 井上仁. 出血性ショックの診断と治療. 木本誠二 & 和田達雄監. 新外科学大系(5)侵襲とショック. 東京:中山書店, 1990;79-114.
- Naito R, Yokoyama K. On the perfluorodecalin/phospholipid emulsion as the red cell substitute. Proceedings of Xth Intern Cong Nutrition-symposium on PFC artificial Blood. Kyoto, 1975;55-72.
- 光野孝雄, 藤田忠義, 杉本利一郎, 松本邦彦, 松本義信, 大柳治正, 杉原俊一, 山下修一, 関田幹雄, 弘中敏雄, 太田威彦. 人工血液としてのFluorocarbon-emulsion. 医学のあゆみ 1970;75:637-71.
- 大柳治正, 藤田忠義, 松本義信, 松本邦彦, 山下修一, 杉原俊一, 光野孝雄, H.A.Sloviter. 赤血球としてのFluorocarbon Particles. 外科 1971;33:1085-90.
- Chang TMS. Red blood cell substitutes:microencapsulated hemoglobin and cross-linked hemoglobin including pyridoxylated polyhemoglobin and conjugated hemoglobin. Chang TMS, Geyer GP, eds. Blood Substitutes, New York:Marcel Dekker, 1989;11-29.
- 岩崎敬治, 山路香里, 岩下雄二. 新しい酸素運搬体としての安定化ヘモグロビン. 人工臓器 1987;16:1531-4.
- Burhop K, Marchand G, Farrell L, Gillies B, Nigro C, Priester D, Dunlop E. Diaspirin cross-linked hemoglobin(DCLHb) is an effective low volume resuscitation solution in a swine model of hemorrhagic shock. Crit Care Med 1993;21:S255.
- 鈴木一比好, 宮内雄二, 岡本武, 高橋晃, 沢本二郎, 大崎健一, 土田英俊, 大野弘幸. ネオレッドセルの特徴と性能. 人工臓器 1987;17:708-11.
- Burk O, Hearon J, Gasolin L. Reversible complexes of cobalt histidine and oxygen gas. J Biol Chem 1946;165:723-4.
- Tsuchida E. Approaches to artificial macromolecular oxygen carrier. J Macromol Sci-chem 1979;A13:545-71.
- Kobayashi K, Tsuchida E, Nishide H. Totally synthetic hemes; their characteristics and oxygen carrying capacity in dogs. Tsuchida E ed. Artificial Red Cells. New York:John Wiley & Sons, 1995;93-116.
- 元木良一. 人工血液. 江口昭治 & 宮本巍編. 人工臓器—臨床応用の現況と将来ー. 東京:平文社, 1988;36-42.
- 岩谷文夫, 星野俊一, 板橋邦宏, 猪狩次雄, 井上仁, 薄場彰, 阿部俊文, 高野光太郎, 安藤正樹, 菅野恵, 滝浪真, 元木良一, 本多憲児. 人工血液(Fluosol-DA 20%)による体外循環の実験的研究—長期生存実験ー. 人工臓器 1980;9:971-4.
- 井上仁, 薄場彰, 遠藤幸男, 三浦純一, 岡野誠, 阿久沢和夫, 鈴木謙, 大井川健, 岩谷文夫, 坪井正硕, 星野俊一, 元木良一, 本多憲児. 血液型O型, RH(-)の出血性胃潰瘍に対する人工血液(Fluosol-DA)の使用経験. 治療 1980;62:687-90.
- Honda K, Hoshino S, Shoji M, Usuda A, Motoki R, Tsuboi M, Inoue H, Iwaya F. Clinical use of a blood substitute. NEJMAG 1980;303:349-408.
- 羽田一博, 中島章, 三浦和久, 井上仁, 岩谷文夫, 元木良一, 本多憲児. いわゆる人工血液(Fluosol-DA)の輸血拒否例への使用経験. 救急医学 1983;7:779-82.
- 元木良一, 薄場彰, 井上仁, 三浦純一. 人工血液の現状と問題点. 日外会誌 1985;86:1031-33.
- 宮内雄二, 鈴木一比好, 岡本武, 高橋晃, 沢本二郎, 大崎健一, 土田英俊, 大野弘幸. ネオレッドセルの血液交換実験. 人工臓器 1987;19:729-32.
- 坂口圭介, 後藤彰久, 宮内雄二, 鈴木一比好, 沢本二郎, 高橋晃, 大野弘幸, 土田英俊. ネオレッドセルの酸素運搬能制御. 人工臓器 1989;18:369-72.
- 坂口圭介, 宮内雄二, 鈴木一比好, 高橋晃. ネオレッドセルの血液凝固系補体系に及ぼす影響. 人工臓器 1991;20:620-25.
- 薄場彰, 宮澤正紹, 遠藤幸男, 井上仁, 元木良一, 坂口圭介, 宮内雄二, 鈴木一比好, 高橋晃. 出血性ショックモデル犬に対するネオレッドセル(NRC)の効果. 人工臓器 1991;20:626-30.
- 薄場彰, 宮澤正紹, 三浦純一, 遠藤幸男, 井上仁, 元木良一, 坂口圭介, 鈴木一比好, 高橋晃. 人工血液ネオレッドセル(NRC)の酸素運搬能と循環系への影響. 人工臓器 1992;21:304-8.
- 坂口圭介, 緒方嘉貴, 鈴木雅博, 鈴木一比好, 上谷利治. 人工赤

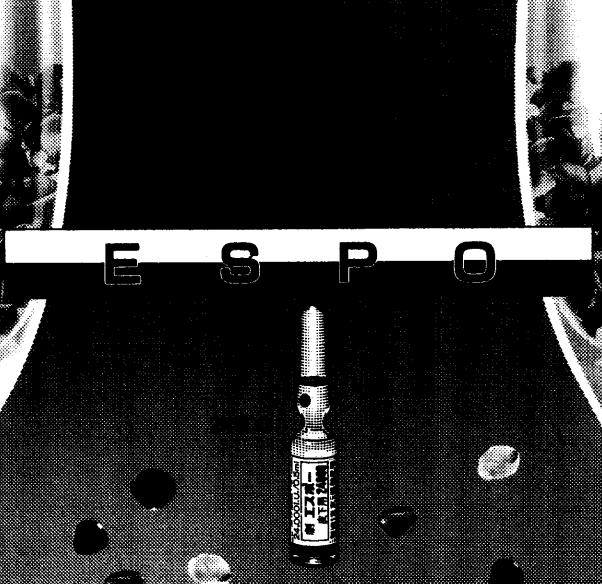
- 血球ネオレッドセル(NRC)静脈内投与後の体内分布および網内系貧飢能に対する影響. 人工臓器 1993;22:560-5.
24. 薄場 彰, 三浦純一, 遠藤幸男, 井上仁, 元木良一, 緒方嘉貴, 鈴木雅博, 鈴木一比好, 上谷利治. 体外循環灌流液としてのリン脂質薄膜ヘモグロビン小胞体(NRC)の効果と安全性. 人工臓器 1994;23:843-8.
25. Usuba A, Motoki R, Ogata Y, Suzuki K, Kamitani T. Effect and safety of liposome-encapsulated hemoglobin Neo Red Cell(NRCs) as a perfusate for total cardiopulmonary bypass. Art Cells Blood Subs And Immob Biotech. 1995;23:337-46.




ヒト エリスロポエチン製剤

エスパー[®] 皮下用

6000・9000・12000・24000
(劇)(指)(要指) 一般名: エポエチンアルファ(遺伝子組換え)



● 効能・効果 —拔粹—

①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

用法・用量、及び使用上の注意等は添付文書をご覧下さい。

三共株式会社・麒麟麦酒株式会社

販売元 資料請求元
〒102 東京都中央区日本橋本町二丁目
〒102 東京都中央区新川二丁目

製造元
95年4月

輸血医療がもたらす利益と危険性

The benefits and risks of allogeneic blood transfusion

大戸 齊¹⁾, 元木良一²⁾

Hitoshi Ohto, Ryoichi Motoki

Although blood safety has greatly increased in these three decades, especially in the field of tests for infectious disease, we suppose that a total of 150 to 300 of recipients lose their lives annually in Japan because of ABO blood type mismatched transfusion, posttransfusion graft-versus-host disease and others. It is estimated that one million patients are treated every year with blood transfusion, and 80% of them can be rescued and survive for longer than one year after transfusion. On the other hand, 5000 or more patients with massive bleeding or severe anemia might be killed due to insufficient transfusion. Blood transfusion therapy is based on the donation from volunteer donors living in a non-aseptic environment, therefore blood can be infectious with some agents to recipients. And moreover, blood contains immunocompetent leukocytes and express blood types and major histocompatibility complex on red cells and leukocytes, respectively, so blood transfusion therapy should be a kind of cellular transplantation. Blood transfusion treatment is now the safest transplantation we can do in clinical medicine, but we should hold that the transfusion may essentially induce some adverse reactions or complications in recipients. –Keywords: Blood transfusion, Fatal reaction, Incompatible blood transfusion, Posttransfusion graft-versus-host disease, Posttransfusion viral infections, Guidelines for blood transfusion.

<抄録>

日本では血漿分画製剤を除いても毎年100万人の患者が延べ700万人からの献血に由来する1800万単位の輸血を受けている。うち20%の患者は1年内に死亡し、80%の患者は輸血を含めた治療によって生命を永らえている。大量出血のために、あるいは特殊な血液型のために輸血が間に合わずに死亡している患者は5000人を下らないであろう。

逆に輸血による急性死亡(血液型不適合、移植片対宿主病、不適切な輸血速度など)は毎年150人から300人程度と推定する。この30年間で輸血後肝炎の撲滅など輸血の安全性は飛躍的に向上し、交通事故死の割合とほぼ同水準までに達している。

本来、輸血自体が単なる輸液ではなく、血液の移植とも呼ぶべき性格を有している。献血といえども無菌環境ではないヒトから得られ、血液には免疫遂行細胞を含み、また血液型やHLA(組織適合抗原)を表現している。輸血には何らかの免疫学的、微生物学的副作用・合併症を発症すると認識するのが前提である。

血友病患者に多くのエイズウイルス感染者を作ったことなど国際的には遅れを取ったが、厚生省や輸血学会はこれらの副作用を少なくするための方策を10年前から本格化した。とくに1986年の血液製剤使用適正化ガイドライン(厚生省)と認定輸血検査技師制度(1995年、輸血学会など)は特筆される。次には被害者救済制度と事故発生報告制度の創設が必要である。乏しい人的・財政的資源で輸血副作用・合併症を克服してきた輸血医学関係者の経験は更に移植医療などに生かされるであろう。

<輸血の広がり>

日本ではアルブミンやグロブリンを除いても毎年100万人から

福島県立医科大学 1) 輸血部, 2) 第一外科, 〒960-12 福島市光が丘1

1) Blood Transfusion Service, 2) First Department of Surgery, Fukushima Medical College, 1 Hikarigaoka, Fukushima 960-12, Japan.

の患者が輸血治療を受けている。うち20%(20万人)は治療1年以内に死亡しているが、80%(80万人)は輸血を含む治療によって生命を永らえている。血液を原料とする血漿分画製剤(アルブミン、グロブリン、アンチトロンビンなど)の使用者を含めるとこの数倍の患者が血液(製剤)輸血の恩恵に与っているだろう。

輸血が緊急のためや稀な血液型のために間に合わなかったり、不足したりしたために、死亡している患者も数千人から万台に達すると推定する。

<輸血合併症・副作用のマグニチュード>

逆に輸血による急性死亡は1)ABO不適合輸血で50~100人、2)輸血後移植片対宿主病で50~100人、3)その他の原因(速すぎる輸血速度、アナフィラキシー、抗体による肺浸潤など)で50~100人と合計で毎年150~300人にのぼると推定される。

輸血専門医としてみるとこの数字はとくに大きいとは思われない。家の中で寝ている人も含めて交通事故で年間100万人あたり125人程度が死亡(ないし極度の廃疾)に至っている数字と同じである。本来、同種血輸血は各種の免疫遂行細胞を数多く含み、かつHLA・血液型などの組織適合性のバリアーが存在すること、人に感染するウイルス・微生物の伝播も有り得ることなどを考慮すれば、単なる輸液ではありえず、細胞移植と考えるべきである。現在最も安全に施行できるようになった移植といえよう。

<輸血の安全のためのドナー検査>

血液は普通に生活している健康と思われる人から得られるものであるが、ウイルスなどのいろいろな微生物に感染していることもある。感染症からの安全性を高めるために採血の前に1次スクリーニングとして、問診を行っている。とくに性行為について詳しく尋ねているのは、性行為感染症の多くは血液を介して感染す

Table 1. Tests for blood donated

1. Blood type: ABO, Rh(D)
2. Irregular antibody: Anti-red cell antibody
3. Infectious diseases
 - 1) Syphilis
 - 2) Hepatitis B virus: HBsAg, Anti-HBc
 - 3) Hepatitis C virus: Anti-HCV
 - 4) Human immunodeficiency virus(HIV): Anti-HIV-1,2
 - 5) Adult T cell leukemia virus(HTLV): Anti-HTLV-1
 - 6) Hepatic function: GPT(ALT)
4. Accessory tests (performed for particular cases)
 - 1) Other blood types: When patients need particular blood as they formed anti-red cell antibodies or they have rare blood types.
 - 2) HLA type, Platelet antigen type: When patients formed anti-HLA/ anti-platelet antibodies.
 - 3) Anti-Cytomegalovirus (CMV): Both donors and recipients of transplantation are negative for CMV.
5. Tests (should be) considered for adoption:
 - 1) Hepatitis G virus, Hepatitis GB virus-a, b, c
 - 2) Antigen test for HIV
 - 3) Parvo virus
 - 4) Polymerase chain reaction for viruses

るためである。

Table 1に示すような方法を用いて各種微生物に感染した血液を排除している。それぞれに感度の良い方法を用いても完全に感染血を除くのは無理である。とくに感染してから検査で検出できる抗体を産生するまでに window period と呼ばれる3~8週ほどのタイムラグがある。遺伝子增幅法は理論的にはこの window 期を非常に縮めるもの¹⁾だが、大量検体を、安定して、非特異的反応なしに、かつ安価に処理するまでの水準に達していない。

<輸血の、とくに感染症における安全性の飛躍的な向上>

この30年間で輸血治療の安全性は飛躍的に向上した(Fig. 1)。1960年代中頃まで輸血後肝炎はごく日常の出来事であった。1964年のライシャワー米国大使の刺傷後に輸血後肝炎が問題となるまでは輸血は売血によって支えられていた。受血者の半数は肝炎を発症し²⁾、10%はHTLV-1に感染していた。当時の売血者の多くは静脈内注射覚醒剤中毒者でもあったからである。売血から献血に切り替えることで輸血後肝炎は30%にまで減少した²⁾。1972年からのB型肝炎ウイルススクリーニング、1977年には更に感度の改良したB型肝炎ウイルス検査、1989年からは高感度組み合わせ検査法(HBs抗原+HBc抗体)を採用することにより、もはや例外的にしか輸血後B型肝炎は発生しなくなった³⁾。

1989年からは世界に先駆けてC型肝炎のスクリーニングが導入され、輸血後肝炎は受血者の0.5%以下までに減少している。しかし、新たにG型肝炎ウイルス、GB肝炎ウイルス a, b, c が発見されているので、この数字は将来修正される可能性もある。日本ではこれまでに外国で受けた輸血も含め、輸血(血友病患者などの凝固因子製剤を除き)を介して20名がヒト免疫不全ウイルス

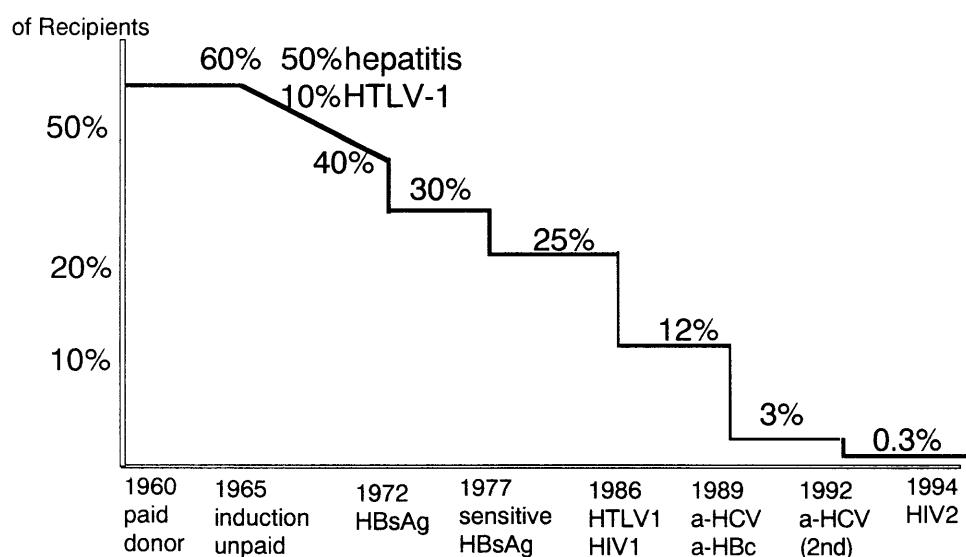


Fig. 1. Incidence of transfusion-transmitted infections in Japan.

(HIV)に感染している。大部分はHIVスクリーニング開始以前の輸血であるが、1名はスクリーニング以後の輸血によるものと推定される。我国だけでも輸入血液凝固因子製剤で血友病者などに2000人のHIV感染者を作ってしまったことは改めて血漿分画製剤を含めて輸血はそれぞれの国が自力で用意し、安易に輸入などに頼るべきではないことを示している。

＜輸血による致死的免疫反応＝輸血後移植片対宿主病＞

個人を識別するのにわれわれの免疫機構はHLAと呼ばれる白血球の血液型を用いている。このバリアーはハードルが高いので、通常は乗り越えることは不可能で、移植が成功するためには強力な免疫抑制剤が必要となる。ところが、特殊なHLAの組み合わせ、すなわちドナーがホモ接合体で受血者がそれへのヘテロ接合体の場合(例えばドナーのHLAがA24, 24, B52, 52, 受血者がA24, 33, B52, 44)には受血者から見てドナーのHLAは自身が保有しているので他人と認識できない。ところがドナー側からは受血者には異なる抗原が表現されているので、ドナー免疫細胞は一方的に受血者を攻撃することになる。このような組み合わせは日本人では700回の輸血に1回、白人では7000回に1回の率で発生する⁴⁾。実際は輸血血液の新鮮度や受血者側に抵抗性の獲得などでGVHDの発生は抑制されている。それでも10年前までは年間300例ほど、現在でも30から100例ほど発生していると思われる。この病態は一旦発生するとほとんどの症例で治療に反応せず、約3週ほどの経過でほぼ全例が死亡する(死亡率98%)⁵⁾。

＜輸血の安全性向上に対する厚生省の政策と輸血学会の方策(Table 2)＞

1986年に厚生省から出された“輸血療法に関する適正化ガイドライン”は画期的であった。それ以前は出血相当量を全血で補充するのが一般的であった。このガイドラインを契機に輸血にもたらすメリットと危険性があり、また限りある医療資源であるとの概念が徐々に浸透して行くことになった。

また輸血学会も限られた人的スタッフの中でGVHD予防策、自己血輸血の導入を計り、検査技師に初めて認定制度を取り入れ輸血体制の強化を目指している。

＜輸血副作用・合併症とわれわれの選択＞

輸血医学が必然的に内包する弱点を克服するたゆまない努力は信頼すべき水準に達している。しかし、なおも国民が納得するまでに至っていない。たまに洩れでる致死的副作用はマスコミを賑わす。油断をすれば次の“エイズなるもの”は再び患者を襲い、あるいは初歩的なミスで死に致ることも有り得る。大事なことは輸血事故・副作用が発生した場合にこれを闇に処理するのではなく、その原因がどこにあるのかを点検し、他人にも共有して次の副作用予防として生かすことである。その点からも加害者=犯人との一面的な捉え方は正しくなく、厚生省・輸血学会・弁護士会などが主導して匿名での報告を義務づけ、正しく報告した場合には罪に問わないなどの制度も取り入れるべきと提唱したい。

輸血治療は基本的には移植の分野に属し、副作用・合併症が発生するのが前提と考えるべきである。ある確率で事故・副作用・合併症が発生するのは防ぐことはできないので、輸血学会、日本赤十字社などが先導した輸血被害患者救済制度の創設が待たれ

Table 2. Policies of the government and the Japan Society of Blood Transfusion for the improvement of blood transfusion safety

Guidelines of the Health and Welfare

1986 血液製剤使用適正化ガイドライン

A guideline for the proper use of blood and blood components

1989 輸血療法適正化ガイドライン

A guideline for the proper transfusion therapy

1993 血液製剤保管管理マニュアル

A manual for the storage and the management of blood and blood components

1994 血小板製剤使用基準

A standard of platelet transfusion

1995 自己血採血保管マニュアル

A manual for autologous blood donation and the storage

Policies of the Japan Society of Blood Transfusion

1988 GVHD予防のための血液への放射線照射ガイドライン

A guideline of the irradiation on blood and blood components for the prevention of posttransfusion GVHD

1992 自己血輸血ガイドライン

A guideline of autologous blood transfusion

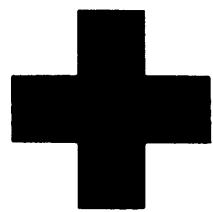
1995 認定輸血検査技師制度

Qualified medical technologist in transfusion medicine

る。われわれの先人が切り開いた成果、同時代の輸血医学が経験したものは次の移植医療などに生かされ、次世代の医療に貢献することであろう。

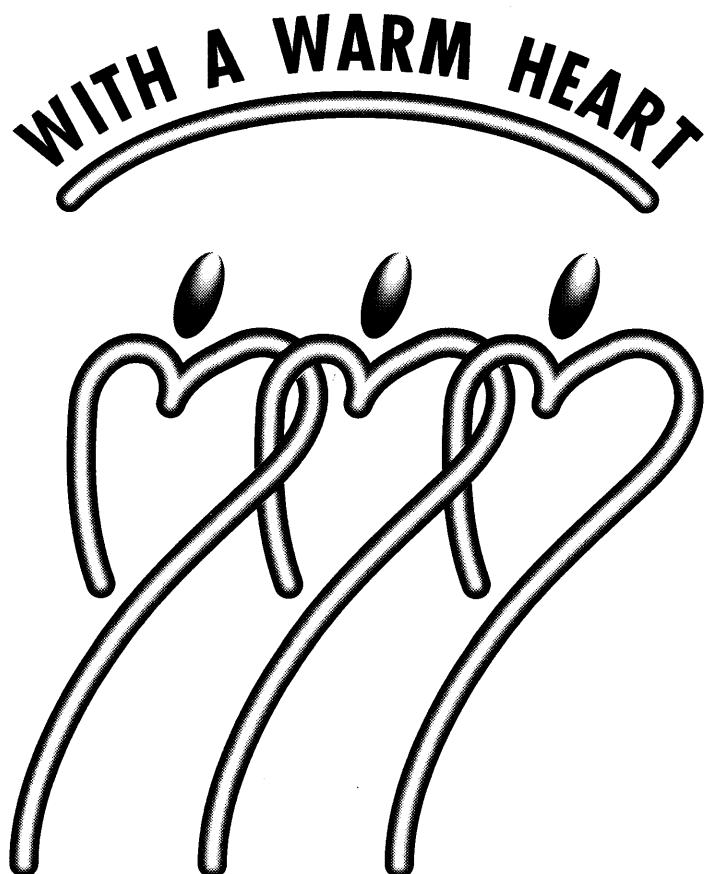
参考文献

1. Tobler LH, Busch MP. Application of polymerase chain reaction in screening blood donors for infectious disease. 国際輸血シンポジウムイン東北1996(福島), 1996;3-8.
2. 井上透, 上沼優子. 輸血後肝炎発症調査及び供血者s-GPTと非A非B型肝炎の関係. 日本赤十字社 輸血後肝炎に関する特定研究班成果(経過)報告書昭和62年度 1988;39-44.
3. 野澤靖美, 大戸斉. HBc抗体測定導入後に発症した輸血後B型肝炎の1例. 肝臓 1993;34:433-6.
4. Ohto H, Yasuda H, Noguchi M, Abe R. Risk of transfusion-associated graft-versus-host disease as a result of directed donations from relatives. Transfusion 1992;32:691-3.
5. Ohto H, Anderson KC. Survey of transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent recipients. Transfus Med Rev 1996;10:31-43.



善意の貴重な
献血から造られています。

日本赤十字社



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」

人免疫グロブリン「日赤」

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

日本赤十字社 〒105 東京都港区芝大門1-1-8 文部省承認日本・学校中央血液センター 業務部 (TEL 03-6485-6661)

重篤な出血性ショックに対するリポソームカプセル化 ヘモグロビン"ネオレッドセル"の効果

薄場 彰¹⁾, 元木良一¹⁾, 福井秀男²⁾, 緒方嘉貴²⁾, 後藤 博²⁾, 木村哲寛²⁾

Effect of Liposome Encapsulated Hemoglobin "Neo Red Cells" as a Resuscitation Fluid for Severe Hemorrhagic Shock

Akira Usuba¹⁾, Ryoichi Motoki¹⁾, Hideo Fukui²⁾, Yoshitaka Ogata²⁾, Hiroshi Goto²⁾, Tetuhiro Kimura²⁾

リポソームカプセル化ヘモグロビン・ネオレッドセル(NRC)は粘度が低く、酸素運搬能に優れている。そこでNRCを重症の出血性ショックに投与し効果を検討した。ビーグル犬を用い、静脈内麻酔後気管内挿管し50%の濃度の酸素を吸入させた。静脈より30mL/minの速度で脱血し収縮期血圧が60mmHg台のショック状態とし、そのまま30分間治療せずに放置した後にNRCを投与し、これを繰り返した。動物をショックより回復させるにはNRCを脱血量の1.5倍量投与する必要があった。動物は3回のショックに耐えたが4回目にはショックから回復せずに死亡した。NRC投与にもかかわらず血管抵抗が増加し、心拍出量が減少して心不全が進行し、しかも酸素消費量が増加した。しかしNRCは心拍出量の減少分を動静脈血酸素含量較差(AV較差)の増加で代償して酸素需要増加に対応した。これに対して、赤血球はAV較差を増加できず対応できなかった。

We induced shock by exsanguination and administered Neo Red Cells (NRC) after 30 minutes to experimentally examine the efficacy of NRC on severe shock with respect to hemodynamics and oxygen transport capacity. Seven beagles were used for this experiment. After intravenous anesthesia, intratracheal intubation was performed, and inhalation of 50% oxygen was administered. Animals were exsanguinated through a vein at a rate of 30mL/min. Animals showing systolic blood pressure of 60 to 69mmHg were regarded as being in shock. After animals were left untreated for 30 minutes, NRC was administered. This was then repeated. Administration of NRC at a 1.5-fold dose compared to the exsanguinated blood volume was required for animals to recover from shock. Animals tolerated shock 3 times, but did not recover from the 4th shock. Although NRC with approximately one third the viscosity of whole blood was administered, vascular resistance was increased and cardiac output was decreased, resulting in progression of heart failure. In addition, oxygen consumption increased with shock. NRC satisfied oxygen requirements by compensating for the decrease in cardiac output with an increase of difference in arterial and venous oxygen content(AV difference), but erythrocytes were insufficient to increase AV difference, and did not supply sufficient volume of oxygen. —Keywords: Liposome encapsulated hemoglobin, Neo Red Cells, Resuscitation fluid, Hemorrhagic shock, Hemodynamics, Oxygenkinetics.

1.はじめに

ヘモグロビンをベースとした血液代替物はカプセル化ヘモグロビン¹⁻³⁾とセルフリー・ヘモグロビン⁴⁻⁶⁾とに分類される。比較的早期から開発されたセルフリー・ヘモグロビンは現在欧米を中心に臨床治験が行われており、間もなく実用化の見通しである⁷⁾。一方、カプセル化ヘモグロビンは内部のヘモグロビンを変性させずにカプセル化する製造上の問題で開発が若干遅れている。しかし、カプセル化ヘモグロビンには他には見られない優れた特徴がある⁸⁾。すなわち粘度が低く循環し易く、また酸素運搬効率(oxygen

transport efficiency:OTE)が極めて高い。著者はカプセル化ヘモグロビンの利点を生かせば現在不可逆性とされる極めて重症の出血性ショックを救命可能に出来るのではないかと考えた。そこでリポソームカプセル化ヘモグロビンであるネオレッドセル(NRC)⁹⁻¹¹⁾を重症の出血性ショック犬に投与し、1)ショックより回復に必要なNRCの量、2)何回のショックに耐え得るか、3)NRCによる末梢循環改善効果、4)ショックに伴う酸素需要の増加に対するNRCの対応について検討した。

2.研究方法

体重8.0~11.0kgのビーグル犬7頭を実験に供した。塩酸ケタミン(45.5~62.5mg/kg)と硫酸アトロピン(0.045~0.063mg/kg)を静脈内投与し麻酔を導入した。気管内挿管後、從圧式人工呼吸器(20mmHg, tidal volume 400mL)に接続して、調節呼吸とし、笑気

1)福島県立医科大学 第一外科, 〒960-12 福島市光が丘1-2) テルモ(株)研究開発センター, 〒259-01, 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500

1) First Department of Surgery, Fukushima Medical College, 1 Hikarigaoka, Fukushima 960-12, Japan 2) R&D Center, TERUMO Corp., 1500, Inokuchi, Nakai-machi, Ashigarakami-gun, Kanagawa 259-01, Japan.

論文受付96年8月23日, 受理96年9月11日。

2L/min, 酸素2L/minの混合気(吸入酸素濃度:50%)で維持した。必要に応じて筋弛緩剤である臭化パンクロニウム0.09~0.13mg/kgを静脈内投与した。

NRCの物性をTable 1に示す。NRCはハイドロキシエチル澱粉(hydroxyethylstarch:HES, 商品名ヘスパンダー, 杏林製薬, 東京)と2:1に混合して用いた。

右股静脈より5FのSwan Ganzカテーテルを挿入し, 右股動脈に血圧モニター, 左股静脈に脱血用カテーテルを挿入した。静脈より30mL/minの速度で脱血し, 収縮期血圧が60mmHg台になるまで継続し, 治療せずにそのまま30分間放置した後, NRCを投与した。NRCの投与量は血圧が術前値まで回復するまでとした。投与速度は1回目のみ脱血量の1.2倍量までは30mL/minとし, 1.2倍量以上は15mL/minに減速した。2回目以降は一律30mL/minの速度で投与した。ショックはNo.1, 2は3回で中止し, 組織標本を採取のため犠牲死させたが, No.3, 4は4回行い生存を試み, No.5, 6, 7は3回にとどめ生存を試みた。

血液交換率は赤血球のヘモグロビン濃度から以下の式で算出した。

$$\text{血液交換率}(\%) = \frac{(\text{脱血前RBC Hb}) - (\text{NRC投与後のRBC Hb})}{(\text{脱血前RBC Hb})} \times 100$$

RBC Hb:赤血球のヘモグロビン濃度(g/dL)

脱血前, 各NRC投与後, さらに終了後60分に動脈圧(SBP:収縮期圧と平均圧:mmHg), 肺動脈圧(PAP:以下平均圧:mmHg), 肺動脈楔入圧(PWP:mmHg), 右心房圧(RAP:mmHg), 心拍数(HR:beats/min), 心拍出量(CO:L/min)を測定し, 心指数(CL:L/min/m²;心拍出量/犬の体表面積;犬の体表面積は教室のモノグラムを用いて重から求めた), 全末梢血管抵抗指数(TPRI:dyne·sec·cm⁻⁵), 肺動脈血管抵抗指数(PARI:dyne·sec·cm⁻⁵), 左室一回拍出仕事量指数(LVSWI:g·m/beats/m²), 右室一回拍出仕事量指数(RVSWI:g·m/beats/m²), 左室分時仕事量指数(LW:kg·m/m²), 右室分時仕事量指数(RW:kg·m/m²)を算出した。同時に動静脈より採血し, 動静脈の酸素分圧(PaO₂, PvO₂:mmHg), 炭酸ガス分圧(PaCO₂, PvCO₂:mmHg), pH(pHa, pHv), HCO₃⁻(HCO₃⁻a, HCO₃⁻v:mEq/L), base excess(BEa, BEv:mEq/L)を測定した。さらに, ヘマトクリット(Hct:%), NRCクリット(ヘマトクリットと同様にNRCを遠沈して出来る血漿以外の固形成分の割合:NRCct:%), 赤血球のヘモグロビン濃度(RBC Hb:g/dL), NRCのヘモグロビン濃度(NRC Hb:g/dL;赤血球とNRCが混合した血液を採取し, 遠沈により両者を分離後それぞれにヘモグロビン濃度を測定), 赤血球, NRCそれぞれの酸素飽和度(SaO₂, SvO₂%)を測定した。また, 動静脈血の酸素飽和度の差をOTE(%)とした¹²⁾。さらにNRCの酸素含量を以下の式から求めた。

$$C = Hb / 64500 \times 4 \times 22400 \times (100 - metHb) / 100 \times SO_2 / 100$$

C:酸素含量(mL/dL)

Hb:ヘモグロビン濃度(g/dL)

metHb:メトヘモグロビン比率(%)

SO₂:酸素飽和度(%)

さらに, 赤血球, NRCの動静脈血酸素含量較差(AV較差:mL/dL)を求めた。そして, プラスマ, NRC, 赤血球の酸素消費量(mL/min/m²)さらに全体の酸素消費量に占めるそれぞれの貢献率(%)を算出した。また, 同時に血小板数(PLT:×10⁴/μL), 赤血球数(RBC:×10⁶/μL), 白血球数(WBC:/μL), クレアチニン(Cr:mg/dL), 尿酸(UA:mg/dL), GOT(IU), GPT(IU), LDH(IU), アルカリ fosfatas(ALP:IU), Na(mEq/L), K(mEq/L), Cl(mEq/L), Ca(mEq/L), 乳酸(mg/dL)を測定した。

測定値および計算値はすべてmean±SDを用い, 有意差の検定はStudent t-testでp値が0.05未満を有意差ありと判定した。

3.結果

3.1.脱血量, NRC投与量

脱血量とNRC投与量をFig. 1に示す。NRCの投与量は脱血量の約1.5倍となった。

3.2.血液交換率

血液交換率をTable 2に示す。赤血球のヘモグロビン濃度は3回の血液交換で6.0g/dL, 4回で3.9g/dLに減少した。そして血液交換率も3回の血液交換で59.7%, 4回で68.3%と増加した。

Table 1. Preparation of NRC

Hemoglobin concentration	6.0	g/dL
Phosphatidylcholine	2.2-2.8	g/dL
Cholesterol	1.0-1.3	g/dL
Myristic acid	0.18-0.22	g/dL
Particle size	180±88	nm
Number of bimolecular lipid membrane	2-7	pieces
Methemoglobin rate	≤5	%
P ₅₀ O ₂	45-55	mmHg
Oxygen transport efficiency		
100-40mmHg	33	%
300-40mmHg	>50	%
Viscosity	2	cP

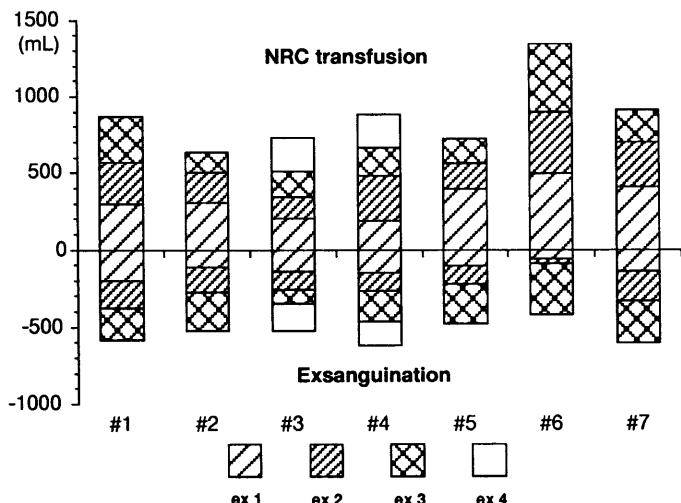


Fig. 1. NRC transfusion and exsanguination.

Table 2. RBC hemoglobin concentration and blood exchange rate

	before	ex1	ex2	ex3	ex4	60min
RBC Hb(g/dL) #1	11.7	11.8	7.7	5.5		
#2	20.2	15.4	10.9	9.1		
#3	8.9	5.9	6.3	4.3	3.4	
#4	17.5	12.3	8.7	6.9	4.4	
#5	16.9	9.3	8.9	7.6		7.8
#6	15.6	7.6	6.7	3.6		4.2
#7	14.8	8.0	5.1	5.1		5.5
mean	15.1	10.0	7.8	6.0	3.9	5.8
SD	3.8	3.3	1.9	1.9	0.7	1.8
Blood exchange rate (%)						
#1	-0.9	34.2	53.0			
#2	23.8	46.0	55.0			
#3	33.7	29.2	51.7	61.8		
#4	29.7	50.3	60.6	74.9		
#5	45.0	47.3	55.0		53.8	
#6	51.3	57.1	76.9		73.1	
#7	45.9	65.5	65.5		62.8	
mean	32.6	47.1	59.7	68.3	63.3	
SD	17.7	12.5	9.0	9.2	9.6	

3.3.循環動態

SBP収縮期圧の推移をFig. 2に示す。NRCは収縮期血圧術前値へ回復するまで投与したが、数分経過すると軽度低下して、そこで安定した。その値を収縮期血圧としたが、NRCの投与にもかかわらず次第に低下した。CIは1回目著減したが、2回目に回復し、以後漸減して終了後60分には術前値の約1/2に減少していた。TPRIは1回目に著増したが、2回目には術前値まで回復し、その後漸増し、CIと鏡像的に推移した(Fig. 3)。最終的に平均SBPは術前値の68.3%に低下した。心拍数は1回目で減少したが、以後は変動しなかった。PAPは漸減傾向であったが有意差はなく、PWPやRAPも特に変動なかった。PARIには一定の傾向はみられなかった。LVSWIとRVSWIは1回目に減少し以後漸減し、終了後60分には術前値の1/2以下に減少した。LW, RWも同様の傾向を示し、何れも著明に減少した(Table 3)。

3.4.酸素動態

PaO₂は200~300mmHgを維持し、PaCO₂は16.2~19.7mmHgとやや低値を示した。動脈血pHは1回目著減し、以後低値を持続し、終了後60分には再び上昇し術前値まで回復した。動脈血base excessもpHとほぼ同様に推移した。動脈血HCO₃⁻には一定の傾向はなかった。PvO₂は1回目は減少したが、2回目には再上昇し、3回目に再度減少、以後低値に推移し、終了後60分でも上昇しなかった。PvCO₂は次第に上昇した。静脈血pHは1回目に著減し、以後低値のまま推移した。静脈血BEも同様に推移した。静脈血HCO₃⁻には一定の傾向はみられなかった(Table 4)。

NRCのSaO₂は血液交換率に関係なく85.6~90.3%であった。一方、NRCのSvO₂は著しく低値だった。赤血球ではSaO₂は総て100%を示したが、SvO₂はNRCと比較して著しく高値だった(Fig. 4)。従って、NRCのOTEは1回目35.3%を示し、次第に増加し、

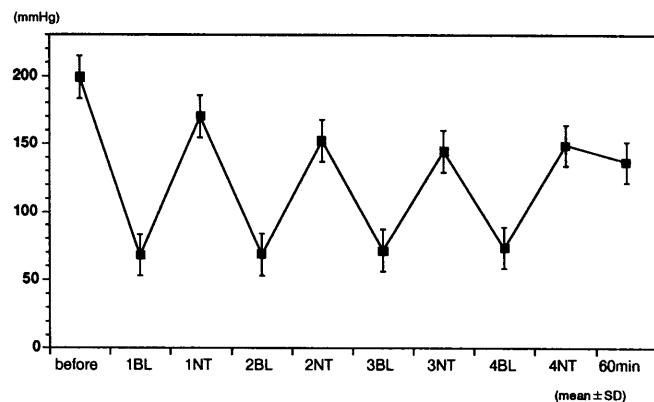


Fig. 2. Systemic blood pressure (systolic)
BL: Blood loss, NT: NRC transfusion.

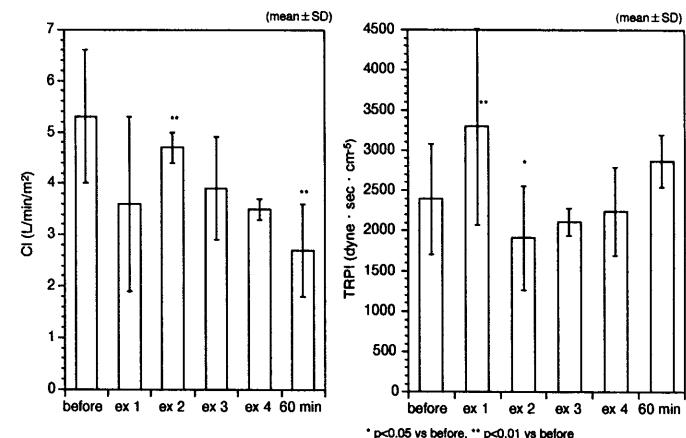


Fig. 3. CI and TPRI.

終了後60分では43.1%に達した。一方、赤血球のOTEは4回目の24.1%を除外すれば15%前後にすぎずNRCの1/2以下だった。

プラスマのAV較差は0.3~0.5mL/dLにすぎなかった。NRCのAV較差は0.84~1.65mL/dLで、一方赤血球のAV較差は1.41~2.79mL/dLと赤血球のAV較差の方が大きかった。しかし、NRCのヘモグロビン濃度が1.91~3.57g/dLに対して赤血球のヘモグロビン濃度は3.90~15.09g/dLだったので、ヘモグロビン1gあたりのAV較差はNRCが0.40~0.50mL/dL/gに対し赤血球は0.09~0.38mL/dL/gにすぎなかった(Fig. 5)。

1回目のショック後の全体の酸素消費量は術前値より63.2%増加した。その内プラスマの酸素消費量は1.5mL/min/m²前後にすぎなかつたが、NRCの酸素消費量は次第に増加し、3回目には6.1mL/min/m²に達した。一方、赤血球の酸素消費量は1回目は増加したが、以後次第に減少した(Fig. 6)。全体の酸素消費量に占めるNRCの貢献率も終了後60分で52.2%と赤血球の37.0%を超越した。

3.5.血算と血液生化学的検査

血液検査成績をTable 5に示す。赤血球数は次第に減少し、白血球数は1回目著減したが、以後漸増した。血小板数は1回目著減したが、以後漸増した。ヘマトクリット値は1回目、2回目、3回目と

Table 3. Hemodynamic changes

	before	ex 1	ex 2	ex 3	ex 4	60 min
n	7	7	7	7	2	3
SBP (mean:mmHg)	151.6 ± 10.5	131.6 ± 19.3*	109.0 ± 25.7**	102.3 ± 24.6**	100.5 ± 31.8	100.3 ± 35.8*
HR (beats/min)	241.4 ± 2.7	209.3 ± 23.2*	190.9 ± 34.0**	204.7 ± 15.5**	188.5 ± 20.5	203.3 ± 23.5**
PAP (mmHg)	18.1 ± 3.8	15.7 ± 4.4	17.6 ± 2.8	15.0 ± 3.2	14.4 ± 3.3	13.1 ± 3.3*
PWP (mmHg)	3.5 ± 1.5	3.5 ± 1.2	3.7 ± 1.5	2.4 ± 1.1	2.0 ± 0.1	3.6 ± 3.1
RAP (mmHg)	4.3 ± 6.5	2.6 ± 4.0	5.3 ± 2.1	3.6 ± 2.1	1.1 ± 1.4	3.0 ± 4.1
PARI (dyne·sec·cm ⁻⁵)	230.1 ± 65.4	309.4 ± 135.2	236.7 ± 43.4	280.0 ± 91.3	279.1 ± 59.3	308.9 ± 155.9
LVSWI (g·m/beats/m ²)	43.8 ± 9.0	30.8 ± 17.2*	36.1 ± 12.4	27.4 ± 15.1	25.0 ± 15.1	19.8 ± 14.0*
RVSWI (g·m/beats/m ²)	5.0 ± 1.4	3.3 ± 1.6**	5.4 ± 1.0	3.6 ± 1.8	3.4 ± 0.3	2.2 ± 1.0*
LW (kg·m/m ²)	10.6 ± 2.6	6.4 ± 3.9**	6.7 ± 1.2**	5.5 ± 2.6*	4.8 ± 1.8	3.9 ± 2.6**
RW (kg·m/m ²)	1.2 ± 0.5	0.7 ± 0.3**	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.2*

* p<0.05 vs before, ** p<0.01 vs before(mean±SD).

Table 4. Acid base balance

	before	ex 1	ex 2	ex 3	ex 4	60 minutes
n	7	7	7	7	2	3
PaO ₂ (mmHg)	217.9 ± 23.6	236.4 ± 12.3	245.7 ± 16.2	258.7 ± 24.2	230.4 ± 42.3	295.8 ± 72.6*
PaCO ₂ (mmHg)	17.9 ± 3.8	19.2 ± 3.6	19.7 ± 5.3	19.5 ± 2.8	16.2 ± 2.2	17.9 ± 3.8
pHa	7.515 ± 0.033	7.451 ± 0.041*	7.432 ± 0.036**	7.446 ± 0.060**	7.455 ± 0.111	7.554 ± 0.089
HCO ₃ ⁻ a (mEq/L)	14.4 ± 2.8	13.4 ± 3.0	13.9 ± 2.9	13.3 ± 1.7	11.3 ± 1.4	15.7 ± 3.1
BEa (mEq/L)	-4.5 ± 2.3	-7.0 ± 3.1	-7.2 ± 2.9	-7.2 ± 2.5*	-8.6 ± 4.0	-2.4 ± 4.3
PvO ₂ (mmHg)	66.0 ± 16.0	51.5 ± 9.2*	65.6 ± 12.6	55.5 ± 14.5*	42.7 ± 6.2	47.9 ± 10.3*
PvCO ₂ (mmHg)	26.7 ± 13.1	29.4 ± 9.6	31.8 ± 11.6*	34.6 ± 9.1	41.6 ± 9.8	33.5 ± 8.7*
pHv	7.477 ± 0.062	7.361 ± 0.041**	7.355 ± 0.075**	7.337 ± 0.086**	7.261 ± 0.059	7.344 ± 0.069
HCO ₃ ⁻ v (mEq/L)	16.6 ± 3.0	14.8 ± 2.9	16.5 ± 3.1	16.6 ± 2.3	18.5 ± 1.9	20.6 ± 7.4
BEv (mEq/L)	-3.8 ± 2.8	-8.3 ± 2.9*	-7.2 ± 3.1*	-7.5 ± 2.4**	-8.1 ± 0.1	-6.1 ± 4.0

* p<0.05 vs before, ** p<0.01 vs before(mean±SD).

次第に減少したが、逆にNRCクリットが増加した。赤血球のヘモグロビン濃度もヘマトクリット値と同様漸減し、逆にNRCのヘモグロビン濃度が漸増した。最終的に全ヘモグロビン濃度は術前値の47.7%まで減少した。NRCのメトヘモグロビン比率は終了後60分に11.3%であった。

尿酸には一定の傾向が見られなかった。乳酸値は殆ど変化無く経過した。クレアチニン値は漸増したが終了後60分には術前値に回復していた。GOTは有意差は無かったが漸増する傾向が見られた。しかし、GPTには変化は見られなかった。LDH、ALPは漸増傾向が見られたが有意差はなかった。

ナトリウム、クロールは次第に増加したがカリウムは変化せず、カルシウムは漸減傾向を示した。

3.6.術後経過

犠牲死させたNo.1, 2、ショックから回復しなかったNo.3, 4を除きNo.5, 6, 7はそれぞれ生存させることができた。

4.考察

著者らは犬を用いて出血性ショックモデルを作製し、輸血の代わりに血液代替物を投与し、そのresuscitation fluidとしての効果を循環動態及び酸素動態の両面より検討してきた。

最初にperfluorochemicals(PFC)^[13]を使用し、雑種成犬で検討した。脱血後直ちに脱血量と等量のPFCを投与すればショックから回復し、それを3回繰り返すことができた。一方、脱血後直ちに自己血を脱血量と等量返血した対照の犬でも同様にショックより回復したが、それを2回繰り返すことができたが、3回目はショックより回復せず死亡した。無論、脱血量以上に自己血を投与できたら回復したかもしれないが、それは手技的に不可能であった。しかし、PFCに生体に必要充分量の酸素を供給させるには高濃度の酸素吸入を必要とした。

次にNRCを使用して同様の実験を試みた。NRCを用いると5回のショックに耐え^[14-16]、しかも高濃度の酸素吸入は不要で、room

airの吸入で充分だった¹⁷⁻¹⁹。

しかし、実際の臨床では、ショック後直ちにケアを受けることは稀で、多くは医療施設へ搬送する迄の一定時間ショック状態のまま放置される。そこで、今回はより臨床に即した実験モデルとするためショック後30分間ケアをせずに放置後にNRCを補充する方法でNRCの循環動態、酸素運搬能、臓器保存効果を検討した。

出血性ショックでは出血量と出血速度が重要である。ショック後直ちにNRCを投与した実験モデルでは脱血速度は40mL/minとしたが、今回は前回より侵襲が大きく脱血速度を30mL/minに加減した。さらに脱血量と同じ量のNRCを投与したのではショックより回復せず、少なくとも脱血量の1.5倍量のNRCを投与する必要があった。しかし、この量をこの速度で投与すると、特に第1回目にはPAPが上昇し、一時的にoverhydrationを示したので、脱血量の1.2倍量までは30mL/minで投与し、それ以降は15mL/minに投与速度を落とした。第2回目以降は投与速度を加減する必要はなかった。

今回は4回ショックを試みたが、4回目には結局血圧は戻らず死亡した。3回のショック後生存を試みた3頭は何れも生存した。従って、NRCの投与により3回のショックに耐えられると考えられた。また、4回目のショック後の測定値は何れも死亡例のデータ

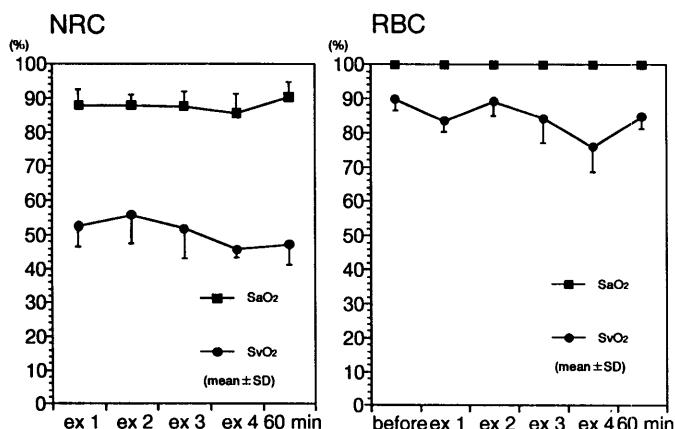


Fig. 4. SaO_2 and SvO_2 .

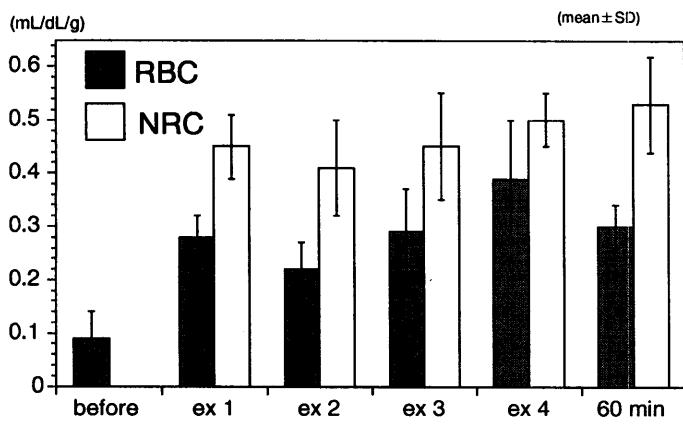


Fig. 5. AV difference/Hb.

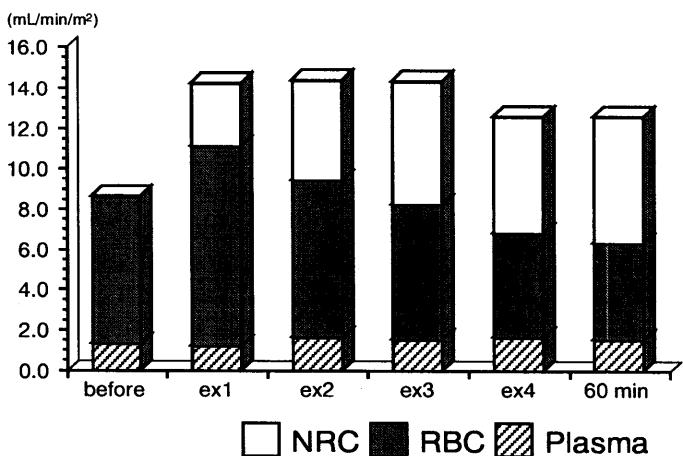


Fig. 6. Oxygen consumption.

タであり、3回目のショック後のデータと単純比較できないが、参考値として付加した。

ショック後直ちにNRCを投与した実験モデルではNRC投与後TPRIが著減しCIが著増した。全血の1/3の低い粘度のNRCの投与により末梢循環が改善したためと考えられた¹⁴⁻¹⁶。一方、今回の実験モデルではTPRIはむしろ増加しCIは減少した。PAPやPWPは変動しなかったので循環血液量は適正に保持されていたと考えられる。結局、今回の方が侵襲が大きく、粘度の低いNRCの投与にもかかわらず末梢循環は改善せず、結局心不全に陥ったものと思われた。

心不全にもかかわらずショックより回復し、生存出来たのはNRCの酸素運搬能が優れていたからと思われた。NRCの酸素運搬効率は32.2～43.1%で、しかもNRCのヘモグロビン濃度とは無関係にいつも一定していた。一方、赤血球では4回目に24.1%と最高値を記録したが、それでもNRCの1/2にすぎなかった。

AV較差でもNRCは次第に増加した。しかし、赤血球のAV較差の減少は赤血球のヘモグロビン濃度の減少と必ずしもパラレルではなかった。即ちヘモグロビンの減少に対し、赤血球はAV較差をなんとか維持しようとした形跡がみられた。しかし、それも2回目まで、3回目以降は次第に減少した。

ショックの影響で酸素消費量は術前より63.2%増加した。これに対しNRCは心拍出量の減少分をAV較差の増加で代償し、酸素消費量の増加に対応できたが、赤血球はそれができず段階的に減少した。即ち、本例の様に侵襲が大きく、心不全を併合した、不可逆性に近い出血性ショックでは、赤血球では増加した酸素需要に対応できず、やはりNRCの様に、AV較差が大きく、心拍出量の減少を代償できるblood substitutesの投与が救命に不可欠と考えられた。

ビーグル犬を使用したにもかかわらず、一部血算及び血液生化学検査で多少ばらつきがあり一定傾向が得られなかった。今後さらに実験を追加し、また組織学所見も参考に検討したい。

5.結論

出血性ショック後30分間放置後にショックから回復させるにはNRCを脱血量の1.5倍量投与する必要があった。これを3回繰り返す事ができ、NRCを用いればショックは3回まで回復可能であつ

Table 5. Changes of hemocytometry and blood biochemical test

	before	ex 1	ex 2	ex 3	ex 4	60 min
n	7	7	7	7	2	3
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	649.0 \pm 137.4	389.1 \pm 108.7**	267.9 \pm 96.2**	232.3 \pm 76.1**	159.0 \pm 25.5	206.8 \pm 40.2**
WBC (/ μL)	11100.0 \pm 5028.0	2728.6 \pm 1071.9**	2285.7 \pm 1158.7**	3500.0 \pm 1551.8*	3100.0 \pm 141.4	10500.0 \pm 17492.7
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	17.2 \pm 9.6	5.5 \pm 3.1*	5.7 \pm 2.9*	6.7 \pm 3.4*	8.0 \pm 1.5	6.7 \pm 3.5
Hct (%)	45.2 \pm 10.0	28.5 \pm 9.5**	22.0 \pm 4.7**	17.1 \pm 5.9**	11.1 \pm 1.6	16.3 \pm 5.0**
NRCct (%)	—	10.4 \pm 3.2	15.3 \pm 3.7	19.4 \pm 3.7	18.8 \pm 1.3	23.1 \pm 7.8
RBC Hb	15.1 \pm 3.8	10.0 \pm 3.3**	7.8 \pm 1.7**	6.0 \pm 2.1**	3.9 \pm 0.7	5.8 \pm 1.8**
NRC Hb	—	1.9 \pm 0.8	2.8 \pm 1.1	3.6 \pm 1.1	3.3 \pm 0.3	4.7 \pm 1.6
NRCmetHb ratio (%)	—	8.7 \pm 1.5	9.3 \pm 1.9	10.1 \pm 1.8	9.9 \pm 1.8	11.3 \pm 0.9
Total Hb (g/dL)	15.1 \pm 3.8	12.0 \pm 3.2*	10.6 \pm 1.9**	9.6 \pm 11.8**	7.2 \pm 1.0	10.5 \pm 0.8**
Cr (mg/dL)	0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1**	0.8 \pm 0.1**	0.9 \pm 0.0**	0.7 \pm 0.2
UA (mg/dL)	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.0 \pm 0.1	0.0 \pm 0.1	0.0 \pm 0.0	0.3 \pm 0.6
Lactate (mg/dL)	31.4 \pm 10.1	45.1 \pm 8.9	44.8 \pm 13.0	45.2 \pm 9.9*	49.8 \pm 1.8	38.0 \pm 13.5
GOT (IU)	80.7 \pm 128.0	61.1 \pm 93.1	109.7 \pm 98.3	125.7 \pm 107.7	229.5 \pm 187.4	254.3 \pm 270.8
GPT (IU)	69.7 \pm 116.3	46.1 \pm 82.2	45.5 \pm 82.3	47.1 \pm 75.1	105.5 \pm 125.9	84.0 \pm 122.9
LDH (IU)	242.6 \pm 91.7	201.0 \pm 54.5	484.4 \pm 360.8	452.7 \pm 210.2	466.5 \pm 27.6	885.5 \pm 776.0
ALP (IU)	143.0 \pm 115.3	81.1 \pm 54.8*	82.6 \pm 59.2*	98.3 \pm 79.9	64.5 \pm 14.8	284.0 \pm 270.1
Na (mEq/L)	108.4 \pm 2.0	110.3 \pm 2.4	112.4 \pm 3.5*	115.0 \pm 2.0**	116.0 \pm 1.6	116.5 \pm 1.3*
Cl (mEq/L)	82.1 \pm 4.6	87.3 \pm 2.7**	89.1 \pm 3.0*	91.4 \pm 2.9**	92.0 \pm 1.3	92.5 \pm 2.4*
K (mEq/L)	2.3 \pm 0.1	2.3 \pm 0.2	2.3 \pm 0.2	2.6 \pm 0.4	2.6 \pm 0.3	3.0 \pm 0.9
Ca (mEq/L)	6.8 \pm 0.7	5.7 \pm 0.3**	5.5 \pm 0.3**	5.3 \pm 0.2**	4.9 \pm 0.3	5.4 \pm 0.4**

* p<0.05 vs before, ** p<0.01 vs before(mean \pm SD).

た。粘度の低いNRCを投与したにもかかわらず、末梢循環は改善せず、心不全が進行した。しかもショックに伴い酸素消費量が増加したが、NRCは心拍出量の減少分をAV較差の増加で代償し、生体の酸素需要の増加に対応できた。一方、赤血球はAV較差を増加できず結果的に充分量の酸素を供給できなかった。以上よりNRCは重症の出血性ショックに対しresuscitation fluidとして優れた効果が期待出来そうである。

参考文献

- Djordjevich L, Miller LF. Synthetic erythrocytes from lipid encapsulated hemoglobin. *Exp Hematol* 1980;8:584-92.
- Farmer MC, Gaber BP. Liposome encapsulated hemoglobin as an artificial oxygen-carrying system. *Methods Enzymol* 1987;149:184-200.
- Hunt CA, Burnette RR, McGrogor RD, Strubbe AE, Lau DT, Taylor N, Kawada H. Synthesis and evaluation of a prototypal artificial red cell. *Science* 1985;230:1165-8.
- Iwasaki K, Iwashita Y. Preparation and evaluation of hemoglobin polyethylene glycol conjugate (pyridoxylated polyethylene glycol hemoglobin) as an oxygen-carrying resuscitation fluid. *Artif Organs* 1986;10:411-6.
- Clerc Y, Dubos M, Bihoreau N, Delamour L, Brasseur C, Gond B, Goyffon M, Saint-Blancard J. Pyridoxylated polymerized hemoglobin solution processing. Interest of a membrane molecular fractionation step. *Appl Biochem Biotechnol* 1987;14:241-51.
- Snyder SR, Welty EV, Walder RY, Williams LA, Walder TA. HbxL99 alpha: a hemoglobin derivative that is cross-linked between the alpha subunits is useful as a blood substitute. *Proc Nat Acad Sci USA* 1987;84:7280-4.
- Winslow RM. Blood substitute oxygen carriers designed for clinical applications. Winslow RM, Vandegriff KD, Intaglietta M, eds. *Blood substitutes: new challenges*. Boston:Birkhauser, 1996; 60-72.
- Rudolph AS. Encapsulation of hemoglobin in liposomes. In Winslow RM, Vandegriff KD, Intaglietta M, eds. *Blood substitutes : physiological basis of efficacy*. Boston:Birkhauser, 1995;90-104.
- Usuba A, Motoki R, Ogata Y, Suzuki K, Kamitani T. Effect and safety of liposome-encapsulated hemoglobin neo red cells (NRCs) as a perfusate for total cardiopulmonary bypass. *Art Cells Blood Subs and Immob Biotech* 1995;23:337-46.
- Usuba A, Motoki R. Safety and efficacy of encapsulated hemoglobin in hemorrhagic shock. Tsuchida E eds. *Artificial red cells*. New York:John Wiley & Sons, 1995;65-92.
- Usuba A, Endoh Y, Motoki R, Ogata Y, Suzuki K, Kamitani T. Neo red cells in a canine hemorrhagic shock model. Shek PN ed. *Liposomes in biomedical applications*. Amsterdam:Harwood Academic Publishers, 1995;265-81.
- 坂口圭介, 後藤彰久, 宮内雄二, 鈴木一比好, 沢本二郎, 高橋晃, 大野弘幸, 土田英俊. ネオレッドセルの酸素運搬能制御. *人工臓器* 1989;18:369-72.

13. Honda K, Usuba A, Miyazawa M, Motoki R, Kanno M, Honda M, Iwaya F, Hoshino S, Yamanouchi K, Yokoyama K, Sakaguchi K, Suzuki K, Kamitani T, Takahashi A. Development of artificial blood; from Fluosol-DA (FDA) to neo red cells (NRC). *Biomater-Living Syst Interact* 1993;1:73-84.
14. Usuba A, Motoki R, Miyauchi Y, Suzuki K, Takahashi A. Effect of neo red cells on the canine hemorrhagic shock model. *Int J Artif Organs* 1991;14:739-44.
15. Usuba A, Motoki R, Suzuki K, Sakaguchi K, Takahashi A. Study of the effect of the newly developed artificial blood "neo red cells (NRC)" on hemodynamics and blood gas transport in canine hemorrhagic shock. *Biomater Artif Cells Immobil Biotechnol* 1992; 20:531-5.
16. Usuba A, Motoki R, Sakaguchi K, Suzuki K, Kamitani T. Effect of neo red cells on the hemodynamics and blood gas transport in canine hemorrhagic shock and its safety for vital organs. *Biomater Art Cells Blood Subs and Immob Biotech* 1994;22:503-16.
17. Usuba A, Motoki R, Sakaguchi K, Suzuki K, Kamitani T, Takahashi A. Oxygen transport capacity and hemodynamic effect of newly developed artificial blood "neo red cells (NRC)". In XXVIII World congress of the International College of Surgeons. Bologna:Monduzzi Editore, 1992;803-6.
18. Usuba A, Miyazawa M, Miura J, Endoh Y, Motoki R, Sakaguchi K, Suzuki K, Takahashi A. Oxygen transport capacity and hemodynamic effects of newly developed artificial blood "neo red cells (NRC)". *Artif Organs Today* 1993;2:299-308.
19. Usuba A, Miyazawa M, Motoki R, Sakaguchi K, Suzuki K, Kamitani T, Takahashi A. Oxygen transport capacity and hemodynamic effect of newly developed artificial blood "neo red cells(NRC)". *Int J Artif Organs* 1993;16:551-6.

学会報告

「Current Issues in Blood Substitute Research and Development」

18-20 March, 1996

Sheraton San Diego Hotel and Marina, San Diego, CA, USA

Chair: Prof. Winslow RM (UCSD)

武岡真司 早稲田大学理工学部

標記集会はNIHの後援にてProf. Intaglietta M(UCSD)をcochairmanとして運営された。UCSDの集中講義形式で単位認定証も交付される。1994年以来連続して開催されており、今回は約200名程度(日本からは7名)を集めた。会期午前前は各分野を代表する招待講師による基礎から最新の話題までの講義(30分)、午後は2部に分け、はじめに研究推進者による最新研究成果発表と討議を各々10分づつ、後半は"臨床適応に向けて", "血液代替物の酸素輸送", "血液代替物と免疫系", の3課題での円卓討論が実施された。

Prof. Winslow RMの血液代替物関連論文(1994-1995年、85報)のレビューで開始(参考報文を本稿末尾に添付)。修飾Hbの場合動脈で酸素の過剰放出が起こると自己調節機構が働き血管収縮により有効毛細血管密度が低下、また、アセルラーHbが血管内皮細胞由来弛緩因子(EDRF)であるNOと直接結合して血管弛緩の抑制が起こるなどの現象が課題として指摘され、更に分子間架橋Hbでは分子量分布の制御と品質管理が困難で特別な精製工程の必要性が指摘された。他方、リン脂質小胞体系では、i)血漿中の分解や酸化ストレスからHbを脂質膜が保護、ii)血管内皮細胞に対するHbの毒性を脂質膜が回避、iii)Hbの血中滞留時間の増大、iv)低い膠質浸透圧、v)凍結乾燥可能、などの利点がある一方、量産工程が煩雑となりコスト高を招くとしている。

最後に膠質浸透圧の重要性に関連して、出血ショックに対する蘇生液として膠質浸透圧を高めに設定した場合、血液ガスパラメータが向上して生存率が高く

なる成績を示し、現在の臨床段階のHb利用酸素運搬体は、赤血球代替物として考えるよりは輸液(血漿增量剤)との比較で酸素運搬輸液として評価すべきとの日本側と類似意見を主張している。

Dr. Joyner M(Mayo病院)は臨床医の立場から、どの様な患者がどの様な状態に陥った時どこで何を目的として輸血が行われるのかについて、Mayo病院例を統計学的且つ生態学的観点から、同種血輸血の副作用頻度と現在同種血自体を回避するために検討されている方法(i)自己血輸血、ii)術中・術後貯血液輸血、iii)周術期血液希釈について議論している。結局、輸血量の半分は65歳以上の老人に対して行われていること、また手術後しばらくしてからの緊急輸血の頻度の高さを考えると、これらの方法は適用患者と現場が限定され、更に費用と設備の問題が大きな障壁に成っていることを指摘した。赤血球代替物に目を移した場合には、半減期が短い、期限切れヒト血液の利用では献血血液の依存度が高い、rHbでは量産体制の設備が困難、動物由来Hbの抗原性や感染の危険性、患者の持病に対する赤血球代替物の作用が不明瞭、などを問題点として挙げた。例えば、心臓病患者に血管収縮性のある物質(架橋Hb)の投与は禁忌である。結論として輸血による感染確率は、現在の実情が交通事故の死亡確率より低いので、本質的な開発目標として同種血輸血の安全度と効力を上回るか、またはこれと充分に競合できる価格で提供できる赤血球代替物の誕生でなければならない。この主張は医療現場の合理的意見であり、円卓討論の話題ともなっていた。

Prof. Messmer K(ミュンヘン大、独)の

Blood Flow Distribution During Shockは医学の基礎であるが、筆者にとっては新鮮に聞こえた。出血ショック(循環血流量の減少)は程度によって生体反応が異なる。循環血液分布の変化による末梢循環障害を経て多臓器疾患に至る過程、ショックストレスに起因する小腸粘膜損傷が腸内細菌やエンドトキシンの侵入をもたらし、エンドトキシン血症が引き起される過程、更に活性化された白血球による各種メディエータの放出と塞栓形成の過程、などを易しく解説した。また、高張水溶液(7.5%NaCl)投与は血管を一時的に拡張させ微小循環動態を改善するので、ショック時蘇生液として有効と主張した。

現在、修飾Hb投与による血圧上昇の原因是、HbのNO捕捉と自己制御による血管収縮と想定されているが、後者に関しては、Prof. Intaglietta Mが詳細に解説した。小静脈では血管壁でのずり応力の低下やPO₂値の増大が内皮細胞からの血管拡張因子(プロスタサイクリン)の放出量低下となり、毛管収縮に至る。例えば、小動脈部で酸素運搬体から放出される酸素量が多い、あるいは溶液粘度が低下した場合、自己制御による毛管収縮の生起は、ポリビニルピロリドンにて浸透圧と溶液粘度を調節した血液希釈実験から認められている。従って、自己制御により血管収縮が生起する場合、血管内の酸素分圧は高いが末梢組織の酸素分圧が低くなる状態を指摘。この様な現象を考慮した酸素運搬体の物性調節、微小循環領域の酸素定量の必要性を力説した。

また、修飾Hbを投与するとNO捕捉により血管収縮による急激な血圧上昇を認める。2-3時間この状態が保持され、徐々に

低下して6-8時間後には復元する。この現象をDr. Motterlini R(Northwick Park研究所、英国)は、投与Hbから遊離したヘムがヘムオキシゲナーゼ(HO-1)を誘導するため、ヘム分解により発生するCOがNOの代わりに血管を弛緩させる様になると説明。修飾Hb投与前に予めHO-1を増加させCO発生量を高めておけば、修飾Hb投与による血圧上昇を軽減でき、待機手術や移植などに際して計画度の高い輸血方式に応用できると提案した。

エンドトキシンとHbとの相互作用による毒性増大について、Dr. Krishnamuri C(Walter Reed陸軍研究所)とProf. Levin J(UCSF)が説明した。エンドトキシン血症を引き起すリポポリサッカライド(LPS)投与は、エンドセリン-1(ET-1)や腫瘍壞死因子(TNF)の産生促進となるが、ET-1は強力な血管収縮因子で高レベルになると冠状動脈収縮による心筋虚血を誘導する。ET-1は内皮細胞にあるレセプターと結合して、細胞内Ca²⁺濃度を高め血管弛緩因子(NO)の放出を誘導する。また、TNFもNO合成酵素(iNOS)を誘導し、NO放出を起こすので血圧が低下する。もし、LPSに対するこの生体反応が過剰となり低血圧になった場合、NO捕捉のためのHb投与も治療法として提案されている。しかし、LPSとHbが共存する場合には、ET-1による血管収縮にHbによる血管収縮作用が追打ちをかけることになり、単独投与よりも死亡率が飛躍的に増大するとしている。従って、敗血症や心臓血管障害の患者へのHb投与は有害と指摘している。

Prof. Levin Jはエンドトキシン(LPS)とHbとの相互作用の解析から、LPSは水に難溶のため凝集体として分散しているが、Hbが共存すると複合体を形成して溶解する。複合体を形成するとHbの高次構造が変化してメト化を受け易くなり、酸素親和度もやや高くなる。複合体は、LPS定量法として用いられるlimulus amebocyte lysate活性やtissue factorの産生を10倍以上も高め、血中滞留時間もLPS単独投与よりも長くなる。また、複合体投与によるRES機能の低下は顕著であり、死亡率はLPS単独投与よりも高くなる。これらは、LPSがHbと複合体を形成して分子分散するためLPS本来の活性が高められたためとしている。従つ

て、Hb由來の代替物投与には、患者のエンドトキシンレベルをあらかじめ測定してから投与する注意が必要と報告した。

Walter Reed陸軍研究所とBaxter社が開発した分子内架橋Hb($\alpha\alpha$ Hb)は、血管収縮が生起するとの発表が多くあった。これに対しBaxter社の研究者から当社の試料は臨床に際し、発言にあるネガティブ結果は観測されていない、当社の試料と違う対象ではないかとの主張があった。Dr. Shorr R(Enzon社)は、ポリエチレングリコール結合ウシHbを健康男性に投与した評価では最大700mLの投与でも血圧上昇を認めなかつたが、嘔下困難、消化不良、鼓脹、腹痛を報告した。これは低分子分画の除去により抑制された。Dr. DeAngelo J(Apex Bioscience社)はピリドキサル化Hbポリオキシエチレン(PHP)の臨床第1相成績に関して、100mg/kg投与の段階では異常を認めず、エンドトキシンとの相互作用による毒性の亢進もマウスでは認められなかつたとしている。

他方、グルタルアルデヒド重合Hb(PolyHbXI)の副作用に関しては、Dr. Bleeker W(オランダ赤十字社)から興味深い報告が有つた。この試料は自身で合成、精製されたものであるが、投与後24時間以上経過後腸壁に出血を観測、しかし血小板数や凝固時間など病理学的には何等異常は認められなかつた。また、この現象はSFHやラフィノース架橋Hb(Hemolink, Hemosol社)には認められず、特にグルタルアルデヒド架橋体の高重合度分画やアルブミンのグルタルアルデヒド架橋体にも認められたことから、グルタルアルデヒド架橋操作に原因があると結論付けている。現在臨床段階にあるグルタルアルデヒド架橋Hb(Biopure社、Northfield社)の投与結果からは、まだそのような報告はなされていない。Dr. Gould SA(Northfield社)からは第2あるいは3相試験成果の一部が報告された。例えば、術中の出血および輸血を想定して、出血によりHctが7-8g/dLとなった時点でのグルタルアルデヒド架橋ヒトHb([Hb]=15g/dL)を250mL、3回投与した結果を血液と比較しているが、口頭発表のみで資料の開示がなかつたので詳細省略。

微小循環動態や組織の酸素分布が酸素運搬体性能評価法として注目されている。新しいin vitro, in vivoでの方法が報告された。前者では酸素透過度と透明度が高いシリコン薄板の孔(直径25μm)に試料溶液を通過させ、酸素放出挙動を分光観測する方法が、Dr. Hellums JD(Rice大)から提案され興味を引いた。後者ではアルブミンにPdポルフィリンを担持させたプローブ、HbにZnポルフィリンを導入したプローブは、その三重項光励起寿命がわずかな酸素分圧差に影響されることから、これを投与し顕微鏡下で対象組織部位にレーザー閃光を照射、組織酸素分圧を観測する方法が報告された。また、円卓討論ではこれらの方法と微小電極による組織酸素分圧測定法との比較も議論された。

赤血球の場合、希釈してもHbの分子環境は変化しないが、修飾Hbでは希釈効果は酸素結合解離曲線に差異を生じる。そこで希釈せずにこの曲線を測定する方法が、Dr. McDonald VW(Walter Reed陸軍研究所)、Dr. Vandegriff KD(UCSD)からあつた。また、Dr. Manning J(Northeastern大)はUCSDとの協同でHbの2量体への解離定数の定量方法、また、トリプトファンの蛍光寿命の測定よりHbから放出されたヘムの定量法やEPRにてメトHbやヘミクロームの経時変化を測定する方法などが報告された。

更に、Hb誘導体の分子設計に関して例えれば、ヤギのHbCの様にカルバミノ基を多く形成してCO₂の運搬を期待する例、ヘムポケットの空間をフェニルアラニン置換で狭くしてNOや過酸化水素の侵入によるメト化を抑制する試み、あるいはLumbricus terrestris(ツリミミズ)Hb(LtHb)は天然の12量体架橋Hbであり、原料は豊富で酸素親和度はHbA₀とほぼ同等、血中滞留時間が飛躍的に延長するので、これを利用する例なども紹介された。

Dr. Rohlf RJ(UCSD)は、カプセル化は修飾Hbの副作用を解決する良い方法であるが、リン脂質膜を利用する場合の欠点として、scale upが困難、カプセル化効率が低い、そして高価であることが問題になるとし、安価なポリオキシエチレン鎖

を頭部に持つ普通の界面活性剤を用い相状態を移行させる方法にて non-phospholipid liposomes を簡便調製できると提案した。また、Dr. Rudolph AS(Naval研究所)の酸素同位体を用いた酸素運搬計測、Dr. Usuba A(福島医大)の人工心肺の灌流液としての評価も報告された。

全体の印象として、本会ではアセラー型の諸問題に焦点があてられ、問題点を解決できるセルラー型Hbへの期待が明らかにされた。円卓討論に際し司会者のjoke "陸軍開発の $\alpha\alpha$ Hbが海軍開発のカプセル型Hbに大敗した"からもこれが伺える。アセラーHbの諸問題を避けるためのセルラー型開発に日本の焦点があるにも拘わらず、米国企業に見られる勢いがまだ確立していないのが残念である。本年8月に開催された第6回血液代替物国際シンポジウム(Montreal)では、血管収縮の課題を残したまま $\alpha\alpha$ Hbが臨床第3相に入っており、イスに大規模製造プラントを建設中(Baxter社)との情報もあり、こ

の分野の開発と推進にかける意気込みに敬意を表する次第である。Hb利用製剤の上市が待たれるが、いわゆるショックに際しての多量輸血に対応できる血液代替物の最終形態は、この1-2年で決まるものと想定される。今後、セルラーHb型の効果、細網内皮系捕捉が免疫系、代謝系に及ぼす影響の検討が進み、代替物の量産体制が確立され、日本での臨床試験が開始されることを期待する次第である。

付録

総説：

Ogden JE, Parry ES. The development of hemoglobin solutions as red cell substitutes. Int Anesthesiol Clin 1995;33:115-29.

Hb物性：

Schumacher MA et al. Allosteric transition intermediates modeled by crosslinked haemoglobins. Nature 1995;375:84-7.

Komiyama NH et al. Transplanting a unique allosteric effect from crocodile into human hemoglobin. Nature 1995;373:244.

毒性：

Johnson RA et al. A heme oxygenase product, presumably carbon monoxide, mediates vasodepressor function in rats. Hypertension 1995;25:166-9.

Hogan MC et al. Partial substitution of red blood cells with free hemoglobin solution does not improve maximal O₂ uptake of working in situ dog muscle. Adv Exp Med Biol 1994;361:375-8.

効果：

Kaca W et al. Effects of bacterial endotoxin on human crosslinked and native hemoglobins. Biochemistry 1995;34:11176-85.

Langermans JA, Bleeker WK. Haemoglobin-based blood substitutes and infection. Lancet 1995;345:863-4.

Murray JA et al. The effects of recombinant human hemoglobin on esophageal motor function in humans. Gastroenterology 1995;109:1241-8.

学会報告

VI International Symposium on Blood Substitutes(VI ISBS) —血液代替物臨床試験の現況の最新情報—

5-7 August, 1996

McGill University, Montreal, Quebec, Canada

Chair: Prof. Chang TMS

薄場 彰 福島県立医科大学第一外科

VI ISBSで最も注目されたセッションである。可能な限り詳細に記載した。演者と演題名は当日発表されたものであり、プログラムとは異なる演題もある。一部聴取不能な部分があり、多少筆者の主觀が入った。

1. Advances in Perflubron Emulsion Development: Potential Use During Surgery and Cardiopulmonary Bypass to Avoid Donor Blood Transfusion and Prevent Tissue Hypoxia

Keipert PE. Alliance Pharmaceutical Corp., San Diego, CA

Perflubronは酸素溶解能28mL O₂/100gPFC、粒子径0.17±0.01μm、粘度4cPのperfluorochemical(PFC)乳剤である。演者はPerflubronを術前からの貧血、術中出血による貧血、acute normovolemic hemodilution(ANH)、cardiopulmonary bypass(CPB)への応用を検討している。しかし、患者がどの程度の貧血に耐え、どこまでが安全限界かは患者個人個人で異なるが、PFCを添加することで混合静脈血酸素分圧(PvO₂)が上昇し、その結果組織へ拡散する酸素勾配が大きくなると期待される。粒子径の小さいPFCの血管内での動向は赤血球より血小板やplasmaに近い。容量が巨大な末梢毛細管では、赤血球が灌流せず、plasmaのみが灌流している毛細管が少なからず存在する。PFCはその様な毛細管もplasmaと同様に灌流し酸素を供給すると思われる。即ちPFCの添加によりplasmaレベルでの酸素運搬容量が増加し酸素勾配が大きくなり、組織に十分量の酸素を供給後も高いPvO₂を維持するものと考えられる。

臨床第2a相治験で術中の出血に対してPerflubronを投与したが、患者のヘモグロビン濃度は次第に減少したにもかかわらずPvO₂は次第に上昇した。次に、犬で血液希釈モデルを作製し、Perflubronを投与した群と投与しなかった群とで比較したが、Perflubron投与群ではPvO₂が上昇し、しかも小腸と脳の臓器レベルでのPO₂も著明に上昇していた。さらに、犬の血液希釈モデルで輸血をした輸血群、輸血をしなかった対照群、Perflubronを投

与したPFC群の3群に分類し検討した。心指数はPFC群と対照群で著明に増加したが、PvO₂は輸血群とPFC群で上昇した。肝臓と筋肉の組織レベルのPO₂は対照群では著明に低値だったがPFC群では輸血群と同様高値を維持した。

次に、ウサギの心臓を一定時間低灌流状態にした後にPerflubronを投与したPFC群では血圧は術前値まで回復したが、生食を投与した対照群では術前値まで回復しなかった。また、犬を用いた低温体外循環実験では、灌流液にPerflubronを添加したPFC群では、添加しなかった対照群と比較して体外循環中だけでなく体外循環後もPvO₂が高値を示していた。さらにPerflubronはヘモグロビンレベル低下時に組織のhypoxiaを予防し、出血に対する患者の安全域を拡大し、また体外循環前にPerflubronを投与することで大量の自己血を貯血することができ、体外循環中の酸素加装置による血球の破壊を最小限度に制御することが可能と思われた。

2. Clinical Studies with Diaspirin Cross-Linked Hemoglobin Solution (DCLHb™): A Review and Update

Przybelski R, Blue J, Nanavaty M, Goldberg C, Estep T and Schmitz T. Baxter Healthcare Co. U.S.A.

Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb™)はαα架橋ヘモグロビンである。臨床第1相試験では静脈内投与に問題なく、昇圧効果があり、安全であるとの結論を得た。そこで投与量を増やして第2相試験を開始した。まずDCLHbの投与量を昇圧用には20~150mL、volume expansionとして100~500mL、O₂ carryingとして250~1000mLと定めた。まず透析患者を対象にsingle blind testとしてDCLHb25, 50, 100mg/kgを透析開始から30分以上かけて投与し、生食を同じ量投与した対照群と比較した。対照群ではhypovolemiaや低血圧などの理由で血圧が安定しなかったが、DCLHb投与群では投与後血圧が10~14mmHg上昇し安定した透析が可能であった。結局対照群では9人の患者で透析中に20回血圧低下がみられたが、DCLHb群では1人1回にすぎずDCLHb投与により安定した透析が可能だった。さらに腹部大動脈瘤の手術で手術開始時にDCLHb50mg/kgを投与したが、投与しなかった対照群と比較して術中の血圧は安定していた。次にDCLHbのresuscitation fluidとしての効果をブタの出血モデルで検討した。対照はヒトアルブミン(HSA)投与群だが48時間生存率ではDCLHb

群は100%の生存率を示し、HSA群の生存率は30%にすぎなかつた。

次にDCLHbのhemorrhagic hypovolemic shock(HHS)に対する効果を検討した。クラスII~IVのHHS120例を対象としDCLHbを50mL, 100mL, 200mLをbolusに投与した。DCLHb 50mL投与群では全く効果が見られなかつたが、100mL, 200mL投与群では昇圧効果が見られ循環が安定した。以上よりDCLHbは安全で優れた抗ショック効果を示し、特に副作用もなかつたので第3相試験へ進んだ。

第3相試験ではあらゆるinotropic drugや昇圧剤投与にもかかわらず血圧が回復しない重症のショック患者(心指数<4.0, 血管抵抗<800, 18歳以上)にDCLHb, 100mL~500mLを12時間以上かけて投与した。対象症例14例の原疾患は腹膜炎や胆囊炎等の患者で全例臓器不全を合併していた。無尿の5例を除いた9例ではDCLHb投与後尿量が増加しクレアチニンクリアランスが改善し、また14例全例でoxygen extraction ratioが改善した。APACHE II scoreが減少し、14例中3例が元気に退院した。現在脳卒中に対する第2相試験も4施設で進行中である。

DCLHbの薬効は結局vasoactive effectと言える。EDRFまたはNOに対してはネガティブに働き、エンドセリンレセプター及びアドレナリンレセプターにはポジティブに働いて血管及び心筋の機能を高め血流を増加させるものと考えられる。即ちDCLHbは単に酸素運搬や血漿增量作用だけでなくユニークな薬理学的特性を有しているといえる。今後は投与量をさらに增量して治験を行う予定である。

3. Hemopure™ (HBOC-207) Update

Jacobs EE Jr. Biopure Corporation, U.S.A.

Hemopureはpolymerized bovine hemoglobinである。ヘモグロビン濃度は13g/dL、安定しているので室温で2年間保存可能である。粘度が低く、 P_{50} は38Torr、酸素結合は2,3-DPG independentである。マサチューセッツ州ケンブリッジにあるプラントで年間25,000kgHbの生産が可能である。臨床第1相試験では45人のボランティアにプラズマレベルで平均1.3g/dLのHemopureを投与したが、血中半減期は24時間であった。これら成績については既に論文で発表している。

今回はnormovolemic anemic dogを用いた動物実験でHemopureと赤血球の効果を比較した成績を報告する。脱血によりヘマトクリットを術前30%から10%に減少させた。ここで3グループに分類し、Hemopure、保存血、新鮮血を段階的に投与しそれぞれHemopure群、保存血群、新鮮血群とし骨格筋の組織酸素含量を測定した。保存血群、新鮮血群では保存血または新鮮血を2.5g/dL Hb投与すると組織のhypoxiaは改善した。一方Hemopure群ではそれより少ないヘモグロビン量でhypoxiaが改善したばかりか、Hemopureをさらに投与を続けると正常の3倍の組織酸素含量を記録し、Hemopureは赤血球の3倍の酸素を運搬していると思われた。また正常の骨格筋組織のoxygen extraction ratioは25%であるが、血液希釈により40%に増加した。しかし保存血群、新鮮血群では保存血または新鮮血の投与により正常値に復したが、Hemopure群ではHemopureの投与によりさらに増加した。しかし

体血圧、体血管抵抗、肺血管抵抗には3群間に有意差は見られなかつた。

現在臨床I/II相試験が進行中である。

4. Polyethylene Glycol Conjugated Hemoglobin as a Radiation Sensitizer for the Treatment of Cancer

Shorr RGL. Enzon Co., U.S.A.

腫瘍の中心部は毛細血管が乏しく慢性的に低酸素状態にある。さらに腫瘍の栄養血管が閉塞して急に低酸素状態へ陥ることもある。腫瘍に対する放射線治療の効果は腫瘍組織のoxygenationにより異なる。1週間に5回、3週間照射した悪性腫瘍患者でその放射線治療の効果をリンパ節酸素分圧を測定し検討したところ、完全寛解が得られた時の酸素分圧は平均 20.6 ± 4.4 mmHgで、部分寛解は 8.8 ± 3.2 mmHg、無効は 4.6 ± 3.0 mmHgであり、酸素分圧が高いほうが放射線治療によく反応した。著者らはbovine hemoglobinへpolyethylene glycol鎖を最大12個結合したpolyethylene glycol conjugated hemoglobin (PEG-Hb)を試作し悪性腫瘍の放射線治療に対する感受性増強効果を検討した。

ラットにPEG-Hbを5mL/kgと10 mL/kgをbolus静注したところ、腎の酸素分圧が上昇した。次に6g% PEG-Hbで30%の血液交換をしたが筋肉、腸、腎、肝、脾臓で交換後酸素分圧が軽度上昇した。しかし、osteogenic sarcomaを有するラットにPEG-Hbを投与したところ、腫瘍内の酸素分圧が著明に上昇した。一方同じ量の乳酸加リソゲル液を投与した対照では腫瘍内の酸素分圧は変化なかった。さらに、PEG-Hbを6mL/kgをbolus投与したラットのosteogenic sarcomaに4Gyを5週間照射したところ腫瘍の著明な退縮が観察された。一方、PEG-Hbを投与しなかったラットでは変化なかった。また、osteogenic sarcomaを有するラットにPEG-Hbを投与し、4Gyの照射をおこなったところ90%以上の完全緩解が得られた。一方、乳酸加リソゲル液を投与したラットに同量の照射を行ったが完全緩解率は20%にすぎず、照射を行わなかった群では完全緩解は0%であった。

ヌードマウスにSXYO3腫瘍を移植しPEG-Hbを投与したところ腫瘍の辺縁部、中心部の両方とも酸素分圧が上昇した。さらに種々の腫瘍に対しPEG-Hbを投与したが何れも腫瘍内の酸素分圧が投与以前の100%から316%増加した。CX1大腸癌に3-2-2Gyの照射を行ったが、照射しなかった群、照射のみの群では腫瘍容積が増大したが、照射+PEG-Hb群では腫瘍容積が縮少した。

PEG-Hbの臨床第1相試験(#HGB-6001)が施行された。PEG-Hbは71mL (Hb濃度4.2g)~624mL (Hb濃度37.7g)がボランティアへ投与された。PEG-Hb 8.33mL/kg投与時の血中半減期は約28時間であった。PEG-Hbの投与により、血中メトヘモグロビン濃度が増加し、ハプトグロビン濃度は減少した。一般にヘモグロビンによる一酸化窒素(NO)の不活化で血圧上昇、食欲不振、消化不良、腹痛が出現するとされる。PEG-Hbの投与で一時的な収縮期血圧の上昇がみられたが拡張期血圧は上昇しなかった。また、PEG-Hbの投与により消化不良、食欲不振、鼓腸、軽度・中等度・重度の腹痛が観察された。そこで、PEG-Hbのメトヘモグロビン及びハプトグロビンを除去すると副作用の出現頻度が減少し、さらに重症度が軽減した。現在臨床第1相B試験が進行中である。

5. Hemolink™: Development and Clinical Findings

Magnin A. Hemosol Inc., Canada.

Hemolinkはpolymerized hemoglobin(分子間架橋ヘモグロビン)である。赤血球を溶血させ殺菌後self-displacement chromatographyでpurifyしHbA₀を製造する。そしてα-raffinoseを用いてdimer(32kDa)に解離したヘモグロビンをβ-β分子間に架橋してtetramer(64kDa)とし、さらにα-raffinoseとの反応時間を延長することでtetramer同士を架橋してoctomer(n=2), oligomer(n=3~9), polymer(n≥10)となる(nはtetramer即ちヘモグロビン1分子)。Tetramerの割合が40%の時oligomerが40%, octomerが20%, polymerが0%となり最も理想的であった。

Hemolinkはヘモグロビン濃度10g/dL, メトヘモグロビン比率10%以下, P₅₀は34mmHg, Hill係数は1, pHは7.5, 膜質浸透圧は24mmHg, 粘度は1cPで乳酸加リンゲル液に溶解して使用する。臨床第1相試験は33人の男性にHemolinkを25~600mg/kg, 10mL/minの速度で投与した。対照は乳酸加リンゲル液を投与した男性42人で、無作為ダブルblind法で検討した。血中半減期はtetramer(64kDa)もoligomer(>64kDa)も投与量が多いほど延長した。Hemolinkの投与により血中ハプトグロビンが減少した。Hemolinkはハプトグロビンと結合し、ハプトグロビンはHbA₀と選択的に結合する。HbA₀はHemolinkハプトグロビン複合体を分離しない。Hemolinkとハプトグロビン複合体は速やかに除去される。Hemolinkの投与により一時的に血圧は軽度上昇し投与量が多いほど延長した。

Hemolinkの投与により酸素飽和度、肺機能、血液凝固系に変化はなかった。またBUN, クレアチニン、クレアチニクリアランスも正常だった。Hemolinkの尿中排泄量は少なくとも第1相試験の投与量では無視できるものであった。次にHemolinkの免疫能へ及ぼす影響について検討した。ラットへHemolinkを600mg/kgずつ5週間繰り返し投与し、抗Hemolink IgG抗体値、アナフィラキシー反応、肝、心、肺、腎、脾の病理学的検討を行ったが特に問題はなかった。しかし、Hemolinkにより鼓脹、腹痛、消化不良、食思不振、心窩部痛がみられ、症状は400mg/kgでは軽度だが、500mg/kgでは中等度から重度の症状が観察された。これらの症状は平滑筋弛緩剤の投与で軽快した。そこで、ラットの空腸内へバルーンカテーテルを挿入し平均内腔圧(MIP)を測定した。ラットに輸血をしたが、血圧(MAP)は上昇せずMIPも上昇しなかった。次にHemolink 600mg/kgを投与したところ、MAPが上昇し、MIPに小さな多数のスパイクが観察された。次に、同量のHemolinkを投与後にニトログリセリンを投与したところスパイクは消失した。以上よりHemolinkの血圧上昇は軽度で、胃腸痛も一過性でコントロール可能である。間もなく第2相試験へ入る予定である。

6. Somatogen Incorporate Update

Caspari RF. Somatogen Inc.

[臨床試験]

1992年~1993年に第1相試験、1995年に前第2相試験、1996年

から第2相試験を北米で開始した。1997年よりヨーロッパで治験を開始し、また体外循環の第2相試験の開始を計画しており、その結果をふまえて製剤の最終的な剤型を決定する予定である。第2相試験L006は外科手術でのOptro™(ヒトリコンビナントヘモグロビン)(LY320052;rHb1,1)と輸血との比較治験である。多施設、無作為、シングルblind, active-controlled, パラレルなスタディである。患者は無作為選択され、いずれも術中に2~4単位の輸血が必要と予想される症例で、1~4単位のOptro(25g~100g Hb)または輸血を術中に出血が起こる前に予防的に投与する。米国132施設、カナダ5施設を見込んでいる。Optroを投与するか否かの判断は術中または術後7日間に輸血が必要か否かである。この治験でOptroの安全性とpharmacokineticsを検討する予定である。第2相試験L007は実際に術中出血により2~6単位の輸血を必要とする患者で1~4単位のOptroまたは輸血を術中出血による貧血治療のため投与する計画である。ヨーロッパ20施設で200例を見込んでいる。また同時に体外循環、外傷に対する使用も計画している。

1996年より末期腎臓病患者、悪性腫瘍に対する第1相試験が開始された。第1相試験HP-012-HBは末期腎臓病患者を対象に多施設、無作為、ダブルblind, placebo-controlled, dose-rangingスタディである。対象は6ヵ月あるいはそれ以上の期間血液透析を受けており、エリスロポエチン投与が必要な症例である。米国5施設50例の計画である。また、癌治療のため二次性骨髄機能不全でmyelodysplastic syndromeの患者を1施設20例を対象に治験を行っている。

[前臨床試験]

動物モデルで³²P NMRを用いて組織への酸素運搬効果を検討し、さらに血液とOptroの酸素運搬の相違、また、同一Hb濃度でのOptroと血液との酸素運搬の相違、さらに、出血性hypovolemic animal modelを使用し酸素負債にたいする返済(repayment)や循環動態について検討する。

[製造]

第2相試験を実行するには年間6,000Lを生産し、小さなバッグに保存して冷蔵庫の中で9ヵ月以上安定して保存できる品質が求められる。さらにLilly社が計画している第3相試験の為のバイロットスタディを実施する為には50,000Lに生産能力を上げなければならない。最終的にはその倍の生産が必要となろう。

[研究開発]

さらに高品質の製品を得るため、第二世代のリコンビナントヘモグロビンの開発に着手している。従来のrHb1,1より血圧の上昇は軽度で持続時間も短縮し、血中半減期も2倍に延長し、さらに、食道の蠕動亢進も見られなかった。これからin vitroでヘモグロビンがα, αα, βのサブユニットに分離することがin vivoでどの様に影響するか。また、ヘムポケットへのNOや活性酸素の結合をいかに防止するかが今後の課題である。

学会報告

第6回国際血液代替物シンポジウム(モントリオール)見聞録

北海道赤十字血液センター 池淵研二

英語よりはフランス語が多く耳に入るカナダケベック州モントリオールで8月4日から3日間、第6回国際血液代替物シンポジウムが開催された。涼しいと思った予想ははずれ歩くと汗のにじむ陽気であり、会場となったマクギル大学の講堂は多くの研究者の活発な討論のため、さらに熱くなっていた。私はこれまで主に造血幹細胞、前駆細胞を専門に研究しており、この分野に関してはお粗末なキャリアしかない。この学会に参加して、赤血球代替物分野にはヘモグロビン分子そのものを扱う多くの生化学者が参加していることを始めて知った。

赤血球には、酸素を運搬する以外に、ヘモグロビンの自己酸化を抑制する機構、あるいは末梢循環不全や組織虚血の際に発生する各種酸素ラジカルを消去する機能があり、赤血球代替物にもこれらの機能を保有させることが重要なテーマとなっている。そこで、安定なニトロキシラジカル(ニトロキサイド)、還元型グルタチオン、SOD、カタラーゼなどをヘモグロビン分子内に導入するといった改造の試みが多く発表されており、合目的に加工できる可能性がまだまだあることを知った。

多くの発表から、血管内皮細胞の細胞間隙から内皮下組織に進入したヘモグロビン分子は、血管内皮由来筋弛緩因子(EDRF)である一酸化窒素(NO)を結合し不活性化させることができ、ヘモグロビン投与による血圧上昇の成因であることを理解した。しかしきつつの施設から、ヘモグロビンの血管収縮作用がNO合成酵素インヒビターであまり抑制されないこと、血管内皮非依存性血管拡張剤の作用とヘモグロビンが拮抗しないことなどの報告が

あり、ヘモグロビン投与による血管収縮機構にNO依存性とNO非依存性の系が存在することが示唆された。また、クロスリンクヘモグロビン投与により血中のエンドセリンが増加する現象から昇圧機序の1つにエンドセリンの関与を示唆するグループ、反対にクロスリンクヘモグロビン投与時の血圧上昇のパターンとプロエンドセリン投与による血圧上昇のパターンの違いから、エンドセリンの関与を否定するグループの両者からの報告もあった。エンドセリン転換酵素阻害剤やエンドセリン受容体阻害剤投与によってもヘモグロビン惹起性の血圧上昇が抑制されないデータも報告された。

血液代替物の生体適合性はもうひとつの重要なテーマである。リポソーム型ヘモグロビンを血清とインキュベートすると、補体活性が消費され、補体分解産物が増加しリポソーム表面に補体の一部が沈着する現象を観察したグループと、補体系には影響がなかったとするグループが混在した。凝固系に関しては、PT不变、APTT延長を示し、凝固因子のうち第IX因子が単独で低下することから、ヘモグロビン分子中のプラスに荷電した残基と第IX因子のマイナスに荷電した残基との間で相互作用が生じ、第IX因子と血小板間での複合体形成を干渉するモデルが提出された。リポソーム型ヘモグロビン投与が、血球系にはほとんど影響を与えないとするグループが多い中、一過性に血小板減少を誘導することを観察したグループの報告が紹介された。リポソーム型ヘモグロビン輸注後、ラベルした血小板は一過性に肺、肝臓に蓄積するが、60分以内に再び血中に移行し、これは補体を介する現象であることが動物実験で示された。さらなる解明が必要な分野と思われる。

単球/マクロファージがリポソームを活発に貪食することはよく知られており、これらの網内系細胞がリポソームを貪食

することにより産生する各種のサイトカイン、特に生体防御に関与するものへの影響は臨床応用上重要な問題と考えられる。我々も電顕像で単球がリポソームを貪食することを確認し、こうした単球のサイトカイン産生、特にIL-6、IL-8、TNF- α の産生を検討したところ、正にも負にも影響を受ける結果を得た。今回、他の施設からこれらサイトカイン産生には変化がないとの報告もあったが、我々は更に十分議論できるデータを集積しようと考えている。

リポソームはその表面にリポポリサッカライド(LPS)を吸着しその活性を高め、生体防御に影響することが報告された。リポソーム型ヘモグロビンを臨床応用する場合、リポソームが生体防御機能に及ぼす影響は重要なポイントの1つである。特に投与の対象となる疾患を想定すると、重篤な影響がでる例も考えられる。

バクスター社が開発したジアスピリンクロスリンクヘモグロビン(DCLHb)、テルモ社が開発したリポソーム型ヘモグロビン(ネオレッドセル:NRC)のin vivo投与成績も注目されたが、他稿で詳細に報告があるので割愛した。

●事務局たより

日本血液代替物学会 第3回 定期総会 議事録

日時：平成7年6月18日(火) 13:30-14:00

会場：福島ビューホテル

1. 開会

2. 会長挨拶

3. 議事

- 1) 平成7年度事業報告承認の件(資料1にて承認)
- 2) 平成7年度収支決算承認の件(資料2aおよび2bにて承認)
- 3) 平成8年度事業計画(資料3aにて承認)および収支予算決議の件(資料3bにて承認)
- 4) その他

評議員会(6/17)にて川村評議員(札幌北楡病院)より、血液代替物開発企業に対するガイドラインや広く社会に代替物の将来像を明示する「みらい委員会(仮称)」の設置が提案された。総会では、これらの課題で座談会を広報するなど提案があった。理事会にて前向きに検討することとした。

4. 閉会

資料1—平成7年度事業報告(平成7年4月1日～平成8年3月31日)

- 1) 第1回定期総会—平成7年6月19日(月)フォーシーズンズホテル
- 2) 第2回年次大会—平成7年6月19日(月), 20日(火)フォーシーズンズホテル
大会長講演、教育講演4件、特別講演2件、一般演題11件、ワークショップ5件、シンポジウム6件、特別発言1件。参加者延べ250名
- 3) 会誌「人工血液」の発行—第3巻2号(39頁), 第3巻3号(21頁), 第3巻4号(23頁), 第4巻1号(21頁)各1000部発行。

4) 理事会

95/1: 平成7年 6月19日(月) 事業報告/収支決算/事業計画/予算の承認

95/2: 平成7年12月14日(月) 評議員会報告/理事選任/年次大会準備/第7回血液代替物国際会議

94/3: 平成8年 1月24日(水) 評議員会活動年次大会準備/輸血学会国際会議への対応/第7回血液代替物国際会議準備協議

5) 編集委員会

95/1: 平成7年 8月 9日(火) 年次大会関連原著論文審査状況／広告／編集方針

95/2: 平成8年 1月24日(水) 連載企画／年次大会関連原著論文審査状況

95/3: 平成8年 3月 4日(金) 投稿に審査手順の協議／年次大会関連原著論文審査状況

6) 血液代替物前臨床評価試験専門委員会

第5回: 平成7年 6月20日(火) 規格／評価試験結果

第6回: 平成7年 10月24日(火) 契約期間延長/試料規格／試料配布

第7回: 平成8年 12月14日(木) 試料評価進捗報告／試料配布状況

第8回: 平成8年 1月24日(水) 試料評価報告／報告書および会計報告書作成

第9回: 平成8年 3月 4日(月)評価報告／評価の総括

資料2a—平成7年度会計報告収支決算表(自平成7年4月1日 至平成8年3月31日)

収入		支出	
摘要	金額	摘要	金額
前期繰越金	3,968,331	会誌出版費	2,795,628
正会員会費	1,120,000	集会・委員会費	1,306,962
賛助会員会費	2,800,000	年会補助費	1,000,618
維持会員会費	8,000,000	国際会議準備会拠出金	1,000,000
購読会員会費	156,000	広報活動費	157,040
入会金	10,000	事務人件費	3,865,536
評議委員会一般事務費	1,200,000	事務費	713,645
広告代・雑収入	221,500	基金組込	2,000,000
寄付	50,000	次期繰越金	4,774,881
利息	88,479		
合計	17,614,310	合計	17,614,310

資料2b—貸借対照表(平成8年3月31日現在)

貸方		借方	
摘要	金額	摘要	金額
現金	710,741	基金	6,000,000
郵便振替	50	次期繰越金	4,774,881
銀行普通預金	3,949,870		
銀行預金(編集)	114,220		
銀行定期預金	6,000,000		
合計	10,774,881	合計	10,774,881

資料3a—平成8年度事業計画(平成8年4月1日～平成9年3月31日)

- 1) 第3回定期総会の開催—平成8年6月19日(火)福島ビューホテル
- 2) 第3回年次大会の開催(大会長 元木 良一)—平成7年6月18日(火), 19日(水)福島ビューホテル
- 3) 「人工血液」の発行—第4巻2号(6月), 3号(9月), 4号(12月), 第5巻1号(3月)の発行予定。1000～1200部印刷。
- 4) 会議—総会 1回, 評議員会 1回, 監事會 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) 第7回国際血液代替物シンポジウムの準備

資料3b—平成8年度予算(自平成8年4月1日 至平成9年3月31日)

収入		支出	
摘要	金額	摘要	金額
前期繰越金	4,774,881	会誌出版費	3,400,000
正会員会費	1,250,000	集会・委員会費	2,000,000
賛助会員会費	3,400,000	年会補助金	1,000,000
維持会員会費	6,000,000	国際会議準備会拠出金	1,000,000
購読会員会費	160,000	事務人件費	3,800,000
入会金	20,000	事務費	900,000
広告代・雑収入	200,000	基金組込	2,000,000
利息	80,000	予備費	1,784,881
合計	15,884,881	合計	15,884,881

●事務局たより

資料4—日本血液代替物学会 役員名簿

顧問	尾形 利郎 高久 史麿 堀 原一	東海大学 医学部 教授 自治医科大学 学長 筑波大学 名誉教授
会長	土田 英俊	早稲田大学 理工学部 教授
副会長	関口 定美	北海道赤十字血液センター 所長
庶務理事	小林 紘一	慶應義塾大学 医学部 教授
会計理事	藤村 一	生産開発科学研究所 学術顧問
理事	阿岸 鉄三 池田 康夫 清水 勝 友田 煉夫 元木 良一 湯浅 晋治	東京女子医科大学 教授 慶應義塾大学 医学部 教授 東京女子医科大学 教授 東京医科大学 教授 福島県立医科大学 教授 順天堂大学 医学部 教授
(事務局長) (会誌担当)	西出 宏之 池淵 研二	早稲田大学 理工学部 教授 北海道赤十字血液センター 副所長
監事	桜井 靖久 遠山 博	東京女子医科大学 教授 埼玉医科大学 総合医療センター 所長

日本血液代替物学会 評議員名簿

阿岸 鉄三	東京女子医科大学 教授	高折 益彦	川崎医科大学 名誉教授
浅野 茂隆	東京大学 医科学研究所 教授	高久 史麿	自治医科大学 学長
阿部喜代司	医療技術短期大学 教授	高橋 晃	テルモ(株) 常務取締役
飯塚哲太郎	理化学研究所 主任研究員	田中 勘	防衛医科大学 教授
池田 康夫	慶應義塾大学 医学部 教授	土田 英俊	早稲田大学 理工学部 教授
池淵 研二	北海道赤十字血液センター 副所長	土屋 喜一	早稲田大学 理工学部 教授
大柳 治正	近畿大学 医学部 教授	遠山 博	埼玉医科大学 総合医療センター 所長
岡田 浩佑	広島大学 医学部 教授	豊田 忠之	東部地域病院 院長
尾形 利郎	東海大学 医学部 教授	友田 煉夫	東京医科大学 教授
川村 明夫	札幌北楡病院 院長	中井 一士	血液製剤調査機構 理事
小林 紘一	慶應義塾大学 医学部 教授	西 勝英	熊本大学 医学部 教授
小室 勝利	国立予防衛生研究所 部長	西出 宏之	早稲田大学 理工学部 教授
齋藤 英彦	名古屋大学 医学部 学部長	馬場 正三	浜松医科大学 教授
酒井 清孝	早稲田大学 理工学部 教授	藤巻 道男	東洋公衆衛生学院 学院長
桜井 靖久	東京女子医科大学 教授	藤村 一	生産開発科学研究所 学術顧問
鮫島 達也	青山学院大学 理工学部 教授	堀 原一	筑波大学 名誉教授
四釜 慶治	東北大大学 理学部 教授	宮崎 保	札幌南通信病院 院長
清水 勝	東京女子医科大学 教授	元木 良一	福島県立医科大学 教授
十字 猛夫	日本赤十字社中央血液センター 所長	湯浅 晋治	順天堂大学 医学部 教授
杉田 良樹	茨城県立医療大学 教授	横山 和正	(株)ミドリ十字 常務取締役
関口 定美	北海道赤十字血液センター 所長	(敬称略, ア順)	

投稿規定 Short Version

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ます。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。

- 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. リポソームの調製. 野島庄七, 砂本順三, 井上圭三編. リポソーム. 東京: 南江堂, 1988;21-40.
3. Fowler SA, Andracci 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

●池淵研二（委員長）、薄場 彰、柿崎 徹、武岡真司、西出宏之、宮尾秀樹、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. 4 (3) 1996年9月30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