

目 次

人工血液

第4巻 第4号 1996年12月

総説 厚生科学研究事業における血液代替物研究	関口定美	85
巨核球/血小板増殖因子の臨床応用の現状	畠 清彦	90
原著 Neo Red Cellを用いた心単純浸漬保存の研究	船越陽一	94
ネオレッドセル(NRC)の循環動態、循環血液量、並びに酸素消費量維持効果	福井 明	98

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 4 No. 4 December, 1996

Review:

<i>Blood substitute research of the national health and welfare science</i>	Sadayoshi Sekiguchi	85
---	---------------------	----

<i>Present status of clinical application of megakaryocyte/platelet stimulating factors</i>	Kiyohiko Hatake	90
---	-----------------	----

Original Article:

<i>Cold preservation of heart using Neo Red Cell Solution</i>	Yoichi Funakoshi	94
---	------------------	----

<i>Effect of liposome encapsulated hemoglobin "Neo Red Cells" as a treatment agent for severe hemorrhagic shock and isovolemic hemodilution in dogs -Effects in hemodynamic variables, blood volume, and oxygen consumption-</i>	Akira Fukui	98
--	-------------	----

会 告

「第7回血液代替物国際会議」を平成9年9月東京で開催することが決定されました。第1回が1977年 Washington, DC にて開催された本会議は、米国の研究者を中心として第6回（1996年、Montreal）まで全て北米地域で開催されてきました。この度、本学会の活動との分野に対する我が国臨床医の強い関心が認められ、北米大陸を離れた企画として同国際委員会から東京が開催地として選ばれました。

米国では数グループが新しい代替物の臨床第3相試験をまさに終了しつつあります。本会議ではまず、主に米国で第一線にある臨床・基礎研究者に最先端の臨床成果を報告願い、我が国での研究成果も交えて討論を行い、血液代替物の効能と適応例と併せ、副作用など未解決点も浮き彫りにする企画しております。血液代替物の効力評価や臨床への手順など基礎項目を現時点で整理したいいくつかの教育講演と併せ、血小板代替物など新しい試みの将来展望も設けてあります。会員の皆様の積極的なご参加、ご討論を期待しております。

尚、本国際会議は第4回日本血液代替物学会年次大会と兼ねて開催致します。

記

第7回 血液代替物国際会議 (7-ISBS)

主 催： 日本血液代替物学会
日 時： 1997年9月8日（月）8:30～10日（水）
会 場： 早稲田大学 国際会議場 〒169-50 新宿区西早稲田1-6-1

セッション題目：

1. The Current Status of Blood Substitutes
2. The Target and Efficacy of Clinical Tests
3. Blood Service and Blood Substitute Market
4. Development of Encapsulated Hemoglobin
5. Efficacy Assessment
6. Hemoglobin Toxicity and Safety Evaluation
7. Perfluoroochemicals
8. Platelet Substitutes
9. Other than Red Cell Substitutes

参加要領：

- 1) 登録料 予約（〆切1997年5月31日）一般50,000円 学生11,000円
当日 一般60,000円 学生16,000円
- 2) 申込先：〒169 新宿区大久保3-4-1 早稲田大学理工学総合研究センター55S-701
第7回血液代替物国際会議 事務局宛
Phone: 03-3200-2669 Fax: 03-3205-4740

厚生科学研究事業における血液代替物研究

関口定美

Sadayoshi Sekiguchi

はじめに

安全な輸血は輸血医学に求められる最も重要なコンセプトである。このためあらゆる手段を駆使して輸血血液の安全性確保に努力するが、他人の血液が輸血される以上、輸血はいわば移植の一種であり、感作、感染は完全には避け得ない副作用である。かかる観点からは副作用なく輸血の効果を上げるにはむしろ他人の血液すなわち同種血液の輸血をできるだけ避け、可能なかぎり自己血を利用するか、輸血に匹敵する血液ではないその代替物を造るか、あるいは代替療法を実現させることが必要である。

ABO血液型によらない、必要な時にいつでも自由に使える人工血液の出現をすべての人が望んでいたが、今こそ安全な輸血を考えるには人血液によらない血液代替物が要求される時代へと変化してきたのである。

厚生科学研究・血液研究事業として血液代替物の研究を取り上げるに際し、その背景と研究の現状について述べてみる。

1.世界における血液代替物開発の現状

多くの機能を有する血液はいわば一つの臓器ともいえるものであり、このすべてを含む人工的な血液をつくり出すことは今のところ不可能である。現在、この分野での開発の目的とするところは血液の有するある一つの機能を代替する製剤に向かっており、人工血液というよりは血液代替物というべきである。近年とくに開発研究が進んだものは赤血球の代替物であり、アメリカを中心に多くの候補が上がっている。

赤血球代替物は赤血球の主な機能である酸素運搬能を代替することから人工的な酸素運搬体であるが、その基となるものはヒトヘモグロビンを利用するか、ウシヘモグロビンを使うか、遺伝子組み換えヒトヘモグロビンあるいは酸素運搬能のある人工物であるパーフルオロケミカル(PFC)を用いるかである。現在米国で展開されている主な赤血球代替物はヘモグロビンを利用したものであるが、最大の課題は血中半減期延長と酸素親和性の低下をはかることであり、このために種々な方法でヘモグロビンを修飾しなければならない(表1)。

現在第2相臨床試験へ進んだBaxter Healthcare社(Deerfield, IL)のヘモグロビン修飾体は、 α 鎖間にbis(3,5-dibromosalicyl)fumarate(DBBF)により分子内架橋が施され、テトラマーの解離を防ぐことで血清アルブミン程度の分子量を維持し、腎からの排泄を回避したものである。血中半減期はラットで4.3時間(未修飾ヘモグロビンでは1.2時間)、ウサギで16時間、ヒトで24時間である。ただし、一部は尿中にも排泄されていることが最近確認され、分子内架橋のみでは腎からの排泄を完全に回避することは不可能であ

り、またそのことによる腎尿細管への障害の可能性も解決されていない。一方、酸素親和性の指標であるP₅₀は29mmHgを示し全血(26~28mmHg)に相当する(未修飾ヘモグロビンで6~12mmHg)。膠質浸透圧(COP)は高く、血液に相当するレベルを維持するにはヘモグロビン7 g/dLが限界であるが、現在のところ酸素運搬を優先して臨床試験は高COPで行われている。同じく分子内架橋法によるヘモグロビン修飾体としてSomatogen社(Broomfield, CO)より遺伝子組み換えヘモグロビンが開発されており、第2相臨床試験に進んでいる。β-globin遺伝子上に導入した点変異(Asn-108b→Lys)により分子間に架橋が生じ、血中半減期(未修飾ヘモグロビンの3~4倍)および酸素親和性(P₅₀ 33mmHg)の制御に成功した。このものも分子内架橋法共通の課題としてCOPの上昇が問題であり、血液と同程度のCOPに維持するにはヘモグロビン濃度で5~8g/dLに制御される。そのため酸素運搬能を有する血漿增量剤としての性格を強調せざるを得ない。

分子間架橋型ヘモグロビンとしてはNorthfield社(Northfield, IL)よりグルタルアルデヒド重合ヘモグロビンが開発され、出血性ショックを対象に第2相臨床試験が開始されている。平均分子量15万、P₅₀ 18-22mmHg、COP 20-25mmHg(12-14 g/dL)であり、このタイプの特徴として分子間架橋が進むほどCOPが低下するため、セルフリー型では唯一ヘモグロビン濃度14 g/dL程度の輸注が可能である。しかし、重合反応の制御が難しく製剤としての評価が難しい。一方、ウシヘモグロビンは2,3-DPGなど特殊なりガンドがなくとも酸素親和性が極めて低く、そのため酸素運搬効率も高い。Biopure社ではウシヘモグロビンの分子間架橋型修飾体を開発し、第1相臨床試験を終了している。このほかヘモグロビン修飾体としてpolyethyleneglycol(PEG)を抱き合わせたヘモグロビン修飾体も開発されている。わが国の味の素で開発された安定化ヘモグロビンは米国での第1相臨床試験開始の許可を既に取得した。酸素親和性は2,3-DPG結合部分に立体構造の類似したpyridoxal-5'-phosphate(PLP)を化学修飾する方法で調節し、腎からの排泄はPEG結合によって分子量を増大させることで解決した。血中半減期は80%交換輸血でラット18時間、イヌ36時間である。1日おきに3回投与しても腎臓などへの影響は極めて小さいことが証明されており、短い期間であれば同種血を用いず人工酸素運搬体のみで赤血球輸血の代替も可能と期待される。また、Enzon社(Piscataway, NJ)によりPEG修飾ウシヘモグロビンが開発されているが、詳細は公表されていない。しかし、PEG化はCOPの増加を招き、輸注可能なヘモグロビン濃度は味の素で7.8 g/dL(COP 34mmHg)、Enzonで5-6g/dL(5 g/dLでCOP 22mmHg)に制限されている。

北海道赤十字血液センター, 〒063 札幌市西区山の手2-2.

Hokkaido Red Cross Blood Center, 2-2 Yamanote, Nishi-ku, Sapporo 063, Japan.

表1 ヘモグロビン修飾体の特性

	Baxter Healthcare	Somatogen	Biopure	Northfield	味の素
ヘモグロビン原料	ヒトヘモグロビン	組換えヘモグロビン	ウシヘモグロビン	ヒトヘモグロビン	ヒトヘモグロビン
修飾法	分子内架橋	分子内架橋	分子間架橋	分子間架橋	PEG修飾
分子量	65,000	65,000	68,000-650,000	64,000-400,000	90,000
最適Hb濃度(g/dL)	10-14	7.5	14	12-14	7.8(10.4)
P ₅₀ (mmHg)	32	29	21-24	18-22	20
COP(mmHg)	30-55	20	20	20-25	34(40)
粘性(cP)	血漿程度	血漿程度	-	3.8	2.7(3.6)
血中半減期(hr)	4.3(ラット) 16(ウサギ)	3.3(イヌ)	-	46.2(ヒヒ)	18(ラット) 36(イヌ)
メトHb濃度(%)	3	-	3(<10)	<5	3.5(4.3)

ヒト赤血球のP₅₀は26-28mmHg, 全血のCOP20mmHg, 粘性は血漿1.2cP, 全血4.1cP

2.わが国における血液代替物研究

1) 赤血球代替物

わが国における人工血液の研究は1960年代に行われた蓑島高北教授らの研究に始まる。還元型コバルトヒスチジン複合体が酸素分圧の変化に伴って酸素を吸脱着することを利用し、酸素運搬体への応用を考えた。“人工血色素”と命名された複合体はデオキシ型で、無色またはピンク色であるが、酸素加によりオキシ型のコハク色に変化する。ただし、分子量が小さく血中半減期が短いこと、また生理的な条件では不可逆性の化合物を作る欠点があり実用化は困難であったが、完全合成物による酸素運搬体開発という点で、人工酸素運搬体の歴史の中で極めて先駆的な仕事である。さらにわが国においては酸素溶解能に優れたフッソ化合物であるフルオロカーボン(FC)を酸素運搬体として利用したミドリ十字の内藤らの研究がある。FCは疎水性であるため、界面活性剤により乳化し、血管内に投与可能とした。彼らが現在までに多くの臨床試験をしてきたのはFluosol-DAで、乳化性と体内蓄積性を考慮して主成分にperfluorodecarinを採用し、血中での安定性を目的としてperfluorotripropylamine(FTP)を加え、pluronic F-68と卵黄リン脂質で乳化したものである。主に適合血が間に合わない場合や宗教上の理由で輸血を拒む場合に多くの症例に応用された。しかし、赤血球に比べて酸素運搬能が低いこと、冷凍保存が必要なこと、高濃度の酸素呼吸管理を必要とし手軽に扱えないこと、さらに安定性を高める目的で加えたFTPが大量使用時における生体内蓄積性や網内系への影響の原因となり、一般の輸血には適さないと判断された。その後、欧米ではPTCAなど局所循環の改善を目的として術式を限定して適応が認められたが、需要がなくFluosol-DAの供給は欧米を含め1996年中には停止されることとなった。

すでに紹介したが、わが国で積極的に開発を行っていたのが味の素で、酸素親和性にはPLP、分子量はPEGを結合させたPLP-PEG-Hbである。第1相臨床試験以降はわが国よりもむしろ米国において研究を展開させる様である。

米国で開発されているヘモグロビンをベースとする赤血球代替物は味の素のものを含めいわばcell-free型ヘモグロビン修飾体と

いうべきものである。これに対しヘモグロビンを人工膜などで小胞体に包埋し、細胞型のヘモグロビンとすることも可能である。この場合、機能としては酸素運搬能の代替にとどまるが、形態的には人工赤血球と呼べるものである。小胞体を作成する方法としてはリン脂質二重層からなるリポソームを用いる方法が一般的であり、酸素親和性調節は包埋時にヘモグロビンと共にPLPやinositol hexaphosphate(IHP)を加える。ヘモグロビンを濃縮して封入すれば、膠質浸透圧、粘性の問題もない。解糖系の基質を添加しておくことでリポソーム内でNADH、2,3-DPGが産生され、それぞれメトヘモグロビン還元や酸素親和性調節に有効なことも実証されている。わが国においてはリポソーム化の研究が盛んで、むしろ人工細胞型ヘモグロビン修飾体として発展している。現在、テルモが開発中のリポソームは表面にPEG修飾を施しリポソームの安定性を強化したものが、凍結保存は不可能で液状保存が行われる。いずれも粒子の大きさは200nm程度に制御されている。この製剤では酸素親和性をIHPを添加することにより調節するが、すでに交換輸血実験が行われ、酸素運搬能や急性毒性に関する結果も良好である。なお現在このものの評価は日本血液代替物学会で行われており、種々な課題が解決された上で臨床試験に入ることとなろう。

この他わが国で行われている研究としては、完全な人工物である、土田らによって開発された化学合成ヘムがある。合成ヘムの四本の側鎖に囲まれた疎水的ドメインに酸素が脱着でき、リポソームのリン脂質二重層の中に埋め込んだり、栄養輸液の脂肪小球表面に加工する工夫が行われている。酸素運搬能はヒト血液より優れたものであり、今後はヘモグロビン包埋リポソームと同様に研究が進められると思う。

2) 原料としてのヒト赤血球

ヘモグロビン修飾体の原料となるヘモグロビンを人赤血球に求めるならば、輸血に使用されない赤血球が対象となる。1994年における、わが国の献血の総数は661万人で、全血の献血は400mL235万人(35.6%), 200mL280万人(41.8%), 成分献血150万人(22.5%)である。全血で献血された血液は全血あるいは赤血球製剤として輸血されるが、その総供給量は200mL由来製剤に換算し

表2 平成6年度 全血採血、赤血球含有製剤供給、減損数

	400ml	200ml (bags)
採血数	2,470,000	2,640,000
供給数	1,970,000	1,980,000
減損数	500,000	660,000
	(20%)	(25%)
製品前減損	300,000	280,000
	(12%)	(11%)
製品後減損	200,000	380,000
	(8%)	(14%)

製品後減損: 109,200L, 減損とは実際に使用されない血液を示す。

て約600万単位に達している。献血されても輸血に使用されない血液はウイルスをはじめとする検査が陽性のため、あるいは有効期限の21日を過ぎたためである。検査が陽性によって非使用となるものはヘモグロビン原料としては不適であるため、期限切れの輸血非使用血が適切な原料となる。この量は表2に示すごとく総量約10万Lと推定される。

期限切れ赤血球由来ヘモグロビンの原料としての機能については閑口らの報告がある。

酸素親和性を調節する目的で還元PLPを結合させるが、新鮮血と期限切れ血によるものを比較したところPLP化率、P₅₀値いずれも差がなく期限切れ血を原料とするのは障害とならない。血液事業の立場からは期限切れ血を最小限におさえることが重要であるが一定数の期限切れは、緊急時のために血液を備蓄することからもやむを得ず、これらの血液を人工赤血球に蘇らせることは善意の献血の有効利用となる。なお米国においては赤血球製剤は不足しており、有効期限も35日とわが国と比べ長いが、このことがウシヘモグロビンあるいは組み換えヘモグロビンの開発研究に力がそがれる原因ともなっている。

3) その他の血液代替物

赤血球代替物のほかに注目されている研究に人工血小板と組み換え血漿蛋白製剤、とくに第VIII因子製剤とアルブミンがある。

血小板は傷害を受けた血管内皮に接触し、粘着、凝集反応により止血機序の中心的な役割を担う無核細胞である。この時、血小板は多数の液性因子を放出し、血液凝固の促進、血栓形成へと導く。血小板由来増殖因子も放出され、組織の修復にも関与する。このような複雑な機能を有する血小板の人工代替物作成においては、血小板のいかなる機能を代替させるのかを絞る必要がある。

わが国における人工血小板の研究は少なく、リポソーム表面に血小板膜分画よりえられる機能分子を接着させて血小板の代替物とする試みが池田らによりなされている。この研究ではGPIb-IX上のどのドメインが粘着などに関与するかを検討し、必要最小単位の組換え蛋白質の固相化を目指しており、血小板粘着など代替する血小板機能をより鮮明にした点が注目されている。

わが国で市販、臨床応用されている組み換え第VIII因子(Kogenate)はヒト第VIII因子遺伝子のcDNAをベビーハムスター腎細胞に組み込み、無血清培地で培養し、上清中のr-F VIIIを精製

表3 Blood Transfusion in Near Future

Reduce Homologous Transfusion
Promote Autologous Transfusion
Application of Blood Substitutes
Hemoglobin-based Products
Recombinant Products
Cytokine Therapy
Epo, G-CSF, M-CSF
GM-CSF, IL-6 etc
Hematopoietic Stem Cell Application

したものである。すでに多数例の経験があり、inhibitior生成、長期連用による副作用の調査の段階に入っている。

遺伝子組み換えヒト血清アルブミンはミドリ十字が開発を行っており、ピキア酵母を宿主にして高密度菌体培養を行ってr-HSAをうるものである。99.9999996%の純度がコンスタントに得られ、既に80例をこす健康人、患者での投与を行い、副作用がおこっていないという。1999年ごろ供給開始というが、わが国では献血による完全な分画製剤の自給が課題であり、この開発に期待がもたれている。

3. 輸血医学からみた血液代替物

輸血は根治療法ではなく、あくまで補充療法である。輸血副作用のために原疾患治療の障壁となってはならず、risk/benefitがこの他強く求められる療法である。

ウイルススクリーニングの進歩の結果、輸血後当然と考えられた肝炎はわが国ではB型肝炎は0.0003%, C型肝炎は0.26%の発生率となり画期的な予防効果を示すまでになったが、なお致死的な輸血副作用であるTA-GVHDあるいはHIV感染の可能性は否定できない。過去、輸血用血液の十分な供給がないため、ヒト血液によらない、人工血液の出現を強く希望した時代はあったが、現在はむしろヒト由来の血液では、避けることのできない輸血副作用のために、むしろ輸血する血液を減らすことにより同種抗原暴露、ウイルス感染を予防し、riskを最少にして最大のbenefitを得ることが適切な輸血方法と考えられるようになった。

輸血、とくに同種輸血をいつ開始するかが討議され、手術における赤血球輸血では患者が術前正常の状態であればHb 10g/dL, Ht 30%からHg 7g/dL, Ht 23%まで低下しても、また血小板輸血では明らかな出血がなければ2×10⁴/μlまで輸血の必要はないと思われるようになっている。

このような輸血の観点から将来の輸血を考えると表3に示すような同種輸血を代替して行く対策が上げられ、血液代替物もその一つとして重要な位置を期待されている。輸血療法には絶対的な方法がない以上、riskを減らし、効果を上げるためにいろいろな療法が多岐選択的に利用され、またそれらの合併療法によってより効果を現すものと考えられる。同種血輸血が残るために血液の安全性でより強力な対策を講じることが必要であり、血液製剤のウイルス不活化、感染予防処置がなされることとなろう。

表4 厚生科学血液研究事業、代替血液製剤に関する研究 平成7年度 研究組織

研究者名	分担する研究項目	最終卒業学校・卒業年次・学位 及び専攻科目	所属施設及び現在の専門	所属施設における職名
関口定美	研究総括及びヘモグロビン由来赤血球代替物の修飾とその臨床応用の基準作成に関する研究	北海道大学医学部 昭和33年卒 医学博士 輸血学	北海道赤十字血液センター 輸血学 (北海道赤十字血液センター研究部)	所長
土田英俊	合成物による赤血球代替物の研究	早稲田大学大学院理工学研究科 昭和35年卒 工学博士 高分子化学	早稲田大学理工学部 高分子化学 (早稲田大学理工学部)	教授
池田康夫	血小板代替物の研究	慶應義塾大学医学部 昭和48年卒 医学博士 内科学	慶應義塾大学医学部 内科学 (慶應義塾大学医学部内科)	教授
長尾 大	遺伝子組換血液凝固因子の臨床展開に関する研究	東京大学医学部 昭和36年卒 医学博士 小児科学	神奈川県立こども医療センター 血液学 (神奈川県立こども医療センター)	部長
浅野茂隆	造血幹細胞移植の可能性と輸血の将来に関する研究	東京大学医学部 昭和43年卒 医学博士 内科学	東京大学医科学研究所病態薬理学 内科学 (東京大学医科学研究所)	教授
清水 勝	遺伝子組換アルブミンの臨床応用における基準作成に関する研究	東京大学医学部 昭和37年卒 医学博士 輸血学	東京女子医科大学 輸血学 (東京女子医科大学輸血部)	教授
新津洋司郎	造血関連サイトカインによる代替輸血療法に関する研究	札幌医科大学医学部 昭和42年卒 医学博士 内科学	札幌医科大学医学部内科学第4講座 内科学 (札幌医科大学医学部第4内科)	教授

4.厚生科学研究・血液研究事業における血液代替物研究

血液代替物の輸血医学における存在意義は明確になりつつあるが、1.何がどのような適応でつかわれるか、2.その安全性と効果はヒト由来製剤を凌駕するか、また3.その評価基準をどのように為すべきかなどが検討されねばならない。

血液研究事業における血液代替物研究はこれらの課題について研究することとなろう。

血液代替物の開発状況から研究の対象となるべき代替物は赤血球、r-F VIII、r-Albumin、人工血小板などであるが、最大、火急の課題は赤血球代替物である。

赤血球代替物としては原料となるヒトヘモグロビンの安全性の評価が重要であり、このためには如何にして完全に膜成分を除去し、純粋なcell-free Hbを作成するかである。膜成分存在の評価としてはリン脂質成分の測定、赤血球型成分のEIA法による微量測定法が確立している。Hbを赤血球代替物として利用するための課題は酸素親和性、体内停留である。このためのいくつかのHb修飾がなされるが、Hbのリポソーム包埋を行う細胞型とそうでない非細胞型では明らかな差異が生ずる。非細胞型では十分量のHbを含有するには膠質浸透圧(COP)が高くなり、ヒト赤血球のレベルには到達できること、分子量の小さい非細胞型Hb修飾体では血管内皮由来、血管弛緩因子不活化のため血圧上昇をまねくことなどが明らかとなっている。リポソーム包埋Hbである細胞型はこれらの問題を解決するが、均一性のある安定したリポソームを得るのは非常に難しく、またこのような人工粒子は、血液とくに血小板をはじめとする凝固能に対する影響を明確にする必要がある。

一方、代替物の酸素運搬体としての機能評価を行わねばならないが、酸素親和性を下げても、実質的な機能である酸素運搬効率改善には限界があり、材料としてのHbを含め、代替物そのものの設計を検討することも必要である。さらにヒトHbを利用する上では、いわゆる生物製剤にはほかならず、血漿分画製剤などのウイルス不活化処置がなされねばならないであろう。一方、ヒト由来製剤を全く否定した代替物を考えるならば酸素運搬を主機能とする完全合成物、あるいはリコンビナントヘモグロビンの利用が有力である。

さらに代替輸血法としてはエリスロポエチンの応用、造血幹細胞の増幅による体外造血の研究成果が、将来の赤血球代替物の適応に密接に関連することもあり、これら研究の実績を把握し、比較検討することも必要である。

血漿分画製剤の人工物である組み換えF VIII、アルブミンはそれが全くヒト血漿によらないことで献血という社会面での影響が大きい。r-F VIIIはすでに多くの臨床経験がなされ、inhibitor生成、長期運用による影響が研究調査の対象となるが、遺伝子組み換え製剤の長期投与ということから、その安全性の評価は他の組み換え製剤の今後に与える影響は大である。

組み換えアルブミンは、r-F VIIIを含め他の組み換え製剤と比べ

大量に投与することから、その純度とコストが問題とされているが、わが国においてはアルブミンの使いすぎが背景にあり、献血による自給をふまえ、臨床的に真にヒト由来アルブミンの人工的代替物が必要かどうかまず検討が必要であり、その結果とともに代替物としての評価を行うことが必要である。

現在、輸血で最も使用されているのは血小板製剤で、全体のほぼ40~45%に達している。しかも臨床的には白血球除去フィルターの使用、血小板成分献血によるsingle donor由来の高単位製剤が輸血されているため、一段とその安全性が高まっているが、なお解決されない新しい副作用ともいえる種々の合併症が報告されている。このため代替輸血法となる造血サイトカインであるトロンボポエチンなどの研究とともに人工血小板の開発研究も急がれている。

以上のような状況から厚生科学的研究、血液研究事業における血液代替物研究の意義と目標があり、表4の研究組織により、平成5年度からこの研究を展開している。

おわりに

血液代替物の世界、わが国における開発研究の状況、問題点、輸血療法における血液代替物の役割および厚生科学的研究・血液研究事業における血液代替物研究について概説した。

参考文献

1. 関口定美. 人工血液. 日本医師会雑誌 1992;108:1727-9.
2. 長尾 大. 遺伝子工学でつくられた凝固第VIII因子製剤. 医学のあゆみ1993;165:479.
3. 関口定美, 仲井邦彦. 輸血と代替輸血の適応と実際. 内科 1994; 74:551-5.
4. 関口定美. 血液事業と血液代替物. 人工血液 1994;2:3-8.
5. 関口定美, 仲井邦彦. 人工血液の歴史と現状. 日常診療と血液 1994;4:1581-6.
6. 横山和正, 辰田武司. 遺伝子組み換えアルブミン. 医学のあゆみ 1995;173:666-7.
7. 関口定美, 仲井邦彦. 人工血液の開発と臨床応用. 日本輸血学会誌 1995;41:131-8.
8. 関口定美, 仲井邦彦. 人工血液. Current Therapy 1995;13:490-8.
9. 関口定美, 仲井邦彦. 人工血液の現状と将来. Annual Review 血液1995, 中外医学社, 1995;33-40.
10. 関口定美, 仲井邦彦. 人工血液. DDSの進歩 1995-1996, 中山書店, 1995;222-7.
11. 厚生省血液研究事業; 平成5年度研究報告集, 代替血液に関する研究. 主任研究者関口定美, 1995;59-74.

巨核球/血小板増殖因子の臨床応用の現状

Present Status of Clinical Application of Megakaryocyte/Platelet Stimulating Factors

畠清彦

Kiyohiko Hatake

Clinical application of megakaryocyte/platelet stimulating factors including interleukins(IL-1, IL-3, IL-6, IL-11), colony-stimulating factors (M-CSF) and thrombopoietin, has been reviewed. The evaluation has been done by nadir of platelet count, duration of thrombocytopenia, and amounts of platelet transfusion. These factors have not yet been approved(except M-CSF), however, clinical trials showed that we can decrease the amount of platelet blood components for the prevention of bleeding. Not only platelet numbers but also platelet function should be considered, and artificial platelet can be tried. —Keywords: Platelet, Thrombocytopenia, Colony-stimulating factor, Thrombopoietin, Transfusion, Interleukins.

始めに

血小板・巨核球の増殖に関する因子としてインターロイキン3, 6, 11, thrombopoietin(TPO)がクローニングされ、単剤で骨髓異形成症候群、再生不良性貧血、化学療法後に臨床治験が行なわれている。すでに実用化されたG-CSFの単剤長期投与やerythropoietin(EPO)の併用により血小板数の増加が認められた症例や、血小板機能の上昇によると思われる止血効果の認められる症例の報告がある。白血病の地固め療法後のM-CSF投与でも血小

板製剤の輸注を節約できる事が証明された。TPOは巨核球の増殖・分化及び血小板の機能に対しても効果が期待され、有望視されている。日本で行なわれたサイトカインの臨床治験の結果から今後の展望について触れる。

現在血小板減少症に対して多くのサイトカインの臨床治験がなされている。これまでに出血防止または出血傾向の為に血小板製剤が多く使用されるのは、代替物質のないこと、また血小板製剤自体の保存がきかず、週末などに入手できない事が生じる事も一因である。現実に血液疾患において死因の中で出血によるものも多い。どのくらいの数があれば安全であるかは血小板減少症は疾患や状態で異なるが、血小板製剤の輸注には保険上の制限も存在する。更に現在血小板減少症に対する新薬の認可もこれからであり、治験での有効性を判断する基準も決定されているわけではない。ここではこれまでに行なわれた治験での成績と今後の課題について記したい。

骨髄幹細胞は多能性幹細胞から多能性コロニー形成単位、巨核

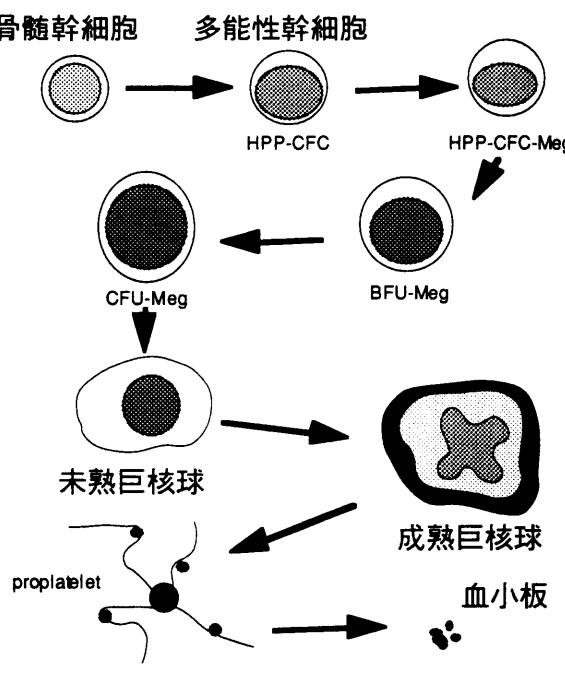


図1. 巨核球・血小板の成熟段階

表1. 巨核球/血小板産生に関するサイトカイン

- GM-CSF(granulocyte-macrophage CSF)
- M-CSF(macrophage CSF)
- IL-1, IL-3(Interleukin)
- IL-6, IL-11
- LIF(leukemia inhibitory factor)
- Oncostatin M(gp130)
- Megakaryocyte stimulating factor
- TPO(thrombopoietin)
- G-CSF, EPO(granulocyte CSF, erythropoietin)

表2. 最近20年間自治医科大学血液科死因の解析
(1974~1995年)

1.	感染症	231例			
	腫瘍死	123例			
	出血死	98例			
2.	血液疾患出血死の解析				
	中枢神経系	46例	肺	31例	
	うち 大脳	26例	消化管	17例	
	小脳	6例	腹部	6例	
	脳幹	2例	胸部	6例	
	くも膜下	13例	DIC	32例	
	硬膜下	6例			

球コロニー形成単位へと分化し、巨核球、更に分化し、成熟し、前血小板、血小板を産生する(図1)。これらのプロセスに関与し刺激するサイトカインを表1に示した。

1. 最近20年間の血液疾患の動向と死因の解析

感染症、腫瘍死と並んで出血が死因の一つである。出血の内容や部位についても表2にまとめた。

2. 血小板減少症に対する臨床治験薬

現在血小板減少症に対して行なわれている臨床治験薬を表3に示す。

まず出血傾向を示す血小板減少症で刺激を受ける必要のある血球の増殖/分化について触ると、骨髄幹細胞から巨核球コロニー形成単位、巨核球を増殖するか血小板の産生や機能自体を増強できればよい事になる。しかし化学療法後の血小板減少症、または再生不良性貧血や骨髄異形成症候群などの幹細胞自体の異常で起こる血小板減少症が対象疾患である。

3. 臨床治験の問題点

血小板減少症に対する臨床治験の問題点を触れる。主として臨床治験薬の有効性の判定基準についてこれまでに適切なものがない、我々はM-CSFでの治験で基準の作成を試みた。Quality of Life (QOL)についての判定は出血傾向の改善などがみられれば判定は可能になると考えられる。

(1) 血小板減少時の最低値の底上げ

一般に2万以下の場合に臨床医は危険な事があると認識している。そのためこの最低となっている値が上昇すれば効果があると考えられる。米国では2万以下の基準で治験が行なわれた。

(2) 血小板減少期間の短縮

血小板減少の期間、特に3万以下の日数が短縮すれば血小板製剤の輸注を考慮せずにすみ、外泊や外出も許可しやすいと考えられる。

(3) 血小板製剤の輸注量の節約

以上の基準だけでは血小板製剤の輸注により容易に血小板数の上昇を来すため判定が困難な場合も考えられる。米国ではIL-11で輸注の必要なコントロールに比べて輸注が必要でなくなった投与群とで比較している。わが国では今のところM-CSFの二重盲検

比較試験でも血小板減少からの回復の増強だけでなく、血小板製剤の輸注を約20%節約したという成績が得られている。

以上の基準に従い、M-CSFの白血病における治験の結果を示した¹⁻²⁾(表3)。

4. インターロイキン類の治験の結果

(1) IL-1

抗癌剤投与後の血小板減少の動物に対しては有効であったがその後臨床治験での結果と特に副作用から今のところ進行が遅れている。

(2) IL-3

固形癌で治験がなされた。喘息の悪化などが懸念された。20%の症例で有効であった。

(3) IL-6

固形癌及び白血病の化学療法後を対象に治験が進行中である。分化誘導因子としての活性を有するので、急性前骨髄球性白血病などにはよい適応である。また米国で犬の血小板減少モデルで、IL-6で回復刺激をした血小板は機能増強されているという報告がされた。

(4) IL-11

米国での臨床治験では、固形癌に対する化学療法後の血小板減少において2万以下になって、製剤の輸注を節約でき、副作用は倦怠感と心房性不整脈、失神が認められ0.05μg/kg皮下投与が特に有効であった³⁾。

乳癌患者でも同様に有効で、体重増加と貧血が認められた⁴⁾。発熱も認められず、再生不良性貧血や骨髄異形成症候群の時より副作用が軽度である。0.075-0.1μg/kg以上では血栓症や脳出血を来しており、この量が耐用量であろう。眼底での乳頭浮腫が報告されているが、原因は不明である。

第1/2相試験として小児固形癌及びリンパ腫ではIL-11とG-CSFの併用がG-CSF単独よりも化学療法後の血小板減少からの回復が良好であったと報告された。今後両者の併用が期待される⁵⁾。実用化により約30%の血小板製剤の輸注量の節約が期待される。

5. Thrombopoietinの臨床応用の可能性

臨床的に以下のような応用が考えられている。すなわち高用量

表3. 血小板減少に対して進行中の臨床治験

疾患：再生不良性貧血、骨髄異形成症候群

白血病、固形腫瘍に対する化学療法後の回復促進
末梢血幹細胞移植回復促進

サイトカインの種類

- IL-1誘導体
- IL-3
- IL-6
- IL-11
- TPO
- M-CSF

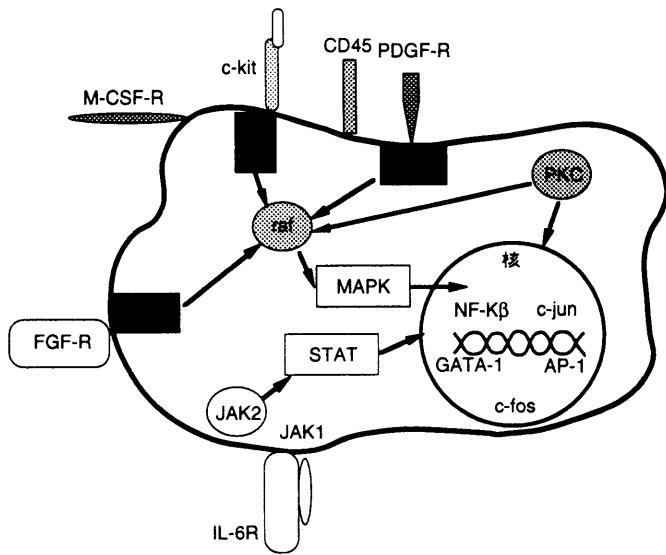


図2. 巨核球/血小板に関するシグナル伝達

の化学療法後、幹細胞移植、採取の際のdonorへの投与、血小板減少を呈する骨髄異形成症候群、再生不良性貧血、HIV関連血小板減少、血小板の体外濃縮などがある⁹⁾。現在米国で第1相試験が完了した。サルでの成績から正常サルでは非常に血小板が増加するので健常人での治験が心配されていた。

6. 有望と考えられるが治験のまだ行なわれていないサイトカイン

(1)LIF 白血病阻止因子

ES細胞の増殖因子として有名であるがマウスでは血小板数の増加が認められた。しかしマウスに異常行動が認められ、今のところ治験は行なわれていない。

(2)MSF Megakaryocyte Stimulating Factor

骨髄移植後患者の尿よりマウスの巨核球コロニー刺激活性として精製されたが、あまりにも前駆体が大きすぎて発現が困難との事である。

(3)Flt-3 ligand

現在最も未熟とされるCD34+CD38-細胞の増殖とコロニー形成能を刺激する事から有望視される⁷⁾。

(4)製剤の組み合せと工夫

G-CSFとEPOの組み合せが再生不良性貧血や骨髄異形成症候群の約30-50%に有効で血小板数の増加の認められる症例もある⁸⁾。今後どのような症例が有効と予測されるのかが重要である。我々もG-CSFのみで3系統に有効であった症例を経験した。

(5)その他

巨核球や血小板のシグナル伝達のみを特異的に刺激することができれば数は低くとも機能が増加する事も考えられる(図2)。これまでにもEPOまたはG-CSFのみで血小板の数には変化が認められないが出血傾向が改善したという報告がある。TPOはその候補の一つである⁹⁾。ex vivoで血小板を産生させるような事が望まれる⁹⁾。化学療法後に血小板減少させた犬にTPOまたはIL-6を投与し、血小板機能について検討したところ、TPOによる刺激では機能は不变で、IL-6では機能強化が認められた¹⁰⁾(表4)。数だけではなく機能により出血傾向を改善する事も可能になるかもしれない。すでに

表4. 血小板機能を刺激するサイトカイン

TPO
IL-6
IL-11
G-CSF
EPO

に血小板の膜成分だけで機能を一部代償できないかという試みがされている¹¹⁾。

結語

巨核球/血小板産生に関与し、血小板減少に対して将来的に使用される可能性の高いサイトカインの臨床について現状を解説した。血小板製剤は節約されるであろうが、今後も重要な血液製剤であり、血小板の人工代替物の開発も重要である。

参考文献

- Hatake K, et al. Macrophage colony-stimulating factor and platelet recovery after chemotherapy. Lancet 1994;361:943.
- Ohno R, Miyawaki S, Hatake K, et al. Blood 1995;84:a.
- Tepler I, Elias L, Smith JW II, Hussein M, Rosen G, Chang A, Y-C, Moore JO, Gordon MS, Kuca B, Beach J, Loewy JW, Garnick MB, and Kaye JA. A randomized placebo-controlled trial of recombinant human interleukin-11 in cancer patients with severe thrombocytopenia due to chemotherapy. Blood 1996;87:3607-14.
- Gordon MS, McCaskill-Stevens WJ, Battiatto LA, Loewy J, Loesch D, Breeden E, Hoffman R, Beach KJ, Kuca B, Kaye J, and Sledge, GW Jr. A phase 1 trial of recombinant human interleukin-11 (Neumega rhIL-11 Growth Factor) in women with breast cancer receiving chemotherapy. Blood 1996;87:3615-24.
- Ali-Nazir A, et al. A phase 1/2 trial of rhIL-11 following ifosfamide, carboplatin, and etoposide(ICE) chemotherapy in pediatric patients (PTS) with solid tumors or lymphoma. Enhancement of hematological reconstitution. ASCO 1996;15: 274a.
- Kaushansky K. Thrombopoietin: biological and preclinical properties. Leukemia 1996;10:Suppl. 1. S46-8.
- Shah AJ, Smogorzewska EM, Hannum C, and Crooks GM. Flt3 ligand induces proliferation of quiescent human bone marrow CD34+CD38- cells and maintains progenitor cells in vitro. Blood 1996;87:3563-70.
- Negrin RS, et al. Maintenance treatment of the anemia of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin: evidence for in vivo synergy. Blood 1996;87:4076-81.
- Tortolani PJ, Johnston JA, Bacon CM, McVicar DW, Shimosaka A, Linnekin D, Longo DL, O'Shea JJ. Thrombopoietin induces tyrosine phosphorylation and activation of the Janus kinase, JAK2.

- Blood 1996;85:3444-51.
10. Peng J, Friese P, Wolf RF, Harrison P, Downs T, Lok S, Dale GL, and Burstein SA. Relative reactivity of platelets from thrombopoietin and interleukin-6- treated dogs. Blood 1996;87:4158-63.
11. 池淵研二. 学会報告. Frozen platelets and platelet substitutes in transfusion medicine シンポジウム. 人工血液 1966;4:51-5.

Neo Red Cell を用いた心単純浸漬保存の研究

船越陽一，藤田省吾，渕之上昌平，阿岸鉄三，太田和夫

Cold Preservation of Heart Using Neo Red Cell Solution

Yoichi Funakoshi, Shogo Fujita, Shohei Fuchinoue, Tetsuzo Agishi, Kazuo Ota

期限切れヒト血液から作られた人工血液であるNeo Red Cell(NRC)の有効活用を目的とし、臓器保存液としての可能性を検討した。ラットを用いた異所性心移植において、NRC基本液(Group 1)あるいはNRCをUniversity of Wisconsin(UW)液に浮遊したもの(NRC-UW液)(Group2)を灌流保存液として用い、1, 3, 6, 12, 24時間の単純浸漬保存実験を行った。Group1では、6時間保存まで移植心拍動再開を認めたが、12時間、24時間では心拍動再開を認めなかった。Group2では、12時間保存までは全例に、24時間保存後では、4例中3例に移植心拍動再開を認めた。24時間後の保存心では、両群間にHES染色で大きな差は認められなかった。しかし、心筋内ATP含有量は、摘出直後を100%とした場合、6, 12, 24時間保存後で、Group1では62.4%, 28.3%, 32.8%、と6時間以後急激な低下を示したのに対し、Group2では87.2%, 57.6%, 52.2%と24時間保存後でも比較的良く保たれた。NRC-UW液は心単純浸漬保存液として有用である可能性が示唆された。

Neo red cell(NRC) was derived from out-dated human red cells. The following experimental work has been done in order to investigate if NRC is valid for organ preservation. Hearts were obtained from male Lewis rat(250-350g body weight) and transplanted as Ono-Lindsey's method after 1 to 24 hours simple cold storage. Rats were divided into two groups. Group 1; original NRC as preservation solution , Group 2; modified NRC (NRC浮遊 with UW solution) as preservation solution. After 1 to 6 hours cold ischemic storage , the hearts in both groups showed contraction immediately after declamping the aorta and the pulmonary artery. After 12 and 24 hour preservation, only group 2 showed restarting of heart contraction. Myocardial ATP level after 6, 12, 24 hours cold storage were 62.3%, 28.3%. 32.8% in group 1. On the contrary, myocardial ATP level were 87.2%, 57.6%, 52.2% in group 2. Pathological change was not remarkable. In conclusion, there is a possibility for effective use of NRC not only as blood substitute but also organ preservation solution. —Key Words: Neo Red Cell, Artificial blood substitute, Heart preservation, Cold storage.

1.はじめに

近年、人工臓器の発達はめざましく、人工腎臓を初めとして人工肺臓、人工肝臓、人工心臓などは実際の臨床において広くから活用されている。一方、人工血液も古くから研究され¹⁻⁷⁾、ウィルス、細菌等を除去してあるため非感染性であり、血球成分に対する抗原性も有しないため、安全に使用できる利点があるにも関わらず、臨床の場における活用頻度は決して多くはない。これは、人工血液には大量投与時の組織障害の問題があり、また、ヒト血液は一部成分を除けば供給過剰状態にあるため、科学的あるいは期限切れヒト血液から精製された酸素運搬体としての人工血液を使用する必要が少ないためと考えられる。このため人工血液の臨床応用を考えた場合、単に酸素運搬体あるいは血液製剤としての使用方法には限界があると考えられる。

また、免疫抑制剤、臓器保存液の進歩に伴い、臓器移植の発展も著しい。現在では腎臓、肝臓は十分な保存時間を得られるようになっているが⁸⁻¹¹⁾、心臓、肺臓に関しては、未だ改善の余地を

東京女子医科大学第3外科, 〒162 東京都新宿区河田町8-1
Department of 3rd Surgery, Kidney Center, Tokyo Women's Medical College, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan.
論文受付96年9月1日, 再受付96年10月17日, 受理96年10月28日。

残している。特に各種臓器保存液の研究にも関わらず、心保存の臨床的限界時間は4-6時間とされている。

ここでは、期限切れヒト血液から作られた人工血液であるNeo Red Cell(NRC)の有効活用を目的とし、心移植をモデルとして臓器保存液としての可能性を検討した。

2.実験動物と方法

2.1.臓器灌流液および保存液

基本的にひとつの実験系において灌流液と保存液は同一のものを使用し、以下の2群に分けた。NRCの調整方法、規格をFig. 1, Table 1に示す。

(1)Group 1:期限切れヒト血液より作製された人工血液であるNRC基本液を灌流保存液として使用。酸素運搬能を有し、感染性はなく、抗原性も有しない。基本的性状をTable 2に示す。

(2)Group 2:NRC基本液は細胞外液組成に近く臓器保存液として一般的ではないため、細胞内液に近づけることを目的として、NRCをUniversity of Wisconsin(UW)液で浮遊したNRC-UW液を灌流保存液として使用。人工血液としての基本的性状はNRC基本液と差はない。性状はTable 2に示す。

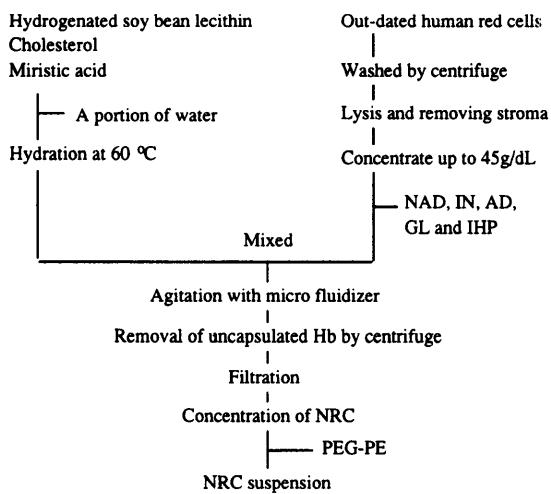


Fig. 1. NRC調整法(テルモ(株)社資料より).

Table 1. NRCの組成、規格

総Hb含量(g/dL)	5.6-6.6
リン脂質(g/dL)	4.4-6.1
Cholesterol(g/dL)	1.0-1.3
ミリスチン酸(g/dL)	0.18-0.22
初期metHb含量(g/dL)	≤5
表面修飾剤(%)	0.10-0.14
平均粒径(μm)	0.16-0.22
最大粒子径	<1.0
Hill係数	1.0-1.5
PsoO ₂ (torr)[pCO ₂ =0]	45-55
酸素運搬効率(%)[100-40torr]	30-35
酸素運搬効率(%)[300-40torr]	>50
グルコース消費量(37°C)	>40
Endotoxin(EU/mL)	<0.4

(テルモ(株)社資料より)

2.2.心臓移植手術

体重250-300gのラット(LEW/Crl)を用い、ジエチルエーテルにて麻酔後、Ono-Lindsey法に準じて以下の異所性心移植を行った。

(1)ドナー:開胸し、下大静脈よりヘパリン(300単位)加ヤング液を注入(5mL)、心停止後、下大静脈を心臓近くで結紮切断。ついで、大動脈、肺動脈を切断し、肺静脈、上大静脈を結紮切断して心摘出した。摘出後直ちにNRC基本液あるいはNRC-UW液にて大動脈より充分に灌流した後、4°Cで単純浸漬保存した。

(2)レシピエント:腹部正中切開で開腹し、腎動脈より末梢の大動脈、下大静脈を剥離した。一定時間単純浸漬保存した心臓の大動脈を腹部大動脈に、肺動脈を下大静脈に端側吻合した。

Figure 2. Changes in myocardial ATP during cold storage

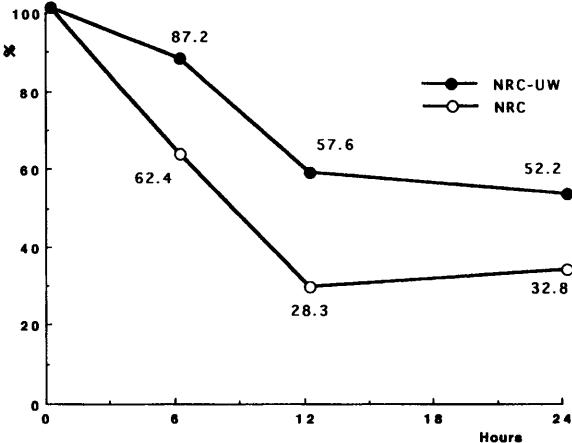


Fig. 2. Changes in myocardial ATP during cold storage.

Table 2. 灌流保存液、NRC基本液あるいはNRCをUW液で浮遊したもの(NRC-UW液)を使用した。

	NRC液	NRC-UW液
総Hb含量(g/dL)	5.9	6.3
PsoO ₂ (torr)	64	61
pH	7.4	7.4
Na	154	29
K	0	125

2.3.保存期間および検討項目

保存期間は1, 3, 6, 12, 24時間とした。移植心の拍動再開の有無の観察、保存終了時の組織所見(HE染色)、および保存中の心組織内ATP含有量の測定を行った。

3.結果

3.1.移植心拍動再開の有無

Table 3に結果を示す。Group 1では6時間保存までは心拍動再開したが12時間以上保存した場合では心拍動再開しなかった。Group 2では12時間保存までは全例に、24時間保存では4例中3例に心拍動再開を認めた。

なお、UW液単独での24時間心単純保存では心拍動再開しなかった(0/3)ため、以後の検討は施行しなかった。

3.2.心筋内ATP含有量

心摘出直後を100%とした場合、Group 1では6時間、12時間、24時間保存後では、62.4%, 28.3%, 32.8%と6時間以後急激な低下を示した。Group 2では、それぞれ、87.2%, 57.6%, 52.2%であった(Fig. 2)。

3.3組織学的所見

Group 1, Group 2とともにHE染色では浮腫、壊死範囲等に差は認められなかった。

Table 3. 心単純浸漬保存後の移植心拍動再開

保存時間	NRC群	NRC-UW群
1時間	3/3	3/3
3時間	4/4	3/3
6時間	3/3	3/3
12時間	0/3	3/3
24時間	0/3 ^{#1}	3/4 ^{#2}

(拍動再開/例数)

#1: 2例は全く心拍動再開せず、1例は心室細動のみ観察された。

#2: 1例は心室細動のみ観察された。

4. 考察

人工血液としては、Perfluorocarbon、安定化ヘモグロビンなどが開発研究されてきた。これらは1)酸素運搬能を有する、2)ウイルス、細菌等の感染性を有しない、3)血液型抗原を有しない、ことより、緊急時に血液製剤に替わって使用することを目的として開発されたものである。また、一部は期限切れヒト血液の有効利用をも目的としていた。このため人工血液は、赤血球製剤の替わりとなるものとして位置づけられ、酸素運搬能を有する輸液製剤として輸血に替わる使用法が模索されていたが、臨床的に広く利用されるまでは至らず、また、急性薬物中毒へのrinsing fluidとしての応用^{5,7}、臓器移植への応用^{6,12-16}も研究されたが、臨床的な応用までには至らなかった(Table 4)。

一方、臓器移植は現在では一般的医療としての地位を確立しつつあるが、これは、1)手術手技の確立、2)免疫抑制剤の進歩、3)臓器保存液の開発による臓器保存期間の延長、などが関与している。特に、UW液の報告、臨床応用以来、肝臓、腎臓は飛躍的な保存時間の延長を得た。UW液は1986年Wahlberg¹⁷らにより、低温保存時における細胞浮腫軽減効果が報告されたものである。以後UW液はmultiorgan procurement¹⁸として使用されるようになった。しかし、心単純浸漬保存においては、いまだ臨床的限界時間は3-4時間とされており、実験的にはStringham¹⁹らが12時間の保存限界を報告している。

われわれは人工血液であるNRCの有効活用法として、心単純浸漬保存への適用をラットを用いた異所性心移植実験を行い検討した。細胞外液組成に近いNRC基本液を使用したGroup 1では6時間保存まで心拍動再開し、12時間保存では移植心拍動再開しなかったことより保存限界時間は6時間未満であると考えられた。これに対して細胞内液組成に近づけるためUW液で浮遊したNRC-UW液を使用したGroup 2では12時間保存で100%、24時間保存で67%に心拍動再開を認め、現段階では保存限界時間は12-24時間の間にあると考えられた。これはStringham¹⁹らのUW液による心保存と比較しても若干の延長があると考えられた。なおUW液単独での24時間保存も施行したが(3例)、1)全例で心拍動再開は無く、2)本実験はNRCをテストするものであるため、ATP含有量測定等は施行しなかった。

心保存のviabilityの指標としてATPを用いた報告は多く、Reibel²⁰らは心筋内ATP含有量と再灌流後の心機能について、久慈²¹は心筋内ATP残存量と病理学的变化について報告している。また、

Table 4. 人工血液の臨床応用

- | |
|--------------------------------|
| 1. 緊急輸血の替わりとして
大量出血、緊急手術時 |
| 2. 血液浄化法のひとつとして
急性薬物中毒、抗体除去 |
| 2. 臓器移植
酸素運搬能を有する臓器灌流保存液 |

McDonald²¹による、心筋内ATP残存量と再灌流後のATP産生能との関係についての報告もある。これらのように心筋内ATP含有量を心保存のviabilityの指標とした場合、UW液を用いた単純浸漬保存では12時間までviabilityは保たれているとされる。

NRC基本液で保存した場合、6時間以後心筋内ATP含有量が低下し12時間以後約30%に低下したのに対し、NRC-UW液で保存した場合には24時間目でも心筋内ATP含有量は摘出直後の52.2%と比較的良好に保たれていた。これは、移植心拍動再開がNRC-UW液では24時間まで延長していた事実を支持する結果である。

今後、酸素化NRCを用いた心保存実験、workingモデルでの心機能評価等を行うことで、NRCの臓器保存液としての適性を検討していく必要があると考えられた。

結語

異所性心移植を用いて、NRCの臓器保存液としての適性を検討した。NRC基本液およびNRC-UW液の心保存限界時間は、6時間および12-24時間であった。心筋内ATPはNRC-UW液で良好に保たれた。HE染色では24時間保存後に差は認められなかった。NRC-UW液は臓器灌流保存液として有用である可能性が示唆された。

本論文の要旨は第3回日本代替物学会年次大会において発表した。NRCはテルモ社(株)より提供を受けた。

参考文献

- Fluosol-43. Technical Information Series 3, Osaka, Japan, 1976, p.17.
- Teisseire B, Loisance D, Soulard C, Herigaut R, Teisseire L, Laurent D. In vitro and in vivo studies of a stroma free hemoglobin solution as a potential blood substitute. Bull Eur Physiopathol Respirat 1977;13:261-79.
- Devenuto F, Friedman HI, Neville JR, Peck CC. Appraisal of hemoglobin solution as a blood substitute. Surg Gynecol Obstet 1979;149(3):417-36.
- Iwasaki K, Iwashita Y. Preparation and evaluation of hemoglobin polyethylene glycol conjugate(Pyridoxylated polyethylene glycol hemoglobin) as an oxygen-carrying resuscitation fluid. Artif Organ 1986;10:414.
- 船越陽一、阿岸鉄三、本田宏、山形桂仁、寺岡慧、太田和夫. 安定化ヘモグロビンを用いたnormothermic whole body rinse-out の実験的急性薬物中毒への応用. 人工臓器 1988;17:725.
- Nakajima I, Fuchinoue S, Teraoka S, Tojinbara T, Fujikawa H, Kawai T, Honda H, Agishi T, Ota K. Twenty-four hour liver

- preservation using artificial blood substitute. *Transplantation Proceed* 1989;20(Suppl):942-4.
7. Agishi T, Funakoshi Y, Honda H, Yamagata K, Kobayashi M, Takahashi M. (Pyridoxylated hemoglobin)-(polyoxyethylene) conjugate solution as blood substitute for normothermic whole body rinse-out. *Biomater Art Cells Art Organs* 1988;16(1-3):261-70.
 8. Ploeg RJ, Gossents D, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO. Successful 72-hour cold storage of dog kidney with UW solution. *Transplantation* 1988;46:191-6.
 9. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, Claesson K, Moen J, Vreugdenhil PK, Wight DG, Southard JH, Belzer FO. Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. *Transplantation* 1988;46:517-22.
 10. Kalayoglu M, Sollinger HW, Stratta RJ, D'Alessandro AM, Hoffman RM, Pirsch JD, Belzer FO. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988;1:617-9.
 11. Todo S, Nery J, Yanaga K, Podesta L, Gordon RD, Starzl TE. Extended preservation of human liver grafts with UW solution. *JAMA* 1988;261:711-4.
 12. Urushibara T, Sumimoto K, Ikeda M, Yamanaka K, Hong HQ, Ito H, Fukuda Y, Dohi K. A comparison study of rat pancreas preservation using perfluorochemical and fluorocarbon-emulsion as preservation medium. *Biomater Art Cells Immob Biotech* 1992; 20:933-7.
 13. Nakajima I, Fuchinoue S, Teraoka S, Tojinbara T, Fujikawa H, Kawai T, Honda H, Agishi T, Ota K. Long-term liver preservation using artificial blood substitute. *Transplantation Proceed* 1989;21: 1314-15.
 14. Nakajima I, Fuchinoue S, Teraoka S, Tojinbara T, Fujikawa H, Kawai T, Honda H, Agishi T, Ota K. Forty-eight hour liver preservation using an artificial blood substitute. *ASAIO Transactions* 1988;34:277-9.
 15. 劉輝, 阿岸鉄三, 蒼英育, 中島一朗, 早坂勇太郎, 寺岡慧, 野沢真澄, 太田和夫. 異種心臓移植における自然抗体除去に対する安定化ヘモグロビン溶液を用いた全血置換の効果. *人工臓器* 1993;22:993-8.
 16. Agishi T, Liu H, Suga Y, Hayasaka Y, Ota K. Significant prolongation of guinea pig heart contraction transplanted in rat after removal of anti-xeno-antibodies by whole body rinse-out(WBRO) with hemoglobin solution. *Art Cells, Blood Subs, and Immob Biotech* 1994;22:789-94.
 17. Wahlberg JA, Southard JH, Belzer FO. Development of a cold storage solution for pancreas preservation. *Cryobiology* 1986;23: 477-82.
 18. Sollinger HW, Vernon WB, D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Stratta RJ, Belzer FO. Combined liver and pancreas procurement with Belzer-UW solution. *Surgery* 1989;106:685-91.
 19. Stringham BL, Southard JH, Hegge J, Triemstra L, Fields BL, Belzer FO. Limitations of heart preservation by cold storage. *Transplantation* 1992;53:287-94.
 20. Reibel DK, Rovetto MJ. Myocardial ATP synthesis and mechanical function following oxygen deficiency. *Am J Physiol* 1978;234:620-4.
 21. 久慈敏信. 表面冷却低体温下, 虚血心筋の経時的変化の実験的検討 -特に心筋エネルギー代謝と筋節の長さについて-. *日胸外会誌* 1985;34:417-27.
 22. McDonald TF, MacLeod DP. Anoxia recovery cycle in ventricular muscle. Action potential duration, contractility and ATP content. *Pflugers Arch* 1971;325:305-22.

ネオレッドセル(NRC)の循環動態、循環血液量、 並びに酸素消費量維持効果

福井 明¹⁾, 高折益彦²⁾

Effect of Liposome Encapsulated Hemoglobin "Neo Red Cells" as a Treatment Agent for Severe Hemorrhagic Shock and Isovolemic Hemodilution in Dogs —Effects in Hemodynamic Variables, Blood Volume, and Oxygen Consumption—

Akira Fukui¹⁾, Masuhiko Takaori²⁾

ネオレッドセル(NRC)の循環動態、循環血液量、並びに酸素消費量維持効果を検討した。ビーグルに40mL/Kgの脱血による出血性ショックを作成し、20mL/KgのNRC、6%hydroxyethyl starch液(HES)、輸血(自己血)、乳酸リンゲル液(LR)の組み合わせで出血性ショックの治療を行い、その際の循環血液量の変化、これに伴う循環諸因子の変化をNRC群と輸血群で比較した。また、ビーグルに12mL/Kgの等容量性血液希釈(IVHD)をHESで8回繰り返した群と、12mL/KgのIVHDをHESで4回、NRCで4回繰り返した群とで循環諸因子と酸素消費量維持効果を比較した。この結果、NRCは出血治療において輸血より循環血液量回復効果が僅かに弱く、この回復が少し遅れた。しかし、循環諸因子には輸血群と差を認めなかった。HDにおいて、NRCは十分に酸素を末梢組織に運搬し、かつ循環動態を維持した。したがって、NRCは循環血液量回復効果は弱いが、急性出血の治療薬として、またHDの安全限界拡大に有用であった。

The effects of liposome encapsulated hemoglobin "neo red cells(NRC)" on hemodynamics, circulating blood volume and oxygen consumption, as a treatment agent for severe hemorrhagic shock and isovolemic hemodilution (IVHD) in dogs were studied. First, hemorrhagic shock (bleeding of 40 mL/Kg) was examined. Beagles were treated with autologous blood, 6% hydroxyethyl starch (HES), NRC in a combination of two of three and lactated Ringer's solution (LR), after which we compared hemodynamic changes and circulating blood volume changes. In second, animals were divided into two groups. In one group, IVHD (12mL/Kg) was repeated eight times with HES. In the other groups, IVHD (12mL/Kg) was done four times with HES and then four times with NRC. Then hemodynamic changes and oxygen consumption were compared. The results showed that NRC were somewhat less effective and slow in the recovery of circulating blood volume as compared with transfusion. However, NRC were as effective as transfusion in hemodynamics. In addition, hemodilution with NRC was shown to be sufficient for oxygen transport to peripheral tissues and for the maintenance of hemodynamics. Thus, although not equivalent to transfusion in the recovery of circulating blood volume, NRC were proved to be useful for the treatment of acute hemorrhage and enlargement of the limitation in hemodilution.—Key words:Acute severe hemorrhage, Isovolemic hemodilution, Liposome encapsulated hemoglobin, Neo Red Cells, Hemodynamics, Circulating blood volume, Oxygen consumption.

1.はじめに

急性出血、並びに血液希釈(hemodilution:HD)の進行に伴い、酸素運搬体である赤血球量の減少は、組織酸素代謝に破綻を来す。

しかし、人工酸素運搬体のリポソーム内封入ヘモグロビン(Neo

Red Cells: NRC)を使用して出血治療、並びにHDを行った場合、同種血輸血の回避とHD安全限界の拡大が期待できる。

すなわち、出血並びにHDに伴う酸素運搬体の減少を一時的にNRCにて代償すれば、出血においては同種血輸血を使用せず自己赤血球の生産による回復を待つことが可能であり、またHDにおいては、さらなる低ヘマトクリット値になるまでHDが可能となる。これにより、同種血輸血の回避が可能になり、HDの安全限界も拡大される。

これらにおけるNRCの有効性を循環動態、循環血液量、酸素消費量($\dot{V}O_2$)の変化から検討した。

1) 川崎医科大学麻酔・集中治療医学教室, 〒701-01 岡山県倉敷市松島577
2) 川崎医科大学名誉教授

1) Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Kawasaki Medical School, 577 Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-01, Japan
2) Emeritus Professor, Kawasaki Medical School.

論文受付96年12月2日、受理96年12月24日。

2. 対象と方法

本研究は、川崎医科大学動物実験委員会に実験計画書を提出し、委員会の承認(承認番号-95-001)を受けた。

実験Ⅰでは、急性大量出血モデルを作成し、実地臨床に行われる治療法を対照に出血治療を行った。そしてその際にNRCを使用した場合の有効性を、循環血液量維持効果を中心に検討した。実験Ⅱでは、IVHDを代用血漿にて行った群を対照に、NRCにてHDを行った場合の生体酸素代謝維持効果を中心に検討した。

実験Ⅰではビーグル21頭(体重10.5-12.3Kg, 11.3±1.6Kg)を、実験Ⅱではビーグル14頭(体重10.6-12.1Kg, 11.1±1.3Kg)を使用した。

実験動物を2mg/Kgのケタミンの静脈内投与により麻酔し、仰臥位とし気管内挿管を行った。ベクロニュウム0.2mg/Kgの静脈内投与にて筋弛緩を得た。アイカ社製ピストン式ベンチレータR60を用いて、実験Ⅰでは酸素3L/min、笑気3L/min、セボフルレン0.5MAC(0.97%)の混合ガスで、実験Ⅱでは酸素2L/min、笑気5L/min、セボフルレン0.5MAC(0.97%)の混合ガスで肺換気を行い、それぞれの動物の呼吸、麻酔を維持した。1回換気量は6mL/Kgと固定し、呼吸回数をPaCO₂が35-40mmHgとなるように調節した。そして常に5cmH₂Oの終末呼気陽圧(positive end expiratory pressure; PEEP)をpressure threshold方式で負荷した。また吸気側には5Lのバックを付け、その吸入酸素濃度(FiO₂:%)の安定化を計った。

動物の体温は、加温マットを用いて直腸温で38-39℃に保つた。

右外頸静脈に小切開を加え、その枝から5Fの肺動脈カテーテルを肺動脈まで挿入、留置した。右大腿動脈を同様に露出し、側枝から同様に外径2mmのポリエチレンチューブを50mm挿入、留置した。

カテーテル、ポリエチレンチューブは日本光電社製血圧トランスデューサ(TP-200T)にそれぞれ接続し、動脈圧(AP)、右心房圧(RAP)、肺動脈圧(PAP)を日本光電社製ミニポリグラフWT-645G、CP-640Gに記録した。測定圧の平均圧(m)はそれぞれ電気的に求めた。心拍数(HR: beats/min)は30秒間のR波数を算定し、2倍して求めた。心拍出量(CO:L/min)はSpectramed社製Hemodynamic Profile Computer Hemopro 1を用い熱希釈法で測定した。

動脈血と混合静脈血のPO₂(mmHg)、PCO₂(mmHg)、pH、base excess(BE)、酸素飽和度(SO₂:%)、ヘモグロビン(Hb: g/dL)はCiba-Corning社製全自動pH/血液ガス電解質分析装置(Ciba-Corning 288)により測定した。そして動脈血および混合静脈血酸素含量(CaO₂、CvO₂: mL/dL)、動脈血酸素含量較差(CaO₂-CvO₂: mL/dL)、ならびに $\dot{V}O_2$ (mL/min)を以下の式にて算出した。

$$CaO_2 = 1.39 \times Hb \times SaO_2 / 100 + 0.0031 \times PaO_2$$

$$CvO_2 = 1.39 \times Hb \times SvO_2 / 100 + 0.0031 \times PvO_2$$

$$\dot{V}O_2 = CO \times (CaO_2 - CvO_2) \times 10$$

同時に $\dot{V}O_2$ をspirogramから直接的に計測した。すなわち分時呼出ガス量(V_E : mL/min)をダグラスバックに15分間採取した呼気を品川計測器製作所製、湿式ガスマータ(WE-1A)で測定し、その測定時の大气圧と室温からSTPD(standard temperature, standard

pressure, dry)に換算して求めた。また呼気ガスの平均酸素濃度、呼気ガスの平均炭酸ガス濃度(F_eCO₂, F_eO₂:%)をCiba-Corning 288で測定した。そして、

$$\dot{V}O_2 = \frac{[F_iO_2 - (1 - F_eCO_2 - F_eO_2)]}{(1 - F_iO_2)} \times \dot{V}_E$$

なる式にて算出し、間接法と直接法で対比した。

ヘマトクリット(Hct)値はWintrobe管と専用遠心器(Kubota Hematocrit KH-120A)を用い、30分間、3,000 rpmのWintrobe法によって測定した。

循環血液量の測定のために、動物の静脈から10mLの血液を採取し、これに約50μCiの⁵¹Cr(放射性クロム酸ナトリウム注射液: 第一ラジオアイソトープ研究所)、ACD液、アスコルビン酸を添加し⁵¹Cr標識赤血球を調製した。また約2μCiの¹²⁵I標識アルブミン(Bovine Serum: 第一化学薬品)とともに対象動物の静脈にカテーテルを介して注入した。注入25, 50分後に動脈血1mLをそれぞれ採取、血液中の放射線量をガンマーカウンタ(Aloka, auto well gamma system ARC-361)を用いてそれぞれ測定した。零点外挿法によって、注入時の標識物血中濃度を求め、これより赤血球量および血漿量を求めた。そして循環血液量はこれらの和から算出した。

乳酸、ピルビン酸値は静脈血2mLを採取し、これを等量の除蛋白液で処理し、その血清から乳酸オキシダーゼ酵素法、ならびにピルビン酸オキシダーゼ酵素法で測定した。

以上の処置後、動物の酸・塩基平衡障害の補正(重炭酸ナトリウムの投与、あるいは呼吸数の変更)を行い、60分間循環動態の安定をまって以下の測定を開始した。

実験Ⅰでは、上記循環諸因子、動脈血血液ガス分析値、循環血液量、乳酸値、ピルビン酸値の測定(stage 0)後、対象動物を7頭づつ3群に分けた。

1) HN群

右大腿動脈に挿入されたカテーテルから、40mL/Kgの血液を40mL/minの速度で脱血した。5分後6% hydroxyethyl starch液(HES: ヘスパンダー™: 杏林製薬)を20mL/Kg、続いて乳酸リングル液(LR: ラクテック™: 大塚製薬)を可及的速やかに静脈内に注入した。5分後上記⁵¹Cr標識赤血球、¹²⁵I標識アルブミンを注入、その後25, 50分後に動脈血1mLをそれぞれ採取して同様に赤血球量および血漿量を求めた(stage 1)。次に20mL/KgのNRCを35℃に加温して可及的速やかに注入した。そして5分後に再度上記⁵¹Cr標識赤血球、¹²⁵I標識アルブミンを注入、その後25, 50分後に動脈血1mLをそれぞれ採取して同様に赤血球量および血漿量を求めた(stage 2)。

2) NH群

HN群同様の出血を行い、NRC、LRの順に同量注入した。stage 1の測定後HES 20mL/Kgを注入し、stage 2の測定を行った。

3) AH群

HN群、NH群と同様の出血をCPD液を含有するテルモ™血液バッグCPD(テルフレックス™BB-SC207J01)を行い、5分後この血液の1/2量(20mL/Kg)とLR 20mL/Kgを注入し、前二群と同様にstage 1の測定を行った。その後HES 20mL/Kgを注入し、stage 2の

測定を行った。

また上記stage 1, 2時に上記の循環諸因子、動脈・混合静脈血血液ガス分析値、乳酸値、ピルビン酸値の測定を行った。

結果は平均土標準偏差で表わし、各群でstage 0を対照としたstage 1, 2での変化を paired t testを用いて検討し、stage 1, 2での各群間での比較を分散分析法を用いて検討した。そしてp<0.05以下を有意差ありとした。

実験Ⅱでは、対象動物から10分間で12mL/Kgの脱血を行い、たちに同量のHESの注入を行った。これを10分毎に4回行い、第2回目の測定を行った(4H)。以後動物を7頭づつ2群に分け、H群ではHESによる、N群ではNRCによる同様のIVHDをそれぞれ4回行い、第3回目の測定を行った(8H)。さらに動物をそのままに放置し、1, 2時間後にそれぞれ第4, 5回目の測定を繰り返した(1h, 2h)。測定項目は、上記循環諸因子、動脈・混合静脈血血液ガス分析値、乳酸値、ピルビン酸値、 $\dot{V}O_2$ とした。

結果は平均土標準偏差で表わし、各群でcontrol値を対照とした4H, 8H, 1h, 2hでの変化を paired t testを用いて検討し、4H, 8H, 1h, 2hでの各群間での比較を分散分析法を用いて検討した。そしてp<0.05以下を有意差ありとした。

3.結果

実験Ⅰ

1)動脈血血液ガス分析値の変化(Table 1)

動脈血PaO₂, PaCO₂にはいずれのstage、並びに群間で変化を認めなかった。

HN群のpHはstage 0で7.45±0.25で、stage 1, 2ではそれぞれ7.25

Table 1. Changes in arterial blood gas analysis.

	group	stage 0	stage 1	stage 2
PaO ₂ (mmHg)	HN	194.5±23.3	189.6±30.3	182.2±26.2
	NH	192.3±24.3	184.6±34.7	180.8±28.7
	AH	193.7±27.0	180.2±26.4	182.6±26.6
PaCO ₂ (mmHg)	HN	38.4±2.4	38.2±2.0	38.0±2.9
	NH	37.5±2.8	37.9±2.6	37.2±2.3
	AH	37.9±2.5	38.5±2.5	37.7±3.2
pH	HN	7.45±0.25	7.25±0.25 ^b	7.21±0.17 ^b
	NH	7.38±0.21	7.22±0.16 ^b	7.19±0.19 ^b
	AH	7.42±0.25	7.19±0.19 ^b	7.18±0.21 ^b
B. E.	HN	-1.2±1.1	-3.9±0.9 ^b	-4.6±1.5 ^b
	NH	-1.5±0.8	-2.9±0.6 ^b	-5.9±1.8 ^b
	AH	-1.9±0.9	-3.6±0.6 ^b	-5.3±1.1 ^b

HN:HES + NRC infusion group(n=7); NH:NRC + HES infusion group(n=7); AH:autotransfusion + HES infusion group(n=7).

HES:6% hydroxyethyl starch; NRC:Neo Red Cells.

Data are expressed as mean±S.D.

b:p<0.01 vs stage 0

±0.25, 7.21±0.17に減少した(p<0.01)。NH群のpHはstage 0で7.38±0.21で、stage 1, 2ではそれぞれ7.22±0.16, 7.19±0.19に減少した(p<0.01)。AH群のpHはstage 0で7.42±0.25で、stage 1, 2ではそれぞれ7.19±0.19, 7.18±0.21に減少した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

HN群のB.E.はstage 0で-1.2±1.1で、stage 1, 2ではそれぞれ-3.9±0.9, -4.6±1.5に減少した(p<0.01)。NH群のB.E.はstage 0で-1.5±0.8で、stage 1, 2ではそれぞれ-2.9±0.6, -5.9±1.8に減少した(p<0.01)。AH群のB.E.はstage 0で-1.9±0.9で、stage 1, 2ではそれぞれ-3.6±0.6, -5.3±1.1に減少した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

2)循環動態の変化(Table 2)

HN群のHRはstage 0で157±18 beats/minで、stage 1, 2ではそれぞれ178±23, 180±19 beats/minに増加した(p<0.01)。NH群のHRはstage 0で153±17 beats/minでstage 1, 2ではそれぞれ178±18, 182±21 beats/minに増加した(p<0.01)。AH群のHRはstage 0で158±17 beats/minで、stage 1, 2ではそれぞれ179±24, 177±19 beats/minに増加した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

HN群のmAPはstage 0で119±10mmHgからstage 1, 2ではそれぞれ85±12(p<0.01), 103±11mmHg(p<0.05)に減少した。NH群のmAPはstage 0で124±9mmHgからstage 1, 2ではそれぞれ88±14(p<0.01), 113±11mmHg(p<0.05)に減少した。AH群のmAPは

Table 2. Changes in hemodynamics.

	group	stage 0	stage 1	stage 2
HR (beats/min)	HN	157±18	178±23 ^b	180±19 ^b
	NH	153±17	178±18 ^b	182±21 ^b
	AH	158±17	179±24 ^b	177±19 ^b
mAP (mmHg)	HN	119±10	85±12 ^b	103±11 ^a
	NH	124±9	88±14 ^b	113±11 ^a
	AH	124±8	90±10 ^b	110±12 ^a
mRAP (mmHg)	HN	2.8±0.6	2.1±0.7 ^a	2.2±0.8 ^a
	NH	2.5±0.5	1.9±0.6 ^a	2.0±0.5 ^a
	AH	2.8±0.7	2.1±0.6 ^a	2.1±0.7 ^a
mPAP (mmHg)	HN	17.9±1.3	15.5±2.8 ^a	15.6±2.5 ^a
	NH	17.3±1.9	14.9±2.4 ^a	15.1±2.3 ^a
	AH	16.9±1.5	15.1±2.5 ^a	15.6±2.1 ^a
CO (mL/min)	HN	1430±122	1664±112 ^b	1651±109 ^b
	NH	1422±130	1638±124 ^b	1664±104 ^b
	AH	1425±141	1636±129 ^b	1627±115 ^b

HN, NH, AH, HES, NRC: same as Table 1 (n=7).

Data are expressed as mean±S.D. a:p<0.05 vs stage 0; b:p<0.01 vs stage 0.

Table 3. Changes in hematocrit and blood volume.

	group	stage 0	stage 1	stage 2
Hct (%)	HN	36.6±3.2	28.8±2.9 ^b	30.4±2.5 ^b
	NH	36.2±3.5	31.2±2.6 ^b	28.9±3.6 ^b
	AH	37.1±2.9	34.9±2.2 ^{bh}	32.8±2.9 ^{bh}
blood volume (mL/Kg)	HN	83.54±2.58	82.14±2.24 ^a	84.50±2.95
	NH	84.29±2.63	82.35±2.35 ^a	84.01±3.07
	AH	84.49±2.21	83.98±2.37 ^{ag}	85.87±3.22

HN, NH, AH, HES: same as Table 1 (n=7).

Data are expressed as mean±S.D.

a:p<0.05 vs stage 0; b:p<0.01 vs stage 0; e:p<0.05 vs NH group; f:
p<0.01 vs NH group; g:P<0.05 vs HN group; h:p<0.01 vs HN group

stage 0で124±8mmHgからstage 1, 2ではそれぞれ90±10 (p<0.01), 110±12mmHg(p<0.05)に減少した。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

mRAP, mPAPもmAPと同様にstage 1, 2で3群とも減少したが (p<0.05), 群間に有意差を認めなかった。

HN群のCOはstage 0で1430±122mL/minからstage 1, 2ではそれぞれ1664±112, 1651±109mL/minに増加した(p<0.01)。NH群のCOはstage 0で1422±130mL/minからstage 1, 2ではそれぞれ1638±124, 1664±104mL/minに増加した(p<0.01)。AH群のCOはstage 0で1425±141mL/minからstage 1, 2ではそれぞれ1636±129, 1627±115mL/minに増加した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

3)Hctと循環血流量の変化(Table 3)

Hctはstage 0でHN, NH, AH群それぞれ36.6±3.2, 36.2±3.5, 37.1±2.9%であったが、stage 1ではそれぞれ28.8±2.9, 31.2±2.6, 34.9±2.2%に、stage 2ではそれぞれ30.4±2.5, 28.9±3.6, 32.8±2.9%に減少した(p<0.01)。また、stage 1, 2でHN, NH群とAH群間に有意差を認めた(p<0.01)。

循環血流量はstage 0でHN, NH, AH群それぞれ83.54±2.58, 84.29±2.63, 84.49±2.21mL/Kgであったが、stage 1ではHN, NH群でそれぞれ82.14±2.24, 82.35±2.35mL/Kgに減少した (p<0.05)。また、HN, NH群とAH群間に有意差を認めた (p<0.05)。しかし、stage 2ではそれぞれ84.50±2.95, 84.01±3.07, 85.87±3.22mL/Kgに回復し、群間の有意差も認めなくなった。

4)乳酸、ピルビン酸値の変化

乳酸値はstage 0でHN, NH, AH群それぞれ13.4±4.6, 12.7±3.6, 12.9±3.9mg/dLであったが、stage 1ではそれぞれ25.3±4.4, 27.9±6.8, 24.5±5.5mg/dLに、stage 2ではそれぞれ17.5±5.8, 18.9±6.1, 17.4±8.4mg/dLに増加した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

ピルビン酸値はstage 0でHN, NH, AH群それぞれ0.6±0.3, 0.7±0.3, 0.5±0.4mg/dLであったが、stage 1ではそれぞれ3.8±0.4, 4.2±1.1, 4.0±0.6mg/dLに、stage 2ではそれぞれ2.5±1.1, 2.9±1.3, 3.0±1.0mg/dLに増加した(p<0.01)。しかし、いずれのstageでも群間に有意差を認めなかった。

実験II

1)動脈血血液ガス分析値の変化(Table 4)

H群のPaO₂はcontrolで246±28mmHgで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ195±24, 174±31, 157±26, 159±29mmHgに減少した (p<0.01)。N群のPaO₂はcontrolで251±21mmHgで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ191±27, 182±34, 177±31, 175±28mmHgに減少した (p<0.01)。

Table 4. Changes in arterial blood gas analysis

	group	control	4H	8H	1h	2h
PaO ₂ (mmHg)	H	246±28	195±24 ^b	174±31 ^b	157±26 ^b	159±29 ^b
	N	251±21	191±27 ^b	182±34 ^b	177±31 ^b	175±28 ^b
PaCO ₂ (mmHg)	H	39.5±2.6	40.3±3.1	39.2±4.3	38.4±2.9	39.5±3.7
	N	38.5±3.1	41.1±2.7	39.6±3.7	38.5±3.7	39.3±4.1
pH	H	7.44±0.10	7.32±0.09 ^b	7.31±0.11 ^b	7.19±0.14 ^b	7.18±0.17 ^b
	N	7.42±0.13	7.35±0.11 ^b	7.30±0.13 ^b	7.16±0.12 ^b	7.20±0.15 ^b
B.E.	H	-1.4±0.7	-4.3±0.9 ^b	-6.1±1.3 ^b	-6.8±1.4 ^b	-7.5±1.5 ^b
	N	-1.5±0.9	-4.1±0.6 ^b	-6.4±1.1 ^b	-6.5±1.6 ^b	-7.1±1.3 ^b

H:eight times hemodilution with HES (n=7).

N:four times hemodilution with HES and four times hemodilution with NRC (n=7). Data are expressed as mean±S.D.

b:p<0.01 vs control

Table 5. Changes in hemodynamics

	group	control	4H	8H	1h	2h
HR (beats/min)	H	153±13	178±15 ^b	183±19 ^b	192±18 ^b	194±20 ^b
	N	148±15	180±14 ^b	179±20 ^b	185±16 ^b	186±18 ^b
mAP (mmHg)	H	114±5	95±8 ^b	88±7 ^b	76±7 ^b	64±8 ^b
	N	111±7	95±9 ^b	86±8 ^b	75±6 ^b	74±6 ^{bc}
mRAP (mmHg)	H	3.4±0.6	2.9±0.6	2.4±0.6 ^b	1.9±0.5 ^b	1.7±0.5 ^b
	N	3.5±0.5	2.8±0.5	2.3±0.7 ^b	2.4±0.6 ^{bc}	2.3±0.5 ^{bd}
mPAP (mmHg)	H	18.2±0.7	17.5±1.1	15.4±1.4 ^b	15.2±1.2 ^b	14.1±1.4 ^b
	N	18.5±0.9	17.3±0.8	16.5±1.3 ^b	16.0±1.1 ^{bc}	15.9±1.1 ^{bd}
CO (mL/min)	H	1389±141	1581±133 ^b	1731±127 ^b	1555±139 ^b	1429±126
	N	1413±133	1525±153 ^b	1699±140 ^b	1623±146 ^b	1649±145 ^{bd}

H, N: same as Table 4. Data are expressed as mean±S.D.

b:p<0.01 vs control; c:p<0.05 between the groups; d:p<0.01 between the groups

28mmHgに減少した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかった。

PaCO₂にはいずれの測定時、並びに群間に変化を認めなかつた。

H群のpHはcontrolで7.44±0.10で、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ7.32±0.09, 7.31±0.11, 7.19±0.14, 7.18±0.17に減少した(p<0.01)。N群のpHはcontrolで7.42±0.13で、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ7.35±0.11, 7.30±0.13, 7.16±0.12, 7.20±0.15に減少した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかつた。

H群のB.E.はcontrolで-1.4±0.7で、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ-4.3±0.9, -6.1±1.3, -6.8±1.4, -7.5±1.5に減少した(p<0.01)。N群のB.E.はcontrolで-1.5±0.9で、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ-4.1±0.6, -6.4±1.1, -6.5±1.6, -7.1±1.3に減少した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかつた。

2)循環動態の変化(Table 5)

H群のHRはcontrolで153±13 beats/minで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ178±15, 183±19, 192±18, 194±20 beats/minに増加した(p<0.01)。N群のHRはcontrolで148±15 beats/minで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ180±14, 179±20, 185±16, 186±18 beats/minに増加した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかつた。

H群のmAPはcontrolで114±5mmHgで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ95±8, 88±7, 76±7, 64±8mmHgに減少した(p<0.01)。N群のmAPはcontrolで111±7mmHgで、4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ95±9, 86±8, 75±6, 74±6 mmHgに減少した(p<0.01)。そして2hで群間に有意差を認めた(p<0.05)。

H群のmRAPはcontrol, 4Hで3.4±0.6, 2.9±0.6mmHgで、8H,

1h, 2hではそれぞれ2.4±0.6, 1.9±0.5, 1.7±0.5mmHgに減少した(p<0.01)。N群のmRAPはcontrol, 4Hで3.5±0.5, 2.8±0.5mmHgで、8H, 1h, 2hではそれぞれ2.3±0.7, 2.4±0.6, 2.3±0.5mmHgに減少した(p<0.01)。そして1hでp<0.05の、2hでp<0.01の群間での有意差を認めた。

H群のmPAPはcontrol, 4Hで18.2±0.7, 17.5±1.1mmHgで、8H, 1h, 2hではそれぞれ15.4±1.4, 15.2±1.2, 14.1±1.4mmHgに減少した(p<0.01)。N群のmPAPはcontrol, 4Hで18.5±0.9, 17.3±0.8mmHgで、8H, 1h, 2hではそれぞれ16.5±1.3, 16.0±1.1, 15.9±1.1mmHgに減少した(p<0.01)。そして1hでp<0.05の、2hでp<0.01の群間での有意差を認めた。

H群のCOはcontrolで1389±141mL/minで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ1581±133, 1731±127, 1555±139, 1429±126mL/minに増加した(p<0.01)。N群のCOはcontrolで1413±133 mL/minで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ1525±153, 1699±140, 1623±146, 1649±145mL/minに増加した(p<0.01)。そして2hで群間での有意差を認めた(p<0.01)。

3)Hct, CaO₂, CvO₂, CaO₂-CvO₂, 並びにVO₂の変化(Table 6)

H群のHctはcontrolで44.6±1.7%で4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ29.5±1.7, 10.6±1.8, 11.3±1.9, 11.5±1.7%に減少した(p<0.01)。N群のHctはcontrolで44.1±1.8%で4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ29.5±1.9, 13.1±2.8, 13.5±2.6, 13.4±2.7%に減少した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかつた。

H群のCaO₂はcontrolで21.5±0.8mL/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ12.9±0.6, 5.9±0.8, 4.9±1.1, 5.0±1.1mL/dLに減少した(p<0.01)。N群のCaO₂はcontrolで22.5±0.9mL/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ12.5±0.6, 7.6±0.8, 7.9±1.0, 7.5±1.3mL/dLに減少した(p<0.01)。そして8H, 1h, 2hで群間での有意差を認

Table 6. Changes in hematocrit and oxygen metabolism.

	group	control	4H	8H	1h	2h
Hct (%)	H	44.6±1.7	29.5±1.7 ^b	10.6±1.8 ^b	11.3±1.9 ^b	11.5±1.7 ^b
	N	44.1±1.8	29.5±1.9 ^b	13.1±2.8 ^b	13.5±2.6 ^b	13.4±2.7 ^b
CaO ₂ (mL/dL)	H	21.5±0.8	12.9±0.6 ^b	5.9±0.8 ^b	4.9±1.1 ^b	5.0±1.1 ^b
	N	22.5±0.9	12.5±0.6 ^b	7.6±0.8 ^{bd}	7.9±1.0 ^{bd}	7.5±1.3 ^{bd}
CvO ₂ (mL/dL)	H	14.7±0.7	8.2±0.4 ^b	2.2±0.4 ^b	2.4±0.5 ^{bd}	2.4±0.4 ^b
	N	15.1±0.5	8.0±0.5 ^b	3.2±0.4 ^{bd}	3.2±0.6 ^{bd}	2.9±0.5 ^{bd}
CaO ₂ -CvO ₂ (mL/dL)	H	6.8±0.7	4.4±0.5 ^b	3.9±0.7 ^b	2.5±0.6 ^b	2.5±0.8 ^b
	N	7.1±0.8	4.5±0.4 ^b	4.3±0.5 ^{bd}	4.5±0.7 ^{bd}	4.6±0.8 ^{bd}
·VO ₂ (間接法) (mL/min)	H	93.1±6.4	67.3±8.3 ^b	54.3±6.4 ^b	43.5±5.4 ^b	39.3±5.1 ^b
	N	96.9±6.9	71.3±7.6 ^b	70.1±6.4 ^{bd}	73.5±5.5 ^{bd}	80.9±6.3 ^{bd}
·VO ₂ (直接法) (mL/min)	H	91.4±7.4	68.4±5.3 ^b	56.2±5.9 ^b	46.3±7.5 ^b	42.4±6.2 ^b
	N	94.9±7.3	74.3±8.6 ^b	74.1±8.4 ^{bd}	77.2±6.1 ^{bd}	80.5±6.9 ^{bd}

H, N: same as Table 4. Data are expressed as mean±S.D.

b:p<0.01 vs control; d:p<0.01 between the groups.

めた(p<0.01)。

H群のCvO₂はcontrolで14.7±0.7mL/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ8.2±0.4, 2.2±0.4, 2.4±0.5, 2.4±0.4mL/dLに減少した(p<0.01)。N群のCvO₂はcontrolで15.1±0.5mL/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ8.0±0.5, 3.2±0.4, 3.2±0.6, 2.9±0.5mL/dLに減少した(p<0.01)。そして8H, 1h, 2hで群間での有意差を認めた(p<0.01)。

CaO₂-CvO₂もCaO₂, Cvと同様の変化を認めた。間接法で算出したH群の·VO₂はcontrolで93.1±6.4mL/minで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ67.3±8.3, 54.3±6.4, 43.5±5.4, 39.3±5.1mL/minに減少した(p<0.01)。N群の·VO₂はcontrolで96.9±6.9mL/minで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ71.3±7.6, 70.1±6.4, 73.5±5.5, 80.9±6.3mL/minに減少した(p<0.01)。そして8H, 1h, 2hで群間での有意差を認めた(p<0.01)。

また直接法で算出した·VO₂も間接法と相違を認めなかった。

4)乳酸、ピルビン酸値の変化

H群の乳酸値はcontrolで11.5±6.3mg/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ16.5±6.2, 19.4±7.3, 19.8±6.6, 19.5±7.6mg/dLに増加した(p<0.01)。N群の乳酸値はcontrolで11.3±6.1mg/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ17.9±6.0, 17.9±7.1, 22.4±6.4, 18.7±6.4mg/dLに増加した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかった。

H群のピルビン酸値はcontrolで0.7±0.3mg/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ2.8±1.1, 3.7±1.3, 5.3±1.1, 4.6±0.9mg/dLに増加した(p<0.01)。N群のピルビン酸値はcontrolで0.8±0.4mg/dLで4H, 8H, 1h, 2hではそれぞれ3.1±0.9, 3.4±1.1, 4.7±1.0, 5.2±1.0mg/dLに増加した(p<0.01)。しかし、いずれの測定時でも群間に有意差を認めなかった。

間に有意差を認めなかった。

4.考察

一般臨床の場における急性出血に対して、まず代用血漿と晶質液で循環血液量を補う。この結果として、生体には血液希釈が発生していく。また生体は循環血液量の減少に対して、心拍出量の増加、臓器血流分布のセントラリゼイション、組織間液の血管内移行、抗利尿ホルモン分泌による自由水の体内保留、アンギオテシシン、アルドステロン分泌によるナトリウム再吸収の促進などの恒常性維持のための反応を起す。しかしこれらの反応と血液希釈には限界があり^{1,2}、その限界を越えると生体の恒常性維持機能は、酸素運搬体である赤血球の減少と、出血傾向の発生から破綻を来たす。そして組織への酸素供給が減少し、酸素供給量と·VO₂の不均衡状態に陥り、組織酸素代謝が障害される。このため次に輸血、すなわち酸素運搬体の補充を行うというのが一般的な治療法である。このとき同種血輸血を行えば、これらの異常は改善される。しかし同種血輸血による感染症、移植片対宿主反応、免疫抑制などの弊害^{3,4)}が明らかにされており、同種血輸血の使用は極力回避されなければならない。また不測の事態では、血液型判定と交差試験が繁雑であること、その入手に時間が必要なこと、その入手が困難なことがある。これらの要請より血液代替物の研究が行われ、人工血液が開発してきた。

今回使用したNRCは、赤血膜を除去したヘモグロビン(stroma-free hemoglobin:SFH)をリポソームでマイクロカプセル化した製品であり、その特徴として血液型合わせの必要がないこと、少なくとも一年以上の長期保存が可能のこと、感染、副作用がないことがあげられる。そして高酸素運搬能、低粘性と微小粒子径によ

る末梢循環改善作用^{5,9)}を有している。

一般的には出血性ショック時には血管抵抗が増加する。しかし、粘度が低い¹⁰⁾NRCは末梢血管を通過しやすかったため、心拍出量を増加させた。また、動脈血酸素含量較差の低下が少なかったことにより、全体としてCOと動脈血酸素含量較差の積で表される $\dot{V}O_2$ もNRC使用により維持された。

NRCは生理食塩水に懸濁された状態で保存されている。このため、その膠質浸透圧は外液に膠質浸透圧剤を添加しない限りゼロである。したがって、NRCをそのまま使用した場合には循環血液量の維持効果の低下が懸念される。今回、40mL/Kgの急速大量出血にもかかわらずNRC使用は、輸血に比べて循環血液量回復効果が僅かに弱く、かつ回復が少し遅れるのみにとどまった。NRCは外液組成を調整することで自由に膠質浸透圧を変化させることができあるため、この問題は解決可能である。また、循環諸因子には輸血群と差を認めなかつことから、膠質浸透圧の調整でさらなる循環動態の改善効果も期待できる。

われわれは、 $\dot{V}O_2$ の算出を間接法と直接法の両者で検討した。間接法では、Hb, SO₂, PO₂によって $\dot{V}O_2$ が決定されるため、果たして測定機械がリポソームでカプセル化されたSFHのこれらの測定を正確に行うかが疑問であった。今回の結果で $\dot{V}O_2$ は間接法、直接法いずれも同様の値を示し、SFHでも正確に測定された。

出血性ショック時の生体が受ける障害の程度は、出血量、出血速度、低Hb値状態の持続時間、体温、動脈血pH値、合併疾患、並びに低酸素血症とショック状態の持続期間などが影響していく。今回の実験モデルでは術中出血のモデルを想定し、人工呼吸管理下にある条件で、しかも出血5分後より治療を開始した。このため、設備の整わない院外で発生した急性出血患者、循環不全が長期化し、不可逆性ショック状態に陥った患者、呼吸不全患者などに対するNRCの有効性についてはさらなる検討が必要になる。しかし、NRCは出血発生後直ちに、どこでも、何時でも使用可能である。したがって、生体を不可逆性ショック状態に陥る前に使用できることは、本剤の大きな利点になる。

NRCはHDにおいてもその有効性を示した。現在、成人における血液希釈式自己血輸血の採血量は、HDに使用する代用血漿の使用限界が20-30mL/Kgである^{1,2)}ことより、約1,200~1,500mLが限界とされている。したがって、NRCを用いてHDを行えば、酸素運搬体の減少による、生体酸素代謝破綻の限界を拡大し、さらなる採血量の増加が期待される。

生体はヘマトクリット値8.5%の極度貧血状態からでも合併症を

残さず回復することが報告されている¹¹⁾。しかし、この状態は生体にとっては決して良好な状態ではなく、生体の代償機能が限界に陥り不可逆性ショックとなる可能性がある。したがって、大量出血の治療と極度のHDに対しては、NRCを使用し、NRCの優れた酸素運搬能を利用すること、NRC浮遊液の浸透圧を調整することにより循環血液量を維持することが、生体酸素代謝を破綻させないうえで重要である。

参考文献

- 福井 明, 高折益彦. 自己血輸血における貧血許容限界. 一血液希釈の限界一. 日本輸血学会雑誌 1994;40:843-5.
- 高折益彦. 血液希釈. 循環制御 1980;1:93-106.
- Faust RJ, Warner MA. Transfusion risk. Int Anesthesiol Clin 1990;8: 184-9.
- 遠山 博. エディトリアルー輸血医学における近来の問題点. 外科診療 1991;33:337-41.
- 薄場 彰, 宮沢正紹, 遠藤幸男, 井上幸男, 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.
- 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.
- Usuba A, Motoki R, Suzuki K, Sakaguchi K, Takahashi A. Study of effect of the newly developed artificial blood "Neo Red Cells(NRC)" on hemodynamics and blood gas transport in canine hemorrhagic shock. Biomat Art Cells & Immob Biotech 1992; 20:531-5.
- 薄場 彰, 宮沢正紹, 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.
- 薄場 彰, 宮澤正紹, 大石明雄, 遠藤幸男, 井上 仁, 元木良一, 坂口圭介, 鈴木一比好, 上谷利治, 高橋 晃. 出血性ショックに対するカプセル化ヘモグロビン, ネオレッドセル(NRC)の輸血効果. 日外傷研会誌 1993;7:230-8.
- 薄場 彰. 人工血液. 最新医学 1992;47:2238-47.
- 福井 明, 木村健一, 藤田喜久, 高折益彦. 術中の極度の血液希釈からの回復. 日本臨床麻酔学会誌 1993;13:654-60.



—ヒト エリスロボエチン製剤—

エスパー[®] 皮下用

6000・9000・12000・24000

(劇)(指)(要指) 一般名:エボエチンアルファ(遺伝子組換え)

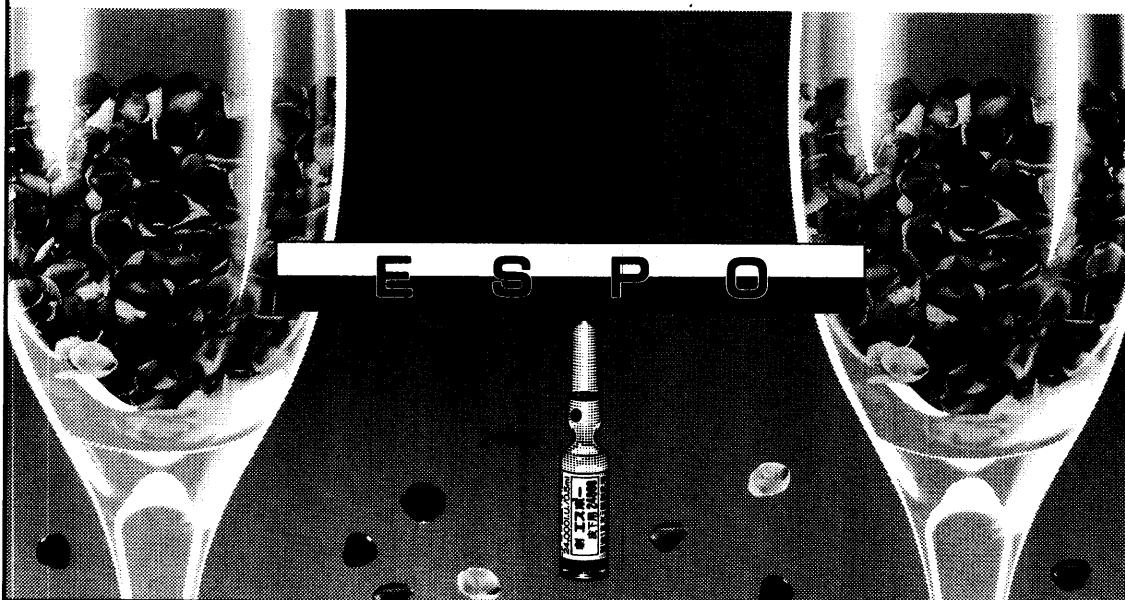
●効能・効果 一括幹一

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。

販売元・販路請求元
三共株式会社・麒麟麦酒株式会社
製造元
千葉 東京都中央区日本橋本町二丁目
千葉 東京都中央区新川二二十一

95
4
印



編集後記：日本血液代替物学会は1997年9月に開催される‘第7回血液代替物国際会議’に向け準備を進めています。本学会のNews Letterである‘人工血液’の編集委員もその国際会議の成功に向け協力していきたいと考えています。また雑誌の質の維持にも今いっそう努めたいと思います。この1年赤血球代替物の基礎と臨床に加え、人工血小板、サイトカインや造血幹細胞に関する論文も掲載させていただきました。今後もこの領域の将来を視点に入れていきたいと考えております。

さて今回国際的な文献情報誌‘Chemical Abstracts(CA)’に‘人工血液’の抄録が掲載される運びとなり、本雑誌の価値が認められたこと、編集委員一同大変喜ばしく思っております。雑誌表紙右肩に‘CODEN:JIKEFK’の印字が新たに入れることになります。また現在科学技術振興事業団の出版する文献情報誌‘JICST’への掲載を検討いただいているとの連絡も受けました。以上ご報告させていただきます。



日本赤十字社の血漿分画製剤は、善意の献血から創られています。

平成7年度 東京都内小・中学生「献血の絵」 小学生低学年の部・金賞
光塩女子学院初等科・3年 坂 真理子

日本赤十字社の
血漿分画製剤

クロスエイトM250 クロスエイトM500 クロスエイトM1000
赤十字アルブミン

日本赤十字社 〒105 東京都港区芝大門1-1-3

文献請求先 日本赤十字社中央血液センター医薬情報部
〒150 東京都渋谷区広尾4-1-31 TEL.03-5485-6607

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。手書き原稿の場合にはB5版、1行20字、20行とする。

- 3) 総説、原著、および報告については、第2頁以降に和文抄録、Keywords (英文で6個程度) を付け、最終頁または別紙に英文抄録を付けること。英文抄録は英文ワープロを用いて、別の「ABSTRACT」ファイルとしてハードコピーとともに提出しても構わない。
- 4) 句読点はコンマ(,)ピリオド(.)とする。
- 5) 文中の英語は、Times, Helvetica, Courier, Symbol フォントを原則とし、英文半角小文字とする。ただし、文頭および固有名詞は大文字で書きはじめること。
- 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 (4) 1996年12月31日発行

〒169 東京都新宿区大久保3

早稲田大学理工学総合研究センター55S棟701号

TEL (03)5286-3120 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