

目 次

人工血液

第9巻 第4号 2001年12月

総説 1,9-Dimethylmethylene blueによる ストローマフリーヘモグロビンのウイルス光不活化	平山順一	83
血清アルブミンのドラッグデリバリーシステムへの応用	丸山 徹	88
無輸血治療プログラムの現状とその有用性	有賀友則	95
海外文献紹介		
低酸素性肺血管収縮と一酸化窒素に対する S-ニトロ化ヘモグロビンの効果	小高光晴	99
事務局だより		102

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 9 No. 4 December, 2001

<i>Review: Virus Photoactivation of Stroma-free Hemoglobin by 1,9-Dimethylmethylene Blue</i>	<i>Junichi Hirayama</i>	83
<i>Application of Serum Albumin to Drug Delivery System</i>	<i>Toru Maruyama</i>	88
<i>Present Status and Usefulness of Bloodless Medicine and Surgery Programs</i>	<i>Tomonori Ariga</i>	95
<i>Topics: Effects of S-Nitrosation of Hemoglobin on Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction and Nitric Oxide Flux.</i>	<i>Mitsuharu Kodaka</i>	99

会 告

第9回日本血液代替物学会年次大会

会 期：平成14年9月4日(水)， 5日(木)

会 場：熊本市国際交流会館

〒860-0806

熊本市花畠町4番8号

TEL: 096-359-2020

大会長：西 勝英 (熊本大学医学部薬理学第二講座)

事務局：熊本大学医学部薬理学第二講座 德富 直史

〒860-0811

熊本市本荘2-2-1

TEL/FAX: 096-373-5082

1,9-Dimethylmethylene blueによる ストローマフリーヘモグロビンのウイルス光不活化

Virus Photoinactivation of Stroma-free Hemoglobin by 1,9-Dimethylmethylene Blue

平山 順一, 阿部 英樹, 東 寛, 池淵 研二*, 池田 久實
Junichi Hirayama, Hideki Abe, Hiroshi Azuma, Kenji Ikebuchi*, Hisami Ikeda

和文抄録

1,9-Dimethylmethylene blue(DMMB)によるStroma-free hemoglobin(SFH)中の水疱性口内炎ウイルス(vesicular stomatitis virus, VSV)の光不活化を行った。DMMB(1 μ M)存在下でSFHに対し赤色光(655nm)照射(1.71J/cm²)を行ったところVSVは6.4log₁₀不活化した。Methylene blue(MB)を用いて同様の実験を行うとVSVの不活化効率ははるかに低かった。DMMBによりVSVを6.4log₁₀不活化した際、ヘモグロビンのメト化率や酸素結合能に有意な変化はなかった。これらの結果は、DMMB光不活化処理はヘモグロビンに傷害を与えない事を示している。

655nm照射の場合とは異なり、580nm照射ではVSVをわずか1.2log₁₀不活化しただけでメト化率に有意な上昇があった。580nm照射は二量体のDMMBを励起し、655nm照射は単量体のDMMBを励起する。これらの結果は、単量体のDMMBの方がヘモグロビンへの傷害なしに効率的にウイルスを不活化できる事を示している。

DMMBによるウイルス不活化における活性酸素の関与について、活性酸素のquencherやenhancerを用いて検討を行った。単量体DMMB、二量体DMMBいずれの場合でも、sodium azide(一重項酸素のquencher)によりウイルス不活化が濃度依存的に阻害され、(一重項酸素の寿命を延長する)D₂Oの添加によりウイルス不活化が促進された。これらの結果は、単量体DMMB、二量体DMMBいずれの場合でも、ウイルス不活化には一重項酸素が関与している事を示している。

SFH中抗酸化物質に対するDMMB不活化処理の影響について検討を行った。VSVを6log₁₀不活化する条件では、GR(グルタチオンレダクターゼ)は77%失活したものの、SOD(スーパーオキシドジスムターゼ)、CAT(カタラーゼ)、GPX(グルタチオンペルオキシダーゼ)、GSH(還元型グルタチオン)は活性を維持したままだった。以上の結果は、DMMB不活化処理後もSFH中のスーパーオキシドと過酸化水素を消去する機能がほぼ残存している事を示している。

DMMBによるウイルス不活化処理は、ヘモグロビンに傷害を与えないだけでなく抗酸化系にも影響を及ぼさないため、SFHのウイルス不活化法として優れている。

Abstract

Photoinactivation of vesicular stomatitis virus (VSV) in stroma-free hemoglobin (SFH) was carried out with 1,9-dimethylmethylene blue (DMMB): 6.4 log₁₀ of VSV was inactivated by 1 μ M DMMB and 1.7 J/cm² irradiation at 655 nm. VSV was more sensitive to inactivation by 655 nm light with 1 μ M DMMB than the same concentration of methylene blue. Under conditions which inactivated 6 log₁₀ of VSV, the methemoglobin content (Met-Hb [%]) and P₅₀ (50% saturated oxygen pressure) of hemoglobin (Hb) were not changed by 1 μ M DMMB phototreatment. These results indicate that the virucidal phototreatment with DMMB does not damage Hb.

In contrast to the results obtained with DMMB at 655 nm, irradiation of SFH with DMMB at 580 nm resulted in a significant increase of Met-Hb (%) under conditions which only inactivated 1.2 log₁₀ VSV. Irradiation at 580 nm primarily activates the dimer of the dyes, while irradiation at 655 nm primarily activates the monomer. These results indicate that, compared with the dimer, the monomer of DMMB can effectively inactivate viruses without damaging Hb.

The involvement of reactive oxygen species (ROS) in virus inactivation by DMMB phototreatment in SFH was investigated with the use of quenchers and enhancer. Virus (R17 bacteriophage) photoinactivation by either activated monomer or dimer DMMB was suppressed by sodium azide (singlet oxygen quencher) and promoted by the substitution of H₂O for deuterium oxide (D₂O), which is known to prolong the lifespan

北海道赤十字血液センター, 〒063-0002 札幌市西区山の手2条2丁目 Hokkaido Red Cross Blood Center, Yamanote 2-2, Nishi-ku, Sapporo 063-0002, *東京医科大学 *Tokyo Medical University, 6-1-1, Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8402

of singlet oxygen. These results suggest that virus photoinactivation by the activated monomer and dimer of DMMB proceed via a singlet oxygen mediated pathway.

The effect of virus inactivation by DMMB phototreatment on the activities of antioxidant systems of SFH was studied. Under conditions which inactivated VSV by $6\log_{10}$, there was little change in the concentration of reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), or glutathione peroxidase (GPX) activities. However, the activity of glutathione reductase (GR) was decreased by 77%. These results suggest that virucidal DMMB treatment almost preserves antioxidant systems against superoxide and hydrogen peroxide.

DMMB phototreatment is a promising method for the sterilization of SFH, since it maintains not only the oxidative state of Hb but also antioxidant systems under virucidal conditions.

Keywords

antioxidant, blood substitute, dimethylmethylen blue, hemoglobin, reactive oxygen species, virus inactivation,

1. 緒言

検査技術の進歩により輸血による病原体の感染は激減したものの、感染の確率がゼロになったわけではない¹⁾。ウイルス感染初期の血液には、抗体検査や核酸検査で検知できないほど抗体量やウイルス量の少ない時期（ウインドウピリオド）が存在する。1997年、わが国において初めて献血血液によるヒト免疫不全ウイルス（HIV）の感染が確認されたが²⁾、これはまさしくウインドウピリオドの血液による感染と考えられている。しかも、検査の対象になっていない病原体、検査法の確立していない病原体、未知の病原体を「検査」で見つけることは不可能である。病原体の感染を完全に阻止するためには、病原体の「不活化/除去」処理が必要である。

人工酸素運搬体の開発において、ヒト赤血球ヘモグロビンが利用されており、期限切れ赤血球製剤由来のストローマフリーへモグロビン（SFH）が原料として重要視されている^{3,4)}。献血で得られる赤血球製剤は「問診」と「検査」により高度な安全性を確保されているが⁵⁾、100%の安全性を目指すには病原体の「不活化/除去」処理が不可欠である。SFHの「不活化/除去」処理としては濾過法や熱処理法などがあるが⁶⁻⁸⁾、機序の異なる複数の「不活化/除去」法を組み合わせ事により、安全性はさらに高まることが期待される。

近年、血液製剤の病原体不活化研究は光増感物質を用いた光不活化法が主流である⁹⁻¹¹⁾。光エネルギーで励起された光増感物質はタンパク質、核酸、脂質などに傷害を与える⁹⁻¹¹⁾。血液製剤の機能に傷害を及ぼさずに病原体を不活化できる光増感物質を選択することが重要なポイントである。赤血球製剤の病原体不活化で有望視されている光増感物質の一つが1,9-dimethylmethylen blue (DMMB) である（図1）。DMMB ($1\mu M$) の極大吸収波長は650nmであるため¹²⁾、600nm以下に大きな吸収を持つ赤血球製剤の病原体不活化にDMMBは適している。しかも核酸との結合定数が大きいため¹²⁾、傷害は病原体に集中する。実際、赤血球の機能にほとんど影響を及ぼさずに5種類のモデルウイルスを不活化したという報告がある¹³⁾。

本総説では、DMMBを用いたSFHのウイルス光不活化処理におけるヘモグロビンや抗酸化物質への影響や活性酸素の関与などについて考察する。

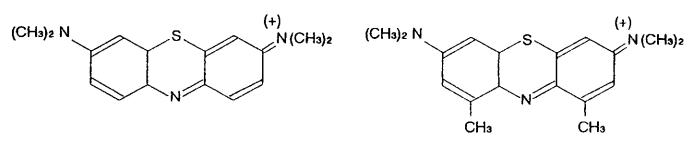


Fig.1 The chemical structure of MB and DMMB

2. DMMBおよびMethylene blue(MB)によるウイルス不活化とヘモグロビンへの影響

本実験では、ウイルス不活化研究に用いられる代表的なモデルウイルスであるvesicular stomatitis virus (VSV、水疱性口内炎ウイルス) を利用した。ウイルス感染値はVero細胞（サル腎由来）を用いプラークアッセイ法により評価した（図2）¹⁴⁾。 $1\mu M$ のDMMBを含有するSFH ($7.67g/dL$ 、液厚1mm) に対し赤色光 (655nm) を照射 ($1.71J/cm^2$) したところ、VSVは $6.4\log_{10}$ 不活化された。MB ($1\mu M$) を用いて同様の実験を行ったところ、不活化効率は大幅に低下し、 $5.6\log_{10}$ 不活化させるのに $11.4J/cm^2$ の照射を要した（図2）。この結果は、「MBに2個のメチル基を付加させたDMMBは、光照射による（メタノール中の）一重項酸素の量子収率が約50%大きく、PBS中でのDNAとの結合定数が約10倍高い」という報告¹²⁾と矛盾しない。光増感物質に2～3個のメチル基を付加させる事により核酸との結合定数が増大する、という実験結果がpsoralenやangelicinで報告されている¹⁵⁾。

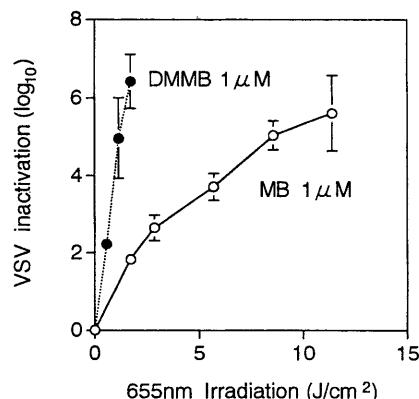


Fig.2 Virus photoinactivation by MB or DMMB

n=3

VSVを約 $6\log_{10}$ 不活化する条件で、ヘモグロビンへの影響を調べたところ、DMMBの場合ではメト化率や酸素結合能に有意な変化は見られなかった（表1）¹⁴。MBの場合は共に有意に変化した（表1）。赤色光（11.4J/cm²）のみではメト化は起こらない。DMMBはMBよりも核酸指向性がはるかに高いので¹²、傷害がウイルスの核酸に集中するのであろうと推測される。

Table 1 Virus inactivation and effect on Hb by phototreatment with MB or DMMB

Dye (μM)	655nm Irr. (J/cm^2)	VSV Inac. (\log_{10})	Met-Hb (%)	P_{50} (mmHg)
MB				
1	0	0	1.27±0.17	10.67±0.31
1	11.40	5.61±0.97	4.49±0.56	9.30±0.47
DMMB				
1	0	0	1.30±0.19	10.50±0.35
1	1.71	6.43±0.69	1.40±0.16	9.83±0.47

n=3

不活化処理に対する感受性はウイルスの種類によって異なる¹³。輸血による病原体感染で最も注意を要するウイルスであるヒト免疫不全ウイルス（HIV）について不活化を行い、VSVの結果と比較した¹⁶。感染価の評価は、HIVに感染したM10細胞（リンパ球系）を間接蛍光抗体法で染色しReed-Muench法により行った。DMMB（2 μM ）とウイルスを含有したSFHに赤色光（655 nm, 0.69J/cm²）を照射したところ、VSVは $3.3\log_{10}$ 不活化した¹⁶。同じDoseでHIVの不活化を行ったところ、 $3.7\log_{10}$ 以上不活化した¹⁶。これらの結果は、HIVのDMMB光不活化処理に対する感受性はVSVのそれと同等以上である事を示している。

3. 二量体DMMBによるウイルス不活化とヘモグロビンへの影響

色素の吸収スペクトルは発色部位近傍の静電的微環境を反映している。DMMBの吸収スペクトルは2つのスペクトルが重なり合ってできており（図3）¹²、長波長側（ $\lambda_{\text{max}} : 650\text{nm}$ ）が単量体のDMMBに、短波長側（ $\lambda_{\text{max}} : 580\text{nm}$ ）が二量体のDMMBに相当する（図3）。DMMBが低濃度ならば単量体が、高濃度ならば二量体が主たる成分となる¹²。ウイルス不活化処理を行った際、両者間でヘモグロビンへの影響の違いがあるかど

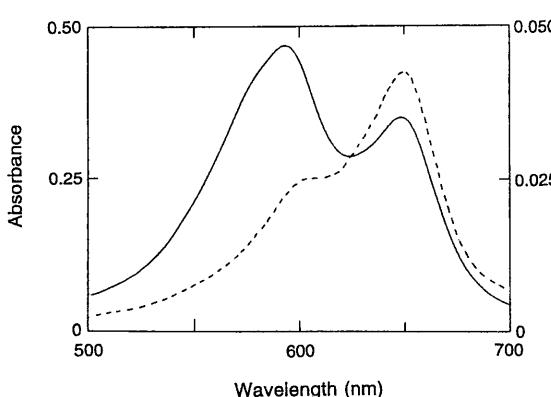


Fig.3 The absorption spectrum of DMMB.

Dashed line, 1 μM DMMB (0-0.05 OD scale);
Solid line, 15 μM DMMB (0-0.5 OD scale).

うか検討を行った¹⁴。高濃度（15 μM ）のDMMB含有SFHに対し580nmの光を照射し二量体を光励起すると、VSVをわずか $1.2\log_{10}$ 不活化する条件（3.38J/cm²）でメト化率が有意に（0.8%）上昇した。580nmの光（3.38J/cm²）のみではメト化は起こらない¹⁴。一方、単量体DMMBを光励起（DMMB 1 μM , 655nm）した場合、VSVは $6.4\log_{10}$ 不活化されるがメト化率に有意な差は生じなかった¹⁴。二量体DMMBは単量体ほど核酸指向性が高くないためにヘモグロビンにも傷害が及ぶのであろうと推測される。いずれにしても、単量体DMMBを利用すれば、ヘモグロビンに傷害を及ぼさずにウイルスだけを不活化できるという事が明らかになった。

4. DMMBを用いたウイルス不活化における活性酸素の関与

メタノール中のDMMBは光照射により一重項酸素を生成する¹²。ウイルス不活化に一重項酸素が関与しているかどうかを単量体と二量体に対して検討した（図4）¹⁷。モデルウイルスとしてR17バクテリオファージを用いた。単量体と二量体いずれの場合においても、一重項酸素の消去剤であるsodium azideは濃度依存的にウイルス不活化を阻害し、一重項酸素の寿命を延長する薬剤である重水素は不活化を促進した（図4）。この結果は、単量体も二量体もウイルス不活化には一重項酸素が関与している事を示している。単量体と二量体ではヘモグロビンへの傷害の程度が異なると既述したが、その原因が活性酸素の種類の違いにある訳ではない事をこの結果は示唆している。

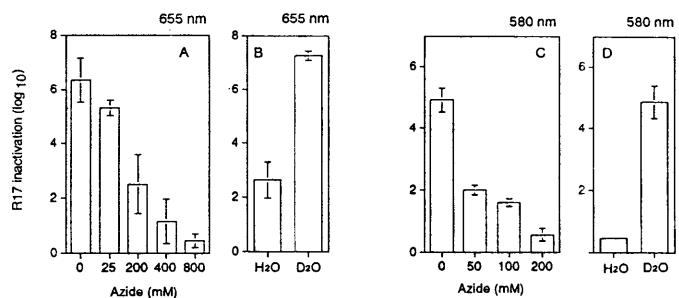


Fig.4 Effect of additives on virus inactivation by DMMB phototreatment

- A) 1.9J/cm² (655nm), DMMB 0.1 μM , Virus 100 μL + PBS 900 μL containing sodium azide
- B) 1.9J/cm² (655nm), DMMB 0.04 μM , Virus 100 μL + PBS or D_2O 900 μL
- C) 0.29J/cm² (580nm), DMMB 1 μM , Virus 100 μL + PBS 900 μL containing sodium azide
- D) 0.15J/cm² (580nm), DMMB 0.5 μM , Virus 100 μL + PBS or D_2O 900 μL

5. DMMBを用いた光不活化処理がSFHの抗酸化物質に及ぼす影響

赤血球から膜成分を除去したSFH中にはヘモグロビンのみならず赤血球が本来もっている抗酸化物質が存在する（図5）。リポソーム型人工酸素運搬体の場合、リポソーム内部に抗酸化物質が共存すれば、ヘモグロビンから放出されるスーパーオキシドのみならず、血流中の活性酸素を消去し、リポソーム内外からの自身への酸化傷害を低減できる可能性がある。また、血流中の活性酸素濃度の減少が生体にとって有益である事は言うまでもない。抗酸化物質に対するDMMB不活化処理の影響を検討

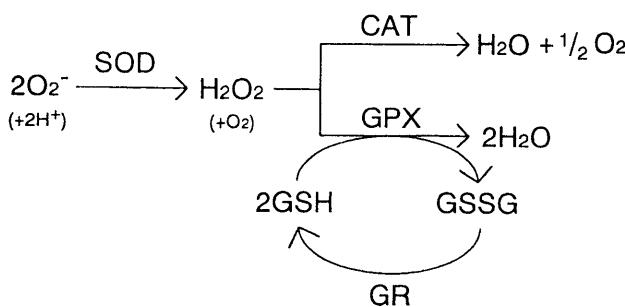


Fig.5 An antioxidation system in red cell

SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GPX, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione.

した(表2)¹⁶⁾. VSVを $6\log_{10}$ 不活化する条件では、GR(グルタチオンレダクターゼ)は77%失活したものの、SOD(スーパーオキシドスミスマーゼ), CAT(カタラーゼ), GPX(グルタチオンペルオキシダーゼ), GSH(還元型グルタチオン)は活性を維持していた(表2). この結果は、DMMB不活化処理後のSFHにはスーパーオキシドと過酸化水素を消去する機能がほぼ残存している事を示している。

DMMB不活化処理によりGRが大きく失活したが(表2), MBで同様の実験を行ってもVSVを $6\log_{10}$ 不活化する条件でGRのみが大きく(74%)失活した。DMMB, MB共に一重項酸素の供与体である¹²⁾. GRが酸化型グルタチオンを還元する際、GR分子中のヒスチジン残基(His-467)が重要な役割を果たす¹⁸⁾. ヒスチジン残基は一重項酸素との反応速度定数が高く($4.6 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$)¹⁹⁾, 従ってGRの失活は、一重項酸素によるGR分子中ヒスチジン残基への傷害が原因であると推測される。

Table 2 Effect on antioxidants by DMMB phototreatment

	No Irradiation	1.4 J/cm ² at 655nm (% Control)
VSV Inactivation (\log_{10})	0	6.10 ± 0.27
SOD (U/mgHb)	1.47 ± 0.02	1.46 ± 0.11 (99.3%)
CAT (U/mgHb)	140.5 ± 3.8	137.1 ± 2.9 (97.6%)
GPX (U/gHb)	19.48 ± 0.65	18.52 ± 0.59 (95.1%)
GR (U/gHb)	0.90 ± 0.04	0.20 ± 0.03 (22.7%)
GSH (mM)	14.34 ± 0.07	13.88 ± 0.22 (96.8%)

DMMB 2μM, n=4

6. 結語

単量体DMMBを用いた光不活化処理はSFH中のヘモグロビンや抗酸化系に傷害を与えずにウイルスを不活化できる手法である。DMMB自身の毒性については検討中であるが、少なくともイオン交換樹脂などを用いた除去が可能である。DMMB光不活化処理を従来のSFHの病原体不活化/除去過程と組み合わせる事は人工酸素運搬体の安全性をさらに向上させるものであり実用化が期待される。

Reference

1. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334, 1685-1689.
2. 関口定美「輸血用血液製剤の感染予防限界」血液事業 1998; 21, 173-184.
3. Tsuchida E. Perspective of blood substitutes. In Tsuchida E, eds. *Blood substitutes*. Netherlands: Elsevier Science S.A., 1998; 1-14.
4. 関口定美. 人工酸素運搬体としての人工血液の開発と臨床応用. *日本臨床* 1997; 55, 2439-2446.
5. 金光公浩, 阿部英樹, 関口定美. 輸血用血液のウイルス不活化. *日本輸血学会誌* 1999; 45, 339-348.
6. 阿部英樹, 菅原浩行, 平山順一, 池淵研二, 関口定美. 人工酸素運搬体ヘモグロビン溶液からの中空糸膜によるヒトパルボウイルスの除去. *人工血液* 1999; 7, 75.
7. Abe H, Sugawara H, Hirayama J, Ihara H, Kato T, Ikeda H, Ikebuchi K. Removal of parvovirus B19 from hemoglobin solution by nanofiltration. *Artif. Cells Blood Subst. Immobil. Biotechnol.*, 2000; 28, 375-383.
8. 平山順一, 阿部英樹, 池淵研二, 関口定美. ヘモグロビン溶液のウイルス除去/不活化. *人工血液* 1999; 7, 95-98.
9. Ben-Hur E, Horowitz B. Advances in photochemical approaches for blood sterilization. *Photochem. Photobiol.* 1995; 62, 383-388.
10. 阿部英樹, 関口定義. 血液製剤のウイルス光不活化法. 検査と技術 1997; 25, 1081-1082.
11. 平山順一, 阿部英樹, 池淵研二, 池田久實. 血球製剤に対するウイルス不活化研究の現状. 池田久實編. *輸血医療におけるリスク管理*. 札幌: エフ・コピエント富士書院 2000; 214-220.
12. Wagner SJ, Skripchenko A, Robinette D, Foley JW, Cincotta L. Factors affecting virus photoinactivation by a series of phenothiazine dyes. *Photochem. Photobiol.* 1998; 67, 343-349.
13. Wagner SJ, Skripchenko A, Robinette D, Mallory DA, Cincotta L. Preservation of red cell properties after virucidal phototreatment with dimethylmethylen blue. *Transfusion* 1998; 38, 729-737.
14. Hirayama J, Wagner SJ, Gomez C, Macdonald VW, Abe H, Ikeda H, Ikebuchi K, Sekiguchi S. Virus photoinactivation in

- stroma-free hemoglobin with methylene blue or 1,9-dimethylmethylene blue. *Photochem. Photobiol.* 2000; 71, 90-93.
15. Rodighiero G, Acqua FD, Averbeck D. New psoralen and angelicin derivatives. In: Gasparro FP ed, eds. *Psoralen DNA Photobiology*. USA: CRC Press, 1988; 37-114.
16. Hirayama J, Abe H, Kamo N, Ikebuchi K, Ikeda H. Comparison of the effects of different antiviral treatments on the antioxidant systems of stroma-free hemoglobin. *Photochem. Photobiol.*, 2001; 74, 461-464.
17. Hirayama J, Wagner SJ, Abe H, Ikebuchi K, Ikeda H. Involvement of reactive oxygen species in hemoglobin oxidation and virus inactivation by 1,9-dimethylmethylene blue phototreatment. *Biol. Pharm. Bull.* 2001; 24, 418-421.
18. Pai EF SchulzGE. The catalytic mechanism of glutathione reductase as derived from x-ray diffraction analyses of reaction intermediates. *J. Biol.Chem.* 1983; 258, 1752-1757.
19. Michaeli A, Feitelson J. Reactivity of singlet oxygen toward amino acids and peptides. *Photochem.Photobiol.* 1994; 59, 284-289.

血清アルブミンのドラッグデリバリーシステムへの応用

Application of Serum Albumin to Drug Delivery System

丸山 徹, 小田切 優樹
Toru Maruyama, Masaki Otagiri

和文抄録

ヒト血清アルブミン (HSA) は、安全性、生体適合性、生体分解性や血中滞留性に富んでいるため、動態動性に問題がある薬物のドラッグデリバリーシステム (DDS) において好ましい担体として位置付けられている。最近では、薬物のみならず人工血液領域においてもアルブミンDDSが応用されている。従来のサイズによる受動的ターゲティングに加え、電荷や生体認識素である糖鎖、ペプチドをHSAに付加することにより、血中滞留性改善だけでなく臓器ターゲティングすることも可能である。加えて、生理活性ペプチドとHSAを遺伝子レベルで連結し、リコンビナントハイブリッド体として発現させるアルブミン融合技術も開発されている。

Abstract

Human serum albumin (HSA) is an attractive macromolecular carrier for the delivery of drugs which exhibit imperfect pharmacokinetics properties, due to its availability in pure form and its biodegradability, nontoxicity and nonimmunogenicity. Recently, albumin-DDS has also been applied in the field of artificial blood substitutes. In addition to passive targeting by size-controlled albumin microparticles, active delivery of drug can be achieved by the introduction of charge, sugar and peptide moieties to HSA as homing devices to gain access to target cell. Furthermore, albumin fusion technology have been developed to improve the retention of therapeutic biologically active proteins in blood. This technology consists of fusing the gene of albumin with the gene of a therapeutic biologically active protein, in order to produce the albumin fusion protein, using a suitable expression system.

Keywords

Human serum albumin, drug delivery system, blood substitutes, albumin fusion technology, microparticules

はじめに

ヒト血清アルブミン (HSA) は、体内において血液及び細胞間液をはじめ幅広く分布している。その一次構造は585のアミノ酸からなり、糖鎖構造を有していない分子量約66.5kDaの単純蛋白質である。分子内に35個のCys残基を有しており、そのうち34個が17対の分子内ジスルフィド結合を形成しているが、³⁴Cysのみが遊離なチオール基を有している¹⁾。また、Cys残基と同様、高い反応性を有しているLys残基も分子中に59個と非常に多く含まれているため、これらの残基を介した各種抱合反応やキレート形成反応が様々な物質の運搬・不活化に利用されている²⁾。HSAは血漿中に最も大量に存在する蛋白質(4～5 g/dl)であるため、その膠質浸透圧により血管内外の水分バランスを保つとともに、血液循環動態を維持する機能を有している。また、アルブミンは非常に柔軟な構造を有し、数多くの物質と結合することがで

きるため、栄養分のような内因性物質や薬物のような外因性物質の運搬、貯蔵、安定化、可溶化、解毒といった輸送担体として重要な役割を担っている。アルブミンとリガンドの結合は、分子上に存在するリガンド結合サイトに可逆的・特異的に結合するケースだけでなく、分子表面への吸着のような非特異的結合も存在する^{3,4)}。加えて、前述した³⁴CysやLys残基との共有結合も見出されている。また最近、アルブミンの新しい機能として抗酸化能が注目されているが、この効果が³⁴Cysをはじめ、Met, Tyr, Trp, Arg, His残基などにより引き起こされること、中でもMetとCys残基が重要な役割を果たしていることが見出されている⁵⁾。

従来、アルブミンは低分子薬物のドラッグデリバリーシステム (DDS) に用いられてきたが、最近では、種々の生理活性ペプチドや蛋白質のDDSに用いられることが増えてきている。こ

れは多くの場合、このようなペプチドや蛋白質が、in vitroにおいては高い生理活性を示すものの、in vivoにおいては体内から非常に速く消失してしまうため、十分活性を示さないか、あるいは大量・頻回な投与が必要となり、患者のQOL低下や、副作用の発現などの問題点を抱えているためである。その反面、HSAは、ネフローゼ症候群などの特殊な疾患を除き、非常にゆっくりと体内から消失する（生物学的半減期：15～19日）。そのため、アルブミンのような高分子を結合させると、血中滞留性が向上し、標的部位への移行性を改善することができるようになる。また、HSAはin vitroにおいて弱いエステラーゼ様活性やエノラーゼ活性を示すものの、基本的には酵素作用や免疫機能を有していないため、生理活性ペプチドに結合させても、好ましくない有害反応を生じる危険性が少ない。加えて、HSAは生体適合性に優れているうえ、生体分解性である。これらの点から、HSAは低分子薬物のみでなく、薬物動態学的特性に問題がある生理活性ポリペプチドにおいても好ましい担体として考えられる。さらに近い将来、リコンビナントアルブミン製剤が上市されることから⁶⁾、アルブミンを用いたDDSの開発研究は一層活発化されることが予想される。そこで本稿では、アルブミンDDSの現状と展望について紹介する。

1) アルブミンと薬物の可逆的結合によるDDSシステム

①人工ヘム-アルブミン^{7,8)}

血液型のない、感染の危険もない酸素輸液は、医療面で輸血に代わる新技術として貢献できるため、人工酸素運搬体の開発が活発に進められている。人工酸素運搬体の効用としては出血性ショック、体外循環の補填液、臓器灌流液など多岐にわたると考えられている。土田らは、高濃度酸素輸液の調製を目指して、rHSAの二量体に疎水性の合成ヘム“lipidheme”（ポルフィリン誘導体：Lh）を効率よく包接させたアルブミン-ヘム複合体（略称：アルブミン-ヘム、rHSA₂-Lh）を作製した。このアルブミン-ヘムは、自然界に存在しない全く新しい合成ヘム-蛋白質であるが、Hbと同様、酸素分圧に応じて酸素分子を結合解離することが可能である。Lhは、HSAのサブドメインIb、IIa、IIIbなどに結合するものと推定される。また、アルブミンは1分子当たり8分子のLhを結合できるため、最大16分子のLhを結合することが可能となる。なお、CDスペクトル法や光散乱法の検討結果から、rHSAの立体構造及び物理化学的特性は複合体化による影響を受けないことが明らかとなっている。これらの結果は、複合体化が膠質浸透圧調節や血漿增量作用と言ったrHSAが有する本来の特性が損なわれていないことを示唆する。またin vitro実験結果から、rHSA₂-Lhでは、生理的膠質浸透圧を維持したまま、実際に血液の1.3倍量を超える酸素輸送が可能とされている。In vivoにおいても、過度の出血ラットの脱血交換投与試験から、rHSA-Lh溶液が生体内でも充分に酸素輸送のできる全合成系酸素輸液として機能することが実証されている。末梢組織や腎皮質への酸素供給量を定量すると、Lh濃度に比例した酸素運搬が実測されている。この実験条件では、rHSA投与のみの処置では全例が30分以内に死亡するのに対し、複合体投与群では、全例が生存しており、rHSA-Lh溶液の救命効果が実証された⁹⁾。

②生体内アルブミン結合を利用した薬物動態制御システム

アルブミンを利用したDDSの場合、体外で調製したアルブミンと薬物の結合体や複合体を用いるのが普通であるが、生体内のアルブミンを利用したDDSも試みられている。これは、長鎖脂肪酸のようにアルブミンに対し高い親和性を有するリガンドを薬物に修飾し、生体内でそのリガンドを介して、薬物とアルブミンを結合させて主薬の動態を制御するものである。例えば、前田らは薬物にアルブミンに高い親和性を有するスチレン-無水マレイン酸共重合体（SMA）に共有結合させ、分子内のSMAが血漿中のアルブミンに一層結合することで、主薬の血中滞留性が大きく改善され、血管透過性の亢進した炎症病巣へのターゲティングが達成されることを見出している¹⁰⁾。また最近、Markussenらは、インスリンのB鎖の²⁹Lysを長鎖脂肪酸の一つであるミリスチン酸で修飾し、血液中でHSAと結合可能なアシル化インスリンを設計している¹¹⁾。HSAとの結合はアシル化インスリンの腎臓や肝臓からの消失を抑制し、血中滞留性を改善することから、長時間作用型インスリンへの応用が期待されている。また、ConjuChem社は薬物とアルブミン結合リガンドをコネクターで結びつけた、Drug Affinity Complex（DAC）システムを開発している。このシステムでは、投与されたDACがHSAに素早く、選択的に、しかも1対1で、永久的に結合するため、血中滞留性の向上にとどまらず、肝臓、腎臓や脳などへの組織移行性が制限されるため、副作用の軽減も期待できる。事実、麻薬性鎮痛薬Dynorphin Aについて適用され、米国における臨床試験では半減期の10,000倍延長や、副作用の有意な低下が認められている¹²⁾。

2) アルブミンと薬物の不可逆的結合によるDDS

①アルブミン融合技術によるコントロールドリリース

従来、高分子医薬に対し、アルブミンを担体として付与する場合、アルブミンが有するリガンド結合能を利用して非共有結合により一体化させる方法、あるいは両者を化学修飾により接合させる方法のいずれかが用いられてきた。例えば、HSAに架橋剤を介して成長ホルモンを接合させると、成長ホルモンの安定性を20-40倍も増加させるうえ、消失臓器が腎臓から肝臓へ変化するため腎毒性を引き起こす機会が減少することが報告されている。しかしながら、化学的結合の場合、均一な結合体の調製が難しいうえ、両成分の生理活性や特性を保持させるためには、適切な架橋条件を見出す必要があるなどの問題点が指摘されている。最近、このような化学的修飾法の欠点を克服するため、アルブミンと蛋白性医薬品の遺伝子を融合させ、ハイブリッド体として発現させる“アルブミン融合技術”が盛んに試みられている。

この技術は、まず最初にCD4に対して応用された¹³⁾。リコンビナント可溶化CD4（sCD4）は、それ自身がin vivoで無害であるにもかかわらず、CD4⁺標的細胞へのHIVの結合・進入を阻止することができるものの、ヒトにおける消失は非常に速いため、臨床有効濃度に達することが困難であるという問題点を有している。そのため、sCD4に関しては半減期を延長させることが重要な課題とされてきた。そこで、YehらはsCD4の半減期延長を

目的として、HSAの遺伝子のC末端に可溶性CD4（ドメインV1-V2）の遺伝子を連結し、酵母分泌系でハイブリッド蛋白質(rHSA-sCD4)を効率良く発現させることに成功している。このハイブリッド体は予想どおり、CD4の抗ウィルス活性を保持しながら、ウサギを用いたモデル実験系においてCD4の半減期を140倍延長させた（図1）。また彼らは、酵母におけるsCD4の発現がHSA遺伝子非存在下では、合成されたsCD4の大部分が分解し、非常にわずかしか分泌しないことから、HSAは酵母における分泌安定化担体としての可能性も示唆している。

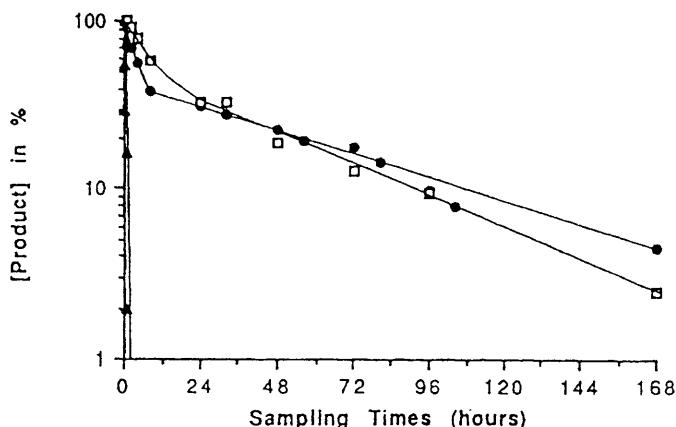


Figure 1. Evolution of the plasma concentrations of sCD4, rHSA, and HSA-CD4 in rabbits. ▲, sCD4; □, HSA-CD4; ●, rHSA. (from Ref. 13)

ヒルディンは薬用ヒルの唾液腺より発見された66個のアミノ酸からなるポリペプチドであり、非常に高い抗血液凝固活性を有している。そのため、選択的抗トロンビン薬として、遺伝子組み換え型ヒルディンが開発中であり、各種血栓関連疾患への効果が期待される。Syedらはこのヒルディンの血中半減期を延長させ、抗血液凝固活性を持続させる目的でヒルディンとウサギ血清アルブミンの接合体を遺伝子融合技術により作成した¹⁴⁾。ヒルディン遺伝子はアルブミン遺伝子のC-末端に連結し、適正な立体構造やジスルフィド結合を保持するため、接合体はCOS-1細胞で発現する。In vitro実験により、接合体はヒルディン単独の場合と同様、抗トロンビン活性を阻害した。また、アルブミンのリガンド結合能も接合による影響を受けなかった。ウサギにおける薬物速度論的解析により、in vivoにおける融合蛋白質の血中消失半減期はヒルディン単独の場合に比べ、2ケタ以上遅延していた。その際、融合蛋白質は接合体の形で循環していることが、ウサギより回収した融合蛋白質の電気泳動分析により明らかにされている。

また、米国ヒューマンゲノムサイエンス社はアルブミン融合技術をインターフェロンに応用することに成功している¹⁵⁾。このインターフェロン-HSA接合体はAlbuferonと呼ばれ、まずC型肝炎の治療で臨床効果が評価された。Albuferonは血中におけるインターフェロンの貯蔵庫として機能するため、副作用の軽減や投与回数の減少により、患者の利益を向上させることが期待されている。さらに同社では、同様の技術を成長ホルモンにも応用して、長時間作用型のリコンビナント成長ホルモンである、HSA-成長ホルモン接合体(AlbutropinTM)の開発にも成功して

いる¹⁵⁾。現在、AlbutropinTMについては第一相臨床試験が実施されている。前臨床試験の結果によると、AlbutropinTMの体内からの消失はこれまでのリコンビナント製剤より50倍以上延長しており、投与後一週間経っても、その存在が血中において確認されている。従来の製剤では一週間に6～7回投与しなければならないことを考えると、AlbutropinTMはより簡易な投与設計を提供し、患者の負担軽減に貢献できる可能性を秘めている。

また、HSAの遺伝子融合技術を用いて、抗体断片scFvの実用化も試みられている。SmithらはscFv-HSAを酵母系でうまく発現させることに成功し、ハイブリッド化しても抗体の結合能はほとんど影響を受けないものの、抗体断片の消失は著しく抑制されることを報告した¹⁶⁾。

②プロテアーゼを利用した薬物送達

マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)，中でもMMP2(ゲラチナーゼA)とMMP9(ゲラチナーゼB)はガン細胞の増殖転移過程において非常に重要な役割を果たしていると考えられているが、これら酵素のプロテアーゼ活性を利用してアルブミンDDSシステムが開発されている¹⁷⁾。この方法では、薬物にMMPの基質となる8個のアミノ酸から成るペプチド(Gly-Pro-Leu-Gly-Lle-Ala-Gly-Gln)をスペーサーとして導入し、これをHSAの³⁴Cysに共有結合させて接合体を調製する。投与された接合体がガン細胞に取り込まれると細胞内のMMPにより、ペプチドスペーサー部分が開裂する結果、薬物が遊離して薬理効果を示すようになる。このユニークな薬物標的化は、まずドキソルビシンにおいて試みられた。ドキソルビシンは高い抗腫瘍効果を示すものの、投与量が増加すると重篤な心毒性をはじめとする有害反応が生じてくること、またp-糖蛋白質などにより耐性の引き起こされることが問題とされてきた。そこでKratzらは、ドキソルビシンにこのシステムを応用したところ、この接合体は正常細胞では薬理作用を示さないが、ガン細胞に対してはドキソルビシンが遊離されるため、殺細胞効果を示すことが明らかとなった。また、この複合体はドキソルビシン単独とは異なり、組織への分布が制限されることに加え、p-糖蛋白質の基質になりにくいことから、副作用の軽減や耐性克服も期待される。

③アルブミン分子修飾による能動的臓器ターゲティング

アルブミンの修飾体を能動的輸送システムの担体として用いる場合、従来はアニオニ化、カチオニ化のようにアルブミンの物理化学的性質を調節する方法が一般的に用いられてきた。また最近では、糖構造やペプチドのように、細胞表面に存在する受容体の認識素子（装置）を導入することにより、精密な動態制御や細胞特異的ターゲティングの実現を図る試みも精力的に検討されている。

①アニオニ化アルブミン

HSAはサクシニル化やアコニチル化により負電荷を付与すると、未処理HSAとは異なり、負電荷の程度に応じて、より速くリンパ系に分布するようになる。またKuijpersらは、in vitro実験ながら、これら負に帯電したアルブミン分子が抗HIV活性を示すようになることを見出すとともに¹⁸⁾、アニオニ化HSAをAZTのような抗ウィルス薬の活性担体として用いる“二重標的化”という新規DDSを提示している。この二重標的化薬剤は抗ウィ

ルス作用に相乗効果を示すだけでなく、アニオン化HSAがAZT耐性の進行を抑える効果も期待される。

②カチオン化アルブミン

HSAをカチオン化すると、未処理HSAとは異なり、肝臓や腎臓だけでなく脳組織への取り込みが観察されるようになる。一方、心臓や肺への蓄積は示されないようになる。このような、カチオン化アルブミンの特異な生体内分布特性はアルブミン分子のカチオン化の程度に依存している。そこで、このカチオン化HSAを担体とした脳へのDDSが検討されている。

③糖化アルブミン

生体内中、肝臓には糖残基を認識する受容体の存在することが知られている。例えば、アシアロ糖蛋白質の場合、シアル酸が取り除かれて、糖鎖末端に露出してきたガラクトース残基を肝臓のD-ガラクトース受容体が認識して肝細胞にエンドサイトーシスされるため、血中より非常に速く消失する。 99m Tcで標識化したガラクトシル化アルブミンは肝機能診断や核医学イメージングに応用されている。

また、マンノース残基を有する糖蛋白質はマンノース受容体を介して肝臓に効率よく取り込まれる。このマンノース受容体、特に肝纖維化の過程において、肝ステレート細胞の表面に発現していくようになる。そのため、肝ステレート細胞への抗纖維化剤の送達は肝細胞の纖維化を防ぐために重要である。ところが、現在までに開発されている薬剤の場合、肝ステレート細胞への取り込みが少なく、そのため肝以外の組織において副作用を示すことがある。そこで、Beljaarsらは、HSA分子をマンノシル化することにより、肝ステレート細胞への薬物送達効率の改善を試みている¹⁹⁾。HSA 1分子当たり28個のマンノースで修飾すると、このネオ糖蛋白質は肝ステレート細胞表面のマンノース受容体を介してエンドサイトーシスされ、素早く内部に取り込まれるようになる。そのため、高マンノシル化HSAは肝細胞の纖維化を抑制するための選択的輸送担体としての役割が期待されている。

④ペプチド付加アルブミン

前述したネオ糖蛋白質を担体として用いる場合、病態時に、目標とする受容体がダウンリギュレーションを起こす危険性が懸念される。そのため、Beljaarsらは、逆に標的組織の疾病化により著しくアップリギュレートする受容体に対し、高い認識能を有する新しいタイプのポリペプチド担体をデザインした²⁰⁾。上述のステレート細胞上にはコラーゲンタイプVI受容体も発現しているが、これは肝纖維化などの疾病に伴い発現量が増加する。そこでBeljaarsらは、この受容体に認識される環状ペプチド(C*GRGDSPC*: *は環状システィン残基)をアルブミン分子に修飾した輸送担体(pCVI-HSA)を調製し、正常及び纖維化ラットに投与して細胞分布挙動を調べた。その結果、この接合体はコラーゲンタイプVI受容体に認識されるため、病態ラットの肝ステレート細胞に優先的に取り込まれる。加えて、pCVI-HSAはコラーゲンタイプVI受容体をブロックすることにより、肝纖維化の進展に対しても好ましい影響を及ぼす可能性が示唆される。したがって、受容体に認識される基質蛋白質の最少部位をHSAに付加した接合体は、病態時において惹起される変化に対

応した部位選択的送達システムとして期待される。図2は、肝纖維治療におけるアルブミンDDS製剤の可能性を示したものである。

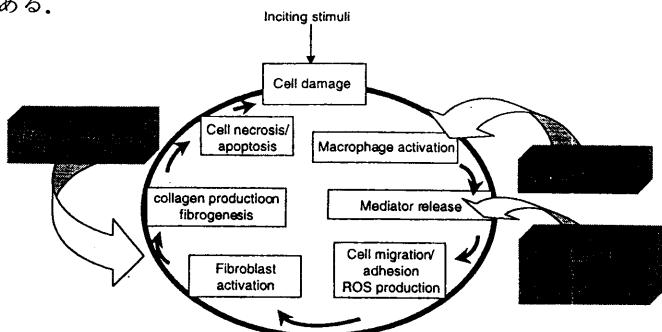


Figure 2. The process of fibrosis envisioned as a vicious circle. Different stages of the disease provide the opportunity for pharmacotherapeutic interventions. Dexamethason conjugated to HSA (dexam-HSA) or to mannoseHSA (dexa-ManHSA), and naproxen conjugated HSA are aimed at different stages of the inflammatory process, whereas M6P-HSA and albumins modified receptor recognizing peptides (rrp-HSA) are aimed at the myofibroblasts to target antifibrotic drugs. (from Ref. 29)

3) アルブミン微粒子キャリアによるDDSシステム

アルブミンは生体内分解性であり、抗原性や有害性が非常に低いことに加えその品質が保証されていることから、医薬品微粒子素材（マイクロ小球体やマイクロカプセル）としても古くから使用されてきた²¹⁾。現在までに、アルブミン微粒子の代表的なものとしては、薬物担体、血液製剤担体、診断薬が開発されている。最近では遺伝子を包含したアルブミンマイクロバブルと超音波を組み合わせた臓器特異的遺伝子デリバリーも心臓を中心に試みられている²²⁾。

①低分子薬物のターゲティング

血管系に注射された微粒子キャリアの循環血液中での動態及び各臓器への移行は、血管系と各臓器の解剖学的位置関係及び臓器における毛細血管床の構築と血管壁の微細構造によって規定される。したがって、この現象をうまく利用すれば、微粒子をキャリアーに用いて受動的ターゲティングの機構により、それぞれの臓器や部位に薬物を選択的に送達させることができるようになる。その場合、マイクロ小球体のサイズは体内動態を決定する最も重要な因子であるため、調製条件をうまく選ぶことが大切である。薬物運搬体の担体としてのアルブミンマイクロ小球体の利用は1980年代にKramerにより提案され、主に抗ガン剤のターゲティングあるいは徐放性担体として開発してきた²³⁾。アルブミンマイクロ小球体を用いた、5-FUの肝臓へのターゲティングでは、投与後72時間までに投与量の70%が肝臓に集積している。また、アルブミンマイクロ小球体は、ガン治療法の一つである化学塞栓療法にも応用されている。マイトマイシンCを含むアルブミンマイクロ小球体(直径45μm)を静脈内投与した化学塞栓療法が検討されている。

通常、アルブミン微粒子キャリアを用いた薬物ターゲティングでは、体内移行は受動的に進行し、それ自身が標的を識別して自らの推進力で標的に接近するような機能を有するものは

ない。このため、微粒子キャリアー中に磁性体を含有させ、外部磁場によりキャリアーをガン病巣に誘導しようとする試みが行われている。例えば、抗ガン剤アドリアマイシンと酸化鉄を含有したアルブミン小球体によるガン病巣ターゲティングが検討されている。

②血液製剤のターゲティング

Leviらは、最近アルブミンを担体とし、その表面に止血に重要なフィブリノーゲンを固相化した微粒子である“SynthocyteTM”を開発している²⁴⁾。Synthocyteは、10%HSA溶液をスプレードライ法により作成したアルブミンマイクロカプセル（粒子径の中央値3.5~4.5μm）とフィブリノーゲンをインキュベートすることにより調製される。Synthocyteを血小板と混合し刺激すると、血小板とSynthocyte間で結合が起こり、血小板凝集塊にSynthocyteが取り込まれ、凝集塊が大きくなると予想される。したがって血小板減少あるいは血小板機能低下患者にこれを投与すると、止血血栓の形成を補助し、ひいては止血能を増強させる可能性がある。そこで彼らは、その機能をブルファン投与により血小板を減少したウサギを用いたモデル実験系で検討している。Synthocyteの投与により、出血時間及び出血量は有意に減少していた。また、走査電子顕微鏡を用いた形態学的検討により、Synthocyteと血小板の結合が観察されている。

これまで、アルブミンのマイクロカプセルあるいはマイクロ小球体の調製方法としては、噴霧乾燥法、コアセルベーション法、懸濁あるいは乳化法が頻用されてきた。これらの調製法では、粒子径制御が困難であること、不可逆的な熱変性体を利用すること、調製工程において使用する有機溶媒、界面活性剤あるいは架橋剤の除去操作が煩雑であること、分子表面が疎水性になる場合は表面親水化処理する必要があるなどの問題点が指摘してきた。

最近、武岡・土田らのグループは、前述した³⁴Cysとジスルフィド結合の溶媒への露出度がアルブミンの構造転移に伴い変化する現象に着目し、水溶液中でアルブミン分子内・分子間チオール・ジスルフィド交換反応により、ナノメートルからマイクロメートルの親水性アルブミン重合体を得る方法を確立している²⁵⁾。本法は、不可逆な熱変性や架橋剤を使用せず、温度とpHの変化のみで粒子径を制御するため、主な副生成物は塩でありクリーンな重合方法である。また、このようにして調製したアルブミン重合体と、目的とする生理活性分子のLys残基をN-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionateで処理し、チオール・ジスルフィド交換反応にて両者をジスルフィド結合することにより、アルブミン重合体の表面に任意の数の生理活性分子を担持させることが可能となる。武岡・土田らのグループはこのような方法により調製したアルブミン重合体に、出血部位を認識するために血小板膜蛋白質の一部のリコンビナント体(rGPIbα, rGPIaIIaなど)を保持させ、止血能を有するアルブミン重合体(血小板代替物)の開発を試みている²⁵⁾。リストセチン誘発による凝集化反応やvWF表面固定化基板への粘着挙動の観察結果から、rGPIbα-アルブミン重合体は、正常血小板と同様にvWF表面と特異的に相互作用し、高ずり速度下においても粘着することが明らかにされた。加えて、アルブミン重合体は内部が充填

された硬い球状構造であるため、出血部位においては充填剤としての効果も期待される。そのため、rGPIbα-アルブミン重合体は、生体内における出血部位を認識して粘着し、残存血小板による一次止血を補助できる粒子系としての可能性が示唆されている。

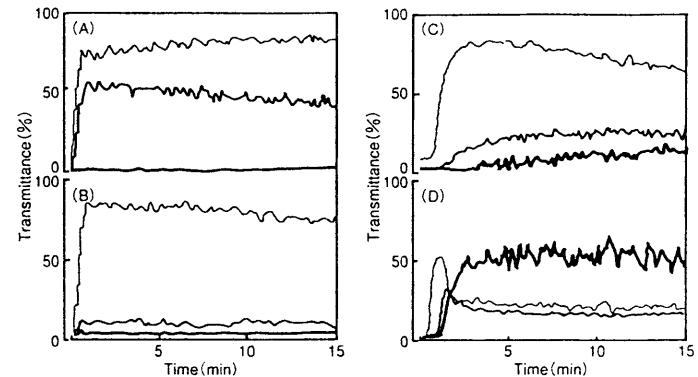


Figure 3. Aggregation of rGPIbα-AMS in the presence of vWF by the addition of ristocetin detected by PA-100. rGPIbα-AMS ($[rGPIb\alpha] = 4.0\text{ }\mu\text{g/mL}$, $[HSA] = 1.0\text{ mg/mL}$) was first mixed with $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ vWF and 1.0 mg/mL ristocetin was added thereafter (a). Aggregation of rGPIbα-AMS under the above conditions was inhibited by $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ GUR20-5 (b). Platelet aggregation by rGPIbα-AMS with ristocetin was monitored by PA-100. PPP at low platelet counts ($4.0 \times 10^7/\text{mL}$) was mixed with rGPIbα-AMS ($[GPIb\alpha] = 0.27\text{ }\mu\text{g/mL}$, $[HSA] = 150\text{ }\mu\text{g/mL}$) (c), or control AMS (d) and 1.5 mg/mL risocetin was then added to the mixture. Platelet aggregation was strongly induced by ristocetin in the presence of rGPIbα-AMS. (from Ref. 25)

③診断薬

アルブミン小球体は種々の放射性同位体でラベルすることにより、診断薬としても利用されている。数ミクロンから数十ミクロンの放射化ラベルしたアルブミン凝集体は、心肺、脳、肝臓、その他の臓器の血流動態観測用プローブや血管造影剤などに利用されている。また、エア充填タイプのアルブミンマイクロカプセルは、超音波診断用増感剤(Albunex, Optison, Quantason)として実用化されている^{26,27)}。今後、糖鎖やペプチドを付加したアルブミン微粒子キャリアーを用いた能動的ターゲティングが核医学診断に応用されてくると思われる。また最近、アルブミンのマイクロ小球体がクッパー細胞のファーゴサイトーシスの基質であることを利用して、クッパー細胞による薬物取り込み能力の評価が試みられている²⁸⁾。

おわりに

これまで、アルブミンを担体として用いられてきたDDSは抗ガン剤を中心になされてきた。今後は、サイトカイン、ホルモンや抗体などをはじめとするバイオ医薬、さらには遺伝子医薬の応用が大いに期待される。そのためには、担体であるHSAにも多様性が求められてくるであろう。最近、我々は遺伝子組み換え技術を用いて、HSAの断片化、多量体化によるサイズ調節をはじめ、臓器指向性や、主薬の安定化向上を狙って抗酸化能を高めたアルブミンを作製し、DDSへの応用を検討している。

古くて新しいタンパク質、アルブミンのDDSキャリアとしての今後の新展開が期待される。

Reference

1. Peter T Jr. All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications 1996, Academic Press, San Diego.
2. Narasaki R, Otagiri M. Covalent binding of a bucillamine derivatives with albumin in sera from healthy subjects and patients with various diseases. *Pharm Res* 1997; 14: 351-353.
3. Bhattacharya AA, Petitpas I, Grune T, Franks NP, Curry S. High-resolution crystal structure analysis fatty acid and drug binding to human serum albumin. Proceedings of the International Symposium on Serum Albumin & α_1 -Acid Glycoprotein (eds. Otagiri M et al.) 2001, Kumamoto, Japan.
4. Watanabe H, Tanase S, Nakajou K, Maruyama T, Kragh-Hansen U, Otagiri M. Role of Arg-410 and Tyr-411 in human serum albumin for ligand binding and esterase-like activity. *Biochem J* 2000; 349: 813-819.
5. Anraku M, Yamasaki K, Maruyama T, Kragh-Hansen U, Otagiri M. Effect of oxidative stress on the structure and function of human serum albumin. *Pharm Res* 2001; 18: 632-639.
6. Sumi A, Okuyama K, Kobayashi K, Ohtani W, Ohmura T, Yokoyama K. Purification of recombinant human serum albumin: Efficient purification using STREAMLINE. *Bioseparation* 1999; 8: 195-200.
7. Tsuchida E. An oxygen infusion: Conjugate of human serum albumin-heme as O₂-carrying system. Proceedings of the International Symposium on Serum Albumin & α_1 -Acid Glycoprotein (eds. Otagiri M et al.) 2001, Kumamoto, Japan.
8. Komatsu T, Tsuchida E, Kobayashi K. Oxygen-transport albumin: A new hemoprotein incorporating lipidhemes as a red cell substitute. Tsuchida E (ed), In *Blood Substitutes: Present and Future Perspectives*, Elisevier, The Netherlands, 1998.
9. Tsuchida E, Komatsu T, Hamamatsu K, Matsukawa Y, Tajima A, Yoshizu A, Izumi Y, Kobayashi K. Exchange transfusion with albumin-heme as an artificial O₂-infusion into anesthetized rats: physiological responses, O₂-delivery, and reduction of the oxidized hemin sites by red blood cells. *Bioconjug Chem* 2000; 11: 46-50.
10. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumor-tropic accumulation of proteins of the antitumor agent smancs. *Cancer Res* 1986; 46: 6387-6392.
11. Kurtzhals P, Havelund S, Jonassen B, Kiehr B, Larsen UD, Ribel U, Markussen J. Albumin binding of insulins acylated with fatty acids: characterization of the ligand-protein interaction and correlation between binding affinity and timing of the insulin effect in vivo. *Biochem J* 1995; 312: 725-731.
12. Holmes DL, Thibaudeau K, L'Archeveque B, Milner PG, Ezrin AM, Bridon DP. Site specific 1:1 opioid:albumin conjugate with in vitro activity and long in vivo duration. *Bioconjug Chem* 2000, 11: 439-444.
13. Yeh P, Landais D, Lemaitre M, Maury I, Crenne J-Y, Becquart J, Murry-Brelier A, Boucher F, Montay G, Fleer R, Hirel P-H, Mayaux J-F, Klatzmann D. Design of yeast-secreted albumin derivatives for human therapy: biological and antiviral properties of a serum albumin-CD4 genetic conjugate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 1904-1908.
14. Syed S, Schuyler PD, Kulczycky M, Sheffield WP. Potent antithrombin activity and delayed clearance from the circulation characterize recombinant hirudin genetically fused to albumin. *Blood* 1997; 89: 3243-3252.
15. Hollon T. HGS targets patent-expiring drugs. *Nature Biotechnol* 2000; 12: 1238-1239.
16. Smith BJ, Popplewell A, Athwal D, Chapman AP, Heywood S, West SM, Carrington B, Nesbitt A, Lawson AD, Antoniw P, Eddelston A, Suitters A. Prolonged in vivo residence times of antibody fragments associated albumin. *Bioconjug Chem* 2001; 5:750-756.
17. Kratz F, Dreys J, Bing G, Stockmar C, Scheuermann K, Lazar P, Unger C. Development and in vitro efficacy of novel MMP2 and MMP9 specific doxorubicin albumin conjugates. *Bioorg Med Chem Lett* 2001; 11: 2001-2006.
18. Kuipers ME, vdBerg M, Swart PJ, Laman JD, Meijer DK, Koppelman MH, Huisman H. Mechanism of anti-HIV activity of succinylated human serum albumin. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 889-898.
19. Beljaars L, Molema G, Weert B, Bonnema H, Olinga P, Groothuis GM, Meijer DK, Poelstra K. Albumin modified with mannose-6-phosphate: A potential carrier for selective delivery of antifibrotic drugs to rat and human hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999; 29: 1486-1493.
20. Beljaars L, Molema G, Schuppen D, Geerts A, De Bleser PJ, Weert B, Meijer DK, Poelstra K. Successful targeting to rat hepatic stellate cells using albumin modified with cyclic peptides that recognize the collagen type VI receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 12743-12751.
21. Gupta PK, Hung CT. Albumin microspheres. I: physicochemical characteristics. *J Microencapsulation* 1989; 6: 427-462.
22. Shohet RV, Shuyuan C, Zhou Y-T, Wang Z, Meidell RS, Unger RH, Grayburn PA. Echocardiographic destruction of albumin microbubbles directs gene delivery to the myocardium. *Circulation* 2000; 101: 2554-2560.
23. Kramer PA. Letter: Albumin microspheres as vehicles for achieving specificity in drug delivery. *J Pharm Sci* 1974; 63: 1646-1647.
24. Levi M, Friederich PW, Middleton S, deGroot PG, Wu YP,

- Harris R, Biemond BJ, Heijnen HFG, Levin J, ten Cate JW. Fibrinogen-coated albumin microcapsules reduce bleeding in severely thrombocytopenic rabbits. *Nature Medicine* 1999; 5: 107-111.
25. Takeoka S, Teramura Y, Ikeda Y, Tsuchida E. Conjugation of von Willebrand factor-binding domain of platelet glycoprotein Ib α to size-controlled albumin microspheres. *Biomacromolecules* 2000; 1, 290-295.
26. Perkins AC, Frier M, Hindle AJ, Blackshaw PE, Bailey SE, Hebden JM, Middleton SM, Wastie ML. Human biodistribution of an ultrasound contrast agent (Quantison) by radiolabelling and gamma scintigraphy. *Br J Radiol* 1997 70: 603-611.
27. Clark LN, Dittrich HC. Cardiac imaging using opsonin. *Am J Cardiol* 2000; 86: 14-18
28. Kindberg H, Tolleshaug H, Skotland T. Uptake and degradation of radioactively labeled albumin microspheres as markers for kupffer cell phagocytosis. *Cell Tissue Res* 2000; 300: 397-400.
29. Meijer DKF, Beljaaro L, Molema G and Poelstra K. Proceedings of the International Symposium on Serum Albumin & α_1 -Acid Glycoprotein (eds. Otagiri M et al.) p277-298 2001, Kamamoto, Japan.

無輸血治療プログラムの現状とその有用性

Present Status and Usefulness of Bloodless Medicine and Surgery Programs

有賀 友則
Tomonori Ariga

和文抄録

輸血の安全性を向上させるため多大の努力が払われているものの、リスク・ゼロの輸血を保証することは容易ではない。コストの面でも、血液供給の面でも限界がある。こうした中、同種血を用いない治療法や血液代替物に関する研究が引き続き行われている。そして現在、米国をはじめ世界で約200、日本では四つの医療機関が「無輸血治療プログラム」(Bloodless Medicine and Surgery Program)を施行し、それを公にしている。無輸血治療プログラムとは何か。また、このような無輸血治療プログラムが広がりつつある背景にはどのようなものがあるか。医学面、倫理面、コスト面での有用性と法的な考察を含め、21世紀の医療において無輸血治療プログラムが果たす役割について論じる。安全で効果的な血液代替物が開発されれば、緊急時における対処なども含め、このプログラムの前進にさらに拍車がかかるに違いない。

Abstract

A great effort has been made to improve the safety of blood. However, it is challenging to ensure risk-free blood transfusions. The cost as well as sufficient supply are other considerations. This has led to an increasing awareness of the need to develop additional blood substitutes and to promote medicine and surgery without using allogeneic blood. There are about 200 hospitals in the world, including four in Japan, that facilitate a bloodless medicine and surgery program and publicize it. What is a bloodless medicine and surgery program? What prompted this program to be developed? The usefulness and role of this program in the 21st century, including the medical, ethical and financial aspects along with legal considerations will be discussed. If safe and effective blood substitutes are developed further, no doubt it will greatly contribute to the progress of medicine including management of emergencies.

Keywords

Bloodless Medicine and Surgery Program, Jehovah's Witnesses

1. 無輸血治療プログラムとは

輸血の安全性を向上させるため多大の努力が払われているものの、リスク・ゼロの輸血を保証することは容易ではない。コストの面でも、血液供給の面でも限界がある。こうした中、血液代替物や同種血輸血に代わる治療法が引き続き開発されており、その必要は増大していると言える。宗教上の理由で無輸血治療を選択するエホバの証人もこうした進展に深い関心を抱いている。そして現在、興味深い進展として、米国をはじめ世界で約200、日本では四つの医療機関が「無輸血治療プログラム」(Bloodless Medicine and Surgery Program)を施行し、それをパンフレットやインターネットなどで公にしている。

無輸血治療プログラムとは何か。それは、患者の宗教信条に基づくものであれ、医学的な理由によるものであれ、同種血輸血を避けたいという患者の意向を尊重し、良質の治療を施すプログラムのことであり、医師と患者との間の明確な医療契約に基づいて治療が行なわれる。このプログラムを実施するためには、病院内でこの計画に賛同する医師たちを募り、コーディネーターの調整のもと、明確な手順にしたがって治療を進めることが肝要である。つまり、特定の医師の努力だけに依存するのではなく、外科医、内科医、麻酔科医、看護婦などがチームを組み、患者に無輸血治療を施すために協力することが欠かせない。このプログラムを導入するための具体的な方法については、

OzawaらがAORN誌の中で、麻酔や希釈式・回収式自己血輸血の方法、外科医やコーディネーターの役割、プログラムの方針、教育のためのサポート、法的な考査など包括的に論じている¹⁾。では、このような無輸血治療プログラムが広がりつつある背景にはどのようなものがあるか。

2. 無輸血治療プログラムが広がりつつある理由

このプログラムは当初、宗教上の理由で無輸血治療を選択するエホバの証人に主に恩恵をもたらしてきた。エホバの証人は医療を拒否しているのではなく、輸血を伴わない治療を進んで受け入れる。全血はもちろんのこと、赤血球、白血球、血小板、血漿などのprimary components(主要成分)を受け入れないが、こうしたprimary componentsのfractions(分画)については、それを受け入れるかどうかは各人によって決定が異なり得る²⁾。また、希釈式・回収式の自己血輸血を受け入れるかどうかも各人の決定による³⁾。

とはいっても、無輸血治療プログラムは、エホバの証人のみならず、他の多くの患者にも恩恵をもたらしてきた。事実、1万3,000人を対象にした1995年のヨーロッパでの調査によると、全体の54%は匿名の供血者からの輸血を受け入れたくないと答えた。ある国々ではその比率は平均よりも高く、ドイツでは76%、イタリアでは67%、ルクセンブルグでは61%であった⁴⁾。さらに、1996年に行なわれたギャラップ調査によると、カナダ国民の89%が輸血に代わる治療法を望むという結果が出ている⁵⁾。この背景には、エイズや肝炎など、輸血によって感染する病気への恐れがあると考えられる。日本でも、新東京病院の小西医師らの報告によると、同病院の患者、看護婦、医師、病院職員ら340名を対象にしたアンケート(1996年)によると、64%が輸血はなるべくなら避けたいと答え、無輸血治療の要請が多いことを示している⁶⁾。無輸血治療プログラムを持つ病院の一つである、米国ニュージャージー州イングルウッド病院のシャンダー麻酔科部長は、1998年には、医学的な理由で輸血を拒否した患者の数が、宗教上の理由で輸血を拒否した患者の数を上回ったと述べている⁷⁾。

3. 無輸血治療プログラムの有用性

日本において無輸血治療プログラムを最初に手がけるようになった新東京病院のスタッフは、無輸血治療プログラムを持つことの益について次の六つの点を挙げている。

- 最高度の医療水準をもち、最先端の医療を行なっているという評判を得る。
- 信者の信条を尊重する良質の医療を提供する先駆的な病院という評判を得る。
- 肝炎やエイズの感染による医療訴訟の心配がない。
- 患者の回復が速く、肝炎などの合併症の心配がない。
- 患者の入院期間が短く、病床の回転が速くなり、経営面でも有利。
- 地元だけでなく、遠方からも大勢の患者が治療を受けにくる⁸⁾。

やはり無輸血治療プログラムを持つ、米国メリーランド州のジョンズ・ホプキンス病院では、回収式や希釈式の自己血輸血をAdvanced Transfusion Practices(先進的な輸血法)と位置づけ、施行すると共に、同種血輸血を回避するため、マイクロサンプリング、エリスロポエチンなどによる増血、手術手技の工夫なども行なわれている⁹⁾。また、同様のプログラムを持つ米国オレゴン州のグッド・サマリタン病院では、無輸血手術を受けた患者は概して回復が早く、入院期間も病院の平均4.6日に対し4日であり、通常よりも早く退院していると報告されている¹⁰⁾。

コスト面のメリットも指摘されている。Chengは、無輸血手術により治療費は低くすみ、治療効果や患者の満足度が高いことを報告している¹¹⁾。日本においては、保険制度の違いなどから、無輸血治療は高くなるとの見方もあるが、輸血の合併症の治療など、輸血に起因する間接的・長期的な費用、スクリーニングにかかる費用なども考慮に含めると、必ずしも無輸血治療のほうが高くなるとは言えないのではないだろうか。

エホバの証人の医療機関連絡委員会は、1997年6月に、当時の厚生省の勧めに応じ、「血液行政の在り方に関する懇談会」に提言を出した。その中で、「初めに輸血ありき」という考え方を脱却し、無輸血治療を推進すること、それに関連してエリスロポエチンなど無輸血治療に役立つ薬剤や方法の保険適用の拡大や人工血液の開発推進、また真のインフォームド・コンセントの確立などを提言した¹²⁾。同懇談会は、1997年12月12日付の報告書の中で、輸血を「医療上は有効であっても安易に第一選択の治療法として用いるべきではなく、他に代替的な手段がなく真に必要な場合に必要量に限って使用されるべき」ことや、「遺伝子組換え製剤や人工血液等を含めたより安全性の高い製剤の開発が必要」であると述べ、輸血の代替療法の必要性を指摘している¹³⁾。

無輸血治療の推進は世界的な潮流である。カナダ政府は、汚染血液の問題に対処するため調査委員会を設けた。1997年に発行されたBuilding a Blood System for the 21st Centuryと題する冊子には、カナダ保健省の主催した血液供給に関する会議について報告されている¹⁴⁾。冊子後半のAppendix: Medical Alternatives to Blood Transfusionsの部分には、エホバの証人のホスピタル・インフォメーション・サービス(カナダ)が提供した無輸血治療に関する医学情報が30ページにわたり採用され、掲載されている。

4. 日本における無輸血治療プログラム

日本においては無輸血治療プログラムを設けている医療機関は、4施設(千葉県松戸市の新東京病院、千葉県千葉市の稻毛病院および幸有会記念病院、福井県福井市の福井厚生病院)あり、さらに幾つかが検討中とのことである。その一つである稻毛病院はそのパンフレットの中で次のように述べている。「医療は基本的には医療行為を受ける側と施す側との信頼関係であり、いたわりの気持ちこそ不可欠のものです。……私たちの目指す

ところは、患者さんの意思を充分に尊重した上で、安心できる最良の医療技術を提供することです。以上のような理念から私たちは、輸血を決して望まない方々のために無輸血治療、無輸血手術の態勢を整えて参りました。……とりわけ私たち外科医は安易な輸血に頼らず、一滴の血液さえもおろそかにしない丁寧な手術を心掛けねばなりませんし、ひいては無輸血手術こそが究極の技術的目標と考えています」¹⁵⁾。

プログラムとして明確化してはいないものの、全国の大学病院をはじめとする数多くの医療機関が無輸血治療を望む患者の治療に関するガイドラインを設けており、全般に患者の意思を尊重する方針を明らかにしている。しかし、その実際の運用や浸透度は様々である。また、医師にも自らの信念があり、すべての医師に無輸血治療を行なうよう強制することはできない。

それで、今後、より実際的かつ有効な対応として、無輸血治療プログラムを考慮できるかもしれない。まず、プログラムに参加することに同意する医師や看護婦は、病院内の取り決めとして書面による申し合わせを行なう。そして、無輸血治療を望む患者が来院した場合、医療チームを形成する。このように事前に態勢が整っていれば、医師も患者も安心して治療に臨むことができる。現に、チームとして無輸血治療の経験も蓄積されてゆくため、待機手術の場合はもちろん、緊急なケースも首尾よく扱われてきた。また、患者の意向を尊重する医師が責任を問われないよう、有効な免責証書が患者によって作成されている。輸血に関する患者の意向を尊重し、良質の医療を施すことは、まさに真のインフォームド・コンセントの実践と言うことができよう。

5. 法的論考

成人で判断能力のある患者が無輸血治療を望む場合、その意思をあくまでも尊重する医師が法的責任を問われないことは、2000年2月29日に下された、無断輸血訴訟最高裁判決から明らかである。最高裁はその判決の中で、「患者の意思決定をする権利」は「人格権」の一内容として尊重されるべきものとしたのである¹⁶⁾。その背景には、個人の尊厳の思想や幸福追求権を保障する憲法第13条が念頭にあるものと解される。こうしたことから、医師と患者が無輸血治療に関する明確な契約を結び、その範囲内で治療を行なうことは法的にも妥当なことである。この点についてOzawaらは、同氏が所属するイングルウッド病院において、このプログラムに關係した訴訟が起きたことは全くないと言っている。その理由として、患者の権利が尊重されていること、また無輸血治療プログラムにおいて用いられる技術が安全かつ経済的、また評判も良く、他の患者も益を得ていることなどを挙げている。また、病院に責任を負わせないための免責証書が患者により作成されている¹⁷⁾。

6. 小児患者への対応

小児患者の場合、無輸血治療プログラムを持つ病院では、どのような対応がなされているか。米国や他の多くの国々におい

ては、判断能力のある未成年者の意向は尊重されているが、そうではない小さな子どもや乳幼児などの場合、ジョンズ・ホップキンズ病院がそのパンフレットの中で示しているような対応が一般的である。「当病院は、輸血を回避したいという親御さんの意向を尊重し、子どもさんの治療のため考え得る他の選択肢をご一緒に考慮いたします。しかし、州法および連邦法により、特に緊急状況の場合には、輸血拒否に制限が課せられる場合もあります」と明記されている¹⁸⁾。したがって、基本的には親の意向が尊重されるべきであるが、緊急状況の場合には、法的には親の輸血拒否の意思が制約されることがあるかもしれない。しかし、仮に担当医師としては輸血が必要と思える場合でも、通常、第三者である裁判所が、適正手続に基づいて医師と親の双方から聴聞を行ない、輸血の必要不可欠性、代替療法の存在、治療を引き受ける医師が他にいるかどうかなど、様々な要素が慎重に検討されている。

日本の場合、とりわけ緊急状況において親の意向が医師の意見と異なる際にどのように対応すべきかは、法的な手続の問題も含め、さらに検討を要する。しかし、いずれにしても、輸血施行の決定が下される前に、患者の判断能力を見きわめ、患者に判断能力があるならそれを尊重すること、子どもが幼い場合には親の意向を十分に考慮すること、また輸血の必要性、代替療法、移送先の検討、輸血に伴う医学的な危険や強制輸血が及ぼす感情的な痛手といった不利益など、種々の要素が検討されることが望まれる。全国50か所以上にあるエホバの証人の医療機関連絡委員会は、無輸血治療に関する医学文献を提供したり、相談や治療に応じる医師を見いだしたりする面で喜んで協力する。現在この委員会は、約230の国や地域の主要都市1,400か所以上に設けられている。

7. おわりに

以上のことから、少なくとも、成人患者の待機的な状況においてこの無輸血治療プログラムを設けることは大きな意義があると考えられる。エホバの証人のみならず、良質の無輸血治療を望む一般の人々が増加していることを考えるとき、無輸血治療プログラムは、その意義を増してゆくに違いない。ジョンズ・ホップキンズ病院は、プログラムの理念として、「患者の益を考慮した良質の医療を提供すること、患者の自己決定を尊重すること、失血を最小限に抑え、同種血輸血を避けるため、様々な医療技術を駆使すること」などを挙げている¹⁹⁾。また、Ozawaらも、「無輸血治療は良質の医療になっており、標準的な医療として受け入れられるようになりつつある」と述べている²⁰⁾。無輸血治療の価値を認めつつ、緊急時への対処など、利用可能な人工血液があれば、より効果的な対処できると感じる医師も多い。したがって、安全で効果的な代替療法や血液代替物がさらに開発されれば、無輸血治療プログラムの推進にさらに拍車がかかり、21世紀の医療の進展に大きく貢献するに違いない。供血輸血の代替療法を推し進める医療関係者の努力に感謝を表わしたい。

Reference

1. Sherri Ozawa, Aryeh Shander, Teekam D. Ochani. A Practical Approach to Achieving Bloodless Surgery. *AORN Journal* 2001 (July):74:32-54.
2. Watchtower Bible and Tract Society. The Watchtower. Question from Readers. 2000 (June 15):29-31.
3. Watchtower Bible and Tract Society. The Watchtower. Question from Readers. 2000 (October 15):30-31.
4. Eurobarometer 41.0: Europeans and blood. Prepared for the European Commission on Employment, Industrial Relations and Social Affairs. Paris: Institut National de la recherche Agronomique, 1995.
5. Gallup poll. Canadian public survey: Attitudes about blood and blood alternatives. (February 1996): Picard A. Poll on blood finds anxiety, *The Globe and Mail* 1996 April 23:Sect. A:4.
6. 小西 晃生, 菊池 恵子. 無輸血手術の標榜—麻酔科の役割—自己血輸血. 1996(August):9:17-19.
7. Watchtower Bible and Tract Society. Awake! The Growing Demand for Bloodless Medicine and Surgery. 2000 (January 8):7-11.
8. 柴本 奈緒子, 近藤 亜矢子, 天野 篤. エホバの証人の無血手術—看護の質向上を目指して. ハートナーシング. 1996:9:811-815.
9. Brochure of the Johns Hopkins Hospital.
10. Jill Curry. Bloodless surgery meets patient needs for alterna-tives. *OR Manager*. January 1993:12-13
11. Cheng DCH. Cost-Effectiveness in Bloodless Surgery. In: *Perioperative Blood Transfusion Therapy: Exploring the Alternatives*, satellite symposium, *Anaesthetic Practice* 1996, 1996 November 7, Faculty of Medicine, University of Toronto: 26-27.
12. エホバの証人の医療機関連絡委員会 東京委員会. 厚生省「血液行政の在り方に関する懇談会」への提言. 平成 9 年 6 月 20 日.
13. 厚生省. 血液行政の在り方に関する懇談会報告書. 平成 9 年 12 月 12 日.
14. Health Canada, Bayer Inc, Janssen-Ortho Inc and the Canadian Blood Agency. Building a Blood System for the 21st Century. Proceeding & Recommendations. November 3-4, 1997.
15. 稲毛病院のパンフレット.
16. 最高裁平成12年2月29日判決. 判例時報. 2000;1710:97-100.
17. Sherri Ozawa, Aryeh Shander, Teekam D. Ochani. A Practical Approach to Achieving Bloodless Surgery. *AORN Journal*. 2001 (July):74:32-54.
18. Brochure of the Johns Hopkins Hospital.
19. 同上.
20. Sherri Ozawa, Aryeh Shander, Teekam D. Ochani. A Practical Approach to Achieving Bloodless Surgery. *AORN Journal*. 2001 (July):74:32-54.

海外文献紹介

American Journal of Critical Care Medicine 2001; 163: 1164-1170

低酸素性肺血管収縮と一酸化窒素に対するS-ニトロ化ヘモグロビンの効果

Effects of S-Nitrosation of Hemoglobin on Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction and Nitric Oxide Flux.

STEVEN DEEM, MARK T. GLADWIN, JOHN T. BERG, MARK E. KERR, and ERIK R. SWENSON.

小高 光晴, 宮尾 秀樹
Mitsuharu Kodaka, Hideki Miyao

要旨

フリーへモグロビン(以下Hb)は一酸化窒素(以下NO)をscavengeすることによって低酸素性肺血管収縮(以下HPV)を増強させることが知られている。また、S-Nitrosation Hb(以下SNO-Hb)は最近の知見ではNO-donorであり、そのため血管拡張作用があることが知られている。筆者らは、Hb, cyanomet-Hb, SNO-Hb, SNO-cyanometHbのHPV、呼気NO(以下eNO)、灌流液のS-nitrosothiol(以下SNO)濃度に対する作用をウサギ肺灌流モデルを用いて検討した。4 μ Mの酸素HbとSNO-Hbは通常の酸素濃度の場合は肺動脈圧(以下Ppa)を増加させHPVを劇的に上昇させ、eNOが80%減少した。一方cyanomet-HbやSNO-cyanometHbはこれらの値の変動は無かった。また、SNO-Hbを含んだ灌流液に過量のglutathione(GSH)を加え、NOの放出を促して灌流液のSNOを約20-40%減少させて(同量のmetHbが上昇)も、Ppa、HPV、eNOは変化がなかった。結論として、フリーHbはNOをscavengeしてHPVを惹起するが、この効果はS-Nitrosationでは阻害されない。GSH存在下にSNO-Hbから放出されたNOは迅速な酸化とMet-Hbの形成により肺血管やeNOに影響を与えない。

はじめに

赤血球とヘモグロビンは低酸素性肺血管収縮(以下HPV)を増強することが知られている。その原因としてHbの肺循環からのNO吸収作用が上げられる。このことは酸素HbによるNOの酸化、NO吸入によるHPV抑制、NO synthase抑制によるHPVの増強などによって報告してきた。また一酸化炭素はHPVを抑制することも知られている。一方、SNO-Hbはその脱酸素の過程でNOを放出し末梢組織での強力な血管拡張作用があることが

知られている。しかし、SNO-Hbの肺循環での研究はいまだなく、HPVに抑制的に働く可能性がある。そこで我々は酸素Hb、cyanomet-HbやSNO-Hb、SNO-cyanomet-Hbを用いてSNO-Hbの肺血管への影響やNOの放出の変化を検証した。

方法

すべての実験に先立ち、ウサギ肺灌流モデルはKrebs-Henseleit緩衝液にて20-30分間灌流されその後、低酸素負荷($F_1O_2=0.05$)を約5分間受ける。HPVは肺動脈圧(Ppa)の変化を見て検証された。

実験プロトコール

低酸素負荷を受けた後、4つのグループに分け、(1)酸素Hb(2)SNO-Hb(3)cyanomet-Hb(4)SNO-cyanomet-Hbのいずれかで再び灌流を受けた。酸素濃度は通常に戻され($F_1O_2=0.21$)、4 μ MのフリーHbで5分間灌流された。その間に記録やサンプリングが行われた。次に再び低酸素状態へ戻され同じく記録やサンプリングが行われた。次の5分間は酸素濃度を通常に戻し、4 μ Mのinosine hexaphosphate(以下IHP)や100 μ Mを越えるglutathione(以下GSH)を加えた状態で再び灌流を5分間行った。そして最後にIHPもしくはGSHが加わった状態で低酸素負荷が行われた。

SNO-Hb投与群の一部はIHPもGSHも投与せず記録やサンプリングを行ったり、200 μ Mの2,3DPGを加えて灌流を行った群も作成した。

また、eNOを測定するために肺はHbフリーの溶液で灌流されかつ、通常の酸素、二酸化炭素濃度のガスで換気された。そして、NOドナーの働きを持つソディウムニトロプルシッドかGSNOを0.1, 1, 10 μ Mと濃度を変えて5分間にわたりそのピークを測定

した。

結果

フリーHbの肺動脈圧とHPVに対する効果

通常の酸素濃度下で(1)酸素Hb(2)SNO-Hb(3)cyanometo-Hb(4)SNO-cyanometo-Hbの4つのグループでのバッファー投与時のPpaのベースラインに有意差はなかった。しかし、酸素HbとSNO-Hbのグループのみはバッファー投与後にこれらを投与することによってPpaが有意に増加したが、その差は僅かであった。しかし、5分間の低酸素負荷の状態での同様の実験では Δ Ppa(すなわちHPVの発生)の程度は劇的に異なった。酸素HbとSNO-Hbが投与前後で著しく Δ Ppaを上昇させた。またさらにこの二群に対して続けてIHPやGSHを負荷した場合も同様の Δ Ppaの上昇が認められた。一方、cyanometo-Hb群やSNO-cyanometo-Hb群に対してやはりIHPやGSH負荷を行ったが、有意な変化は認められなかった。

通常酸素と低酸素状態のときのHbからの呼気NOの変化

4つの群のうち、通常の酸素濃度下でのeNOの排出は酸素Hb群とSNO-Hb群で約80%と有意に減少した。しかし、他の二群では有意な減少は認められなかった。次に低酸素から無酸素負荷を行った場合では4群とも一様にeNOは減少したが、4群間で有意差はなかった。また、これらの変化はIHPやGSHの添加によっても変化はしなかった。

低酸素かつ、もしくはGSH負荷によるS-nitrosothiolとmetHb経時的濃度変化

SNO-Hb中のSNOはIHPの添加では変化しないがGSHを加えることによって約30%減少する。また、この減少は低酸素によって増強されることはない。この現象はNOが β -cys93からヘムに移動する現象では説明がつかない。この実験結果でGSHはGSNOによって生成される β -cys93化合物からのNO放出を促す可能性があることを示唆する。また、Met-Hbでの変化率は対照と比較してIHPやGSHの添加でも有意に変わらないとの実験結果も出ている。

考察

この研究はHb、NO、肺血管収縮の関係に新たな知見をもたらした。

1. Hbは肺血管抵抗を上げ、ヘムNO結合を通じNOを吸収し HPVを高める。
2. HbのS-nitro化は上昇した肺血管抵抗を変化させない。また、呼気NOの減少もフリーHbと同様である。
3. SNO-HbにGSHを加えたときのS-nitrosothiolsの減少は見出すことができたが、細胞外のSNO-Hbからのアロステリック効果による低酸素時のNO放出は検出できなかった。

まず、HbそのものにNO-scavenging作用があることがmet-Hb群でのeNOに変化がなかったことより推察される。また、Sニトロ化された β -cys93化合物はそのアロステリック作用から肺では酸素を結合し、末梢組織ではNOを放出することがわかっている。そしてその反応はGSHなどのチオールの存在下で促進され、結

果的に末梢組織において血流を増加させ、酸素需要を改善することが知られている。この反応は低酸素状態で促進されるとの報告があるが、GSHの存在下では酸素濃度にかかわらず、NO放出が促進されている。

この結果から、SNO-Hbにおいて低酸素状態でも、NOの放出が促進され、結果としてHPVを抑制することが予想される。我々の結果でもSNO-Hbと酸素Hbでは同様にPpaを増加させ、HPVに対しての有意差は酸素濃度にかかわらず生じなかった。また、2,3DPG、IHP、GSHなどでNOの放出を促進してもHPVが抑制されることはない。この理由としては2つの理由が考えられる。1つはSNO-HbからのNOは細胞膜に吸収されてしまう可能性。2つ目はNOの放出とともにmet-Hbが対照的に上昇し、この影響でHPVや呼気NOに変化を及ぼさないなどの可能性などが考えられる。

また、ラットの大動脈輪を用いた研究で低濃度の酸素HbはSNO-Hbの血管拡張作用を阻害するとの報告があるが、この現象は我々の実験結果による細胞内外でのNOのauto-scavenging機構がmet-Hb形成を促進するといった結果で裏付けることができる。

また、我々のモデルではSNO-HbからのNO放出はアロステリック効果によるものであることを立証できなかった。この事はSNO-HbにGSHを負荷しS-nitrosothiolを低下させた実験からも立証されている。すなわち β -cys93からNOを放出させるのにHbのアロステリック効果は必要ないことを示している。

まとめとして、肺循環においてフリー-SNO-Hbは血管収縮作用がある。これにはNOの吸収、低下の効果が関与しており、この作用によりHPVは増強するが、このことにSNOは関与していない可能性が示唆された。ほかに考えられる原因としてはヘムとNOとの非常に強い親和性が考えられる。すなわち、1つはNOの迅速な酸化、2つめは β -cys93化合物から放出されるNOとmet-Hbによるヘムとの結合がNOの蓄積をブロックし、結果としてHPVを抑制しない方向に働きかけているのではないかと思われる。

訳者のコメント

SNO-Hbが末梢組織の低酸素環境でNOを放出し血管拡張を促進し、血流改善を促すことが最近知られるようになってきたが、低酸素性肺血管収縮(HPV)に対してどのような影響を及ぼすかは知られていない。HPVは生体内においてシャント血を減少させる一種の防御反応で、我々麻酔科は臨床面では肺外科の手術時によく見ることができる。すなわち、手術操作を行う側の肺は通常通りに換気が行われていると術者にとって非常に細かい操作が行いづらいため、麻酔科医は二重管の気管チューブを用い、手術操作側の肺の換気を止めてしまう。その際、換気が止まっている肺に流れる血流はほとんどシャント血となり、ガス交換上は無駄な血流となるため、生体全体として考えた場合動脈血酸素分圧は低下することになる。この際、活躍するのがHPVで、換気が行われていない側の肺血流を減少させる事によって動脈血内の酸素分圧の低下を防いでいる。しかし、多くの血管拡張薬はこのHPVを抑制してしまうために生体に対して

不利に働いてしまう。しかし、SNO-Hbは一種の血管拡張薬でありながらHPVを抑制しない。この一因として、末梢循環と違い肺組織においてはNOが迅速に酸化しヘムと結合するためにフリーのNOが減少し、結果としてHPVが抑制されず、生体に対

して有利に働くことを立証している。この論文はHPV発生のメカニズムのみならず、末梢でのSNO-Hbの血管拡張作用にもそのメカニズムの解明に一石を投じている。

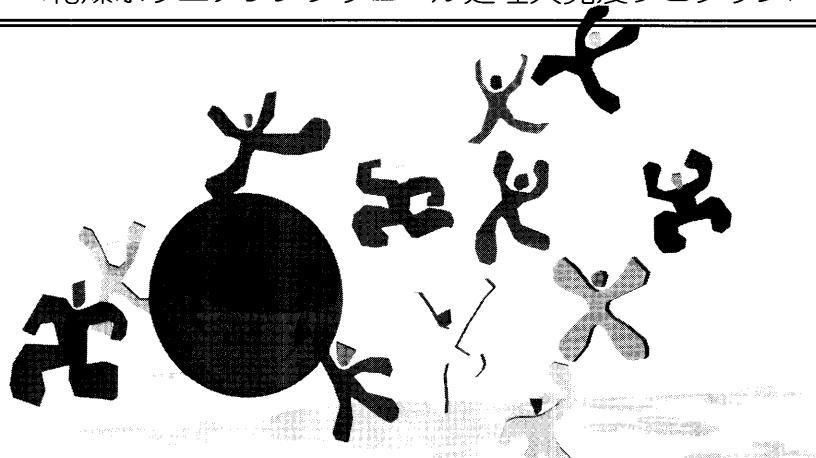
静注用人免疫グロブリン製剤

薬価基準収載

指定医薬品

献血グロベニン®-I-ニチヤリ

〈乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン〉



■ 効能・効果・用法・用量・使用上の注意(禁忌)等については、添付文書をご参照ください。

製造〔資料請求先〕

Ⓐ 日本製薬株式会社
〒101-0031 東京都千代田区東神田一丁目9番8号

販売

△ 武田薬品工業株式会社
〒540-8645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

2000年10月作成(K)

●事務局だより

日本血液代替物学会 総会

1. 日 時：

平成13年9月4日(火) 13:30-13:45

2. 場 所：

シェーンバッハ・サボー「淀・信濃」
〒102-0093 東京都千代田区平河町2-7-5
Tel: 03-3261-8386

3. 議 題：

報告事項 ①年次大会の開催状況

②会員動向

③会誌編集委員会

審議事項 ①平成12年度事業報告

②平成12年度収支決算

③平成13年度事業計画及び収支予算案

④その他(次期大会長ほか)

以下審議内容を略記します。

報告事項

①年次大会の開催状況として下記事項が報告された。

- 1) 第8回日本血液代替物学会年次大会
- 2) 平成13年9月4日(火)~5日(水)
- 3) 東京都千代田区平河町2-7-5 シェーンバッハ・サボー
- 4) 日本血液代替物学会会員、
臨床医学・理工学研究者、
国内の大学および医療機関臨床医、
血液センター関係者
約300名

②会員状況は以下のとおり。

- 1) 維持会員：5社
- 2) 賛助会員：7社
- 3) 正会員：155名
- 4) 購読会員：26箇所

審議事項

①平成12年度事業報告(平成12年4月1日~平成13年3月31日)
が行われ各々承認された。

- 1) 定期総会の開催 平成12年9月7日(木)
かでる2・7にて開催された。
- 2) 第7回年次大会 (大会長 北畠顕)
平成12年9月7日(木)~8日(金)
かでる2・7で行われた。
- 3) 会誌「人工血液」の発行
第8巻2号、3号、4号、第9巻1号を発行。

②平成12年度収支決算が行われ承認された。

平成12年度 会計報告収支決算表
(自 平成12年4月1日 至 平成13年3月31日)

収 入		支 出	
摘要	金額	摘要	金額
前期繰越金	4,755,468	会誌出版費	3,275,249
正会員会費	720,000	集会・委員会費	1,691,477
賛助会員会費	1,600,000	年会補助金	1,000,000
維持会員会費	6,000,000	事務人件費	1,103,600
講読会員会費	114,000	事務費	849,086
広告代・雑収入	384,000	次期繰越金	5,665,795
利息	11,739		
計	13,585,207	計	13,585,207

③平成13年度事業計画(案)

1) 定期総会の開催

平成13年9月4日(火) 13:30~13:45

シェーンバッハ・サボー「淀・信濃」

2) 第8回年次大会の開催(大会長 清水勝)

平成13年9月4日(火)、5日(水)

於 シェーンバッハ・サボー

3) 「人工血液の発行」の発行

第9巻2号(7月)、3号(8月)、4号(12月)、
第10巻1号(平成13年3月)の発行予定。

4) 平成13年度収支予算案は承認された。

④平成14年度定期総会の予定が報告された。

- ・次期大会長は西勝英教授(熊本大学医学部薬理学第二講座)に決定された。
- ・第9回年次大会は、平成14年9月4・5日の予定。
- ・抄録用紙はVol.10 No.1に同封される。

●事務局だより

日本血液代替物学会 役員名簿 (平成13年度)

顧 問	尾形利郎 東海大学医学部 教授	庶務理事	池淵研二 東京医科大学 助教授
	高久史麿 自治医科大学 学長	理 事	阿岸鉄三 板橋中央総合病院血液浄化療法センター
	堀 原一 筑波大学 名誉教授		プラッドアクセス治療センター 所長
	遠山 博 埼玉医科大学総合医療センター 名誉所長		池田久實 北海道赤十字血液センター 所長
前会長	土田英俊 早稲田大学理工学部 名誉教授		北畠 順 北海道大学医学部 教授
会 長	小林紘一 慶應義塾大学医学部 教授		清水 勝 杏林大学医学部 客員教授
副会長	池田康夫 慶應義塾大学医学部 教授		友田輝夫 東京医科大学 教授
会計理事	西出宏之 早稲田大学理工学部 教授		宮尾秀樹 埼玉医科大学総合医療センター 教授
		監 事	湯浅晋治 埼玉県赤十字血液センター 所長
			(事務局長) 堀之内宏久 慶應義塾大学医学部 講師
			(会誌担当) 宮尾秀樹 埼玉医科大学総合医療センター 教授

日本血液代替物学会 評議員名簿 (平成13年度)

青木 克憲 慶應義塾大学医学部救急部 助教授	高折 益彦 東宝塚さとう病院 名誉院長
阿岸 鉄三 板橋中央総合病院 血液浄化療法センター	高久 史麿 自治医科大学 学長
	プラッドアクセス治療センター 所長
浅野 茂隆 東京大学医科学研究所 教授	高橋 晃 テルモ(株) 専務取締役
阿部喜代司 筑波大学医療技術短期大学部 教授	高橋 英嗣 山形大学医学部 助教授
飯塚哲太郎 法政大学工学部 教授	高橋 恒夫 東京大学医科学研究所 教授
池田 久實 北海道赤十字血液センター 所長	武岡 真司 早稲田大学理工学部 助教授
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 名誉教授
池淵 研二 東京医科大学 助教授	土屋 喜一 早稲田大学理工学部 名誉教授
伊藤 俊之 京都府立医科大学 助教授	遠山 博 埼玉医科大学総合医療センター 名誉所長
岩田 博夫 京都大学再生医科学研究所 教授	友田 輝夫 東京医科大学 教授
大島 宣雄 筑波大学基礎医学系 教授	豊田 忠之 東部地域病院 元院長
大塚 節子 岐阜大学医学部 講師	仲井 邦彦 東北大学医学部 助教授
大柳 治正 近畿大学医学部 教授	中井 一士 麻薬覚醒剤乱用防止センター 専務理事
尾形 利郎 東海大学医学部 教授	長澤 俊郎 筑波大学臨床医学系 教授
岡野 光夫 東京女子医科大学医用工学研究施設長	西 勝英 熊本大学医学部 教授
片岡 一則 東京大学工学部 教授	西出 宏之 早稲田大学理工学部 教授
鍵谷 昌男 ウエルファイド(株) 生産本部長	西谷 孝子 慶應義塾大学医学部特別研究教員助教授
川村 明夫 札幌北楡病院 理事長	ジェームス・R・ハーレイ バクスター(株) 代表取締役社長
北畠 顯 北海道大学大学院医学研究科 教授	馬場 正三 浜松医科大学 教授
黒澤 良和 藤田保健衛生大学総合医科学研究所 教授	半田 誠 慶應義塾大学医学部 講師
小林 紘一 慶應義塾大学医学部 教授	平澤 博之 千葉大学医学部 教授
小室 勝利 国立予防衛生研究所 教授	福島 昭二 神戸学院大学薬学部薬剤学 講師
斎藤 英彦 名古屋大学医学部 教授	藤井 寿一 東京女子医科大学 教授
酒井 清孝 早稲田大学理工学部 教授	藤島清太郎 慶應義塾大学医学部 講師
佐久間一郎 北海道大学大学院医学研究科 講師	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 名誉教授	藤村 一 生産開発科学研究所 学術顧問
佐藤 誠 ニプロ(株) 医薬品研究所長	船津 昭信 助化学及血清療法研究所 常務理事
鯨島 達也 青山学院大学理工学部 名誉教授	堀 進悟 慶應義塾大学医学部 助教授
清水 勝 杏林大学 客員教授	堀 原一 筑波大学 名誉教授
清水 慶彦 京都大学再生医科学研究所 教授	松本 健三 北海道大学大学院医学研究科 名誉教授
十字 猛夫 日本赤十字中央血液センター 所長	宮尾 秀樹 埼玉医科大学総合医療センター 教授
末松 誠 慶應義塾大学医学部 教授	宮崎 保 札幌通信病院 名誉院長
平 明 鹿児島大学医学部 名誉教授	村田 満 慶應義塾大学医学部 講師
	湯浅 晋治 埼玉県赤十字血液センター 所長

(アイウエオ順敬称略)

第22回日本アフェレシス学会学術大会会告

テーマ

“より高く、そして足元をみつめて”

会期：2002年(平成14年)6月14日(金), 15日(土), 16日(日)

会場：北海道大学学術交流会館

〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目

TEL 011-706-2141

大会長：川村明夫（特定医療法人 北榆会 札幌北榆病院 外科）

学術大会概要：

- 1) 特別講演 2題
- 2) 教育講演 2題
- 3) 特別企画パネル：“アフェレシス治療を振り返り、そして未来は”
- 4) 技術セミナー：15日午後1時
- 5) ランチョンセミナー 5題（予定）
- 6) シンポジウム、ワークショップ（原則一部指定、公募）

シンポジウム（分類－A）

1. アジアの国から
2. アフェレシスによる皮膚疾患の制御
3. 敗血症および多臓器不全に対する血液浄化療法
4. 造血幹細胞移植へのアフェレシス技術の応用
5. 自己輸血の実際と問題点
6. アフェレシスによる膠原病治療
7. 炎症性腸疾患におけるアフェレシス治療の役割
8. アフェレシスによる神経疾患の制御
9. 輸血に伴うリスクマネジメント
10. LDLアフェレシスの長期成績

ワークショップ（分類－B）

1. アフェレシスに伴うリスクマネジメント
2. 血液疾患とアフェレシス
3. 再生医療とアフェレシス
4. アフェレシス治療と臓器移植の接点
5. 小児科領域のアフェレシスの適応と治療
6. 吸着技術開発の現況
7. アフェレシスによる腎疾患制御の可能性
8. これからのアフェレシス技術
9. アフェレシスによる肝不全治療の適応と限界
10. アフェレシス治療と保険診療

7) 一般演題：口演のみ（分類－C）

8) 井上学術奨励賞：表彰と記念講演

演題募集要項は下記ホームページをご覧下さい。

<http://www.hokuyu-aoth.org/jsfa/>

演題は全てE-mailで募集いたします。

演題申込締切：2002年（平成14年）3月15日

問い合わせ先

〒003-0006 札幌市白石区東札幌6条6丁目5-1
特定医療法人北楡会 札幌北楡病院
第22回日本アフェレシス学会学術大会事務局
TEL 011-865-0051 FAX 011-865-9719
jsfa@hokuyu-aoth.org
事務局長 米川元樹

●編集後記●

編集委員長として2年余、頑張ってきましたが、編集室を慶應にお願いした関係上、慶應の先生、特に渡辺副委員長にはひとかたならずお世話になりました。任期中原著が少なかったのは小職の力不足が最大の原因であります。しかし血液代替物を取り巻く環境の変化もあり、今後の機関誌としての方向性を模索する必要があるのかもしれません。次回から、編集委員長が早稲田の武岡先生に代わりますが、学会を代表する論客でもあり、すばらしい実績と才能でこの雑誌を一段高いレベルに引き上げてくれるものと期待致します。編集委員の先生方、秘書の松井さん、本当にいろいろ有り難うございました。今後は一編集委員として尽力したいと思います。
(宮尾秀樹)

個人レベルで21世紀最初のこの一年間を振り返ると、scientistのはしきれとしてどれだけの新しい科学的情報を発信し、また吸収できたかが重要だと思いますが、大きな自信はありません。一方、多様化したこの世の中で専門分野以外の情報にどれだけ接することができたかもこの機会に考えてみました。この一年間にいったい何冊の本を読み、人の講演を何回聴き、専門分野

以外の人と何回意見を交換したでしょうか？ありふれた表現ですが、そういった所に新たな研究テーマ、ビジネスチャンスがあると考えて行動していきたいと思っています。

約2年前に編集部が北海道赤十字より慶應呼吸器外科に移り宮尾編集委員長を補佐する形で編集の仕事をやってまいりました。その間、学会誌としての学術的な向上を目指してきましたが、どこまでそれが達成できたか振り返ると自分の力不足で為しえなかった事ばかりです。事務的なことでは諸先生方のご尽力により経費削減のための出版社交渉、インターネット上のマーリングリストによる編集委員間の意見交換などが行われ、成果が上がっています。現在、各学会誌のIT化が進んでおりますが、本学会でもオンラインによる査読システム導入、学会誌の電子化などについてこれから議論が進むものと思われます。期間中、編集部の業務一切を取り仕切ってくれたManaging Editorとも呼ぶべき松井さんに心から感謝します。新編集部による本学会誌の一層の発展を祈念し、微力ながらこれからも一委員としてお手伝いしていきたいと思います。

(渡辺真純)



遺伝子組換えヒトG-CSF製剤

指定医薬品・要指示医薬品

薬価基準収載

ノイトロジン

NEUTROGIN^{Injection}

一般名 レノグラスマム(遺伝子組換え)

®
50 μ g
100 μ g
250 μ g



[資料請求先]
中外製薬株式会社
〒104-8301 東京都中央区京橋2-1-9

CNU8218

※効能・効果、用法・用量、使用上の注意、取扱い上の注意等は製品添付文書をご参照ください。

Bolster & Heal

献血由来 生体組織接着剤
ボルヒール®
 BOLHEAL® 指 ■健保適用

●ご使用に際しましては製品添付文書をご参考下さい。

販売
TEIJIN 帝人株式会社
 医薬事業本部 〒100-8585 東京都千代田区内幸町2-1-1

製造元・販売
化血研
 熊本市大塚1-6-1 〒860-8568

資料請求先：帝人株医業事業本部第2学術部
 化学及血清療法研究所営業部
 B011T9810 作成年月1998年10月

B52

にっぽんの血液製剤です。

献血であることの誇りと重責……



禁忌（次の患者には投与しないこと）
 本剤の成分に対しショックの既往歴のある患者

原則禁忌（次の患者には投与しないことを原則とするが、特に必要とする場合は慎重に投与すること）
 本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者

冷蔵保存から室温保存になりました。

指定医薬品



血漿分画製剤
 [献血由来] 静注用人免疫グロブリン製剤

献血ベニロン-I
 〈乾燥入りホルム化人免疫グロブリン〉
 生物学的製剤基準

Kenketsu Venilon®-I

薬価基準収載

本剤は、献血による貴重な血液を原料として製剤化されたものです。問診、感染症関連の検査等の安全対策を講じていますが、血液を原料としていることに由来する感染症の伝播等の危険性を完全に排除することはできないことから、疾病的治療上の必要性を十分に検討の上、必要最小限の使用にとどめるようお願いします。（「使用上の注意」の項参照）●ご使用に際しましては、製品添付文書をご参考下さい。

総発売元・販売

TEIJIN 帝人株式会社

医薬事業本部 〒100-8585 東京都千代田区内幸町2-1-1
 資料請求先：帝人株医業事業本部学術情報部

製造元・販売

化血研

熊本市大塚1-6-1 〒860-8568
 Phone: 096-344-1211 / Fax: 096-345-1345
 資料請求先：(財)化学及血清療法研究所営業管理部

資料請求先：帝人(株)医業医療事業本部学術情報部
 (財)化学及血清療法研究所営業管理部

VE16-9908 作成年月1999年11月

投稿規定

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集める。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

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4部を添え右肩上に「論説」、「総説」、「原著」等を明記すること。オリジナルのソフトおよびテキストファイル形式でも保存し提出すること。
- 2) 原稿はA4版の大きさとし、第1頁には表題、英文表題、著者名、全著者所属、英文著者名、英文所属、ついで筆頭著者の住所、英文住所を記入する。手書き原稿の場合はB5版、1行20字、20行とする。
- 3) 総説、原著、および報告については、

第2頁以降に和文抄録、Keywords(英文で6個程度)を付け、最終頁または別紙に英文抄録を付けること。英文抄録は英文ワープロを用いて、別の「ABSTRACT」ファイルとしてハードコピーとともに提出しても構わない。

- 4) 句読点はコンマ(,) ピリオド(.) とする。
- 5) 文中の英語は、Times, Helvetica, Courier, Symbolフォントを原則とし、英文半角小文字とする。ただし、文頭および固有名詞は大文字で書きはじめること。
- 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、図表中文字はすべて英文とすること。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, Andracki M, Hurst G, Honkan VA, Walder J, Casteel DA. Prolongation of the intravascular retention of hemoglobin modified with a long-chain fatty acid derivative. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 1994;22:27-42.
4. Reichert CM, Kelly VL, Macher AM. Pathologic features of AIDS. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. AIDS. Philadelphia: Lippincott, 1985;111-60.
- 9) 論文中の略語は初出の際に省略しないこと。
- 10) 既発表の図表、その他を引用、転載する場合には、あらかじめ版権所有者の許可を得ること。また、掲載論文の著作権は本学会に帰属する。

掲載料は無料とし、論説、総説、原著、報告等については別刷り30部を贈呈する。それを超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

●宮尾秀樹(委員長)、池淵研二、武岡真司、津田良夫、友田燁夫、仲井邦彦、西出宏之、福島昭二、堀之内宏久、村田満、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 株式会社 研恒社

人工血液 vol.9(4) 2001年12月31日発行

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部呼吸器外科内

TEL (03) 5363-3493 FAX (03) 5363-3499

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部呼吸器外科内

TEL (03) 5363-3806 FAX (03) 5363-3499

〒102-0073 東京都千代田区九段北1-1-7

TEL (03) 3265-8961 FAX (03) 3264-1995

再生紙を使用