

人工血液

第 15 巻 第 3-4 号 2008 年 5 月

目 次

会告	70
特集(Ⅱ)：手術・救急領域における血液製剤の適正使用と現状、 そして将来への期待	
大量出血に対する生体反応：循環系の変化を中心に外須美夫	73
救急医療における代用血液の将来相星淳一	78
原著	
ヘモグロビン基剤人工酸素運搬体混入血液での血液型判定 とくに自動輸血検査器について三宅誠司	85
総説	
人工酸素運搬体：その将来への期待高折益彦	90
海外文献紹介	
整形外科手術患者におけるマレイン酸ポリエチレングリコール 修飾ヒトヘモグロビン（ヘモスパン®）の安全性と 薬理動態の多施設共同試験寺嶋克幸	99
事務局たより	102

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 15 No. 3-4 May, 2008

Contents

Announcement	70
Special Issue (Ⅱ) : Practice Guideline and Current State of Transfusion, and Future of Blood Substitutes in Operative/Emergent Fields.	
Circulatory and Sympathetic Responses to Massive HemorrhageSumio Hoka	73
The Future of Blood Substitute in Emergency MedicineJunichi Aiboshi	78
Original Article:	
Blood Type Determination for Blood which Contains Hemoglobin Based Artificial Oxygen Carrier.Special Reference to Automated AnalyserSeiji Miyake	85
Review: Artificial Oxygen Carriers : Looking Forward to its FutureMasuhiko Takaori	90
Topics: A Multicenter Clinical Study of the Safety and Activity of Maleimide-Polyethylene Glycol-modified Hemoglobin (Hemospan®) in Patients Undergoing Major Orthopedic SurgeryKatsuyuki Terajima	99

会 告

第6回 Current Issues in Blood Substitutes Research

会長：小林紘一：慶應義塾大学

第15回日本血液代替物学会年次大会

大会長：堀之内宏久：慶應義塾大学

合同開催

Joint Meeting of

The 6th Current Issues in Blood Substitutes Research

Chairman: Koichi Kobayashi, M.D., Ph. D., Keio University

and

The 15th Annual meeting of

the Society of Blood Substitutes, Japan

Chairman: Hirohisa Horinouchi M.D., Ph.D., Keio University

会 期：平成20年10月23日～25日（予定）

会 場：慶應義塾大学医学部信濃町キャンパス（信濃町メディアセンター北里講堂ほか）

テーマ：血液代替物とGas biology

国際会議と年次大会の合同開催となります。詳細については
ホームページなどでお知らせする予定です。

<http://www.blood-sub.jp/>

事務局：慶應義塾大学医学部呼吸器外科 堀之内宏久

連絡先：horinouc@sc.itc.keio.ac.jp

序 文

前号に引き続き、“手術・救急領域における血液製剤の適正使用と現状、そして将来への期待”の特集として2つの興味深い論文を投稿いただきました。

「大量出血と大量輸血に対する生体の反応：循環系の変化を中心に」では、出血時の循環動態の変化について血行力学的視点より図説を用いて非常にわかりやすく解説していただきました。特に、急性出血時の代償機能としての自律神経系の関与による負荷血液量の変動により、我々の周りでよく見られる循環血液量の急激な変化を我々に論理的に理解させてくれます。例えば、献血時の生理的な無変化や外傷性出血患者の鎮静や麻酔導入時に起こる急激な低血圧、急性出血性ショックモデルの経時的な血圧や心拍出量の回復などです。

次に「救急医療における代用血液の将来」では、最先端の研究結果から現時点で臨床的に問題となっている蘇生後の多臓器不全の発生機序と代用血液による発生率低下の可能性を論説していただきました。赤血球製剤は単なる酸素運搬体ではなく付随する作用が免疫系を介しARDSやMODSなどの合併症発生率増加に寄与しているようです。相星先生らをはじめとした人工酸素運搬体に関する基礎研究に基づいた適切な臨床応用がこの問題への解決の糸口となればよいと願います。

編集委員 寺嶋克幸

大量出血に対する生体反応：循環系の変化を中心に

Circulatory and Sympathetic Responses to Massive Hemorrhage

外 須美夫

Sumio Hoka

和文抄録

循環血液量は無負荷血液量と負荷血液量に分けられる。静脈還流量を規定しているのは負荷血液量である。出血が起ると負荷血液量が減少する。交感神経系や体液性調節系が賦活化され、負荷血液量は維持される。しかし、代償機構の動員能力を超える大量出血では、循環が破綻し、組織は酸素不足に陥り、代謝性アシドーシスになる。さらに、さまざまなケミカルメディエーターやサイトカインが血中に放出され、凝固系が活性化され、DICの病態が惹起される。出血に応じた迅速な輸液、輸血対策と適切な治療戦略が重要である。

Abstract

Systemic blood volume is divided into unstressed blood volume and stressed blood volume. Venous return is dependent on the stressed blood volume. Thus, maintenance of stressed blood volume is essential for circulatory homeostasis during hemorrhage. Sympathetic nervous system and endocrine regulatory system play a major role to maintain stressed blood volume. Massive hemorrhage causes circulatory deterioration, leading to hypoxia of the tissues and metabolic acidosis. In addition, chemical mediators are released to activate a coagulation pathway and induce disseminated intravascular coagulopathy. Rapid transfusion and appropriate therapeutic strategy are necessary for massive hemorrhage.

Keywords

massive hemorrhage, stressed blood volume, sympathetic nervous system, vasopressin

はじめに

出血が起ると、循環血液量が減少し、心拍出量が低下し、血圧が低下する。生体は血圧の低下に敏感に反応し、神経内分泌系を賦活化して循環の維持を図る。ある程度までの出血に対しては、神経内分泌系を中心とした代償機構の動員により、循環の機能は維持される。しかし、出血が大量になると、代償機構の動員能力を超えて、循環が破綻する。大量出血による循環破綻が改善されないと、組織は酸素不足に陥り、嫌気性代謝により乳酸が産生され、代謝性アシドーシスになる。さらに、さまざまなケミカルメディエーターやサイトカインが血中に放出され、血管内皮障害が発生するとともに、凝固系が活性化され、やがてDICの病態が惹起される。大量出血を補うための輸液によりさらに血管内の血小板や凝固因子、線溶系因子が希釈され、希釈性凝固障害も発生する。出血に応じた迅速な輸液、輸血対策が重要である。

大量出血と循環変動

血圧は次式で規定される。

平均血圧＝心拍出量×全末梢血管抵抗＋(右房圧)

右房圧は平均血圧に比べ、十分に小さいので、一般に、心拍出量と全末梢血管抵抗の積が、平均血圧を決定する。また心拍出量は1回拍出量と心拍数の積で以下のように表される。

心拍出量＝一回拍出量×心拍数

安静時は一回拍出量が約70mlで心拍数が約70回/分で、心拍出量は約5l/minである。

1 回拍出量＝左心室の拡張末期容積－収縮末期容積であるから、次式が得られる。

心拍出量＝(心室拡張末期容積－心室収縮末期容積)×心拍数

心室拡張末期容積を前負荷と呼ぶ。心室拡張末期容積は種々の因子により影響を受ける。大きく分けると心室の拡張能、心室充満時間、心室拡張期圧の3つである。

心室拡張期圧は循環血液量と血管容量に大きく影響を受け

る。出血とはこの循環血液量が減少することである。もし、代償機構が働かなければ、出血による循環血液量の減少は、心室拡張末期容積を減少させ、心拍出量を低下させ、血圧が低下する。代償機構が働けば、容量血管の収縮や心拍数の増加などにより、心拍出量が回復するとともに、抵抗血管の収縮が起こり、血圧が維持される。

Frank-Starling曲線—静脈還流曲線からみた出血時の循環変化

Frank-Starlingの心臓法則から、心拍出量は静脈還流量に依存する。静脈還流量曲線を図1に示す。右房圧を横軸に、静脈還流量を縦軸にとる。平均右房圧が0から-4 mmHg以下の陰圧では静脈が虚脱しているために右房圧が上昇しても静脈還流はほとんど変化せず、右房圧が0から上昇すると直線的に静脈還流が増加する。

静脈還流曲線のX軸切片の値は平均体血管充満圧（mean systemic filling pressure; Pms）に相当する。心臓から駆出される血液量と右房圧との関係を表す心拍出量曲線と同じ座標軸に表示すると、心拍出量曲線と静脈還流曲線の交点が実際の作動点になる。つまり、二つの曲線の交点から実際の右房圧と心拍出量（＝静脈還流量）が決定される。

心拍出量曲線は、心機能が亢進すると上方へシフトする。たとえば、交感神経の興奮により、上方へシフトする（図1）。しかし、このとき静脈還流曲線の変化がなければ、交点は、AからBに移動するだけで、心拍出量の増加はわずかである。交感神経の興奮により、静脈還流曲線が右方へシフトし、交点はBからCへ移動する。それにより、心拍出量は大きく増加することができる。このように、交感神経興奮によって心拍出量が増大するときに、有効に心拍出量を増加させるためには、静脈還流曲線の右方への移動を必要とする。

一方、出血が起きると、静脈還流曲線は左方へ移動する。それにより心拍出量が低下する（交点D）。交感神経の興奮で心

拍出量曲線が上方へ移動しても、心拍出量の回復は得られない。出血による心拍出量の低下は、静脈還流曲線の左方移動を元の位置に戻すことが大切である。そのためには、輸液をするか、交感神経の刺激により容量血管を収縮するかが必要になる。

平均体血管充満圧:Pms

静脈血が心臓に戻る際の駆動圧を平均体血管充満圧（Pms）と呼ぶ。この平均体血管充満圧と右房圧（Pra）の差が、静脈還流量を決定する。これら2つの圧の差は静脈還流圧較差と呼ばれる。静脈還流に対する抵抗を静脈還流抵抗（R）とすると、静脈還流量（VR）は次の式で表わされる。

$$\text{静脈還流量} = (\text{平均体血管充満圧} - \text{右房圧}) / \text{静脈還流抵抗}$$

$$VR = (Pms - Pra) / R$$

平均体血管充満圧（Pms）は循環血液量（Systemic blood volume :SBV）と無負荷血液量（unstressed BV）と全血管コンプライアンス（C）から次式で与えられる。

$$\text{平均体血管充満圧} = \text{負荷血液量} / \text{全血管コンプライアンス}$$

$$= (\text{循環血液量} - \text{無負荷血液量}) / \text{全血管コンプライアンス}$$

$$Pms = (SBV - \text{unstressed BV}) / C$$

負荷血液量と無負荷血液量

循環血液量は、無負荷血液量（unstressed blood volume）と負荷血液量（stressed blood volume）に分けられる^{1,2)}（図2）。血液量と血管内圧の関係は、直線的に比例関係にあるわけではない。静脈は柔軟な管で薄い血管壁を持ち、内腔の血液量が減少すると内腔がせばまり、やがて虚脱する。そこで、静脈血管の中の血液量をいったんゼロの状態にして、次第に血液量を増加させると、しばらくは血管壁圧がゼロのまま容積だけが增加する。血液量がある量に達するとその時点から血管壁に圧が加わるようになる。この時点の容積を無負荷血液量という（図3）。

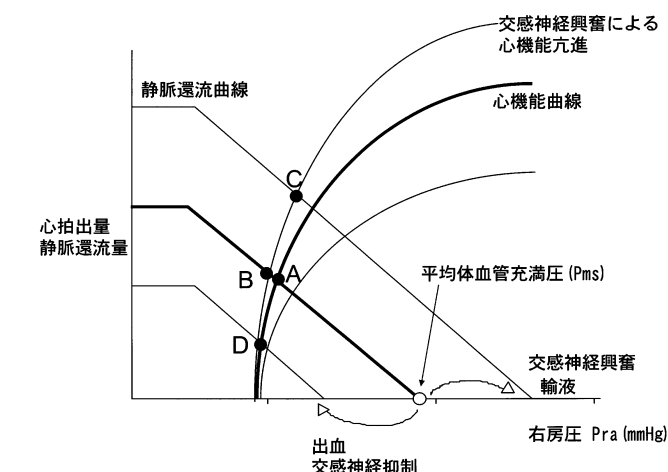


図1. 静脈還流曲線と出血

出血により静脈還流曲線は左方へ移動する。それにより心拍出量が低下する（交点D）。交感神経の興奮で心拍出量曲線が上方へ移動しても、心拍出量の回復は得られにくい。輸液や交感神経の興奮で静脈還流曲線が元の位置に戻ると心拍出量は回復する。

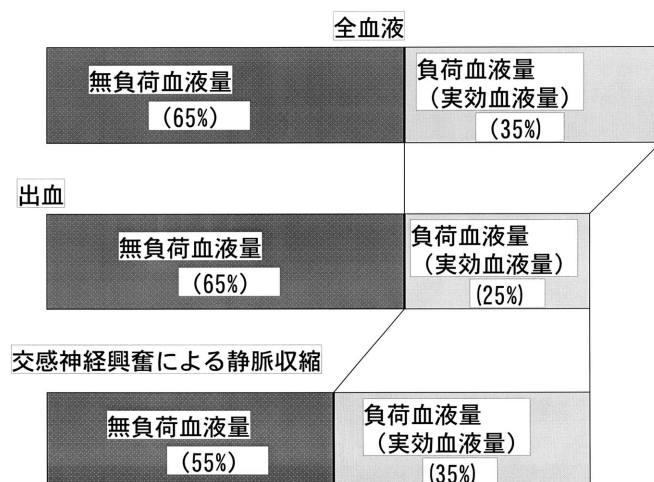


図2. 負荷血液量と無負荷血液量

循環血液量は負荷血液量と無負荷血液量に分けられる。出血すると、負荷血液量が減少する。しかし、交感神経の興奮が生じると、無負荷血液量が負荷血液量に変化し、負荷血液量が維持される。

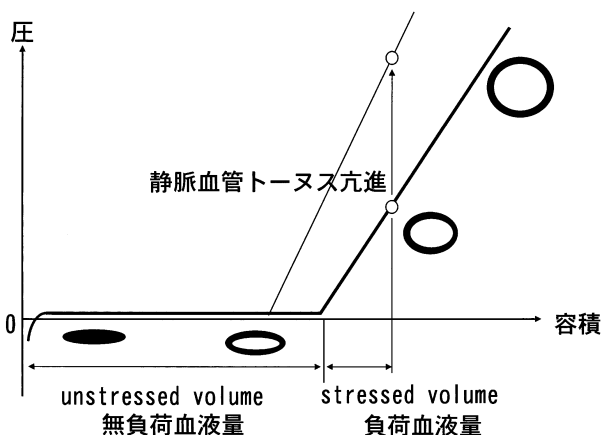


図3. 静脈血管の圧容積関係

さらに血液量を増やしていくと容積の増加にほぼ比例して血管壁に加わる圧が上昇する。この圧の上昇分と容積増大分の関係 (dV/dP) をコンプライアンス (compliance) といい、この圧上昇に関与する部分の血液量を負荷血液量という。

通常、全血液量の約65%が無負荷血液量で、残りの約35%が負荷血液量である。ということは、全血液量5Lのうち、負荷血液量は約1.5Lであり、残りの3.5Lは循環系を満たすためだけに必要な血液量ということになる。すなわち、実際に心臓へ戻るために有効な負荷圧を静脈系システムに発生できる血液量は、全体の35%にすぎない。図3、4に示すように静脈が交感神経の興奮で収縮すると、無負荷血液量が負荷血液量に変化することで、負荷血液量が増加する。

心拍出量決定因子としての負荷血液量の重要性

心収縮性、血管抵抗、負荷血液量、はそれぞれが独立した因子と捉えることができるから、これら3因子が心拍出量にどう影響するかについて定量的に評価することが可能である。砂川ら^{3,4)}は、これらに心拍数と心室の拡張能を加えて、5因子が閉鎖循環系で心拍出量をどの程度変化させるかについて理論的解析を行い、表1に示すような結論を得た。それによると、心収縮性が正常から2倍に増加しても、心拍出量の増加は約10%にすぎない。だから正常の心収縮性をもった心臓に心収縮力増強薬を用いていくら刺激しても、心拍出量はさほど増えない。

一方、心拍数を2倍に増やしても、せいぜい心拍出量の増加は15%程度である。血管抵抗の変化はかなり大きく効いてくる。血管抵抗を半分にすると心拍出量は約40%増加する。

しかし、最も大きな影響を及ぼすのは負荷血液量である。負荷血液量を2倍にすると、心拍出量もほぼ2倍になる。同様に、出血により負荷血液量が半分に減少すると、心拍出量もほぼ半になる。すなわち、1.5Lの半分、750mlの出血で心拍出量が半になる可能性がある。もちろんこれは代償機構が働かない場合で、通常は、交感神経系を介した神経系調節が働き、無負荷血液量が血液量へ移動し、負荷血液量が維持されるため、心拍出量が維持される。

表1. 心拍出量の規定因子とその影響

	x 2	x 0.5
心拍出量の変化 (%)		
心収縮性 (End-systolic Elastance)	約 + 8%	約 -14%
拡張能 (End-diastolic Elastance)	約 +18%	約 -23%
血管抵抗 (Vascular Resistance)	約 -45%	約 +43%
心拍数 (Heart Rate)	約 +15%	約 -20%
負荷血液量 (Stressed Blood Volume)	約 +90%	約 -50%

Modified from Sunagawa K. Cardiovascular Interaction. In: Cardiac Contraction and the Pressure-Volume Relationship. Oxford Univ. Press, 1988, pp232-298

負荷血液量の変化

交感神経の興奮によって生じた静脈の収縮と静脈還流量の増加は無負荷血液量の一部が負荷血液量に変化することによってもたらされる。交感神経活動が最大に亢進すると無負荷血液量のうちの半分に相当する全血液量の約30%が負荷血液量に変化する。そのため、負荷血液量は全部で65%に達する。

このように、交感神経の興奮は静脈を収縮して、無負荷血液量を負荷血液量に変化させ、交感神経の抑制は静脈の拡張を生じ負荷血液量を無負荷血液量に変化させる。その結果、静脈還流量がそれぞれ増加あるいは減少する。また、出血あるいは輸液は、それぞれ負荷血液量を減少あるいは増加させることにより、静脈還流量が減少あるいは増加する。

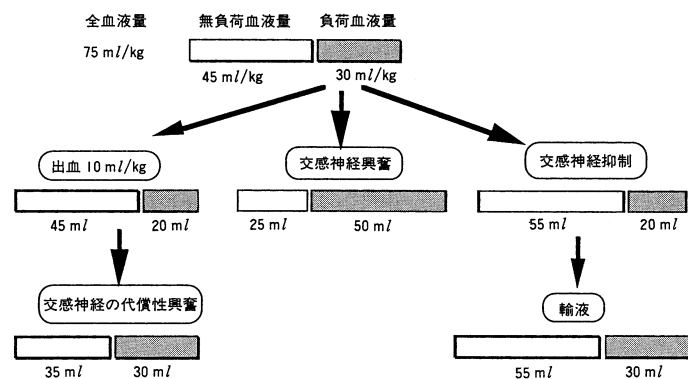


図4. 負荷血液量の変化、出血と輸液

図4に示すように、循環血液量75ml/kgの人は、負荷血液量が30ml/kgで、無負荷血液量が45ml/kgになる。血管コンプライアンスを4 ml/kg/mmHgとすると、平均体血管充満圧(静脈還流の駆動圧)は、 $30/4 = 7.5$ mmHg になる。もし、交感神経が興奮して、負荷血液量が50ml/kgになると、平均体血管充満圧は12.5mmHgになる⁵⁾。

同じように、交感神経の抑制で負荷血液量が20ml/kgになると、平均体血管充満圧は5 mmHgになる。このことから、10ml/kg出血すると、平均体血管充満圧は5 mmHgとなるが、

交感神経が代償性に興奮することで、負荷血液量が回復して、平均体血管充満圧は7.5 mmHgにもどることができる。

表2に出血時や静脈血管収縮、拡張時の血液量、負荷血液量、無負荷血液量と平均体血管充満圧の変化を示す¹⁾。非代償性出血で負荷血液量が減少し、平均体血管充満圧が低下するが、代償性出血では無負荷血液から負荷血液へ移動し、負荷血液量の減少が代償され、平均体血管充満圧の低下も代償される。アドレナリンを投与したり、運動したりすると、負荷血液量は約2倍近くに増える。

表2. 負荷血液量、無負荷血液量と平均体血管充満圧（文献1から引用）

	全血液量 (ml/kg)	無負荷血液量 (ml/kg)	負荷血液量 (ml/kg)	血管コンプライアンス (ml/kg/mmHg)	平均体血管充満圧 (mmHg)
正常	75	43	32	4	8
非代償性出血	65	43	22	4	5.5
代償性出血	65	35	30	4(?)	7.5
静脈血管収縮 (e.g.運動, アドレナリン)	75	19	56	4(?)	14
静脈血管収縮 (e.g.ショック, ニトログリセリン)	75	51	24	4(?)	6

静脈容量の能動的調節

負荷血液量の変化は、静脈血管容量（キャパシタンス）と血液量によって決まる。静脈のキャパシタンス変化、すなわち静脈の収縮拡張は、おもに交感神経活動によるものである。しかし、神経性の収縮拡張といった能動的变化のほかに、静脈血管の容量変化には受動的変化も存在し、重要な役割を担っている。

交感神経活動による静脈血管の容量調節は、全身の静脈系で均一に調節されているわけではなく、臓器毎に大きな違いがある。内臓の静脈血管では、交感神経活動に敏感に反応するが、四肢の骨格筋の静脈血管は交感神経による容量調節はほぼ欠如している⁶⁾。また、皮膚の静脈血管では、血圧の反射性調節は影響を及ぼさず、体温調節に関与する交感神経活動に敏感に反

表3. 臓器別血液量と交感神経刺激による血液量変化（文献7より引用）

臓器	重量比 (%)	血液量 (%)	交感神経刺激に よる血液量変化 (%)
内臓血管床	9.5	33	21
┌ 肝臓	2.5	12	16
┌ 脾臓	1	14	12
┌ 腸管	6	7	3
骨格筋*	45	17	5
脂肪組織*	14	9	3
皮膚*2	3	2	1
肺	1.5	10	1
心臓		5	
腎臓	0.5	1	
その他	26.5	23	
全体	100	100	31

* ほとんどが受動的血流効果による容量変化。

*2 体温調整に関与。

応する。ただし、流血中のカテコールアミンは、内臓、骨格筋、皮膚の静脈血管をすべて収縮させる。

交感神経刺激によって全血液量の最大約30%が静脈還流量の増加のために動員される。この30%のうち内臓（とくに肝臓と脾臓）からの動員が約3分の2を占める⁷⁾（表3）、反射性の血管容量調節にとって内臓循環がいかに重要であるかがわかる。

出血と神経性循環調節

循環系は多くの因子によって調節されている。なかでも自律神経系は最も重要な調節因子である。とくに、ストレスや環境変化に際して瞬時に起こる循環の調節は、自律神経反射系を介して行われる。

多くの反射系が循環調節に関与している。その中で、圧受容器反射系は血圧変化を感受して循環を調節する反射系である。圧受容器反射は、血圧の変動幅を小さくする方向に働く。すなわち、血圧が上昇すると圧受容器を介して、血圧上昇を抑制する方向に反射性調節が働き、血圧が下降すれば逆方向に調節が働く。

心肺圧受容器反射はおもに静脈還流量の変化に対応して循環調節を行う反射系で抑制的に作用する。骨格筋に存在する代謝受容器は運動骨格筋の代謝亢進により刺激され、反射性に非運動器血管の収縮と心機能の亢進をもたらす。また、腎臓内圧の上昇は求心性腎交感神経を刺激し、反射性に遠心性交感神経活動を抑制する。

自律神経系は瞬時の血圧変動に対する緩衝作用だけでなく、腎臓のNa排泄量に影響を及ぼすことにより、長時間の血圧調節にも関与している。分単位のやや時間の長い血圧変動に対しては、レニン・アルドステロン系などのホルモン調節系が動員される。

圧受容器反射

圧受容器反射系は、動脈圧受容器反射系と心肺圧受容器反射系の2つに大別される。動脈圧受容器反射系は、動脈圧変化を感受して循環調節を行う反射系である。心肺圧受容器反射系は、主として心房・肺動静脈・心室拡張期圧の変化を感受して循環調節を行う反射系である。

圧受容器に発生したインパルスは、それぞれ頸動脈洞神経（舌咽神経に合流）と大動脈神経（迷走神経に合流）を介して脳幹部の孤束核（NTS）に伝えられる。孤束核に伝達された信号は、一方では、延髄の腹外側部にある尾側延髄腹外側部（CVLM）に存在する抑制性ニューロンに伝えられる。このニューロンは、延髄の吻側延髄外側部（RVLM）に存在する血管運動ニューロンを抑制する⁸⁾。

体液性循環調節

体液性の循環調節は、反射性血圧調節よりも反応が遅く、数分から数時間におよぶ血圧変動刺激によって動員され、効果も持続性である。これはホルモンの分泌と代謝の時間経過だけでなく、腎臓における体液量調節を介して血圧調節に関わってい

るからである。出血時の体液性調節の主なものは、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系とバソプレッシン（抗利尿ホルモン：ADH）である。

1) レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系

レニンは腎の傍糸球体装置から、動脈圧の減少、 Na^+ の減少、交感神経活動（ β 作用）の刺激などにより流血中に放出される。肝で作られる α_2 -グロブリンはレニンの作用によりアンギオテンシン I になる。アンギオテンシン I は主に肺および末梢血管で、変換酵素により アンギオテンシン II となる。アンギオテンシン II は副腎皮質からのアルドステロン放出を促進するほか、直接に抵抗血管を収縮させる。また、ノルアドレナリンに対する血管の反応性を高める作用や交感神経活動を増大させる作用がある。アルドステロンは腎でのナトリウム再吸収を促進させ、体液増加に働く。

循環血液量の減少に伴い、交感神経が興奮すると同時に、このレニン・アンギオテンシン・アルドステロン系が賦活化され、体液増加、循環血液維持の方向へ作動することから、出血時の循環調節にこの系はとくに重要な働きをしている。

2) バソプレッシン、抗利尿ホルモン（ADH）

視床下部の浸透圧受容器が 1-2 % の浸透圧変化を感知してバソプレッシンの分泌をコントロールしている。動脈圧受容器反射および心肺圧受容器反射によっても分泌が調節されている。バソプレッシンは腎尿細管細胞の V2 レセプターに働いて水の再吸収を促進し、体液の維持に働く。一方、血管平滑筋では V1 レセプターを介して細胞内 Ca^{++} を増加させ、収縮作用を示す。

出血時にはバソプレッシンが分泌され、体液維持、血管収縮に作用する。最近、難治性の出血性ショック時の治療にバソプレッシン投与が効果を発揮することが報告され、注目されている。

出血時の循環調節機構の動員

出血によって循環血液量が減少した時の循環調節機構の作動状況を図 5 に示す⁹⁾。出血量が 500ml 程度までの時には、血圧は低下せず、心肺圧受容器反射のみが働く。それにより、交感神経活動が亢進し、脈拍の増加と血管収縮が生じる。その結果、腎血管が収縮し、腎血流が減少し、尿量が減少する。レニン活性化の関与は少ない。

出血量が 1000ml を超えるような時には、動脈圧受容器反射と心肺圧受容器反射が両方とも作動し、交感神経活動が著明に亢進する。そして、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系が活性化され、腎臓での Na と水の再吸収が促進される。またバソプレッシン系も賦活化され、水の再吸収と血管収縮が生じて、血液量を維持あるいは増加するように働く。

心拍数や血圧の変化と出血量の関係を表 4 に示す¹⁰⁾。出血を I から IV に分類し、クラスごとの心拍数、血圧変化の概観をまとめたものである。心拍数は徐々に上昇し、危機的出血では逆に徐脈になる。血圧ははじめ維持されるがやがて低下しはじめ、

ショックレベルに低下する。

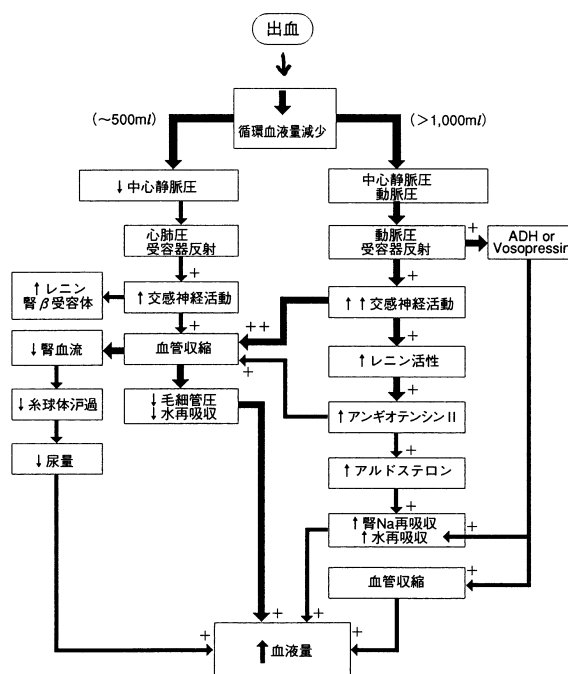


図 5. 出血時の循環調節機構（文献 9 から引用）

出血量が 500ml 程度までは、心肺圧受容器反射が働き、交感神経活動が亢進する。腎血流が減少し、尿量が減少する。出血量が 1000ml を超えると、動脈圧受容器反射と心肺圧受容器反射が両方とも作動し、交感神経活動とレニン・アンギオテンシン・アルドステロン系、バソプレッシン系が活性化されて、水の再吸収と血管収縮が生じて、血液量を維持あるいは増加させる。

表 4. 出血のクラス分類と血圧・心拍数の変化（文献 10 を改変）

クラス分類	出血量	心拍数	血圧
クラス I	<15%	上昇傾向	変化少ない
クラス II	15%～30%	HR>100	脈圧低下
クラス III	30%～40%	HR>120	著明に低下
クラス IV	40%<	HR>140 または徐脈	ショックレベル

大量出血における心室受容器反射の亢進

心室受容器はひずみ受容器なので心室壁の局所壁運動異常によって刺激される。出血は心臓への還流量を減少させ、血圧を低下させる。同時に、心室の充満が不足するため心室が過収縮して、心室の機械的受容器が興奮する。この受容器刺激により反射的に迷走神経が興奮するとともに、遠心性交感神経活動も抑制される（図 6）。このような機序で血圧低下が進み失神することがある。血圧の低下による動脈圧の減負荷は心室受容器反射を促進させるともいわれる。急激な大量出血時の徐脈、高度低血圧に、この心室受容器反射が関与している^{5,11)}。

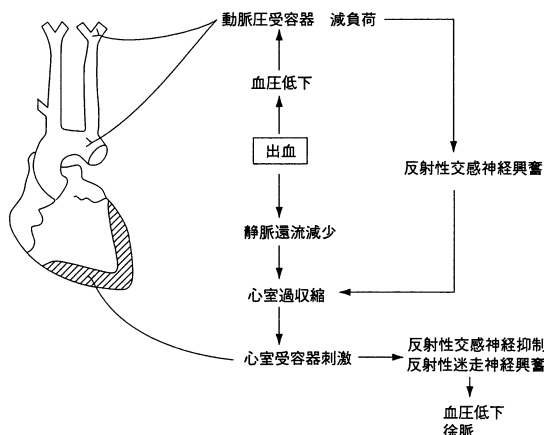


図6. 急性の大量出血時の反射性循環応答（文献5, 11を参考に作成）
出血によって静脈還流量が減少し、心室が過収縮すると、心室壁の機械的受容器が興奮して、心室受容器反射を惹起する。この反射は循環を抑制する。一方、出血による血圧低下は動脈圧受容器反射を惹起し、交感神経を興奮させる。これはさらに心室を過収縮させ、心室受容器反射による血圧低下と心拍数減少が助長される。

大量出血による止血凝固機能の変化と臓器不全

大量出血が起きると、組織は酸素不足に陥る。低酸素状態が続くと嫌気性代謝により乳酸が産生され、代謝性アシドーシスになる。

代謝性アシドーシスになると、さまざまなケミカルメディエーター（IL6やTNFなど）が血中に放出される。また大量出血で血管や組織損傷が起きて、血管内皮障害が発生する。血管内皮障害によりサイトカイン（PAF）などが放出される。

サイトカインは凝固系を活性化し、やがてDICの病態が惹起される。大量出血を補うための輸液によりさらに血管内の血小板や凝固因子、線溶系因子が希釈され、希釈性凝固障害も発生する。

臓器が酸素不足に陥ると虚血障害から臓器不全に陥る。臓器不全には、虚血以外にサイトカインやケミカルメディエーターも大きく関与している。

まとめ

大量出血時の循環応答を、血行力学的な観点からまとめた。出血時の静脈還流曲線の変化と負荷血液量の変化について理解し、また、神経性および体液性循環調節がどのように動員されるかについて知っておくことは、大量出血時の至適対応にとって、極めて重要なことである。

参考文献

1. Greenway CV, Lautt WW. Blood volume, the venous system, preload and cardiac output. *Can J Physiol Pharmacol* 1986;64:383-387.
2. Rothe CF. Physiology of venous return; An unappreciated boost to the heart. *Arch Intern Med* 1986;146:977-982.
3. Sunagawa K, Sagawa K, Maughan WL. Ventricular interaction with the loading system. *Ann Biomed Eng* 1984;12:163.
4. Sagawa K, Maughan L, Suga H and K Sunagawa. *Cardiac Contraction and the Pressure-Volume Relationship*. Oxford University Press, New York, 1988.
5. 外 須美夫. 呼吸・循環のダイナミズム. 東京:真興交易医書出版部 2001;pp135-142, pp166-183.
6. Vanhoutte PM, Janssens WJ. Local control of venous function. *Microvasc Res* 1978;16:196-214.
7. Ruffolo RR. Distribution and function of peripheral alpha adrenoceptors in the cardiovascular system. *Pharmacol Biochem Behav* 1985;22:827-833.
8. 今泉勉. 循環器自律神経機能オーバービュー, 「臨床医のための循環器自律神経機能検査法」, 今泉勉編著. 東京:メディカルビュー社 1997.
9. Rowell L B. *Human Cardiovascular Control*. Oxford University Press, New York, 1993, pp96-99.
10. 日本外傷学会, 日本救急医学会. 外傷と循環. 外傷初期診療ガイドライン. 東京:へるす出版 2002;pp43-59.
11. Somers VK, Abboud FM. Neurocardiogenic syncope. *Adv Int Med* 1991;87:1953-1957.

救急医療における代用血液の将来

The Future of Blood Substitute in Emergency Medicine

相星淳一⁽¹⁾, 小池 薫⁽²⁾, 小林哲幸⁽³⁾, 増野智彦⁽⁴⁾, 久志本成樹⁽⁴⁾, 大友康裕⁽¹⁾, 山本保博⁽⁴⁾Junichi Aiboshi⁽¹⁾, Kaoru Koike⁽²⁾, Tetsuyuki Kobayashi⁽³⁾, Tomohiko Masuno⁽⁴⁾, Shigeki Kushimoto⁽⁴⁾,Yasuhiro Otomo⁽¹⁾, Yasuhiro Yamamoto⁽⁴⁾

和文抄録

救急医療の現場における主要な死亡原因はショックやその後の多臓器障害であるが、ショック後の多臓器障害の発症機序は十分に解明されておらず、また、その治療法も確立されていないのが現状である。これまでの研究から、酸素運搬能を有する唯一の蘇生輸液である保存血輸血は、感染や多臓器障害の発症率や生命予後に大きく影響を与えることが明らかになった。これに寄与する要因として、保存血輸血中の炎症性メディエータの存在、赤血球機能障害による酸素運搬能の低下、transfusion related immunomodulationなどが考えられる。しかしながら、出血性ショックに対する蘇生輸液としての代用血液は、炎症性メディエータの産生や多臓器障害の発症を軽減することが示唆されていることから、急性出血に対する貧血の補正や保存血輸血の温存のみならず、ショック後の多臓器障害に対する治療戦略になることが期待される。

Abstract

Shock and multiple organ dysfunction syndrome (MODS) are still main causes of death in critical care. The mechanism of MODS is ill defined, and also the strategy for it is not established. Previous studies have shown that stored blood, an only resuscitative fluid with oxygen carrying capacity, increases infectious complication and mortality. Inflammatory mediators in stored blood, decreased oxygen delivery due to the dysfunction of red blood cells, and transfusion related immunomodulation may contribute to unfavorable effects. However, resuscitation for hemorrhagic shock with blood substitute decreases the production of inflammatory mediators and the rate of MODS. In the future, blood substitute is expected to be an ideal resuscitative fluid preventing MODS as well as correcting acute anemia and sparing stored blood.

Keywords

Blood Substitute, Multiple Organ Dysfunction Syndrome, Shock, Stored Blood, Mesenteric Lymph, Neutrophil

はじめに

ショックに続発するmultiple organ dysfunction syndrome (MODS) の発症機序は十分に解明されていないが、虚血・再灌流後に腸管で産生された炎症性メディエータがacute respiratory distress syndrome (ARDS) やMODSを惹起すると考えられている^{1,2)}。最近の研究では、唯一の酸素運搬能を有する蘇生輸液である保存血輸血が生命予後を悪化させる可能性があること^{3,4)}、また、保存血に代わる代用赤血球の使用はsystemic inflammatory response syndrome (SIRS) を軽減し、

MODSの発症率を低下させることが報告されている⁵⁾。この総説では、特異的な治療法のない多臓器障害に対する代用血液の有効性について、当研究グループの実験結果や最新の知見をまじえて解説する。

多臓器障害の発症機序と治療戦略

外傷死の最初のピークは病院前における即死で、その後に続くピークは受傷2～3時間後の呼吸障害や出血に起因する。さらに、呼吸や循環が安定化したにもかかわらず、受傷から2～

(1) 東京医科歯科大学 救急災害医学 〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45 Department of Acute Critical Care and Disaster Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Yushima 1-5-45, Bunkyo-ku, Tokyo 113-5819, Japan

(2) 京都大学医学部 初期診療・救急医学 Department of Primary Care and Emergency Medicine, Kyoto University

(3) お茶の水女子大学 理学部生物学科 Department of Biology, Ochanomizu University

(4) 日本医科大学 救急医学 Department of Emergency and Critical Care Medicine, Nippon Medical School

論文受付 2007年9月19日 論文受理 2007年10月5日

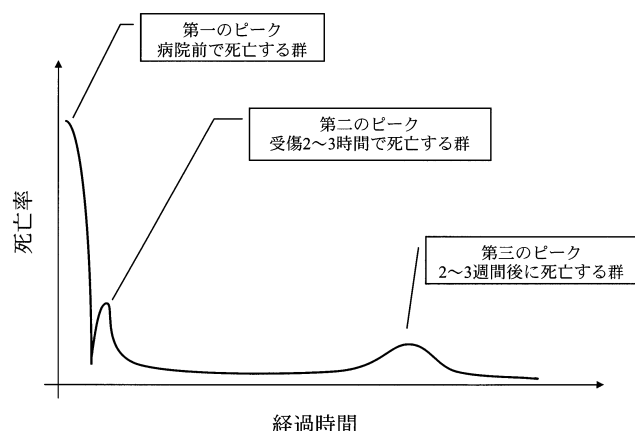


Fig. 1. Mortality rate following traumatic insults.

3週間後に敗血症や多臓器障害で死亡する群が存在する (Fig. 1.). 多臓器障害の発症機序は未だ十分に解明されておらず、救急医療における主要な死亡原因になっている。今日までの研究によって幾つかの多臓器障害の発症機序が考えられている (Fig. 2.). 外傷やショックにより免疫細胞や損傷を受けた組織から産生されたTNF, IL-1, IL-6, IL-8などの炎症性サイトカインや脂質メディエータなどの炎症性メディエータがSIRSを惹起する。特に重篤なSIRSの場合、過剰に産生された炎症性メディエータにより活性化された免疫細胞は無差別的に生体を攻撃し、早期にARDSやMODSを招く。さらに、SIRSに対する代償として、その重症度に比例したcompensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) が起こる⁶⁾。この病態はIL-4, IL-10などの抗炎症性サイトカインによる免疫不全状態で、感染症を併発し晩期のMODSを引き起こす可能性がある⁶⁾。もう一つの多臓器障害の発症機序としてtwo insult theoryがある (Fig. 2.). 外傷やショックなどのfirst insultが免疫細胞をpriming状態 (活性化準備状態) に励起し、さらに、手術侵襲、再出血、感染などのsecond insultによって、免疫細胞は活性化に転じSIRSを増悪させ多臓器障害を発症させるという理論である⁶⁾。すなわち、中等度のSIRSであっても、second insultが生体に加われば重篤なSIRSを招くことを意味する。われわれが危惧するsecond insultには、後述するショック後の腸間膜リンパ液や保存血輸血も含まれる。

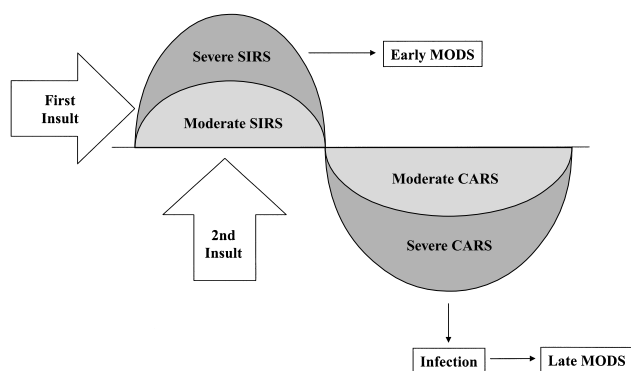


Fig. 2. MODS and two insult theory.

多臓器障害に対する特異的な治療法はないことから、その予防的治療に重点を置かなければならない。いかにfirst insultによるSIRSを軽減し、かつ、second insultを回避するかが重要である。敗血症の治療指針であるsurviving sepsis campaignでは、全身の酸素代謝の指標である中心静脈血酸素飽和度 (S_{cvO_2}) の正常化を目標に、輸液、輸血、心血管作働薬を駆使して酸素運搬能を高め、末梢組織の酸素負債を可及的速やかに改善させることで敗血症性ショック症例の死亡率が有意に低下することから、ショックに対する蘇生法としてearly goal-directed therapyを推奨している^{7,8)}。また、意図的にhyperdynamic state (cardiac index $4.5L \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$ 以上, oxygen delivery $600mL \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$ 以上, oxygen consumption $170mL \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$ 以上) を維持する治療が注目されたが、議論の余地を残す結果であった。しかしながら、その後のShoemakerらのメタ解析によると、多臓器障害の発症前に開始したhyperdynamic therapyは予後を改善することを明らかにしている⁹⁾。初期治療の段階から末梢組織の酸素需要・供給のインバランスを速やかに是正することは多臓器障害に対する治療戦略の一つと考えられる。

Mooreらは外傷性出血性ショックに対してpolymerized hemoglobin (Northfield Laboratories) を投与し、好中球の活性化、サイトカインの産生、MODSの発症率を軽減するか否かについて保存血輸血と比較検討を行った^{5,10,11)}。Polymerized hemoglobinを投与した群では、好中球の活性酸素産生能や血中サイトカイン (IL-6, IL-8, IL-10, IL-11) は有意に低下し、さらに、多臓器不全予測モデルから計算された代用赤血球投与群の多臓器不全の発症頻度は37%であるのに対し、実際の頻度は15%であったと報告している^{5,10,11)}。これらの結果は、代用血液による蘇生が外傷後のSIRSやMODSを有意に軽減する可能性を示している。現在、全米32施設の外傷センターにおいて、出血性ショック症例 (収縮期血圧90mmHg以下) を対象に、病院前の蘇生輸液として代用血液あるいは晶質輸液を投与し、生命予後、保存血輸血の投与量、ARDSやMODSの発症頻度などについての検討が進行中である¹²⁾。このように、代用血液は急性出血による貧血の補正や保存血輸血の温存などの利点以外に、多臓器障害の発症を阻止する有効な手段になりうるものと期待される。

腸管と多臓器障害

虚血・再灌流に曝された腸管は、MODSのpromoterとして重要な役割を演じている。当初、腸管と遠隔臓器を結ぶ経路は門脈系であると信じられていたが、Mooreらは、緊急手術を要した重症外傷症例の門脈血から細菌やエンドトキシンを同定できなかったことから、新たな経路として腸間膜リンパ管に着目した¹³⁾。DeitchやMooreらのグループは、出血性ショックや熱傷性ショックモデルにおいて、腸間膜リンパ管の離断あるいは結紮がショックに続発する肺傷害を抑制することを明らかにし、腸間膜リンパ管が遠隔臓器障害の主要な経路であることを証明した^{14,15)}。ショック後の腸間膜リンパ液は、ARDSやMODSの発症機序に関与する好中球や血管内皮細胞に対して多

Table 1. Mesenteric lymph induced cytotoxicity.

好中球	
・活性酸素産生	↑
・CD11b接着分子	↑
・細胞内Ca ²⁺	↑
・接着能	↑
・アポトーシス	↓
・内皮細胞傷害	↑
血管内皮細胞	
・P-selectin、ICAM-1接着分子	↑
・内皮細胞透過性	↑
・内皮細胞傷害	↑
赤血球	
・形態変化	↑
・変形能	↓

彩な生物活性を示す (Table 1). 好中球への腸間膜リンパ液の作用は、活性酸素の産生¹⁵⁾, CD11b接着分子の発現¹⁶⁾, 接着能の増加¹⁷⁾, 細胞内Ca²⁺の上昇¹⁸⁾, 血管内皮細胞傷害¹⁹⁾, apoptosisの抑制²⁰⁾, また、血管内皮細胞に関しては、P-selectinやintercellular adhesion molecule-1接着分子の発現²¹⁾, 透過性の亢進²²⁾, 好中球の活性化を介さない内皮細胞傷害²³⁾などが報告されている。さらに、赤血球の形態変化や変形能に対しても生物活性を示す²⁴⁾。しかしながら、ショック後の腸間膜リンパ液に存在するサイトカインや脂質メディエータの産生機序はほとんど解明されていない。Deitchらの仮説によれば、熱傷や出血性ショックなどによる腸管虚血・再灌流は腸管の防御機構を破綻させ、細菌やその副産物であるLPSなどのtranslocationを引き起こす、そして、それによって腸管が産生した多彩な炎症性メディエータは腸間膜リンパ管を介して体循環に流入し、SIRSを増幅してARDSやMODSを惹起すると仮定している (Fig. 3.)^{1,2,25)}。

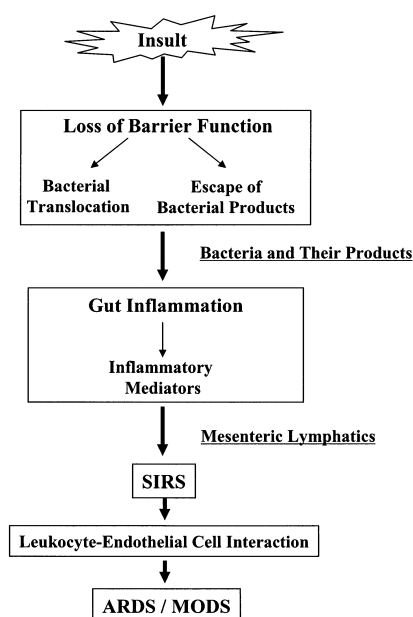


Fig. 3. Mesenteric lymph and ARDS/MODS.

腸間膜リンパ液には脂質メディエータが存在することが示唆されている。Mooreらは、腸間膜リンパ液から抽出した脂質成分が好中球の活性酸素産生を誘導することを証明した²⁰⁾。さらに、非特異的なphospholipase A₂ inhibitorであるquinacrineを出血性ショック前に投与して、ショック後の腸間膜リンパ液による活性酸素産生能について検討した結果、quinacrine投与群では有意にその産生が軽減したことから、腸間膜リンパ液にはphospholipase A₂が関与する脂質メディエータが存在する可能性がある²⁶⁾。現在、我々は質量分析 (electrospray ionization法) による脂質の網羅的解析を進めている。また、これまでに腸間膜リンパ液から同定されているサイトカインはTNFとIL-6である²⁵⁾。さらに、われわれは新たなサイトカインとしてcytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1) が存在することを明らかにした (unpublished data)。CINC-1はCXCサブファミリーに属するケモカインで、IL-8と高い相関性と類似した生物活性を示し、TNF, IL-1, lipopolysaccharide (LPS) の刺激により、単球、マクロファージ、血管内皮細胞、腸管上皮細胞などから産生される²⁷⁾。IL-8やCINC-1はラット腸管虚血・再灌流後の肺傷害²⁸⁾やARDSやMODSの発症に深く関与している^{29,30)}。われわれはラット出血性ショックモデル (平均血圧40mmHg, 30分間) に対して代用赤血球を投与し、腸間膜リンパ液の生物活性、リンパ液中サイトカイン濃度、肺血管透過性について検討した (Fig. 4, 5.)¹⁷⁾。本研究では、脱血した血液の代わりに同量のliposome-encapsulated hemoglobin (LEH, テルモ株式会社) を投与した群 (LEH群)、脱血した血液を投与した群 (WB群)、sham群の3群で比較検討した。LEHによる蘇生は、腸間膜リンパ液の生物活性 (活性酸素産生, CD11b接着分子発現, 接着能) やCINC-1濃度、肺血管透過性を有意に抑制した (unpublished data)¹⁷⁾。この実験で使用した代用赤血球には、①nitric oxideに対するscavenge作用による血管収縮はない、②酸素運搬能が高い、③細胞成分 (白血球や血小板など) を含まない、④炎症起因物質を含有しない、⑤末梢血管抵抗を低下し、心拍出量を増加する、⑥天然型赤血球と比較して、微小 (200 nm) で低いviscosityであるなどの利点がある³¹⁾。今回の結果は、優れた酸素運搬能や流体力学的特長によって虚血に陥った腸管循環をより早期に回復させる可能性を示している。また、代用血液の腸管に対する効果について検討した動物実験では、cross-linked hemoglobinやpolymerized hemoglobinの投与は腸管粘膜のintegrityを維持し、bacterial translocationを抑制することが証明されている^{32,33)}。これに反して、外傷性出血性ショックに対するdiaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) の有効性を検討した多施設研究によると、生理食塩水を投与した群と比較して、DCLHbは多臓器障害の発症率や死亡率を有意に悪化させる結果となった³⁴⁾。DCLHbを使用した動物実験では、末梢や肺の血管抵抗の増加によって心拍出量が減少することが証明されている³⁵⁾。循環血液量が減少した場合、他の臓器に先立って腸管の動静脈の収縮によりafterload およびpreloadが増加することによって脳や冠動脈への血流を維持することが知られている。虚血に陥った腸管が産生した脂質メディエータ

やサイトカインはsecond insultとして作用し、first insultによるSIRSをさらに悪化させるかもしれない。多臓器障害の治療という観点から期待される代用血液は、循環不全を助長させることなく、腸管への十分な酸素運搬能力を発揮することである。

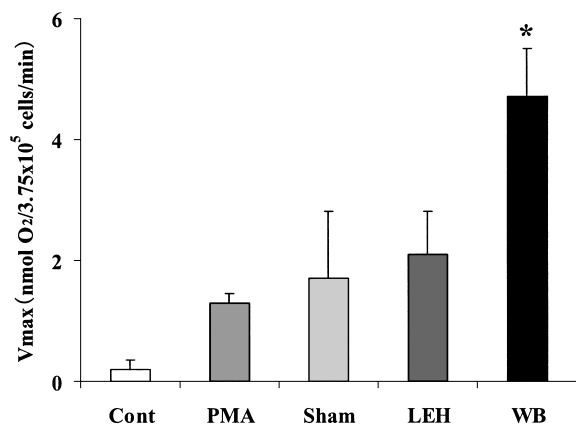


Fig. 4. Mesenteric lymph induced superoxide production.

Isolated rat PMNs were stimulated for 5 min at 37°C with KRPD buffer or 1% mesenteric lymph and then activated for 5min with PMA (200ng/ml). Superoxide anion production was measured with the SOD inhibitable cytochrome c reduction method and superoxide Vmax (nmol O₂/3.75 x 10⁵ cells/min) is expressed as mean ± SD of 7 experiments.

(日本救急医学会雑誌 2004 ; 15 (11) : 579-586から転載)

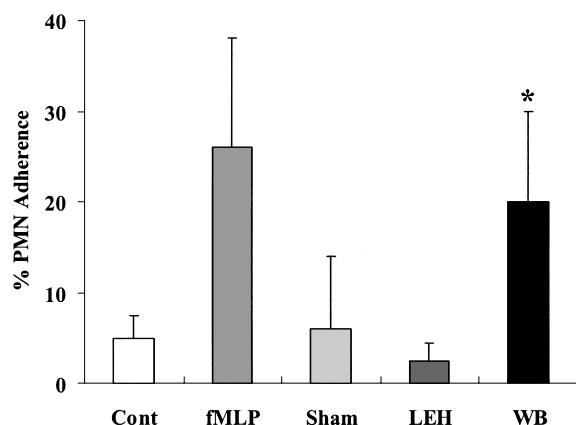


Fig. 5. Mesenteric lymph induced adhesion to fibrinogen.

⁵¹Cr-labeled rat PMNs were added to fibrinogen coated wells prior to sedimentation for 15 min. Mesenteric lymph (concentration: 1%) or fMLP (1 μM) were added to each well containing PMNs and then incubated for 10 min at 37°C. Non-adherent PMNs were removed by inverted centrifugation for 5 min at 2000 rpm followed by measurement of the radioactivity of adherent PMNs. % PMN adherence was calculated as the percentage of the radioactivity of total PMNs added to a well. Data are expressed as the mean ± SD of 7 experiments.

* indicates that % adherence in WB group was significantly greater than those in sham and LEH groups (p<0.05).

(日本救急医学会雑誌 2004 ; 15 (11) : 579-586から転載)

保存血輸血の弊害

外傷症例に対する保存血輸血の影響に関する臨床研究によると、保存血輸血は外傷後の多臓器障害や生命予後に対する独立した危険因子である^{3,4)}。また、ICUにおける保存血輸血の影響に関する検討では、輸血制限を施行した群 (Hb濃度 7~9 g/dl) では、非制限群 (Hb濃度 10~12 g/dl) と比較して有意に生命予後が改善された³⁶⁾。これらの研究から、①輸血は他の生理学的指標よりも疾病や損傷に対して鋭敏な指標である、②適度な貧血は重症患者にとって有利である、③保存血自体が有害であるなどの可能性が推測される³⁷⁾。特に、保存血の有害性に関して、炎症性メディエータの産生、酸素運搬能の低下、transfusion-related immunomodulation (TRIM) による易感染性が重要である³⁷⁾。

保存血はその保存期間に依存して血漿分画内にTNF, IL-1, IL-6, IL-8などのサイトカインやlyso-phosphatidylcholines (lyso-PCs) などの脂質メディエータを産生し、受血側の免疫細胞を活性化させる³⁸⁾。実際に、保存血の血漿分画は、好中球や血管内皮細胞に対して活性酸素の産生、蛋白分解酵素の放出、接着分子の発現を誘導する³⁸⁾。保存血中の炎症性メディエータの関与を強く示唆する臨床研究によると、輸血された保存血の単位数や保存期間は、ICU入院期間の延長、MODSの発症率や死亡率の増加、肺炎合併率の増加などと明らかに関連すると結論している³⁷⁾。我々も日赤M・A・P血の血漿分画による好中球の活性酸素産生能を測定した結果、血漿分画の濃度や保存血の保存期間に依存的に活性酸素が産生されることを証明した (Fig. 6, 7.)³⁹⁾。また、保存血輸血の致命的な合併症としてtransfusion-related acute lung injury (TRALI) がある^{38,40)}。従来、主な発症機序は供血側あるいは受血側の白血球抗体による抗原抗体反応であると考えられていたが、最近の研究で保存血中の炎症性メディエータが関与することが明らかになった³⁸⁾。炎症性メディエータによるTRALIはtwo insult theoryによるものと推測されている³⁸⁾。すなわち、輸血に先行する感染、手術、サイトカイン療法、大量輸血などのfirst insultが、好中球をpriming状態に励起させ肺に集積させる。その後、second insultとして炎症性メディエータを含んだ保存血輸血がpriming状態にある好中球を活性化させて肺を傷害すると考えられている³⁸⁾。われわれはtwo insult theoryに基づいたTRALIの発症機序を証明するため、好中球による活性酸素産生能および血管内皮細胞傷害について検討した⁴¹⁾。SIRSの病態に關与するPAFと保存血内に産生されるlyso-PCsでヒト好中球を連続的に刺激した。PAFとlyso-PCsあるいはlyso-PCsとPAFによる連続刺激は活性酸素の産生と血管内皮細胞の傷害を誘導したが、PAFあるいはlyso-PCs単独では明らかな反応を認めなかった⁴¹⁾。外傷、熱傷、敗血症などによって重篤なSIRSを呈した症例に対する保存血輸血は、ARDSやMODSを惹起する機会を与えるのかもしれない。

保存血輸血で危惧されるもう一つの弊害は酸素運搬能の低下である。保存血中の赤血球は、保存期間の経過とともに細胞内のadenosine triphosphate (ATP) や2, 3-diphosphoglycerate (2, 3-DPG), deformabilityの低下が起こる³⁷⁾。機能的に

障害された赤血球は虚脱した微小循環内でうっ滞し、末梢組織で酸素を解離できない可能性が指摘されている³⁷⁾。臨床的には長期間保存された保存血を輸血した場合、酸素運搬量と酸素消費量の乖離や腸管虚血の指標であるintramucosal pHの低下が報告されており^{42, 43)}、赤血球機能の低下もMODSの発症に関与する可能性がある。我々はラット出血性ショックモデルを用いて、保存血輸血が腸間膜リンパ液の生物活性に与える影響について検討した (Fig. 8.)⁴⁴⁾。ラット赤血球の保存血の作製は、正常ラットから採血を行い、保存液としてcitrate phosphate dextrose adenine-1を添加し7~10日間4℃で保存した。この保存期間は、ATP, 2, 3-DPG, deformabilityに関してヒト赤血球の保存期間4週間目に相当する。実験の直前に白血球除去フィルターで白血球を除去し、生理食塩水で洗浄後、Hb濃度を14g/dlに調整した。ラット出血性ショック (平均血圧40mmHg, 30分間) モデルを作製し、①sham群：ショックおよび蘇生な

し、②新鮮血群：脱血した血液とその2倍量の生理食塩水で2時間かけて蘇生する、③保存血群：脱血した血液と同量の保存血とその2倍量の生理食塩水で2時間かけて蘇生する、の3群で検討した。各群から採取された腸間膜リンパ液による好中球の活性酸素産生能を測定した。保存血群のリンパ液による活性酸素の産生は、sham群や新鮮血群と比較して有意に増加した (Fig. 8.)⁴⁴⁾。この結果から、長期間保存された保存血輸血はHb濃度の改善には寄与するが、虚脱した腸管循環の蘇生には十分に機能していないことが示唆される。

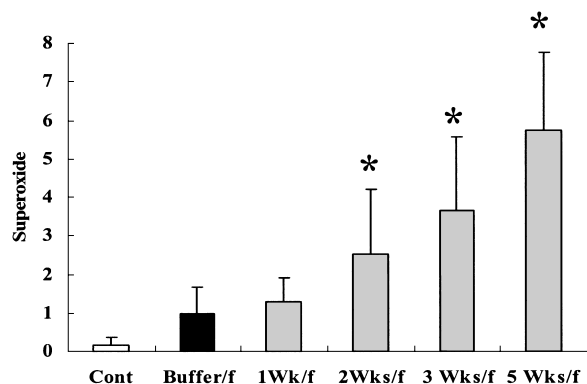


Fig. 6. Time dependency of PMN superoxide production induced by Nisseki M · A · P.

Human PMNs were incubated for 5 min at 37°C with KRPD buffer or supernatant in Nisseki M · A · P stored for 1, 2, 3, or 5 weeks at equivalent concentration to 10 units of Nisseki M · A · P followed by activation with fMLP (1 μM).

* indicates statistical significance compared to buffer/fMLP.

(日本救急医学会雑誌 2005 ; 16 (6) : 272-274から転載)

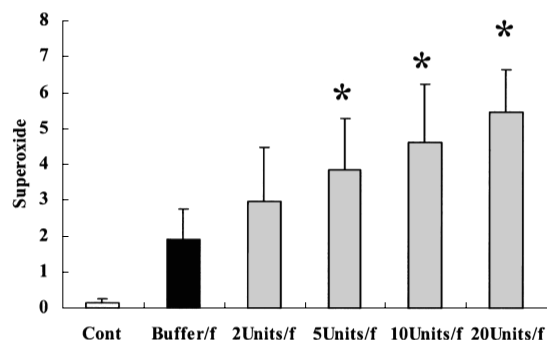


Fig. 7. Dose dependency of PMN superoxide production induced by Nisseki M · A · P.

Human PMNs were incubated for 5 min at 37°C with KRPD buffer or supernatant at equivalent concentration to 2, 5, 10, or 20 units stored for 3 weeks followed by activation with fMLP (1 μM).

* indicates statistical significance compared to buffer/fMLP.

(日本救急医学会雑誌 2005 ; 16 (6) : 272-274から転載)

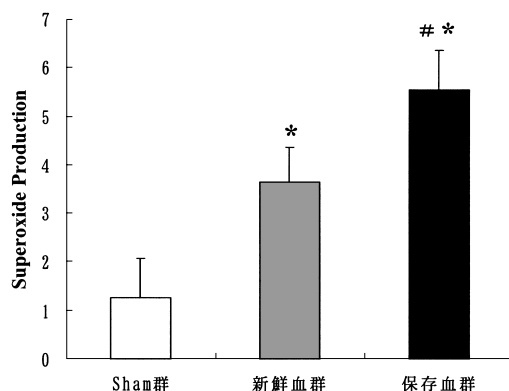


Fig. 8. Mesenteric lymph induced superoxide production.

Human PMNs were stimulated for 5 min at 37°C with KRPD buffer or 1% mesenteric lymph and then activated for 5min with fMLP (1 μM). Superoxide anion production was measured with the SOD inhibitable cytochrome c reduction method and superoxide Vmax (nmol O₂⁻/3.75 x 10⁵ cells/min) is expressed as mean ± SD of 7 experiments.

* indicates statistical significance compared to sham group.

indicates statistical significance compared to sham and fresh blood groups.

(日本腹部救急医学会雑誌 2007 ; 27 (1) : 51-57から転載)

TRIMの発症機序は十分に理解されていないが、保存血中に残存する白血球のclass II major histocompatibility (MHC) 抗原をTリンパ球に提示することにより、Tリンパ球のanergy (無反応性) を誘導することが原因であると推測されている⁴⁵⁾。TRIMは移植腎の成功率、感染症の発症率、癌の再発率の増加などに深く関与している⁴⁵⁾。代用血液は一切の炎症性メディエータを含んでいないが、代用血液自体が生物活性を示す可能性がある。われわれは、polymerized hemoglobinについて好中球や血管内皮細胞に対する影響を検討した結果、ヒト好中球による活性酸素の産生や顆粒球エラスターゼの放出、血管内皮細胞のintercellular adhesion molecule-1接着分子の発現を認めなかった^{5, 46)}。また、好中球、単球、マクロファージがliposome-encapsulated hemoglobinのphagocytosisによって活性化することが示唆されている⁴⁷⁻⁴⁹⁾。産生された活性酸素やサイトカインがsecond insultとして生体に悪影響を与えるかもしれない。さらに、代用血液の大量投与後の細網内皮系の過剰な負荷に起因する免疫低下は、過大侵襲後のCARSと相まって易感染性を惹起することが懸念される。

貧血が生命予後を悪化させることは知られているが、それに対する輸血療法もまた同様である。現在のところ、酸素運搬能を有する唯一の蘇生輸液は保存血のみである。しかしながら、保存血輸血には多くの弊害がある。この臨床的ジレンマに対する解決策には、保存期間の短い保存血や洗浄赤血球の輸血であるが、より現実的には代用血液がその筆頭であろう。すでに米国ではpolymerized hemoglobinの第三相臨床試験が終了を迎えようとしている。近い将来、代用血液が多臓器障害に対する新たな治療戦略として救急医療の現場に登場することを期待したい。

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（17591898）の支援により行われた。

参考文献

- Deitch EA. Role of the gut lymphatic system in multiple organ failure. *Curr Opin Crit Care* 2001;7:92-98.
- Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: What is important in human beings? *Surgery* 2002;131:241-244.
- Malone DL, Dunne J, Ttracy JK, et al. Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. *J Trauma* 2003;54:898-907.
- Moore FA, Moore EE, Sauaia A. Blood transfusion: An independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1997;132:620-625.
- Moore EE. Blood substitutes: The future is now. *J Am Coll Surg* 2003;196:1-17.
- Moore FA, Moore EE. Postinjury multiple organ failure. In "Trauma" Eds by Moore EE, Feliciano DV, Mattox KL. McGraw-Hill, New York, 2004;1397-1424.
- Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004;32:858-873.
- Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368-1377.
- Hern JW, Shoemaker WC. Meta-analysis of hemodynamic optimization in high-risk patients. *Crit Care Med* 2002;30:1686-1692.
- Johnson JL, Moore EE, Offner PJ, et al. Resuscitation with a blood substitute abrogates pathologic postinjury neutrophil cytotoxic function. *J Trauma* 2001;50:449-455.
- Johnson JL, Moore EE, Gonzalez RJ, et al. Alteration of the postinjury hyperinflammatory response by means of resuscitation with a red cell substitute. *J Trauma* 2003;54:133-139.
- Moore EE, Cheng AM, Moore HB et al. Hemoglobin-based oxygen carriers in trauma care: Scientific rationale for the US multicenter prehospital trial. *World J Surg* 2006;30:1247-1257.
- Moore FA, Moore EE, Poggetti R, et al. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma. *J Trauma* 1991;31:629-638.
- Magnotti LJ, Upperman JS, Xu DZ, et al. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock. *Ann Surg* 1998;228:518-527.
- Zallen G, Moore EE, Tamura DY, et al. Hypertonic saline resuscitation abrogates neutrophil priming by mesenteric lymph. *J Trauma* 2000;48:45-48.
- Deitch EA, Shi HP, Lu Q, et al. Mesenteric lymph from burned rats induces endothelial injury and activates neutrophils. *Crit Care Med* 2004;32:533-538.
- 柿沼敏行, 相星淳一, 小池薫, 他. 出血性ショックに対する liposome-encapsulated hemoglobinが腸間膜リンパ液中の好中球活性物質に与える影響. *日本救急医学会雑誌* 2004;15:531-536.
- Dayal SD, Hauser CJ, Feketeova E, et al. Shock mesenteric lymph-induced rat polymorphonuclear neutrophil activation and endothelial cell injury is mediated by Aqueous factors. *J Trauma* 2002;52:1048-1055.
- Upperman JS, Deitch EA, Guo W, et al. Post hemorrhagic shock mesenteric lymph is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils. *Shock* 1998;10:407-414.
- Gonzalez RJ, Moore EE, Biffl WL, et al. The lipid fraction of post-hemorrhagic shock mesenteric lymph (PHSML) inhibits neutrophil apoptosis and enhances cytotoxic potential. *Shock* 2000;14:404-408.
- Xu DZ, Lu Q, Adams CA, et al. Trauma-hemorrhagic shock-induced up-regulation of endothelial cell adhesion molecules is blunted by mesenteric lymph duct ligation. *Crit Care Med* 2004;32:760-765.
- Deitch EA, Adams C, Lu Q, Xu DZ, et al. A time course study of the protective effect of mesenteric lymph duct ligation on hemorrhagic shock-induced pulmonary injury and the toxic effects of lymph from shocked rats on endothelial cell monolayer permeability. *Surgery* 2001;129:39-47.
- Deitch EA, Adams CA, Lu Q, et al. Mesenteric lymph from rats subjected to trauma-hemorrhagic shock are injurious to rat pulmonary microvascular endothelial cells as well as human umbilical vein endothelial cells. *Shock* 2001;16:290-293.
- Zaets SB, Berezina TL, Caruso J, et al. Mesenteric lymph duct ligation prevents shock-induced RBC deformability and shape changes. *J Surg Res* 2003;109:51-56.

25. Guo W, Magnotti LJ, Ding J, et al. Influence of gut microflora on mesenteric lymph cytokine production in rats with hemorrhagic shock. *J Trauma* 2002;52:1178-1185.
26. Gonzalez RJ, Moore EE, Ciesla DJ, et al. Phospholipase A2-derived neutral lipids from post hemorrhagic shock mesenteric lymph prime the neutrophil oxidative burst. *Surgery* 2001;130:198-203.
27. 柴田太. ラット好中球走化性因子CINCsの炎症における役割. *薬学雑誌*2002;122:263-268.
28. Ishii H, Ishibashi M, Takayama M, et al. The role of cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 in neutrophil-mediated remote lung injury after intestinal ischaemia/reperfusion in rats. *Respiratory* 2000;5:325-331.
29. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL et al. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993;13:643-647.
30. Partrick DA, Moore FA, Moore EE, et al. The inflammatory profile of interleukin-6, interleukin-8, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1996;172:425-431.
31. 薄場 彰. 赤血球の人工代替物. *低温医学* 1997;23:173-183.
32. Baldwin AL, Wiley EB, Alayash AI. Comparison of effects of two hemoglobin-based O₂ carriers on intestinal integrity and microvascular leakage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H1292-301.
33. Schultz SC, Powell CC, Bernard E, et al. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) attenuates bacterial translocation in rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1995;23:647-664.
34. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D, et al. Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock. *JAMA* 1999;282:1857-1864.
35. de Figueiredo LF, Mathru M, Solanki D, et al. Pulmonary hypertension and systemic vasoconstriction may offset the benefits of acellular hemoglobin blood substitutes. *J Trauma* 1997;42:847-854.
36. Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med* 1999;340:409-417.
37. Ho J, Sibbald WJ, Chin-Yee IH. Effect of storage on efficacy of red cell transfusion: When is it not safe? *Crit Care Med* 2003;31:S687-S697.
38. Silliman CC. The two-event model of transfusion-related acute lung injury. 2006;34:S124-S131.
39. 相星淳一, 小池薫, 久志本成樹, 他. 人赤血球濃厚液による多核白血球のpriming効果. *日本救急医学会雑誌* 2005; 16:272-274.
40. Toy P, Popovsky MA, Abraham E, et al. Transfusion-related acute lung injury: definition and review. *Crit Care Med* 2005;33:721-726.
41. Aiboshi J, Moore EE, Ciesla D, et al. Blood transfusion and the two-insult model of post-injury multiple organ failure. *Shock* 2001;15:302-306.
42. Ronco JJ, Montaner JS, Fenwick JC, et al. Pathologic dependence of oxygen consumption on oxygen delivery in acute respiratory failure secondary to AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest* 1990;98:1463-1466.
43. Marik PE, Sibbald WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993; 269:3024-3029.
44. 相星淳一, 小池 薫, 小林哲幸, 他. 出血性ショックに続発する多臓器障害のメカニズムー腸間膜リンパ液に対する保存血および代用血液の影響ー. *日本腹部救急医学会雑誌* 2007;27:51-57.
45. Bordin JO, Heddle NM, Blajchman MA. Biologic effect of leukocytes present in transfused cellular blood products. *Blood* 1994;84:1703-1721.
46. Aiboshi J, Moore EE, Zallen G, et al. Use of a polymerized hemoglobin blood substitute instead of stored blood prevents endothelial cell activation. *Surg Forum* 1999; L:202-203.
47. Shibuya-Fujiwara N, Hirayama F, Ogata Y, et al. Phagocytosis in vitro of polyethylene glycol-modified liposome-encapsulated hemoglobin by human peripheral blood monocytes plus macrophages through scavenger receptors. *Life Sciences* 2001;70:291-300.
48. Abe H, Ikebuchi K, Niwa K, et al. Superoxide generation from human polymorphonuclear leukocytes by liposome-encapsulated hemoglobin. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2001;29:275-283.
49. Shibuya-Fujiwara N, Hirayama F, Ogata Y, et al. Liposome-encapsulated superoxide dismutase suppresses liposome-mediated augmentation of TNF- α production from peripheral blood leukocytes. *Life Sciences* 2001;69:2007-2015.

ヘモグロビン基剤人工酸素運搬体混入血液での血液型判定 とくに自動輸血検査器について

Blood Type Determination for Blood which Contains Hemoglobin Based Artificial Oxygen Carrier. Special Reference to Automated Analyzer

三宅誠司⁽¹⁾, 大橋康広⁽¹⁾, 高折益彦^{(2)*}

Seiji Miyake⁽¹⁾, Yasuhiro Ohashi⁽¹⁾, Masuhiko Takaori^{(2)*}

和文抄録

急性出血患者への人工酸素運搬体 (HbV) の使用を想定して, 使用後患者循環血液中に存在するHbVがその後の患者血液型判定にいかなる影響を及ぼすか, とくに自動輸血検査器を用いた (G法) 場合を試験管法を用いた (T法) 場合と比較検討した.

おもて試験においてはA型, B型, AB型, O型いずれの血液型に対する反応にもHbVが影響することはなかった. そしていずれの方法を用いても判定は可能であり, その凝血強度判定においてもT法に対するG法の適合率は98.8%であった. またHbVが1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 40%の割合で混入した血液の場合でも誤判定を生じることはなかった. しかしうら試験においてはHbVの混入率が5%以上となるとG法を用いては判定不能と表示される結果を生じた. またT法を用いてもHbVが存在する血漿の色調に障害され, 高濃度のHbV混入時には目視による判定にも困難を覚えることが多かった.

以上の結果から自動輸血検査器による血液型判定にはその検査時間には問題が残るがおもて試験には使用可能であり, うら試験には実際的には利用出来ないことが認められた.

Abstract

We studied efficacy and accuracy of an automated transfusion analyzer (ID-GelStation ; Olympus) comparing with routine test tube method for blood type determination, particularly for blood which contained artificial hemoglobin based oxygen carrier (liposome encapsulated hemoglobin or hemoglobin vesicle : HbV). Red blood cell surface A, B, AB or O antigen, in blood which contained HbV at 20% and 30% reacted against the standard anti-serum either in the machine specific microcapillary within the automated analyzer or routine laboratory test tube in any abnormal manner, respectively. Correlation rate for reactive strengths was 98.8% between those methods. Reactions for blood contained HbV at 1%, 2%, 5%, 10%, 20% and 40% to the standard anti-serum were also identical as for the original blood, respectively, either by the automated analyzer or the routine test tube method. On the other hand, antibody type in examining serum with the standard red blood cells was unable to determine by the automated analyzer, particularly when HbV coexisted above 5% in the serum since the machine showed " error sign ". It might attribute to red staining of gel column by HbV. Even by the test tube method, definite decision could be hardly done mostly at higher coexistent rate of HbV. Therefore the automated transfusion analyzer could be used for primary blood type detection in emergent practice even with a few disadvantages for time consuming processes, but could not be used for selection of compatible blood.

Keywords

oxygen carrier, blood type determination, hemoglobin based, automated analyzer, transfusion

(1) 大阪府済生会野江病院検査科 〒536-0002 大阪市城東区今福東2丁目2番地33号 Department of Laboratory Medicine, Osaka Saiseikai Noe Hospital

(2) 東宝塚さとう病院 〒665-0031 兵庫県宝塚市長尾町2丁目1番地 Administration Office, East Takarazuka Sato Hospital

論文受付 2007年11月24日 論文受理 2008年2月4日

はじめに

近年の輸血用血液の供給量の減少、また災害時での緊急輸血への対応を目的とした人工赤血球、すなわち人工酸素運搬体の開発に社会の大きな期待が寄せられている。世界的にも各種の人工酸素運搬体の開発が試みられているが、わが国ではヒトヘモグロビン (Hb) をリポソームに内包させた人工酸素運搬体 (HbV) が臨床応用を目指して開発途上にある。このような人工酸素運搬体には血液型がないため救急隊員により外傷発生の現場においても、また医療機関内においても突発的な大量出血患者に赤血球輸血の代用として即時に使用できる。そしてその処置後に必要に応じて患者の血液型判定を行い適合血液の供給を血液センターに依頼することが予想される。このような場合、すでに投与された人工酸素運搬体 (HbV) が血液型判定、とくに最近普及してきた自動輸血検査器での判定に影響を及ぼさないか否か未だ明らかにされていない。しかしすでに一部の臨床検査に対してはHbVが干渉することが報告されている¹⁾。このような見地から本研究においてはゲルカラム遠心凝集法による自動輸血検査器 (ID-Gel Station) での血液型判定の可能性、精度について従来の試験管法と比較して検討した。すなわち研究-1では特定の血液型の血液型判定においてHbVの影響がないか否か検討した。すなわち臨床での使用限界²⁾であるHbVの15-25 ml/kg使用後の血液で、特定の血液型血液の血液型判定に影響が生じないか否か検討した。また研究-2ではHbV使用量、すなわちHbVの被験血液中之への混入率による影響を検討した。

対象、方法

本研究は大阪府済生会野江病院の倫理委員会で審議、承認された上、同病院内にて行われた。すなわち同倫理委員会の指導のもとに本研究の目的、研究方法に同意がえられた健康研究協力者16名から血液の提供をうけた。また研究対象とした人工酸素運搬体 (HbV, Table 1.) は政策創業総合研究事業-人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究 (H18-創業-一般-022) の共同研究者であるオキシジェニクス株式会社で作成されたものを使用した。

Table 1. Specification of HbV used in this study

Parameters	Values
Diameter [nm]	275
[Hb] [g/dL]	9.7
P50 [Torr]	27
metHb [%]	3.2
HbCO [%]	3.9
Endotoxin [EU/mL]	< 0.25

研究-1ではA型、B型、AB型、O型の血液をそれぞれ2名の提供者からそれぞれ28 mlずつの提供をうけ、これを分割、それぞれについてHbVが0%, 20%, 30%含まれるように希釈した。すなわち同一被験血液について0%希釈を対照としてHbVが20%, 30%含まれる血液での二重試験、同一血液型については4回の検査を行った。

自動輸血検査器 (ID-Gel Station オリンパス社) を使用した場合 (G法) でのおもて試験においては上記それぞれのHbV混入血液の7 mlから3,000回転、10分の遠心法 (KUBOTAテーブルトップ遠心器4000) で得られた赤血球部分25 µlを所定の希釈液 (Diluent 2: 低イオン強度溶液LISS) の500 µlと混合し、この赤血球浮遊液の10 µlをゲルカードのA, B, D, Ctlのマイクロチューブに分注し、カードに内蔵されている標準血清と室温下において5分間反応させた。そして同チューブを機器内蔵の専用MTS遠心器にて10分間の遠心を行い凝集塊のチューブ上層カラム内への完全吸着 (陽性反応4+), マイクロチューブ尖底部への未反応の赤血球の沈降 (陰性反応-), およびその中間層への吸着、沈降程度に応じて、3+, 2+, 1+と判定した。うら試験においてはゲルカードのA1, BマイクロチューブにHbV混入血液から得た血漿を50 µlずつ注入、次いでID-Dia Cell ABO A1, およびBを50 µlずつそれぞれのチューブに添加、室温下にて5分間の反応後、専用の遠心機にて遠心しておもて試験同様の判定方法で行った。

一方、試験管法 (T法) でのおもて試験では上記HbV混入血液の一部を生理食塩液にて希釈し、赤血球分画として3-5%とし、その濃厚赤血球液50 µlをモノクローナル抗A, B, D抗血清 (和光純薬製) 50 µlと室温下に反応させ、目視にて+, -と判定した。またうら試験では日本臨床検査標準法³⁾に準じ、希釈血漿を2本の試験管に100 µlずつ採取し、市販標準赤血球試薬アフーマジェン (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティック製) A1型血球, B型血球50 µlをそれぞれに添加し室温下にて5分間反応させ、オーソ社製遠心器 (CF-III) で3,400 rpm, 15秒の遠心後に目視にて判定した。判定結果はおもて試験同様+, -と表現した。

研究-2では希釈率の差による影響を検討した。すなわち研究-1においてHbV混入血液において各血液型での血液型判定に差がないことが認められたので、被験血液にはA型、O型血液のみを使用した。すなわちA型、O型の研究協力者4名からそれぞれ35 mlを採血し、それらにHbVが0%, 1%, 3%, 5%, 10%, 20%, 40%含まれるように混入させ、これらを分割して研究に供した。おもて試験、うら試験の実施方法に関しては研究-1同様であって、G法, T法それぞれについて検討した。

さらにT法にてうら試験を施行した場合で、共存するHbVの干渉により判定が困難であった場合には暫定的な判定後、その反応系に4 mlの生理食塩液を添加、上記オーソ社製遠心器にて1分間、3,400 rpmの遠心分離をおこなう操作を2回おこない使用赤血球を洗浄し、その赤血球を100 mlの生理食塩液に浮遊させて再判定を行った。

結果

研究-1でのおもて試験、うら試験の結果をまとめてTable 2.に提示した。この表に示されるようにHbVが混在した血液についてもG法, T法のいずれにてもおもて試験は十分に判定可能な成績が得られた。ただG法の場合には“疑陽性, 3+”を

Table 2. Reactions of four group red blood cells diluted with HbV against the standard anti-A and anti-B serum and reactions of four blood group serum diluted with HbV against the standard red blood cells (for G-test and T-test)

Blood Group & Dilution %	G-Test				T-test			
	std serum		std cell		std serum		std cell	
	anti-A	anti-B	A1cell	Bcell	anti-A	anti-B	A1cell	Bcell
A group 0	4+ (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)
20	4+ (2)	— (2)	E (2)	E (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)	3+ (1) 4+ (1)
30	4+ (2)	— (2)	E (2)	E (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)
B group 0	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)
20	— (2)	4+ (2)	E (2)	E (2)	— (2)	4+ (2)	3+ (1) 4+ (1)	— (2)
30	— (2)	4+ (2)	E (2)	E (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)
O group 0	— (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)
20	— (2)	— (2)	E (2)	E (2)	— (2)	— (2)	4+ (6)	4+ (6)
30	— (2)	— (2)	E (2)	E (2)	— (2)	— (2)	4+ (2)	3+ (1) 4+ (1)
AB group 0	4+ (2)	3+ (1) 4+ (1)	— (2)	— (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)
20	4+ (2)	4+ (2)	E (2)	E (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)
30	4+ (2)	4+ (2)	E (2)	E (2)	4+ (2)	4+ (2)	— (2)	— (2)

std : standard

() : number of examination

4+, 3+, 2+ : strength of positive reaction

— : negative reaction

E : error (excess red cells)

Table 3. Reactions of A group and O group blood which were contained HbV at 0 -40% against the standard anti-serum each and reactions of serum in the above blood against the standard red blood cells (for G-test and T-test)

Blood Group & Dilution %	G-Test				T-test			
	std serum		std cell		std serum		std cell	
	anti-A	anti-B	A1cell	Bcell	anti-A	anti-B	A1cell	Bcell
A group 0	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
1	4+ (4)	— (4)	— (2) 1+ (2)	3+ (1) 4+ (3)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
2	4+ (4)	— (4)	E (1) 1+ (3)	3+ (2) 4+ (2)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
5	4+ (4)	— (4)	2+ (3) E (1)	3+ (1) E (3)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
10	4+ (4)	— (4)	E (4)	E (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
20	4+ (4)	— (4)	E (4)	E (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
40	4+ (4)	— (4)	E (4)	E (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)
O group 0	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	3+ (1) 4+ (3)
1	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	3+ (1) 4+ (3)	3+ (1) 4+ (3)
2	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)	— (4)	— (4)	3+ (1) 4+ (3)	3+ (1) 4+ (3)
5	— (4)	— (4)	3+ (1) E (3)	E (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)
10	— (4)	— (4)	E (4)	E (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)
20	— (4)	— (4)	E (4)	E (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)
40	— (4)	— (4)	E (4)	E (4)	— (4)	— (4)	4+ (4)	4+ (4)

std : standard

() : number of examination

4+, 3+ : strength of positive reaction

— : negative reaction

E : error (excess red cells)

呈するものが生じた. そのためその反応強度での試験管法との合致率は98.8%であった.

一方, うら試験においてはT法でのすべての反応において判定は困難な場合もあったが一応の判定はおこなえた. しかしG法ではすべての反応で“E”, すなわち“エラー”と表示され, 判定不能となった.

研究-2の結果はTable 3.に示すごとくで, おもて試験においてはいずれのHbV混入率においても, またG法, T法のいずれの方法をもってしても問題なく判定が可能であった. しかしうら試験においてはG法において判定不能となる場合が多かった. とくにHbVが5%以上に混在する場合, すなわちHbVが血漿部分に約3%以上混入する場合には“E”, “エラー”表示となり判定ができなくなる場合が多かった. またT法においてもFig. 1のごとく凝血塊のバックグラウンドに血漿内に共存するHbVが検査者目視判定を妨げた. しかし検査者が注意して観察することによって一応の判定は可能であった.

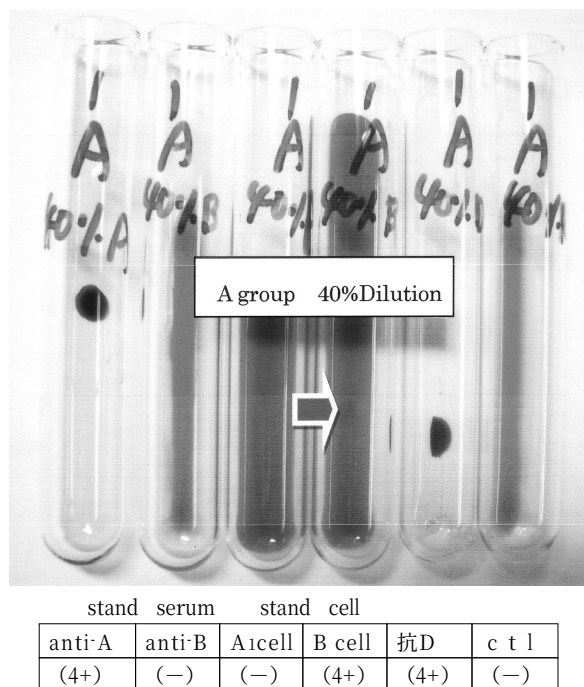


Fig. 1. Reactions of red blood cells and serum separated from blood 40 % diluted with HbV against the standard anti-serums and standard A2, B, D , ctl cells, respectively, in T- test

reactions
left test tube → right test tube
anti-A serum : 4+, anti-B serum: —, A1 cell : —, B cell : 4+, D cell : 4+, ctl cell : —

Arrow (the fourth tube) shows hardly distinguishable red blood cell agglutination from red colored background stained by HbV

そこでT法でのうら試験では暫定的な判定をおこない, その反応系の試験管内赤血球を生理食塩液にて2回洗浄して再判定をおこなった. その判定結果はTable 4.のごとく確定判定を得

ることができた。そして洗浄前（暫定的判定）と洗浄後（確定判定）での強度判定結果での合致率は98.7%であった。

Table 4. Reconfirmation for reaction of red blood cells and serum separated from blood which contained HbV at 40% concentration against the standard anti-serum and standard red blood cells, respectively, by washing with the physiological saline - Comparison of reactions before and after the washing

Blood Group & Dilution %	Aicell	Bcell	Aicell	Bcell	Blood Group & Dilution %	Aicell	Bcell	Aicell	Bcell
	before		after			before		after	
A group 0	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(2) 4+(2)	O group 0	4+(4)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)
1	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(3) 4+(1)	1	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)
2	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(3) 4+(1)	2	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)
5	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(3) 4+(1)	5	4+(4)	4+(4)	3+(2) 4+(2)	3+(1) 4+(3)
10	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(3) 4+(1)	10	4+(4)	4+(4)	3+(1) 4+(3)	3+(1) 4+(3)
20	— (4)	4+(4)	— (4)	3+(3) 4+(1)	20	4+(4)	4+(4)	3+(1) 4+(3)	2+(1) 4+(3)
40	— (4)	4+(4)	— (4)	2+(1) 3+(2) 4+(1)	40	4+(4)	4+(4)	3+(3) 4+(1)	2+(1) 3+(2) 4+(1)

std : standard

() : number of examination

4+, 3+ : strength of positive reaction

— : negative reaction

考察

本研究の結果、少なくとも血液型判定おもて試験には自動輸血検査器を使用して血液型判定を行うことが可能であることが認められた。そのため血液型が未定の患者、たとえば外傷により事故現場において救急救命士によりHbVが投与され医療機関に搬送された患者、あるいは医療機関内にて予期せざる出血のため手術室、あるいは病棟において急遽HbVが投与された患者で、次ぎに輸血する適合血液の供給を血液センターに依頼する際の血液型判定にG法を用いて支障がないことが認められた。自動輸血検査器は検査操作、あるいは結果判定に人的誤謬が介入しない点ではT法に比して優れている。しかし被験血液からの濃厚赤血球分離に10分、さらに自動輸血検査器内蔵の遠心機にて10分間の遠心を行わなければならないなどの操作時間を必要とする。これらの所要時間の一部を短縮するために患者検体血液からマイクロキャピラリー・ヘマトクリット測定用の遠心器を用いて25 μ lの濃厚赤血球液を分離し、10分の遠心時間を1分間に短縮することも可能である。しかしゲルカード内のゲル層濾過に所定の10分は必要である。G法は標準血清との反応により凝血した赤血球、あるいは凝血をおこさなかった赤血球をマイクロキャピラリーに内蔵されたデキストランゲル(Sephadex G100)の層内を透過させ、LED光源からの透過光遮断度を感光カメラ(CCDカメラ)に読取り、強度判定をするものであるが、その濾過に適した沈降力(遠心力)、ならびに遠心時間が設定されていて上記10分の時間は短縮することができない。このような点を考慮すればG法の操作時間は迅速性が要求される救急医療の現場においてはT法の所要時間に及ばない。すなわ

ちG法の使用は一刻を争う医療現場では適切とは思われない。

またG法を用いたうら試験においては5%以上のHbV混入によって判定不能と表示され、自動輸血検査装置の使用が出来ないことが今回の研究により示された。血液センターから供給される輸血用赤血球製剤は濃縮された赤血球にMAP保存液が添加され、血漿成分は提供された血液の10—15%以下となっている。そのためたとえ輸血された血液の血漿成分が不適合であってもそれによる免疫的合併症の発生率、障害程度は軽減される。とはいえうら試験、あるいは交差試験を省略することはできない。すなわち血液センターから到着した輸血用血液の適合性の確認は欠かすことはできない。とくに不規則抗体の存在を考慮すればうら試験、交差試験が必要であるが、これに対してHbVが存在する血液での自動輸血検査器の使用は制限される。またT法にてもHbVの混入はその判定を困難ならしめる。ただT法にてうら試験を施行した後に、その反応系内の赤血球を生理食塩液にて2回洗浄して100 μ lの生理食塩液に浮遊させる方法を行えばより確実な判定を行うことができることが今回の研究でも明らかになった。ちなみに池田ら⁴⁾も同様の操作にて判定をおこなうことを示唆している。

G法でのうら試験で判定不可能となった5%のHbV混合率は標準的日本人成人に対して180—200 mlのHbV使用³⁾に相当する。実地救急蘇生で必要と考えられるHbVの使用量は約600 ml以上⁶⁾であって、その際のHbVの循環血液への混合率(HbV希釈率)は15%以上となる。すなわちG法でのうら試験測定限界を超えることになる。

このようなHbVの混入にともなう血液型判定の誤謬はその根底にHbVがHbを酸素運搬基剤とした人工酸素運搬体であることにある。現在ではいまだわが国に輸入されてはいないがヒトHbの重合体であるPolyHeme^{TH7)}、ウシのHbの重合体であるHemopure^{TH8)}、あるいはHb表面を厚層のpolyethylene glycolで被覆したHemospan^{TH9)}などはすべてHbを酸素運搬基剤とした人工酸素運搬体である。したがってこれらの製品がわが国で使用されるようになった場合にはHbVと同様、血液型判定に問題を生じるものと推測される。ちなみに血液型判定のみならずHbを酸素運搬基剤とした人工酸素運搬体の使用に際してはパルスオキシメータを用いた動脈血酸素飽和度測定にも誤差を生じることが報告されている¹⁰⁾。すなわち血漿内にHbが存在する場合での臨床検査には常に問題が生じることを念頭におくべきである。これに対して血漿中に存在するHbVを分離する方法として村田¹¹⁾は5 x 10⁴G、25分の超遠心法を適応、Takaoriら¹²⁾、村田¹⁾らは400 kDのデキストランを使用して赤血球層、HbV層、血漿層と分画する方法などを用いている。しかしいずれも研究室での操作をとまなうものであり臨床医療の現場には適さない。

このようにHbVの使用は血液判定を困難ならしめるが、これ以外にも血液型判定には一般に指摘されるように効力の低下した検査試薬の使用、不適切な温度下での反応、不規則抗体の存在、微弱な赤血球抗原性、病的・人工的高分子の共存など¹³⁾の干渉がありT法同様にG法においてもその判定に注意を要する。

まとめ

Hb基剤人工酸素運搬体, すなわちHbVが混入した血液での血液型判定で, そのおもて試験ではG法, T法ともに対象となるいずれの血液型, またHbV混入程度(少なくとも40%以下)の混入状態でも適応しうることが明らかになった. またその際の両者の反応強度の一致率は98.8%であった.

しかしうら試験においては5%以上のHbV混入においてG法は使用不可能であって, T法においてもHbVの混入度が上昇するにともない目視判定が困難となった. ただT法においては反応系内赤血球を生理食塩液で洗浄することによって明確な判定を行うことが可能であった.

謝辞

本研究のために試験用血液を快く提供していただいた研究協力者の各位に深甚の謝意を呈する. また本研究が平成19年度厚生労働省科学研究, 政策創薬総合研究事業—人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究(H18—創薬—一般—022)に係わる補助金の支援を得て行われたことにも併せて謝意を呈する.

引用文献

1. 村田 満. ヘモグロビン(Hb)小胞体投与における血液検体検査の最適化. 人工血液 2007;15:22
2. 高折益彦. 人工酸素運搬体: その将来への期待. 人工血液 2007;15:in press
3. 稲葉頌一, 佐川公矯. 輸血検査の実際: 日本臨床検査技術師会ライブラリー XII 第3版. 日本臨床検査技術師会. 東京: 2003;pp15-21
4. 池田久実, 東 寛, 藤原満博, 阿部英樹, 山口美樹, 岩本志乃舞, 高橋大輔. 1. HbV小胞体が免疫系に及ぼす影響 2. HbV小胞体のヒト造血前駆細胞へのコロニー形成への影響 3. HbV小胞体が血液型判定に及ぼす影響. 平成17年度厚生労働省科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) 分担研究報告書 人工赤血球の安全性向上に関する研究(研究課題番号: H17-医薬-074) 総括・分担研究報告書(主任研究者 小林紘一) 平成18年

(2006)4月pp17-25

5. 小川 龍, 藤田達士, 福田義一. 日本人の循環血液量正常値の研究. 呼吸と循環 1970;18:79-84
6. 厚生労働省食品局血液対策課血液製剤の使用指針(改訂版). 薬食発第0906002号平成17年9月6日 2005;pp48-63
7. Gould, S., Moores, W., Hoyt, D., Burch, J.M., Haenel, K.B., Garcia, J. The first randomized trial of human polymerized hemoglobin as a blood substitute in acute trauma and emergent surgery. J. Am. Coll. Surg. 1998;187:113-120
8. Pearce, L.B., Gawryl, M.S. Overview of preclinical and clinical efficacy of Biopure's HBOCs Blood Substitutes: Principles, Products and Clinical Trials. ED. Chang, T.M.S. Karger Landes System, Basel 1998;pp82-100
9. Vandegriff, K.D., Malavalli, A., Wooldridge, A., Lohman, J., Winslow, R.M. MP4, a new nonvasoactive PEG-Hb conjugate. Transfusion 2003;2003:509-516
10. Ali, A.A., Ali, G.S., Steinke, J.M., Shepherd, A.P. Co-oximetry interference by hemoglobin-based blood substitutes. Anesth. Analg. 2002;92:863-869
11. 村田 満, 小峰梨沙. Hb小胞体が血球や血液凝固線溶系に与える影響. 平成17年度厚生労働省科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) 分担研究報告書 人工赤血球の安全性向上に関する研究(研究課題番号: H17-医薬-074) 総括・分担研究報告書(主任研究者 小林紘一) 平成18年(2006)4月pp34-40
12. Takaori, M, Fukui, A. Treatment of massive hemorrhage with liposome encapsulated human hemoglobin (NRC) and hydroxyethyl starch (HES) in beagles. Artif. Cells Blood Subst. Immobil. Biotech. 1996;24:643-653
13. Widmann, F.K., Barnes, A., Jr., Case, J., Garratty, G., Holland, P.V., MacCulloch, J.J., Nusbacher, J., Peterson, E.E., Steane, S.M., Wallace, M.E., Wells, J. ABO system Technical Manual of American Association of Blood Banks 8th Ed. American Association of Blood Banks Washington, D.C.:1981 pp105-123

人工酸素運搬体：その将来への期待

Artificial Oxygen Carriers : Looking Forward to its Future

高折益彦

Masuhiko Takaori, M.D.

和文抄録

現在まで過フッ素化合物 (perfluorocarbon) を基剤とした人工酸素運搬体 (PFCOC) とヘモグロビンを基剤とした人工酸素運搬体 (HbOC) との二極化で人工酸素運搬体の開発が進められてきた。しかしながらPFCOCを赤血球の代替物として循環系に投与する医療応用は一時的に中止された状態にある。しかしその他の面での医療応用、たとえば遺伝子導入補助剤、MRC画像撮影でのエンハンサー、そして液体換気剤などへの応用に大きな期待がかけられている。一方、HbOCは赤血球代替物としての期待をうけて次々と進歩をとげている。本稿ではその過程をふまえてHbOCが将来において備えるべき条件、性状、とくに細胞型の必要性、さらにそのサイズ、網内系での捕捉問題、内包するHbのメトヘモグロビン化問題について希望を述べた。またこれら人工酸素運搬体が現実の医療において果たすべき生体内半減期、使用量に関する限界についても述べた。

Abstract

Development in artificial oxygen carrier production and manufacturing has been proceeded bipolarly to perfluorocarbon based (PFCOC) and hemoglobin based artificial oxygen carrier (HbOC). However PFCOC seems to have been disappointed to infuse intravenously as alternative of red cell transfusion. Nevertheless it has been expected to many other medical applications, such as gene transfer material, imaging enhancer for MRI, liquid ventilation material for ARDS and so far. On the other hand, development of HbOC was proceeded greatly to an original target and several clinical trials have been carried out. We have emphasised ever before that cellular type HbOC is most ideal form which should be infused into our circulatory system. We hope in the future that HbOC should be gradually eliminated from the circulation and its hemoglobin should be less oxidized to methemoglobin. Nevertheless we should decide also limitation for practical application of HbOC, such as its clinical dose or appropriate half time. Looking back past development of the artificial oxygen carriers, in this paper it was discussed to solve present disadvantages with those and looked forward to produce a best oxygen carrier in the future.

Keywords

oxygen carrier, perfluorocarbon, hemoglobin based, oxygen affinity, PEGylation

はじめに

わが国のみならず、世界の先進国での少子高齢化、それにともなう輸血用血液の不足を補うため人工酸素運搬体の開発は逼迫した問題である。これに対して最近の外科手術手技の向上、手術器材の発達にともない手術出血量の減少、あるいは自己血輸血の普及が献血輸血用血液の不足を補っている。しかし将来の輸血医療に対する根本的問題解決にはなりえない。またたとえば優れた運用方法を取っても使用時間に制限のある献血血液の一部、推定10%は廃棄せざるを得ない現実があり、その有効利用は国民善意への償いの面からも必要である。そのような観点

からヘモグロビンを基剤とした人工酸素運搬体の開発は必要とされている。

現在までperfluorocarbon (PFC) を酸素結合体とする人工酸素運搬体 (PFCOC) とHbを酸素結合体とする人工酸素運搬体 (HbOC) との二極化において人工酸素運搬体の開発が進められてきた。これらそれぞれの開発にあたっている研究者、企業はそれぞれの製品の特徴をふまえ、それらの欠点をいかに最小にするか、また有効性をいかに大きくするかに努力している。この2種類の人工酸素運搬体以外にもリポソームヘム、あるいはアルブミンヘムが将来の人工酸素運搬体として期待されては

いるが、いまだ前臨床研究段階にあり商品化への予定は定まっていない。さらに前二者についてもPFCOCであるPerflubron (Oxygent™) では成人での急性呼吸促進症候群 (ARDS), あるいは新生児の特発性呼吸促進症候群 (IRDS) での液体肺換気に¹⁾, HbOCであるHemospan™ではその血漿量増量効果²⁾に期待して、硬膜外、あるいは脊髄くも膜下麻酔時の血圧維持に用いたりして、赤血球に代わる人工酸素運搬体以外の臨床応用も試みられている。

本稿においては、はじめに現在までのこれら両者の人工酸素運搬体の医学、医療への応用・利用の経過について考察し、それをふまえて将来のより実用的な、そして有効な人工酸素運搬体の開発への希望を述べたい。

PFC型人工酸素運搬体 (PFCOC)

PFCの医学への応用はClarkら³⁾が行った液体換気、Sloviterら⁴⁾が行った脳灌流に始まった。そして静脈内に投与して全身の各臓器での酸素代謝を維持する試みも多くなされた。Keipertら⁵⁾はperflubronを用いて犬でそのHt値を10%にする血液希釈を行い、代用血漿剤を使用した対照群に比して、混合静脈血の酸素分圧を高く維持できること、すなわち組織酸素分圧も高く維持しうることを報告した。Hablerら⁶⁾もHb値を7 g/dlにする血液希釈で混合静脈血の酸素分圧を対照よりも高く維持でき、心室収縮力も十分に維持しうることを報告している。またSymonsら⁷⁾はPFCOCの投与によって低灌流状態で生じる心筋損傷を緩解することができると発表している。Paxianら⁸⁾は出血性ショック下での肝臓機能の維持においては自己血輸血よりもその優位性を認めた。またFujinoら⁹⁾は虚血状態にある腸管を100%酸素で酸素化したPFCOC液内においた場合には組織損傷が軽減されることを認めた。Hoganら¹⁰⁾はPFC投与によって骨格筋の酸素分圧を非投与群に比して高く維持することを、またRosenら¹¹⁾は皮下組織の酸素代謝維持についてもPFCの有効性を認めている。そしてSpahnら¹²⁾は大規模臨床試験を試み出血量が20 ml/kg以上の手術では希釈式自己血輸血にPFCOC併用することによって同種血輸血を節減することが出来ると報告した。またFrumentoら¹³⁾はPFCを投与していた場合には体外循環中の胃壁の酸素分圧を体外循環前値に維持することができたと報告している。

しかしながらSpahnら¹²⁾の研究の際にもPFCOC投与にともないいくつかの副作用がみられた。その中でTable 1.のごとく血小板減少、それにともなうと思われる出血傾向が認められた。しかもそれはPFCOC使用量に比例する傾向がみられた。その後Spahnら¹⁴⁾がおこなった第3相治験ではこれらの副作用は認められなかったが、死亡率は膠質液 (HES : hydroxyethyl starch 液) 使用群に比してPFCOC使用群で有意に高くなることが認められた。またNoveckら¹⁵⁾が健康人を対象としてPFCOCを1.2 g/kg, あるいは1.8 g/kg投与し、一過性に好中球、好酸球、リンパ球ともに減少し、Table 2.のごとく投与量増加に比例したIL-6値、CRP値の上昇、また体温の上昇があることを認めた。そして被験者に頭痛、眩暈、悪心などの軽度のイン

フルエンザ症状が認められた。さらにHillら¹⁶⁾は冠動脈バイパス手術症例での体外循環の際に自己血採取後の血液補充薬としてperflubronを使用し、脳血流量を増加させることは出来たが脳栓塞の発生率は高まることを認めた。このような研究結果をふまえて赤血球代替物としてのPFCOCのさらなる臨床応用、治験は頓挫している。ただ上述したような移植臓器の保存、虚血からの臓器保護、および液体換気への利用には今後の発展が期待されている。さらにPFCOCにみられら抗炎症作用^{17,18)}は液体換気との利用^{1,19)}と併せて注目される。さらにドラッグデリバリーの一部としての遺伝子導入^{20,21)}、あるいはMRI画像でのエンハンサーとして²²⁾の利用なども注目されている。

Table 1. Adverse effects observed in phase II study performed in Europe 1999
(Significantly different parameters in PFCOC group compared with the control group were selected from the original and listed)

	Colloid n=38	Perflubron 0.9 g/kg n=38	Perflubron 1.8 g/kg n=36	Autologous Blood n=35
Platelet Coagulation Disorders, Bleeding	2	4	10	2
Thrombocytopenia	0	2	4	0
Coagulation disorder	0	1	3	1
Hemorrhage NOS	2	0	2	0

Cited from " Spahn, D.R., van Bremp, P., Theilmeier, G., Reibold, J.P., Welte, M., Heinzerling, H., Birck, K.M., Keipert, P.E., Messmer, K. Perflubron emulsion delays blood transfusions in orthopedic surgery Anesthesiology 1999;91:1195-1208. "

Table 2. Adverse effects observed in volunteers administered perflubron
Note : Increases in IL-6 and CRP in dose dependent manner

Cytokine	Serum concentration (SEM)				
	Baseline	8 Hours	16 Hours	Day 1	Day 3
IL-6 pg/mL					
Control	8.31(0.97)	14.73(5.09)	9.63(1.58)	8.36(1.75)	7.49(1.12)
P1.2	11.06(3.97)	28.63(6.22)	11.44(1.61)	12.26(2.44)	10.60(1.81)
P1.8	7.73(2.05)	65.99(24.62)	10.99(2.45)	8.69(0.79)	7.73(0.92)
IL-2 pg/mL					
Control	8.63(0.83)	8.88(0.81)	14.19(1.27)	17.81(2.24)	12.09(2.03)
P1.2	7.5 (0.00)	10.75(1.50)	13.25(2.52)	24.25(3.83)	15.23(2.30)
P1.8	9.63(1.58)	12.16(2.76)	14.38(3.02)	19.81(2.57)	13.53(2.38)
CRP µg/mL					
Control	2.15(0.97)	2.68(0.75)	2.24(0.79)	2.66(1.03)	3.26(1.62)
P1.2	1.30(0.16)	2.29(0.32)	11.46(3.04)	18.03(4.57)	6.05(1.27)
P1.8	0.90(0.25)	1.33(0.34)	21.83(7.70)	40.84(12.69)	8.29(1.85)

IL = interleukin; P1.2 = 1.2 g PFC/kg, P1.8 = 1.8 g PFC/kg, CRP = C-reactive protein, PFC = perfluorocarbon.
* From study OXHT-008 (n = 8 per treatment group).

Cited from " Noveck, R.J., Shannon, E.J., Leese, P.T., Shorr, J.S., Flaim, K.E., Keipert, P.E., Woods, C.M. Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion II. Effects on immune function in healthy volunteers Anesth. Analg. 2000; 91: 812-822. "

Hb型人工酸素運搬体 (HbOC)

これまでヒトHb分子グロビン鎖間をリンクさせたHbOC, あるいはウシHbの重合をさせたHbOCから開発が進められてきた。しかし前者、Hb分子内でリンクさせたHbを用いたBaxter社のHemAssist™, Hemosol社のHemoLink™はすでに開発が中止されている。すなわちHemAssist™は第3相試験まで進められたが晶質液使用の対照群に比して治療効果が劣っていた²³⁾。

後者、HemoLink™についてはHESでの血液希釈の場合と比較して脳血流量を増加させることなくラットの脳組織酸素分圧を維持しうること²⁴⁾、あるいは極度の血液希釈でのhematocrit値(Ht)低下に耐えうる酸素運搬量も、組織嫌気性代謝の指標である血清乳酸値の上昇度も赤血球と同等であること²⁵⁾など、その有効性が前臨床試験では認められた。そしてこの成績を基にChengら²⁶⁾によって治験第2相として冠動脈バイパス手術の際の体外循環回路充填に使用してとくに目立つ副作用なく、HESを用いた回路充填に比較して手術中、手術後での同種血輸血を有意に回避できた。そして末梢血管抵抗の上昇作用も無処置のHbに比較して²⁷⁾、またHemAssist™に比してその程度は少ない²⁸⁾ことが認められ、さらに全身麻酔でさらに緩和されることも認められ²⁹⁾臨床応用に期待がかけられた。しかしなお存続する血管収縮による血圧上昇、とくに肺動脈圧上昇が発生するなどの理由からHemAssist™同様に開発が中止された³⁰⁾。

2006年時点でのHbOCの開発はWinslow²⁾の作成したTable 3.に示されるごとく、治験段階、あるいは一部臨床使用に至ったものはBiopure社のHemopure™、Northfield社のPolyHeme™、Sangart社のHemospan™であり、いまだ前臨床段階にあるOxyvita社のZL-HbBv、この表には提示されていないがPromega社のHb Polytaur™、そしてわが国で開発中のHbV (OXY-0301, TRM645)がある。

Table 3. All HbOCs appeared in preclinical studies and/or developed to manufacturing at 2006 (Several products had been discontinued in the research and withdrawn from manufacturing programs)

Generation	Technology	Product	Company	Effects	Status
"First"	Red cell lysis	SFH	Academic	Warner	Renal failure
"Second"	Polymerized Hb	PolyHeme	Northfield	Lambert	GI symptoms
				?	Discontinued
		HemoLink	Hemosol		Cardiac events
		Hemopure	Biopure		Vasoconstriction
"Third"	Intramolecular crosslink	$\alpha\alpha$ -Hb	US Army		Death (stroke/trauma)
		HemAssist	Baxter		Vasoconstriction
		rHb1.1	Somatogen		Discontinued
"Fourth"	PEG conjugation	PHP	Ajinomoto/Apex		Generally safe
	PEG conjugation	PEG-hemoglobin	Enzon		Generally safe
	PEG conjugation	Hemospan	Sangart		Generally safe
					Phase III elective surgery
					Preclinical
	Zero-link	ZL-HbBv	Oxyvita		?

Abbreviations: SFH, stroma-free hemoglobin; PHP, pyridoxal phosphate hemoglobin polyethyleneglycol; ZL-HbBv, bovine hemoglobin polymerized with Zero-Link technology (see text); Hb, hemoglobin; PEG, polyethylene glycol; GI, gastrointestinal.

Cited from " Winslow, R.M. Red cell substitutes Semen. Hematol. 2007; 44: 51-59. "

1) HbOCのサイズ

HbOCについて重要な点の一つはその粒子サイズである。これはその血管外組織、細胞への移行、循環血液中での滞留時間を適切に制御する。分子内架橋を行ったHbを用いたHemolink™の循環血液中半減時間は3時間³¹⁾、18時間³²⁾、glutamate重合Hbで作成したOxyglobin™、Hemopure™でも19時間³³⁾、あるいは23時間^{34, 35)}といわれる。またHb分子の4重結合体で、分子量を130kD以上としたPolyHeme™で24時間³⁶⁾といわれる。循環血液中半減時間はHb分子、Hb分子重合体の表面の荷電性にも影響されるが、基本的にはその分子、分子重合体の空間的サイズで大きな影響を受ける。そのためWinslowら²⁾はFig. 1.のごとくHb分子表面をpolyethylene glycol (PEG) に

て被覆し、その立体的サイズをオリジナルのHbの約900倍にしたHemospan™を作成した。それによりその循環血液中半減時間を少なくとも10時間以上に延長することができたと報告した。そしてまたこのPEG化によってHbからの酸素放出(拡散)速度が抑制され、Fig. 2のごとく生理的な赤血球に類似した酸素放出を行いうることを報告した²⁾。

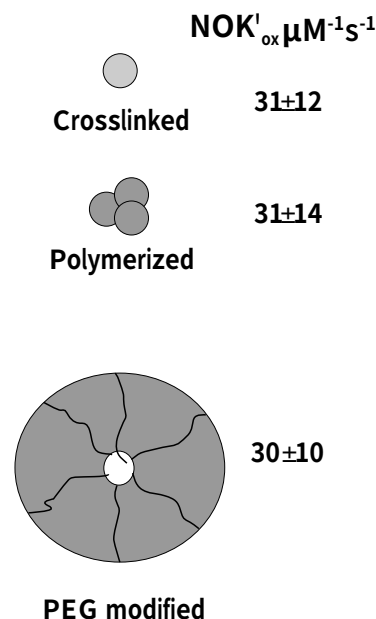


Fig. 1. Schematic diagram of molecular structure of PEGylated hemoglobin (Hemospan™) — The molecular size is enlarged approximately 900 times of original hemoglobin molecule

Cited from " Winslow, R.M. Red cell substitutes Semen. Hematol. 2007; 44: 51-59. "

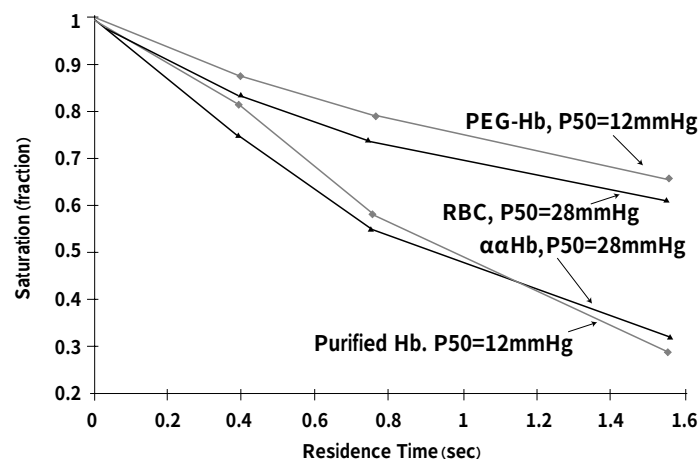


Fig. 2. Comparison of oxygen release from Hemospan™ compared with the physiological red cells, $\alpha\alpha$ -linked hemoglobin and free hemoglobin

Cited from " Winslow, R.M. Red cell substitutes Semin. Hematol. 2007; 44: 51-59. "

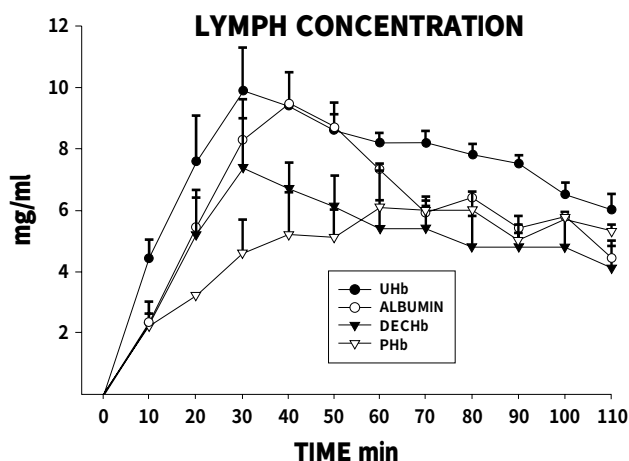


Fig. 3. Concentration of HbOCs in lymph shifted from blood into renal hilar lymphatic vessel after intravenous infusions
Concentration of exchanged protein in lymph in milligrams per milliliter. Data are given as means $\pm$ SEM for each 10-minute collection time.

UHb = Unmodified Hb

DECHb = crosslinked tetrameric hemoglobin (Hemolink™)

PHb = polymerized bovine hemoglobin (Hemopure™)

Cited from "Matheson, B., Razynska, A., Kwansa, H., Bucci, E. Appearance of dissociable and cross-linked hemoglobins in the renal hilar lymph J. Lab. Clin. Med. 2000; 191: 459-464. "

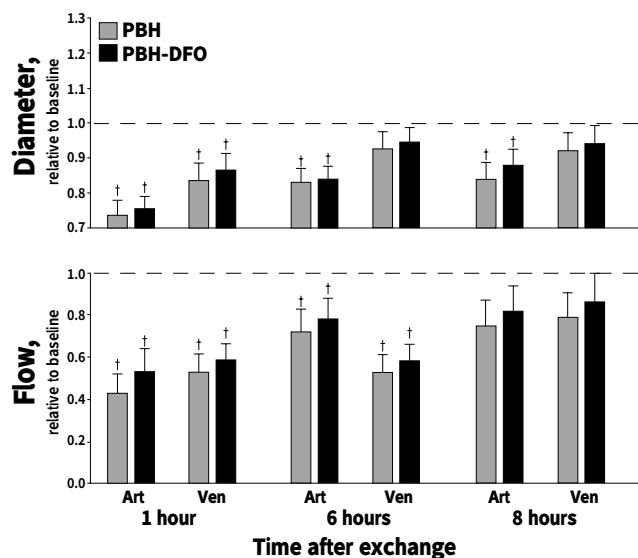


Fig. 4. Diameters of arteriole and venule and blood flows in those vessels after infusion of hemoglobin polymerized HbOC (Hemopure™) : Effect of coadministered deferoxamine

PBH = polymerized bovine hemoglobin infusion alone

PBH-DFO = polymerized bovine hemoglobin infusion with deferoxamine

Cited from "Cabralles, P., Tsai, A.G., Intaglietta, M. Deferoxamine lowers tissue damage after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin Antioxidants Redox Signal. 2007; 9: 375-388. "

このような分子内架橋，あるいは分子重合はその分子の血管外への移行を無処置のHb分子に比して少なくすることができた。しかし血管内皮壁に大きな細胞間隙孔を有する臓器，例えば腎臓，小腸，下垂体後葉では分子サイズの大きなHbOCでも漏出することはSampeiら³⁶⁾によって認められている。分子内架橋Hb (HemoLink™)，重合Hb (Hemopure™) をラットに投与してその腎門部でのリンパ中濃度から観察したMathesonら³¹⁾の研究ではFig. 3のごとく投与後30 - 40分にリンパ液中のHbOCの濃度はプラトウに達する。そしてこの図にみられるごとく重合Hb (Hemopure™)の方が分子内架橋Hb (HemoLink™)よりは多少その漏出は緩和されることが認められる。またSmaniら³⁷⁾はdextran-benzene-tetracarboxylate-Hbで循環血液量の50%交換を行った場合，17分後には血管内皮細胞表面のみならず，細胞内にまで修飾Hbから遊離されたHbが認められることを報告している。そして彼らはこれと平行して動脈血圧の上昇を認め，さらにその持続は2時間におよぶことも認めている。さらにCabrallesら³⁸⁾は重合Hb (Oxyglobin™)でハムスターの体重の7%相当の血液交換を行ったが，その際に重合Hbから遊離したと思われるHb分子を血管内皮細胞，間質組織細胞の細胞内に認めた。そしてさらにその血液交換の8時間後にはそれらの細胞にapoptosisのマーカーが生じていることを認めた。しかし血液交換時に鉄イオンのキレート薬であるdeferoxamineを併用した場合には，そのマーカーの発生細胞

数を非使用群の約70%に減少させることを認めた。そしてさらに皮膚に作成したwindow chamberで観察した細動脈，細静脈の内径，血流量はFig. 4のごとく，deferoxamineの使用によりそれぞれの縮小，低下の程度が軽減されることを認め，これに対応して平均血圧の上昇も軽減されることを認めた。これらの研究で，使用するHbOCの分子サイズを大きくすることによって血管外移行は抑制されるが，Table 4のごとく作成された製品のすべてが均一でなく小分子が混在している³⁰⁾ことにも問題がある。

Table 4. Molecular size inhomogeneity of HbOC products

(Note : Smaller molecules than the standard were contained in 35% of the product of Hemolink™)

Characteristic	Hemopure	Hemolink	PolyHeme	RBCs
Hemoglobin (g%)	13 g%	10 g%	10 g%	13 g%
Unit equivalent (g)	30 g	25 g	50 g	50 g
Molecular weight (>64 KDa)	≥ 95%	≥ 65%	≥ 99%	100%
P ₅₀ (mmHg)	38	34	29	26
Hill coefficient	1.4	1.0	1.7	2.7
Oncotic pressure (mmHg)	25	24	23	25
Viscosity	1.3 cp	1.1 cp	2.1 cp	(whole blood = 5-10 cp)
Methemoglobin (%)	<10	<7	<8	<1
Half-life	19 h	18 h	24 h	31 d
Shelf-life @ 4°C	≥ 3 y	≥ 1 y	≥ 1.5 y	42 d
Shelf-life @ 21°C	≥ 2 y	—	≥ 6 wk	< 6 h

cp, centipoise; P₅₀O₂ tension when hemoglobin-binding sites are 50% saturated.

Cited from "Noore, E.E. Blood substitutes : The future is now J. Am. Coll. Surgeons 2003; 196: 1-17. "

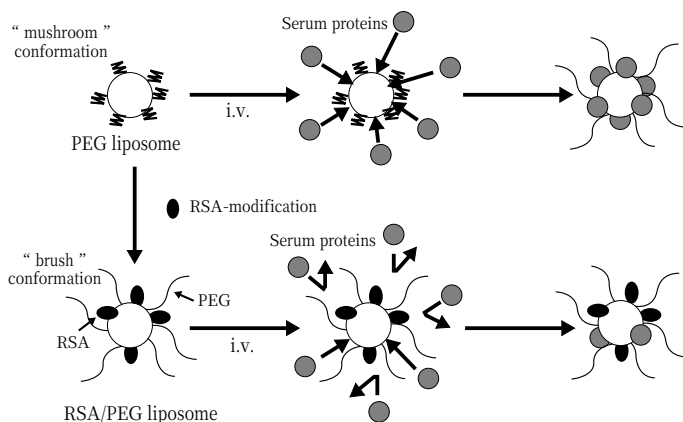


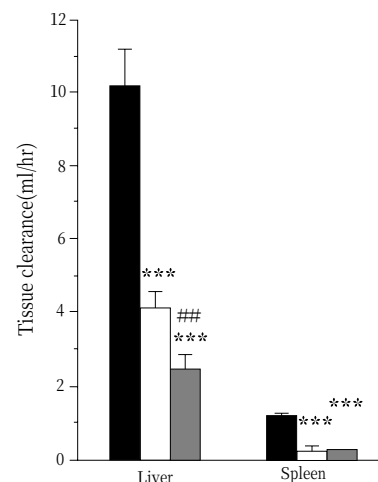
Fig. 5. Schematic structure of albumin coupling PEGylated liposome

Cited from "Furumoto, K., Yokoe, JI., Ogawa, K., Amano, S., Takaguchi, M., Higaki, K., Kai, T., Kimura, T. Effect of coupling on albumin onto surface of PEG liposome on its in vivo disposition Int. J. Pharm. 2007; 329 110-116."

現在のHbOC製品の多くは赤血球から得られたそのままのHbでなく、分子内架橋、あるいは重合Hbとして血管内皮細胞の一酸化窒素を捕捉することを抑制するように作成されている。しかし実際には血管系の収縮はその程度に差はあるものの認められる。この血管系の収縮については仲井らの総説³⁹⁾にみられるごとくその機序は複雑である。すなわち一酸化窒素、エンドセリン、アラキドン酸代謝代謝物の関与、そしてCabralesら³⁸⁾が示す酸素フリーラジカルの関与などで、かならずしも単一因子に求めることができない。しかし少なくとも容易にHbOCが血管外に漏出しないこと、また速やかに細胞内、とりわけ血管内皮細胞、あるいは重要臓器の実質細胞に取り込まれないことがHbOCの臨床応用では必要条件となろう。このような視点に立てばわが国で開発されている細胞型のHbOCは内部のHbが血管内皮細胞と直接接触することがなく、またその中に取り込まれることもなく理想的といえる。このタイプのHbOCは徐々に網内系に捕捉され、その中で分解されるが、その分解速度が少なくとも時間単位ではない⁴⁰⁾ことから投与後の血管系への影響、臓器実質細胞の障害は現在までの研究では認められていない。

2) PEG化

Sangart社はHbOCの粒子サイズを大きくするためにPEGでHb分子を被覆し、それにより循環血液中での半減期を長くしたHemospanTMを開発している³⁴⁾。一方、わが国で開発されているHbOCでは外膜を構成しているリポソーム粒子の集合を防ぐためにPEGを使用している。しかしこのような細胞型の人工酸素運搬体のリポソーム粒子も血液内の異物として生体に認識されて網内系で貪食作用を受け、次第に血液内から排除される⁴⁰⁾。一方、Furumotoら⁴¹⁾はPEGでリポソームを被覆する際にアルブミンを添加し、これも同時にリポソーム表面にFig. 5.のごとく接合させることによってFig. 6.のごとく肝臓Kupffer



Liver and spleen clearances of conventional (non-PEG), PEG and RSA/PEG liposomes. Results are expressed as the mean with a bar showing the S.D. of three experiments. (■) Non-PEG liposome; (□) PEG liposome; (▒) PEG/RSA liposome. *** $p < 0.001$, compared with non-PEG liposome; ## $p < 0.01$, compared with PEG liposome.

Fig. 6. Reduced phagocytosis with albumin coupling PEGylated liposomes in the liver and spleen : Comparison with non-albumin coupling PEGylation

Cited from "Furumoto, K., Yokoe, JI., Ogawa, K., Amano, S., Takaguchi, M., Higaki, K., Kai, T., Kimura, T. Effect of coupling of albumin onto surface of PEG liposome on its in vivo disposition Int. J. Pharm. 2007; 329: 110-116."

細胞による捕捉を低下させ、それによってリポソームの循環血液内で滞留時間を延長させることを認めている。このことはわが国で開発されている細胞型HbOCでの応用に利用されうのではないかと期待される。

3) Hbの酸化抑制

このように循環血液中半減時間を延長することができるようになると次ぎに考えなければならぬ問題はHb分子中のヘム鉄の酸化問題、すなわちHbのメトヘモグロビン化である。かつて酒井ら⁴²⁾が発表したデータでは60%のヘモグロビンは投与後24時間以内にメトヘモグロビンに酸化される。これではたとえHbOCの循環血液中半減時間が延長されてもその機能はなく、むしろ異物として血液中に存在することになる。武岡⁴³⁾はリポソーム内にカタラーゼ、チロジン、などの還元物質を内包させてヘム鉄の酸化防止を試みているがさらなる発展が望まれる。たとえば還元酵素の作用を可及的長く維持させるため還元酵素分子をリポソーム膜内（膜貫通型として）に挿入するなど不可能であろうか。

4) Hbの酸素親和性

使用するHbの酸素親和性、すなわち P_{50} 値をいかに設定するかは現在でも問題である。生理的赤血球のHbの P_{50} は26 - 28 mmHgであり、そのHbによる酸素運搬量と組織酸素消費量とにより組織酸素分圧、すなわち静脈血の酸素分圧が一般には40 mmHgが維持されている。しかし組織酸素分圧がさらに低下した状況下、すなわちHbの P_{50} を生理的状態から低下させた状態

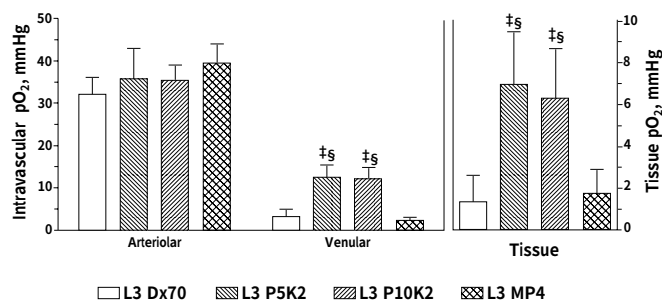


Fig. 7. Oxygen partial pressure in arteriolar, venular blood and interstitial tissue following extreme hemodilution (Ht = 11%) with HbOC with very high oxygen affinity

Dx70 = dextran 70 P5K2 = PEGylated Hb (P_{50} : 8.6 mmHg)
P10K2 = PEGylated Hb (P_{50} : 8.3 mmHg) MP4 = PEGylated Hb (P_{50} : 5.4 mmHg)

Cited from "Cabrerales, P., Kanika, N.d., Manjula, B.N., Tasi, A.G., Acharya, S.A., Intaglietta, M. Microvascular $P-O_2$ during extreme hemodilution with hemoglobin site specifically PEGylated at Cys-93 (beta) in hamster window chamber Am. J. Physiol. 2004; 287: H1609-H1617. "

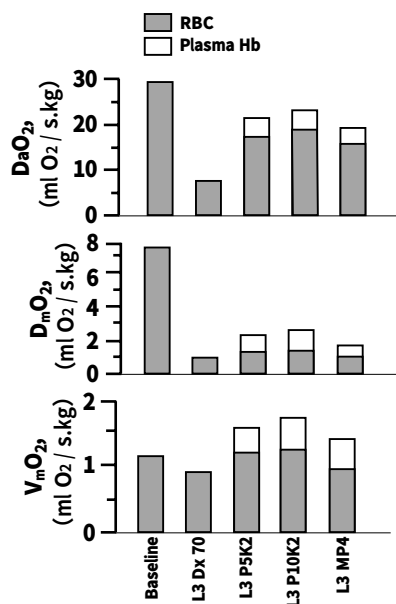


Fig. 8. Oxygen content, oxygen delivery and oxygen consumption following extreme hemodilution (Ht = 11%) with HbOC with very high oxygen affinity

Dx70 = dextran 70 P5K2 = PEGylated Hb (P_{50} : 8.6 mmHg)
P10K2 = PEGylated Hb (P_{50} : 8.3 mmHg) MP4 = PEGylated Hb (P_{50} : 5.4 mmHg)

Cited from "Cabrerales, P., Kanika, N.d., Manjula, B.N., Tsai, A.G., Acharya, S.A., Intaglietta, M. Microvascular $P-O_2$ during extreme hemodilution with hemoglobin site specifically PEGylated at Cys-93 (beta) in hamster window chamber Am. J. Physiol. 2004; 287: H1609-H1617. "

で組織酸素代謝が維持できるかが問題となる。これに対して Richmondら⁴⁴⁾ は組織酸素代謝を維持できる組織酸素分圧の限界値は 2.9 ± 0.5 mmHg, 細動脈・毛細管内酸素分圧で 7.2 ± 1.5 mmHgであると報告している。このような事実にもとづけば Hbの P_{50} は10 mmHg以下でも十分酸素を組織細胞を供給し、その酸素代謝を維持することが可能となる。Cabreralesら⁴⁵⁾ は $P_{50} = 5.4, 8.3, 8.6$ mmHgのHbをそれぞれPEGで被覆し、分子量を5-10kDとしたHbOCを作成、これを用いてHtを11%とする血液希釈を行っている。その結果ではFig. 7.のごとく $P_{50} = 5.4$ mmHgのHb (L3 MP4)を使用した群では他の2群に比較して小静脈、組織の酸素分圧はそれぞれ他の群の30%に低下していた。しかし組織への酸素運搬量、酸素消費量はFig. 8のごとく各群ほぼ同等で、血液希釈前値に維持されていた。

一方、ウシのHbを使用しているHemopureTMの P_{50} は38 mmHg³⁰⁾, 乃至54 mmHg³⁸⁾である。この場合正常人でも空気呼吸では90 - 93%の酸素飽和度しか得られない。しかし輸血を必要とする患者の多くの場合、40%以上の酸素吸入下にある。したがって肺での十分な酸素化は得られる。また末梢ではより多くの酸素の放出を行うことができるので、酸素運搬能の面では優れている。このような視点に立てば後述するような肺機能低下症例への応用を除いて、また細動脈部での過剰な酸素放出にともなう同部での攣縮を防ぐことができれば、かなり広範囲の P_{50} 値で対応できるように思われる。

5) リポソーム使用細胞型人工酸素運搬体のサイズ

現在の細胞型人工酸素運搬体、リポソーム型酸素運搬体ではその粒子のサイズを整えるため、また製造工程中に混入する細菌除去のためその粒子の直径を0.2 - 0.3 μ mとしている。しかしそのサイズを将来的には比較的大とする、すなわち具体的にその直径を現状の5-7倍の大きさにすることも一つのアイデアであると思われる。すなわちリポソーム粒子は本質的に囊胞であるが、現状のリン脂質囊胞膜直径と膜壁厚との比では囊胞状というよりもむしろ粒子としての性格をしめし、そのためほとんど変形性は認められない。しかし囊胞の直径/膜壁厚を大とすることにより赤血球同様に変形性を得ることが想定され、これは網内系での粒子捕捉をより少なくすることにも有効であろう。さらにHb/リン脂質比を大とし、不要な脂質代謝の亢進、脂質の体内蓄積⁴⁰⁾を制限することにもなる。また単位当たりのHb量増加、すなわち酸素含有量の増加から効率良い人工酸素運搬体の構成にもつながる。さらに粒子内部のHbからの酸素拡散速度の調整ができ、また血液粘度の上昇による微小血管内皮へのflow stress、そして血管内皮内でのNO産生からの一層の血流量増加も予想される。さらに細動・静脈内での軸流(axial flow)も維持されよう。

6) 製品価格

このように改良されたHbOCが医療現場に供給され、実地使用に移った場合でも配慮しなければならない問題としてその生産経費、販売価格がある。現在ではわが国で生産されるHbOCの価格は日本赤十字血液センターから供給される献血血液のおよそ倍額と試算される。むしろこのようなHbOCの利用を血液

型末検査・超緊急輸血症例での使用、救急車内の常設、僻地での使用などに限定すれば、献血血液価格との比較は別問題とはなる。しかし高価格であることはいかなる場合でもその利用度を低下させることになる。またさらなる臨床応用への道を狭くすることにもなる。そのためには生産方法、生産工程での一層の研究を進め、生産の能率化、経費軽減から低価格での供給が望まれる。

7) 適応と使用量

人工酸素運搬体を臨床の場においてどこまで利用するか、実際の必要使用量はいくらであるか、あるいはその使用量にはどのような制限が付帯されるかにより人工酸素運搬体の物理・化学的性状が決定されると思われる。Spahnら¹⁴⁾が提唱するように手術時の出血に対する循環血液量・酸素含有量維持に晶質液・膠質液から輸血までのブリッジとして人工酸素運搬体を使用するにしても、また希釈式自己血輸血時の血液置換液として用いるにしても血液希釈にともなう止血機能維持を考慮すれば、その使用量は15 - 25 ml/kg (800 - 1200 ml/成人) 程度となろう。また同種血輸血の回避を目的、あるいは輸血までに時間的なブリッジとして使用するならば循環血液中のその滞留時間は12 - 24時間程度で満足されよう。逆に、人工酸素運搬体の長時間にわたる循環血液中滞留はかえって生体の赤血球新生に抑制をもたらすことにもなる。また上述したごとく投与したHbOCのHbヘム核鉄原子の毒性³⁸⁾を考慮して、その分解は1週間程度と緩徐なることが求められる。

おわりに

本稿においては現在までの人工酸素運搬体の発展の経過を振り返り、また将来において克服すべき諸点について考察した。そして現実的に用いられる人工酸素運搬体の生産体制についても検討した。これらの諸点を克服すれば生理的な赤血球を代替する人工酸素運搬体の臨床使用は可能となると思われる。そして上述の緊急医療での利用のみならず、同種血輸血回避のための輸血療法にも使用されるものと思われる。そのような臨床使用の拡大にともないHbOCについては将来的には現在のように廃棄される赤血球のみに頼ることなく、さらに大きなHb供給源、たとえば死体血液 (cadaver blood) に求めることも必要となろう。また一般的な赤血球代替物としてではなく特殊治療目的、すなわち急性呼吸促迫症候群 (ARDS)、あるいは特発性呼吸促迫症候群 (IRDS) の急性期呼吸管理を目的として酸素親和性の高いHbを用いたHbOCを作成することも期待される。ただ文頭に述べた輸血用血液の不足に対する人工酸素運搬体の役割についても、そのみで輸血医療、すなわち赤血球輸血医療を担うとするものでなく、従来の赤血球輸血、自己血輸血とともに輸血医療を支えていくとする考えが必要であると思われる。

謝辞

本研究は平成18年度厚生労働省科学研究補助金 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業 人工酸素運

搬体の臨床応用に関する研究、ならびに平成19年度厚生労働省科学研究補助金 政策創薬総合研究事業 (研究課題名) 人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究 (H18-創薬一般-022) にともなう助成金の支援を受けた。なお本稿の要旨は第14回日本血液代替物学会年次大会において発表させていただいた。

引用文献

1. Hirschl RB, Conrad S, Kaiser R, Zwischenberger JB, Barlett RH, Booth F, Cardenas V. Partial liquid ventilation in adult patients with ARDS: A multicenter phase I-II trial. *Ann. Surg.* 1998;228:692-700
2. Winslow RM. Red cell substitutes. *Semin. Hematol.* 2007;44: 51-59.
3. Clark LC Jr, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966;152:1755-1756.
4. Sloviter HA, Kamimoto T. Erythrocyte substitute for perfusion of brain. *Nature* 1967;216:458-460.
5. Keipert PE, Faithfull NS, Bradley JD, Hazard DY, Hogan J, Levisetti MS, Peters RM. Oxygen delivery augmentation by low-dose perfluorochemical emulsion during profound normovolemic hemodilution. *Adv. exp. med. Biol.* 1994;345:197-204.
6. Habler OP, Kleen MS, Hutter JW, Podtschaske AH, Tiede, M, Kemming GI, Welte MV, Corso CO, Batra S, Keipert PE, Faithfull ANS, Messman KFW. Hemodilution and intravenous perflubron emulsion as an alternative to blood transfusion: Effects on tissue oxygenation during profound hemodilution in anesthetized dogs. *Transfusion.* 1998;38: 145-155.
7. Symons JD, Sun X, Flaim SF, del Balzo U. Perflubron emulsion improves tolerance to low-flow ischemia in isolated rabbit hearts. *J. cardiovasc. Pharmacol.* 1999;34:108-115.
8. Paxian M, Keller SA, Huynhn TT, Clemens MG. Perflubron emulsion improves hepatic microvascular integrity and mitochondrial redox state after hemorrhagic shock. *Shock.* 2003;20:449-457.
9. Fujino Y, Suzuki Y, Kakinoki K, Tanioka Y, Ku Y, Kuroda Y. Protection against experimental small intestinal ischemia-reperfusion injury with oxygenated perfluorochemical. *Br. J. Surg.* 2003;90:1015-1020.
10. Hogan MC, Willford DC, Keipert PE, Faithfull NS, Wagner PD. Increased plasma O₂ solubility improves O₂ uptake of in situ dog muscle working maximally. *J. appl. Physiol.* 1992;73:2470-2475.
11. Rosen NA, Hopf HW, Hunt TK. Perflubron emulsion increases subcutaneous tissue oxygen tension in rats. *Wound Repir Regenerat.* 2006;14:55-60.

12. Spahn DR, van Brempt R, Theilmeier G, Reibold JP, Welte M, Heinzerling H, Birck KM, Keipert PE, Messmer K. Perflubron emulsion delays blood transfusions in orthopedic surgery. *Anesthesiology* 1999;91:1195-1208.
13. Frumento RJ, Mongero L, Naka Y, Bennett-Guerrero E. Preserved gastric tonometric variables in cardiac surgical patients administered intravenous perflubron emulsion. *Anesth. Analg.* 2002;94:809-814.
14. Spahn DR, Waschke KF, Standl T, Motsch J, Van Huynegem L, Weite M, Gombotz H, Coriat P, Verkh L, Faithfull S, Keipert P. The European Perflubron in Non-cardiac Surgery Study Group. Use of perflubron emulsion to decrease allogeneic blood transfusion in high-blood-loss non-cardiac surgery - Results of a European phase 3 study. *Anesthesiology* 2002;97:1338-1349.
15. Noveck RJ, Shannon EJ, Leese PT, Shorr JS, Flaim KE, Keipert PE, Woods CM. Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion II. Effects on immune function in healthy volunteers. *Anesth. Analg.* 2000;91:812-822.
16. Hill SE, Grocott HP, Leone BJ, White WD, Newman MF. Cerebral physiology of cardiac surgical patients treated with the perfluorocarbon emulsion, AF0144. *Ann. Thorac. Surg.* 2005;80:1401-1407.
17. Nader ND, Knight PR, Davidson BA, Safaee SS, Steinhorn DM. Systemic perfluorocarbons suppress the acute lung inflammation after gastric acid aspiration in rats. *Anesth. Analg.* 2000;90:356-361.
18. McDonagh P, Cerney K, Hokama J, Lai G, Gonzales R, Davis Gorman G, Copeland J. Perflubron emulsion reduces inflammation during extracorporeal circulation. *J. Surg. Res.* 2001;99:7-16.
19. Zhu GG, Shaffer TH, Wolfson MR. Continuous tracheal gas insufflation during partial liquid ventilation in juvenile rabbits with acute lung injury. *J. Appl. Physiol.* 2004;96:1415-1423.
20. Weiss DJ, Bonneau L, Allen JM, Miller AD, Halbert CL. Perfluorochemical liquid enhances adeno-associated virus-mediated transgene expression in lungs. *Mol. Ther.* 2000;2:624-630.
21. Das A, Niven R. Use of perfluorocarbon (Fluorinert) to enhance reporter gene expression following intratracheal instillation into the lung of Balb/c mice : Implications for nebulized delivery of plasmids. *J. Pharmac. Sci.* 2001;90:1336-1344.
22. Lanza GM, Winter PM, Caruthers SD, Hughes MS, Cyrus T, Marsh JN, Neubauer AM, Partlow KC, Wickine SA. Nanomedicine opportunities for cardiovascular disease with perfluorocarbon nanoparticles. *Nanomedicine.* 2007;1:321-329.
23. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D, Cipolle M, Runge J, Mallory MN, Rodman G. Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock : A randomized controlled efficacy trial. *JAMA* 1999;282:1857-1864.
24. Hare GMT, Hum KM, Kim SY, Barr A, Baker AJ, Mazer CD. Increased cerebral tissue oxygen tension after extensive hemodilution with hemoglobin-based oxygen carrier. *Anesth. Analg.* 2004;99:528-535.
25. Torres IP, Spiess BD, Barbee RW, Ward KR, Oldenhof J, Pittman RN. Systemic responses to hemodilution after transfusion with stored blood and with a hemoglobin-based oxygen carrier. *Anesth. Analg.* 2005;100:912-920.
26. Cheng DCH, Mazer CD, Martineau R, Ralph-Edwards A, Karski J, Robblee J, Finegan B, Hall RI, Latimer R, Vuylsteke A. A phase II dose-response study of hemoglobin raffimer (Hemolink) in elective coronary artery bypass surgery. *J. Thorac. cardiovasc. Surg.* 2004;127:79-86.
27. Lieberthal W, Fuhro R, Aam H, Rhee P, Szebeni J, Hechtman HB, Favuzza J, Veech RL, Valeri CR. Comparison of the effects of a 50 % exchange-transfusion with albumin, hetastarch, and modified hemoglobin solutions. *Shock* 2002;17:61-69.
28. Lieberthal W, Fuhro R, Freedman JE, Toolan G, Loscalzo J, Valeri CR. Raffinose cross-linking markedly reduced systemic and renal vasoconstrictor effects of unmodified human hemoglobin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999;288:1278-1287.
29. Ning J, Wong LT, Christoff B, Carmichael FJL, Biro GP. Hemodynamic response following a 10 % top load infusion of Hemolink in conscious, anesthetized and treated spontaneous hypertensive rats. *Transfus. Med.* 2000;10:13-22.
30. Moore EE. Blood substitutes : The future is now. *J. Am. Coll. Surgeons* 2003;196:1-17.
31. Matheson B, Razynska A, Kiwansa H, Bucci E. Appearance of dissociable and cross-linked hemoglobin in the hilar lymph. *J. Lab. Clin. Med.* 2000;135:459-464.
32. Soma LR, Uboh CF, Guan FY, Moate PJ, Boston RC, Driessen B. The pharmacokinetics of hemoglobin-based oxygen carrier hemoglobin glutamer-200 bovine in the horse. *Anesth. Analg.* 2005;100:1846-1853.
33. Levy JH. The use if haemoglobin glutamer-250 (HBOC-201) as an oxygen bridge in patients with acute anaemia associated with surgial blood loss. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2003;3:509-517.
34. Winslow RM, Lohman J, Malavalli A, Vandegriff KD.

- Comparison of PEG-modified albumin and hemoglobin in extreme hemodilution in the rat. *J. Appl. Physiol.* 2004;97: 1518-1526.
35. Hughes GS, Yancey EP, Albrecht R, Locker PK, Francom SF, Orringer EP, Antal EJ, Jacobs EE. Hemoglobin-based oxygen carrier preserves submaximal exercise capacity in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1995;58:434-443.
 36. Sampei K, Ulatowski JA, Asano Y, Kwansa H, Bucci E, Hoehler RC. Role of nitric oxide scavenging in vascular response to cell-free hemoglobin transfusion. *Am. J. Physiol.* 2005;289:H1191-H1201.
 37. Smani Y, Faivre B, Audonnet-Blaise S, Labrude P, Vigneron C. Hemoglobin-based oxygen carrier distribution inside vascular wall and arterial pressure evolution : Is there a relationship ?. *Eur. Surg. Res.* 2005;37:1-8.
 38. Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Deferoxamine lowers tissue damage after 80 % exchange transfusion with polymerized hemoglobin. *Antioxidants Redox Signal.* 2007;9:375-388.
 39. 仲井邦彦, 佐久間一郎, 北畠 顕. ヘモグロビン系酸素運搬体による血管反応 人工血液. 1998;6:25-36.
 40. Sakai H, Horinouchi H, Yamamoto M, Ikeda E, Takeoka S, Takaori M, Tsuchida E, Kobayasi K. Acute 40% exchange-transfusion with Hb-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin solution : Degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks. *Transfusion* 2006;46:339-347.
 41. Furumoto K, Yokoe JI, Ogawa K, Amano S, Takaguchi M, Higaki K, Kai T, Kimura T. Effect of coupling of albumin onto surface of PEG liposome on its in vivo disposition. *Int. J. Pharm.* 2007;329:110-116.
 42. 酒井宏水, 武岡真司, 土田英俊. 平成14年度厚生労働省科学研究 臨床応用可能な人工赤血球の創製に関する研究 (H12-医薬-009) 研究班会議 平成14年 4月25日
 43. 武岡真司. 分子集合科学を利用した人工血液の創製. 人工血液 2006;13:136-147.
 44. Richmond KN, Shonat RD, Lynch RM, Johnson PC. Critical PO₂ of skeletal muscle in vivo. *Am. J. Physiol.* 1999;277:H1831-H1840.
 45. Cabrales P, Kanika ND, Manjula BN, Tsai AG, Acharya SA, Intaglietta M. Microvascular P-O₂ during extreme hemodilution with hemoglobin site specifically PEGylated at Cys-93 (beta) in hamster window chamber *Am. J. Physiol.* 2004;287:H1609-H1617.

整形外科手術患者におけるマレイン酸ポリエチレングリコール修飾ヒトヘモグロビン（ヘモスパン®）の安全性と薬理動態の多施設共同試験

A Multicenter Clinical Study of the Safety and Activity of Maleimide-Polyethylene Glycol-modified Hemoglobin (Hemospan®) in Patients Undergoing Major Orthopedic Surgery

Christina Olofsson, M.D., Ph.D., Torbjörn Ahl, M.D., Ph.D., Torsten Johansson, M.D., Ph.D., Sune Larsson, MD, Ph.D., Per Nellgård, M.D., Ph.D., Sari Ponzer, M.D., Ph.D., Bengt Fagrell, M.D., Ph.D., Robert Przybelski, M.D., Peter Keipert, Ph.D., Nancy Winslow, B.S., Robert M. Winslow, M.D.

（訳者）寺嶋 克幸*

Katsuyuki Terajima

この論文の背景

臨床応用として有望なヒトヘモグロビンベースの酸素運搬体（HBOC）の一つであるHemospan®（MP4；Sangart社, San Diego, USA）は、現在、米国で前立腺全摘術に対して第二相臨床試験が、ヨーロッパで脊髄くも膜下麻酔での人工股関節置換術に対する第三相臨床試験が進行中である。ヨーロッパの第二相臨床試験は、2005年にスウェーデンで行われた。今回ご紹介する論文はそのときの報告である。

序章

マレイン酸ポリエチレングリコール修飾ヒトヘモグロビンで、P50 = 5 mmHg, Hill係数 = 1.2である人工酸素運搬体 4.2 g/dLを酢酸リンゲル液に浮遊したものが、この試験で用いられたHemospan®である。このHemospan®に関する動物研究では、生体の赤血球数が検出できない貧血ラットの生命維持や、極端な血液希釈モデルでの毛細血管酸素輸送の改善を示した。また、豚の研究では、Hemospan®の投与が肺や体血管抵抗の増加を示さず、コントロールされてない出血性モデルで晶質液やペントスターチに比べ生存率を有意に改善した。

第1相臨床試験では、他のHBOCsの副作用である高血圧や消化管障害は見られなかった。脊髄くも膜下麻酔下で大きな整形外科手術を受ける患者は、交感神経遮断によりしばしば低血圧を来す。それに対し、Hemospan®は血圧や組織灌流を維持できるため血行動態の安定をもたらすかもしれない。

主な方法

研究施設と患者背景

スウェーデンの6つの大学関連病院で行われた多施設共同無作為二重盲検法によるHemospan®と酢酸リンゲル液の比較研究である。対象は脊髄くも膜下麻酔下人工股関節置換術を予定されたASA physical status I-IIIの患者であった。対象年齢を50歳以上とし、性別は男性または閉経後の女性とした。除外項目は、コントロールされていない心血管系、代謝系、精神神経系疾患の臨床症状がある場合や、スクリーニングにおける収縮期血圧 ≥ 180 mmHgまたは、拡張期血圧 ≥ 105 mmHgの高血圧、6ヶ月以内の心筋梗塞の既往や脳梗塞の既往がある場合、薬物やアルコール依存症、異常血色素症や凝固異常、アスピリン以外の抗凝固薬内服であった。

試験薬剤の投与と麻酔法

脊髄くも膜下麻酔直前から、輸液剤（A群：Hemospan® 250 mL + 酢酸リンゲル750 mL, B群：Hemospan® 500 mL + 酢酸リンゲル 500 mL, C群：酢酸リンゲル液 1000 mL）を15 mL/分の速度で投与された。

脊髄くも膜下麻酔は、L 2/3より0.5%ブピバカイン 12 - 15 mgの投与で行われ、Th12以上の無痛域を得た。ミダゾラムかプロポフォールを経静脈的投与で鎮静を得た。低血圧に対しエフェドリンの経静脈投与が行われた。

有害事象の評価

それぞれの有害事象について、重症度、治療薬との因果関係、

*日本医科大学 麻酔科学講座 〒113-8603 東京都文京区千駄木1-1-5

論文受付 2008年1月18日 論文受理 2008年1月31日

処置、予後が記録された。安全評価はバイタルサイン、投与からの24時間ホルター心電図、採血検査、水分出納で行われた。低血圧の定義は、収縮期血圧 < 90 mmHg未満、輸液開始前の75%未満とされた。生化学、血算、凝固機能検査と尿検査は麻酔前と輸液後6時間に施行された。

主な結果

患者背景

90人の患者が条件を満たし、そのうち1人の患者はヘルニア嵌頓による大量の吐物誤嚥により投与後36時間で死亡した。結局89人の患者が研究プロトコルを成し遂げた。各群には初回股関節形成術を受けた患者（A群22名、B群24名、C群28名）の他に、再股関節形成術（A群5名、B群5名、C群2名）とそのほかの手術（A群：骨盤骨折1名、B群：骨盤骨折1名、髄内釘抜去術1名、C群：髄内釘抜去術1名）が含まれた。初回股関節形成術の患者背景は、年齢や体重、手術時間は同様であった。

一般的な有害事象

3群における有害事象の総数は同様であったが、A、B群はC群に比べて徐脈性不整脈が多い傾向があった（A群25%、B群23%、C群13%）。低血圧はA群36%、B群23%、C群42%で、高血圧はA群7%、B群13%、C群3%でみられた。消化管障害はA群86%、B群77%、C群55%であった。いずれも有意差はなかった。

比較的重症と判断された有害事象は4人の患者で認められ、B群に2名（高血圧、低血圧、排尿障害、誤嚥の患者と多源性心室性期外収縮の患者）、C群に2名（癲癇痙攣発作の患者と骨セメント使用時の低血圧の患者）が含まれていた。

重篤な有害事象

3人の重篤な有害事象を認めたが、治験薬との関連性はなしと判断された。1番目はB群の84歳男性で、予定の再股関節形成術であった。冠動脈病変、狭心症、高血圧、軽度腎機能障害の並存症を有していた。術後に直腸のヘルニア嵌頓による大量の吐物誤嚥により死亡した。2番目の患者はA群の89歳女性で、大腿骨転子部骨折に対する観血的整復固定術が行われた。手術後の高血圧に対し、クロニジンの経静脈的投与が行われた。その直後より低血圧となり、一過性の乏尿と心筋梗塞を来し9PODに死亡した。3番目の患者はB群の77歳女性で、初回股関節形成術を受けた。狭心症と高血圧の並存症があり、2PODに非ST上昇型心筋梗塞を来した。患者は循環器病棟で24時間管理され回復した。

出血と輸血

初回股関節形成術を受けた患者の平均出血量はA群670 mL、B群910 mL、C群812 mLであり有意差はなかった。これに対し、再股関節形成術を受けた患者の平均出血量はA群650 mL、B群3100 mL、C群625 mLであった。再股関節形成術は手術時間が長く、数人の大量出血を来した患者を含んでいた。術後Hb値 (g/dL) は、初回股関節形成術でA群 10.5 ± 0.2 、B群 10.4 ± 0.3 、C群 11.8 ± 0.6 であった（平均±標準誤差）。

体液バランス

術後の経口飲水量は群間で差がなかった。術中の平均輸液量はおよそ、A群1800 mL、B群2400 mL、C群2000 mLであった。A群はB、C群に比べ晶質液の量が少なく、B群はA、C群より膠質液の量が多かった。Hemospan®は膠質液に含まれたため、C群の膠質液はA、B群より少なかった ($p = 0.05$)。

尿量は、麻酔開始～12時間後でC群はA ($p = 0.0001$) やB群 ($p = 0.02$) に比べ多かった。しかし、他の期間では出血量と尿量は群間に有意差はなかった。およそ10日間の研究期間での体重増減に関しても群間に有意差はなかった。

バイタルサイン

麻酔開始前の平均動脈圧はすべての群で増加した。また、脊髄くも膜下麻酔後にすべての群で低下したが、手術中ではB群はC群に比べ高かった。脈拍数はC群に比べA、B群で輸液開始後に低下した。体温や呼吸数、経皮的動脈血酸素飽和度に差は見られなかった。

低血圧の発生頻度と薬剤による治療

初回股関節形成術を受けた患者では、低血圧発生率は、C群 (89%) はA群 (54%) やB群 (39%) に比べ有意に高かった。エフェドリンで治療された割合は、A群; 21%、B群; 13%、C群25%であった。

生化学検査

血清電解質 (ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム)、血糖値、アルブミン、尿素、クレアチニンには群間に差がなかった。

B群では、投与6時間後にリパーゼの上昇をみとめ、B群とC群に数値ずつリパーゼの一過性に上昇した患者が含まれた。

アミラーゼもB群が他の群に比べ高い傾向を示した。一過性に増加した患者がB群に多く含まれた。

投与6時間後、A、B群でASTが上昇したが、C群では正常値のままであった。その後すべての群でわずかに上昇した。ALT、ALPとGTPは研究期間中は正常範囲内であった。LDHはA、B群で投与後にわずかに上昇したが、C群では正常上限にとどまった。CKとCK-MBはほとんど患者で上昇したが、調査期間中にすべて正常に復帰していた。心筋梗塞と診断された患者以外では、トロポニンIは増加しなかった。

初回人工股関節患者の心電図解析

ホルター心電図による平均脈拍数 (bpm) は、それぞれA群64、B群62、C群74であった。心室性期外収縮はそれぞれA群75%、B群74%、C群82%の発生率であり、心室頻拍の発生はA群1人、B群2人、C群1人であった。

2秒以上のポーズはA群3人、B群4人、C群2人であった。2度以上の房室ブロックの発生率はA群2人、B群5人、C群5人であった。ST部分の上昇は、A群4人、B群1人、C群5人で、ST部分の低下は、A群1人、B群1人、C群2人であった。

血算と凝固検査

白血球数はB群の1日後でほかの群より増加していた以外は群間に差がなかった。血小板数は全群で同様に低下したが、その後は出血量が多い患者ほど増加した。網状赤血球はすべての

群で増加した。PT_{INR}やフィブリノーゲン、D-ダイマーは異常を認めなかった。活性部分トロンボプラスチン時間はHemospan®を投与された患者で延長したが、これは自動測定器の測定上のアーチファクトであると考えている。

尿検査

すべての患者は尿道カテーテルを挿入されたため、尿中ヘモグロビンの測定値は正確ではない可能性があった。肉眼的血尿を呈した患者は1人もいなかったが、顕微鏡的血尿はA、B群の投与6時間後に生じ、3日後では有意に減少し、その後正常となった。βマイクログロブリンとNアセチルDグルコサミニダーゼは検出されたがHemospan®投与との関連性はなかった。アルブミンや血糖値、アセトンは群間に差がなかった。Jelliffe法によるクレアチニンクリアランスは群間に差がなかった。

血漿ヘモグロビン

血漿ヘモグロビン濃度 (g/L) はおよそ、A群3.3、B群で5.2、C群で0.2であり、体重補正後のA群の濃度はB群の68%であった。Hemospan®の血漿からの消失はおおよそ指数関数的であり、A、B群とも半減期は20時間を示した。

考察の要約

研究対象に高齢者を選んだのは、若年者より有害事象の発生率が高いという推測に基づく。各群とも数名の再股関節形成術患者が含まれており、手術時間や出血量が多かった。そのため、いくつかの分析（出血量、輸血量、ホルター心電図、低血圧の発生率）は、初回人工股関節置換術に限定し比較検討した。

患者治療している臨床チームは、生じた3つの重篤な有害事象はHemospan®に関連しないと判断した。他のHBOCsに対する臨床治験でみられた一般的な副作用（胸痛、腹痛、重篤な高血圧）はみられなかった。また、他のHBOCsに対する臨床治験でみられたアミラーゼ、リパーゼ、LDH、CKの上昇、黄疸、肉眼的血尿は、この臨床治験でみられなかった。Hemospan®投与患者はコントロール群に比べアミラーゼとリパーゼが増加傾向にあったが、有意差はなかった。これは、今回の治験が比較的少量投与であった可能性がある。

ホルター心電図で最も多くみられた異常は徐脈性不整脈に関連したものであった（徐脈、ポーズ、ブロック）。徐脈はHemospan®投与の結果の可能性もある。

Hemospan®投与は、低血圧発生率と低血圧を治療するための血管収縮薬の使用を減少させた。低血圧の予防が、同種血輸血を減少させるかどうかについての判断には、さらなる大規模な研究が必要となる。

今回の研究結果は、250 mLもしくは500 mLの投与量のHemospan®は、予定初回股関節形成術を行う患者に対してよく許容され、有害事象の発生に関与しないことを示した。

感想

この研究は、輸血の可能性の高い、患者数の多い疾患を対象としなければならなかった。一般に、股関節形成術を受ける患者は高齢者が多く、様々な全身疾患を伴うことが多い。術後に

は、肺血栓塞栓症や脂肪塞栓などの整形外科的合併症のほかに、肺炎、せん妄、心不全、出血、褥瘡のような高齢者に見られる合併症もしばしば発生する^{1,2)}。入院死亡（3%）や1年以内の死亡率は高く（20%）、心筋梗塞や肺梗塞が主な死因である。この臨床治験の周術期死亡率は2.2%（もしくはそれ以上）であった。この研究で死亡した2名の患者の原因は心筋梗塞と誤嚥であり、高齢な手術患者の合併症として珍しいものではない。さらに、Hemospan®投与との因果関係は診療スタッフにより否定されており、この判断は妥当と思われる。

低血圧麻酔や区域麻酔（脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔など）は術中出血量を減少させる¹⁾。この研究では有意差はなかったが、低血圧となったC群はB群より出血量が少ない傾向があった。彼らの考察で述べている、“有意な出血に伴う低血圧が（麻酔担当医に）輸血をさせる主要な要素である”ということは正しいが、この研究対象に限っては低血圧が輸血をさせることにはつながらないと思われる。したがって、今後の大規模な研究でも、彼らが予想しているような“低血圧が出血量を増加させる”ことはないだろう。これは外傷性出血患者におけるsmall volume fluid resuscitation やpermissive hypotensive resuscitationの概念で支持されるだろう。

骨盤骨折や抜釘術、再手術の患者を含んだことは、計画性の低さを否めない。さらに、出血量や手術侵襲の違う患者をエントリーさせたことで、結果の解釈を複雑にしている。リパーゼの上昇は骨髄の脂肪塞栓の可能性があり、この研究対象では一概に人工酸素運搬体の副作用に結びつけることができない。アミラーゼも分画についての記載がなく、さらに、手術侵襲の違いや周術期の適切な管理が周術期ストレス軽減を左右できる³⁾ことから、アミラーゼ上昇の判断は困難である。

臨床治験での投与量については比較的少量投与であるが、この点について妥当と考えている。“動物研究で示されたように比較的少量投与だけが生理的に有益であるという事実”はおそらく、血液凝固障害や免疫系の関与、コントロールされていない出血の助長などによると考えられる。

この研究対象は限られており、サンプルサイズも小さい。本文中の数多くの“更なる研究が必要であろう”というフレーズにあらわされるように、さらに大規模な治験やさまざまな対象患者による治験の結果が待たれる。

参考文献

1. Anesthesia for orthopedic surgery. Sharrock NE, Beckman JD, Inda EC, Savarese JJ. pp 2409-2434. Miller's Anesthesia 6th edition. Miller RD ed. Elsevier Pennsylvania, USA. 2005
2. Bottle A, Aylin P. Mortality associated with delay in operation after hip fracture: observational study. BMJ. 2006;332:947-51.
3. Fischer HB, Simanski CJ. A procedure-specific systematic review and consensus recommendations for analgesia after total hip replacement. Anaesthesia 2005;60:1189-1202.

日本血液代替物学会 総会

- | | |
|--|---|
| <p>1. 日 時 :
平成19年 6月15日 (金)</p> <p>2. 場 所 :
慶應義塾大学三田キャンパス 北館 2階 ホール
〒108-8345 東京都港区三田2-15-45</p> | <p>3. 議 題 :
報告事項 ① 第14回年次大会の報告
② 会員動向
③ 委員会報告
④ 平成18年度事業報告
⑤ 平成18年度収支決算
⑥ 平成19年度事業 (実績報告)</p> |
|--|---|

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。

- 第14回日本血液代替物学会年次大会
- 平成19年 6月14日 (木)～15日 (金)
- 東京都港区三田2-15-45慶應義塾大学三田キャンパス 北館 2階ホール
- 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の参加があった。

②会員状況は以下のとおり。

- 維持会員：5社
- 賛助会員：4社
- 正会員：148名
- 購読会員：20箇所
- 学生会員：1名

③各種委員会からの報告は以下のとおり。

＊編集委員会

会誌「人工血液」の発行。

- ・平成18年度：第13巻4号、第14巻1号、2号、3号発行。
- ・平成19年度：第14巻4号、第15巻1号、2号、3号、4号発行 発行予定。

＊ホームページ委員会

学会ホームページURL: <http://www.blood-sub.jp/> の維持・管理。

④平成18年度事業報告 (平成18年 4月1日～平成19年 3月31日) が行われ各々承認された。

- 定期総会の開催
平成18年 8月24日 (木) 慶應義塾大学医学部北里講堂にて開催。

- 第13回年次大会 (大会長 末松 誠)
平成18年 8月24日 (木)、25日 (金)
慶應義塾大学医学部北里講堂で行われた。
- 「人工血液をつくる (7)」後援

⑤平成18年度収支決算報告が行われ承認された。

平成18年度 会計 収支決算表
(自 平成18年 4月1日 至 平成19年 3月31日)

収 入		支 出	
摘 要	金 額	摘 要	金 額
前期繰越金	15,477,106*	会誌出版費	2,033,740
正会員会費	520,000	集会・委員会費	667,482
入会金	20,000	年会補助金	1,500,000
賛助会員会費	600,000	ホームページ維持費	436,800
維持会員会費	12,000,000	事務人件費	2,204,650
購読会員会費	48,000	事務費	307,765
雑収入	102,820	人工血液をつくる(7)開催費助成	824,582
利息	9,959	基金に繰り入れ	2,500,000
		次期繰越金	18,302,866
計	28,777,885	計	28,777,885

＊ 前年度繰越金に関しては、前年度まで「学会事務局」、「人工血液編集部」、「ホームページ維持」と3つに分けていた収支を本年度より1つにまとめたため、下記の合計金額となっている。

学会事務局	10,798,476
人工血液編集部	1,928,760
ホームページ維持費	2,749,870
計	15,477,106

⑥平成19年度事業 (実績報告)

- 定期総会の開催
平成19年 6月15日 (木) 慶應義塾大学三田キャンパス 北館 2階 ホール。
- 第14回年次大会の開催 (大会長 半田 誠)
平成19年6月14日 (木)、15日 (金)
於 慶應義塾大学三田キャンパス 北館 2階 ホール

●事務局たより

- 3) 「人工血液」の発行
- 4) 「人工血液をつくる (8)」後援

理事会報告

平成19年3月28日に理事会が開催された。

- 1) 平成19年度事業／会計経過報告
- 2) 平成20年度事業計画／予算案
- 3) 第15回年次大会および合同開催予定の第6回Current Issues
on Blood Substitute Research準備経過報告
- 4) 各種委員会報告
- 5) 新入会の承認
- 6) 役員の確認

以上が報告、審議された。
現行役員は次頁の通り。

日本血液代替物学会 役員名簿

顧問	尾形利郎	東海大学医学部 名誉教授	監事	土田英俊	早稲田大学理工学術院 名誉教授
	高久史麿	自治医科大学 学長		西 勝英	肥後医育振興会 理事
	堀 原一	筑波大学 名誉教授		半田 誠	慶應義塾大学医学部 准教授
	遠山 博	埼玉医科大学総合医療センター 名誉所長		平澤博之	千葉大学 名誉教授
会長	小林紘一	慶應義塾大学医学部 教授		堀之内宏久	慶應義塾大学医学部 准教授
副会長	池田康夫	慶應義塾大学医学部 教授		四津良平	慶應義塾大学医学部 教授
理事	池田久實	北海道赤十字血液センター 所長		清水 勝	西城病院 理事
	川村明夫	札幌北楡病院 会長		阿岸鉄三	板橋中央総合病院 血液浄化療法センター ブラッドアクセス治療センター 所長
	酒井宏水	早稲田大学理工学術院 准教授		(事務局) 堀之内宏久	慶應義塾大学医学部 准教授
	末松 誠	慶應義塾大学医学部 教授		(会誌担当) 酒井宏水	早稲田大学理工学術院 准教授
	高折益彦	東宝塚さとう病院 名誉院長		(HP担当) 藤島清太郎	慶應義塾大学医学部 講師
	武岡真司	早稲田大学理工学術院 教授			

日本血液代替物学会 評議員名簿

青木 克憲	浜松医科大学 教授	高久 史麿	自治医科大学 学長
	板橋中央総合病院 血液浄化療法センター ブラッドアクセス治療センター 所長		テルモ(株) 代表取締役社長
	早稲田大学理工学部 教授		山形大学医学部 准教授
浅野 茂隆	北海道赤十字血液センター	高橋 英嗣	東京大学医科学研究所 客員教授
	筑波大学 名誉教授		早稲田大学理工学術院 教授
東 寛	北海道赤十字血液センター	田所 憲治	日本赤十字社血液事業本部
阿部喜代司	筑波大学 名誉教授	土田 英俊	早稲田大学理工学術院 名誉教授
池田 久實	北海道赤十字血液センター 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 康夫	慶應義塾大学医学部 教授	友田 燐夫	東京医科大学 教授
池淵 研二	埼玉医科大学 教授	豊田 忠之	東部地域病院 元院長
石原 弘規	弘前大学医学部 准教授	仲井 邦彦	東北大学医学部 准教授
伊藤 俊之	京都赤十字血液センター	中井 一士	血液製剤調査機構 元理事
稲田 英一	順天堂大学医学部 教授	長澤 俊郎	筑波大学臨床医学系 教授
大島 宣雄	筑波大学基礎医学系 名誉教授	中島 常隆	(株)ベネシス 経営戦略部 担当部長
大塚 節子	岐阜大学医学部 講師	西 勝英	肥後医育振興会 理事
大柳 治正	近畿大学医学部 教授	西出 宏之	早稲田大学理工学術院 教授
尾形 利郎	東海大学医学部 名誉教授	西谷 孝子	ナノキャリア株式会社
片岡 一則	東京大学大学院工学系研究科 教授	半田 誠	慶應義塾大学医学部 准教授
川村 明夫	北楡会札幌北楡病院 会長	平澤 博之	千葉大学 名誉教授
黒澤 良和	藤田保健衛生大学総合医科学研究所 教授	福島 昭二	神戸学院大学薬学部製剤学 准教授
小林 紘一	慶應義塾大学医学部 教授	藤井 寿一	東京女子医科大学 教授
小室 勝利		藤島清太郎	慶應義塾大学医学部 講師
斎藤 英彦	名古屋セントラル病院 院長	船津 昭信	(財)化学及血清療法研究所 理事長
酒井 清孝	早稲田大学理工学術院 教授	外 須美夫	北里大学医学部 教授
酒井 宏水	早稲田大学理工学術院 准教授	堀 進悟	慶應義塾大学医学部 准教授
佐久間一郎	カレスサッポロ北光記念クリニック 所長	堀 原一	筑波大学 名誉教授
佐藤 誠	ニプロ(株) 医薬品研究所 所長	堀之内宏久	慶應義塾大学医学部 准教授
鮫島 達也	青山学院大学理工学部 名誉教授	宮尾 秀樹	埼玉医科大学総合医療センター 教授
清水 勝	西城病院 理事	宮崎 保	札幌通信病院 名誉院長
清水 慶彦		村田 満	慶應義塾大学医学部 教授
十字 猛夫	日本赤十字血液事業本部	湯浅 晋治	順天堂大学 名誉教授
	中央血液研究所 前所長	四津 良平	慶應義塾大学医学部 教授
末松 誠	慶應義塾大学医学部 教授	米川 元樹	北楡会札幌北楡病院 理事長
平 明	鹿児島大学医学部 名誉教授		
高折 益彦	東宝塚さとう病院 名誉院長		

(ア順敬称略)

日本血液代替物学会 会則

第1章 総 則

第1条：（名称）本会は日本血液代替物学会（The Society of Blood Substitutes, Japan）と称する。

第2条：（事務局）本会の事務局は当分の間、会長の所属機関内に置く。

2. 事務局には事務局長を置き、会長の統括のもと本会の事業および会計に関する一般事務を司る。

第3条：（目的）本会は、血液代替物およびその関連分野の研究の進歩ならびに普及を計り、会員の研究発表、知識の交換、連絡提携の場となり、血液代替物の評価や今後の指針を提言する活動を通して、学際、国際間に広く貢献することを目的とする。

第4条：（事業）本会は前条の目的達成のため、次の事業を行う。

- 1) 総会、年次大会(一般演題も含める)、研究講演会、シンポジウムなど。
- 2) 会誌“人工血液”の刊行。
- 3) その他本会の目的に沿った事業。

第2章 会 員

第5条：（種別）本会会員は次の分類とする。

- 1) 正会員 本会の目的に賛同する個人で所定の手続きを行い、会費を納入した者とする。
- 2) 賛助会員 本会の目的を賛助する団体または個人とする。
- 3) 維持会員 本会の目的を賛助する団体または個人であり、本会の維持に格段の協力をする会員をいう。

第6条：（会費）会員は、つぎの種別に従って会費を納めなければならない。

- 1) 正会員 年額 1万円
- 2) 講読会員 年額 6千円
- 3) 学生会員 年額 5千円
- 4) 賛助会員 年額 1口以上（1口20万円）
- 5) 維持会員 年額 10口以上（1口20万円）

2. 既納の会費はいかなる理由があっても、これを返還しない。

第7条：（入会）本会に入会希望者は、正会員1名の紹介により、所定の入会申込書に入会金5千円と一年分の会費を添え事務局宛に提出し、理事会の承認を経なければならない。

第8条：（退会）退会しようとする会員は、理由とその旨を届け出て、理事会の承認を経なければならない。

第9条：（除名）本会の目的に反する行為あるいは本会の名誉を損なう行為のあった会員は、評議員会の議決によってこれを除名することができる。

第3章 役員、顧問、評議員および職員

第10条：（設置および定数）本会に次の役員を置く。

- 1) 会 長 1名
- 2) 副会長 1名以上5名以内
- 3) 理 事 7名以上15名以内(会長、副会長を含む)
- 4) 監 事 2名
- 5) 顧 問 若干名

第11条：（役員の選任）役員は、別に定めるところにより、正会員の内から評議員会で選出し、監事は正会員の中から総会で選出する。

2. 顧問は、会長が委嘱し、その任期は役員の任期に準ずる。

第12条：（任期）役員および監事の任期は2年とし、再任を妨げない。

第13条：（会長）会長は、各事業を司り本会を代表統括する。

第14条：（副会長）会長を補佐し会長に事故があるときはその代理となる。

第15条：（理事）理事は理事会を組織して、この会則に定められた事項のほか、評議員会および総会の権限に属する事項以外の事項を評議し、施行する。

第16条：（監事）監事は、資産の状況および理事の会務執行状況を監査する。

第17条：（顧問）顧問は、理事会および評議員会に出席して、意見を述べることができる。

第18条：（評議員）評議員は正会員の中から総会で選出し、任期は2年とする。ただし再任を妨げない。

2. 評議員は、評議員会を組織し、この会則に定められた事項を決議するほか、会長を補佐して本会の運営を助ける。

第19条：（事務局および職員）本会の事務を処理するため、事務局および職員を置く。

2. 職員人事は会長が任命権者となり、有給とする。

第4章 年次大会長

第20条：（大会長と職務）本会に年次大会を主宰する大会長1名をおく。また、大会長を補佐し、大会長に事故があったとき、または欠けたときには、その職務を代行する副大会長1名をおくことができる。

第21条：（選任）大会長および副大会長は、評議員の中から、理事会の議決によって選任される。
2. 理事会の議決によって、副大会長を次年度の大会長とすることができる。

第22条：（任期）大会長および副大会長の任期は、選任された日に始まり、学会年次大会が終了した日に終わる。

第5章 会 議

第23条：（会議）本会の会議は、つぎの3種とする。

- 1) 理事会
- 2) 総 会
- 3) 評議員会

第24条：（理事会）理事会は、理事をもって構成する。

2. 理事会は年4回以上会長が召集する。ただし、会長が必要と認めたとき、または、理事の3分の1が会議の目的および事項を示して請求したときは、臨時理事会を召集することができる。
3. 理事会の議長は会長とする。
4. 理事会は、理事会構成現在数の3分の2以上が出席しなければ、議事を開き、議決することができない。ただし、当該議事について文書によってあらかじめ意志を表示した者は、これを出席者とみなす。
5. 監事は、理事会に出席して、本会の運営について意見を述べるることができる。

第25条：（総会）総会は、通常総会、臨時総会の2種とし、会長が召集する。

2. 総会は、正会員をもって構成する。
3. 通常総会は、年一回開く。
4. 臨時総会は、次の場合に召集する。
 - 1) 理事会で必要と認めた場合
 - 2) 監事、または会員50名以上から会議の目的を示して請求があった場合

第26条：（総会議長）通常総会の議長は会長とし、臨時総会の議長は、会議の都度会員の互選で定める。

第27条：（総会の通知）総会の召集は、その開会期日1週間前までに、総会に付すべき事項、日時および場所を記録した書面または会誌で、会員に通知しなければならない。

2. 出席会員の3分の2以上の同意があったときは、あら

かじめ通知しなかった事項について審議し、議決することができる。

第28条：（審議事項）次の事項は、通常総会の承認を求めなければならない。

- 1) 事業報告および会員の異動状況書
- 2) 収支決算、財産目録、貸借対照表
- 3) 事業計画および収支予算
- 4) 前記各項のほか、理事会で必要と認めた事項

第29条：（総会の定足数）総会は、正会員現在数の5分の1以上出席しなければ、議事を開き、議決することができない。ただし、当該議事について、あらかじめ書面をもって意志を表示したものは出席者と見なす。

2. 総会に出席できない正会員は、出席正会員を代理人として、その権限を委任することができる。
3. 総会の議決は、出席会員の過半数をもって決し、可否同数のときは議長の決するところによる。

第30条：（総会議事録の通知）総会の議事の要領および議決した事項は、正会員に通知する。

第31条：（評議員会）評議員会は、評議員で組織し、必要がある場合に会長が召集する。

2. 会長は評議員会の議長となる。

第32条：（審議事項）評議員会は、この会則に定めるもののほか、理事会で必要と認めた事項を審議する。

第33条：（評議員会の定足数）評議員会は、評議員現在数の2分の1以上の出席がなければ、議事を開き、議決することができない。ただし、当該議事について、あらかじめ書面をもって意志を表示したものは出席者と見なす。

2. 評議員会の議事は、出席評議員の過半数をもって決し、可否同数のときは、議長の決するところによる。評議員会に出席できない評議員は、出席評議員を代理人として、その権限を委任することができる。
3. 会長は、書面で評議員の意見を求め、評議員会の召集および前項の議決にかえることができる。

第34条：（議事録の保存）全ての会議には議事録を作成し、議長および出席者代表者2名以上が署名押印のうえ、これを保存する。

第6章 資産及び会計

第35条：（資産）本会の資産は次の通りとする。

- 1) 会 費
- 2) 寄付金
- 3) 事業にともなう収入

- 4) 資産から生じる果実
- 5) その他の収入

第36条：（資産の管理）本会の資産は、会長が管理し、現金は理事会の議決によって、確実な有価証券を購入するか、または定額郵便貯金とするか、もしくは確実な信託銀行に信託するか、あるいは定額預金として会長が保管する。

第37条：（寄付の受領）寄付金品は、理事会の議決を経てこれを受領する。

第38条：（経費）本会の経費は、会費、刊行物に対する購読料、寄付金、資産から生じる果実などの運用資産をもって支弁する。

第39条：（事業計画および収支予算）本会の事業計画およびこれにともなう収支予算は、毎年会計年度開始前に会長が編成し、理事会、評議員会の議決を経て、総会の承認を受けなければならない。

第40条：（収支決算）会計報告は会長が毎年一回、会計報告書を作成し、監事の監査を経て、評議員会および総会の承認を得る。

第41条：（会計年度）本会の会計年度は4月1日より翌年3月31日までとする。

第7章 会則の変更ならびに解散

第42条：（会則の変更）本会の会則の変更には理事会の発議と総会の議決を要する。

第43条：（解散）本会の解散は、理事会、評議員会および総会の各々において出席会員の4分の3以上の同意を得なければならない。

第44条：本会の解散にともなう残余財産は、理事会、評議員会および総会の各々において出席会員の4分の3以上の議決を経て、本会の目的と同種または類似の公益事業に寄付するものとする。

第8章 補 則

第45条：この会則を施行するために必要とされる細則は、理事会および評議員会の議決を経て、別に定める。

付 則 この会則は、平成5年7月21日設立総会において議決され、当日から施行する。

●編集後記●

前号から続く特集（外先生、相星先生）ならびに海外文献紹介では、寺嶋編集委員の御尽力を頂き、また三宅先生から原著論文と高折先生から総説を御寄稿頂き、本号の印刷に漸くこぎつけました。本誌はこれまで年に4回の発刊を続けて参りましたが、諸般の理由で大幅な遅れが生じ、苦渋の策として暫定的に本号を15巻3-4号の合併号とさせて頂きました。御理解を頂きたく、宜しく御願ひ申し上げます。本年度より編集委員長の大役を武岡先生から最年少？の酒井が引継ぎました。武岡先生が苦慮されておりました状況を打破しアクティブな会誌とするため、新しい企画も組み込んでいきたいと思ひます。どうぞ宜しくお願い致します。今年、遺伝子組換えアルブミンが漸く認可されましたので、これに合わせ大谷委員の企画担当を御願ひしております。また、現在欧米の二種類の代用血漿剤が日本で臨床試験中とのことで、代用血漿剤について日本で新しい動き

があるものと期待しております。更に、最近注目されておりますガスバイオロジーでは、酸素に限らずNO, CO, H₂, H₂Sなど話題が豊富で、人工血液に密接に関連しております。北京で昨年開催された国際血液代替物学会では、新しい人工酸素運搬体の発表もありました。また、先般米国FDAで開催されたWorkshop on Hb-based Oxygen Carriers (HBOCs) についても報告ができればと考えております（余談ですが、HBOCsの読み方は「エイチボックス」が定着しておりました）。血小板代替物、免疫グロブリン、既存の血液製剤の保存法や、造血幹細胞からの血球培養も続々と新しい方法が報告されております。最新情報を取込んで裾野を広げて行きたいと考えております。会員の皆様からも、積極的な話題提供、論文投稿を宜しくお願い致します。

（酒井 宏水）

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, μ m, L, mL, μ L,

mol, g, mg, μ g, 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, 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) 論文中的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、あらかじめ著作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。

[本誌掲載著作物の二次利用および著作権について]
以下の点につきまして、あらかじめご了

承ください。

本誌の一部、もしくは全部をCD-ROM, インターネットなどのニューメディアに二次利用させていただく場合があります。本誌に掲載する著作物の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権（送信可能化権を含む）は本学会に譲渡されたものとします。したがって、上記の諸権利の承諾は本学会で行います（本項については、著者ご自身の再利用を拘束するものではありませんが、再利用される場合はご一報ください）。

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。

二次掲載について

人工血液では、他の言語ですでに掲載された論文を和文で二次掲載することは二重投稿ではなく正当な掲載と認めますが、以下の事項を遵守してください。

- 1) すでに掲載された論文であること。
- 2) 著者は両方の雑誌の編集者より許可を得ていること。二次掲載する編集者に最初に掲載されたもののコピー、別刷、もしくは原稿のいずれかを添付すること。
- 3) 論旨を変えないこと。執筆者は同一（順不同）であること。
- 4) 二次掲載版のタイトル・ページに掲載される脚注には、その論文の全体もしくは一部分がすでに掲載されている旨を明記し、更に初出文献も示すこと。適切な脚注の例を以下に示す。「This article is based on a study first reported in the [...]雑誌タイトル(完全な典拠情報を添えたもの)。」(訳：この論文記事は、[...]に最初に報告された研究に基づくものである)。

これらの要件を満たしている場合は、その旨を明記して、総説または論文記事（二次掲載）として投稿してください。

編集委員会

●武岡真司(委員長), 東 寛, 大谷 渡, 酒井宏水, 寺嶋克幸, 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.15 (3-4) 2008年5月20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
〒169-8555 東京都新宿区大久保3-4-1
早稲田大学理工学部65-208室
TEL (03) 5286-3217 FAX (03) 3205-4740
〒102-0073 東京都千代田区九段北1-1-7
TEL (03) 3265-8961 FAX (03) 3264-1995