人工血液

第 19 巻　第 2 号　2011 年 10 月

目　次

第18回年次大会プログラム
大会長挨拶 …… 43
お知らせとお願い …… 44
大会日程表 …… 46
交通案内図 …… 47
プログラム …… 48
抄録 …… 50

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 19 No. 2 October, 2011

Contents

The 18th Annual Meeting Program
Address from the President …… 43
Information …… 44
Schedule …… 46
Venue and Access …… 47
Program …… 48
Abstracts …… 50

第18回日本血液代替物学会年次大会

The 18th Annual Meeting of the Society of Blood Substitutes, Japan

「血液代替物実用化を促進させよう」

大会長：米川　元樹（社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院 理事長）

会　期：平成23年10月27日（木）～28日（金）

会　場：北海道大学医学部学友会館フラテ（札幌市北区北15条西7丁目）

ランチョンセミナー：平成23年10月28日（金）
12：20～12：50「脳梗塞の再生医療」
12：50～13：20「震災時の血液供給について」
（主催：ニプロ株式会社）

年次大会事務局
〒003-0006　札幌市白石区東札幌6条6丁目5-1
社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院
TEL：011-865-0111
FAX：011-863-5553
E-mail：sbsj2011@hokuyu-aoth.org

大会長挨拶

この度、第18回日本血液代替物学会年次大会を主催させていただくことになりました。臨床の場において、赤血球や血小板が必要となった場合には、献血で得られた血液から分離したものを輸血という形で使用しています。しかし、少子高齢社会になり、献血による供給体制が次第に危うくなってきており、人工赤血球や人工血小板などの臨床応用が期待されています。

人工酸素運搬体といわれる人工赤血球の分野の研究・開発は、わが国が最も進んでおります。そのような時代に、本学会年次大会を主催させていただくのは非常に光栄に存じます。

そこで年次大会のテーマは臨床の現場の期待を込めて、「血液代替物実用化を促進させよう」といたしました。

特別講演、教育講演もタイムリーな話題を選びました。また、シンポジウムでは「人工酸素運搬体の実用化を促進するためには」と「虚血灌流障害と酸素運搬体」についての活発な討論を期待しています。

10月の札幌は紅葉の盛りで市街も鮮やかに彩られます。また全ての産物が収穫期を迎えます。この学術大会が多くの実りを得ることができますように、皆様のご参加をお待ちしております。

第18回日本血液代替物学会年次大会
会　長　米川　元樹

お知らせとお願い

■会員・参加者の方へ

＜会場＞

北海道大学医学部学友会館フラテ（10月27日（木）特別会議室，10月28日（金）ホール）
（札幌市北区北15条西７丁目；TEL 011-716-2111）

＜受付＞

平成23年10月27日（木）8：40から
平成23年10月28日（金）9：00から

＜参加登録＞

参加登録費は10,000円です．事前参加登録は行いません．
ネームカードをお渡ししますので，所属・氏名を各自でご記入の上，ご着用ください．会期中は会場内で必ず着用ください．

＜新入会受付＞

日本血液代替物学会に未入会の方は，受付で入会手続きをおとり下さい．
年会費は，正会員10,000円，購読会員6,000円，学生会員5,000円です．

＜抄録集＞

抄録集は，会員全員に事前送付しています．当日お忘れなくご持参ください．
また，当日，受付にて１部1,500円で販売いたします．

＜呼び出し＞

会場内での呼び出しは行いません．

＜懇親会＞

懇親会を開催いたします．参加費は無料ですので，奮ってご参加ください．
日時：平成23年10月27日（木）18：30から
場所：京王プラザホテル札幌 3階 雅の間
（札幌市中央区北５条西７丁目　TEL：011-271-0111）

■演題発表される方へ

１．本学会の発表は，全てPCプロジェクターで行います．映写できるスクリーンは１面のみです．
２．ご発表の１時間前までに，PC受付にて試写を行って下さい．
３．Windowsの場合（動画を含む場合を除く）は，USBフラッシュメモリーまたはCD-Rに保存してご提出下さい．CD-Rについては，ハイブリッドフォーマットのみといたします．Macintoshの場合は，ご自身のパソコンをご持参下さい．また，Windowsで動画を含むデータの場合は，ご自身のパソコンをご持参下さい．なお，当日お持ち込みになるPCまたはメディアのウイルスチェックは必ず事前に行って下さい．スクリーンセーバー，ウイルスチェックならびに省電力設定は，発表前にあらかじめ解除しておいて下さい．静止画像はJPEG形式で作成されることをお勧めいたします．
４．事務局で用意しておりますPC（Windows）には，OS：Windows 7でPower Point 2003，2007，2010をインストールしております．この環境にて正常に作動するデータをご用意下さい．ご発表データは，会期終了後，事務局で責任を持って消去いたします．
５．当日は，USBフラッシュメモリーまたはCD-R等のバックアップデータを必ずご用意下さい．当日のデータ及びバックアップとして使用させていただきます．
６．ご自身のPCでの発表を希望される場合は，D-sub 15ピンによるモニター出力が必要です．事務局でD-sub 15ピンの接続ケーブルを用意しますが，ご持参いただくPCからD-sub 15ピンへの変換コネクターが必要な場合には，各自でご用意下さい．D-sub 15ピン以外では接続できませんので，ご了承下さい．
７．電源ケーブルを必ずご持参下さい．バッテリーでのご使用はトラブルの原因となります．

■講演発表時間

特別講演：60分
教育講演：40分
一般演題：発表時間10分，質問時間 5 分

■各種会議日程

理 事 会：平成23年10月27日（木）11：35～12：35　中会議室（AD 1 ・206）
評議員会：平成23年10月27日（木）12：35～13：05　大会議室（AD 2 ・106）
総　　会：平成23年10月27日（木）13：15～13：45　特別会議室

■大会事務局

〒003-0006　札幌市白石区東札幌 6 条 6 丁目5-1
社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院
ＴＥＬ：011-865-0111
ＦＡＸ：011-863-5553
E-mail：sbsj2011@hokuyu-aoth.org

年次大会のホームページにて，最新のお知らせ，注意事項，プログラムなどを掲載していきます．併せてご確認，ご利用ください．

第18回血液代替物学会年次大会ホームページ　http：//sbsj2011.jp/

大会日程表

平成２３年１０月２７日（木）

8:40 - 9:25 受付

9:25 開会の辞

9:30 - 10:30 一般演題①
司会：東　　寛（旭川医科大学）
演者：木下　学（防衛医科大学校）
河野光智（慶應義塾大学）
勢司泰久（慶應義塾大学）
藤原満博（北海道赤十字血液センター）

10:30 - 11:30 特別講演①
「まれな血液型およびHLAタイプ患者のための
iPS細胞技術を用いた輸血システム開発」
演者：江藤浩之（京都大学）
司会：松野一彦（北海道大学）

11:35 - 12:35
理事会

12:35 - 13:05
評議員会

13:05 - 13:15 休憩

13:15 - 13:45
総会

13:45 - 15:35 シンポジウム①
「人工酸素運搬体の実用化を促進するためには」
司会：
小林紘一（慶應義塾大学）
高折益彦（東宝塚さとう病院）
演者：
金田伸一（テルモ株式会社）
山根恒彦（ニプロ株式会社）
東　　寛（旭川医科大学）
堀之内宏久（慶應義塾大学）

15:35 - 15:45 休憩

15:45 - 16:25 教育講演①
「臨床医から見たわが国の医療品・医療機器審査の課題」
演者：岩本美智子（練馬総合病院）
司会：米川元樹（札幌北楡病院）

16:25 - 17:40 一般演題①
司会：今村雅寛（北海道大学）
演者：Akira T. Kawaguchi（Tokai University）
Junko Aokawa（Tokai University）
Daisuke Kurita（Tokai University）
Akira T. Kawaguchi（Tokai University）
品川拓也（熊本大学）

18:30
懇親会（京王プラザホテル札幌 3階 雅の間）

平成２３年１０月２８日（金）

9:00 - 9:20 受付

9:20 - 11:10
シンポジウム②
「虚血灌流障害と酸素運搬体」
司会：
足立　健（防衛医科大学）
三浦哲嗣（札幌医科大学）
演者：
三木隆幸（札幌医科大学）
岡田昌浩（愛媛大学）
中島　淳（防衛医科大学校）
安樂真樹（慶應義塾大学）

11:10 - 11:15 休憩

11:15 - 12:15
特別講演②
「地球大気の酸素の物語」
演者：角皆静男（北海道大学）
司会：阿岸鉄三（東京女子医科大学）

12:15 - 12:20 休憩

12:20 - 13:20 ランチョンセミナー（主催：ニプロ株式会社）
12:20 - 12:50「脳梗塞の再生医療」
演者：本望　修（札幌医科大学）
司会：三浦哲嗣（札幌医科大学）
12:50 - 13:20「震災時の血液供給について」
演者：池田久實（北海道赤十字血液センター）
司会：堀之内宏久（慶應義塾大学）

13:20 - 13:30 休憩

13:30 - 14:30
特別講演③
「日本の人工酸素運搬体の歴史と現状」
演者：酒井宏水（早稲田大学）
司会：池田久實（北海道赤十字血液センター）

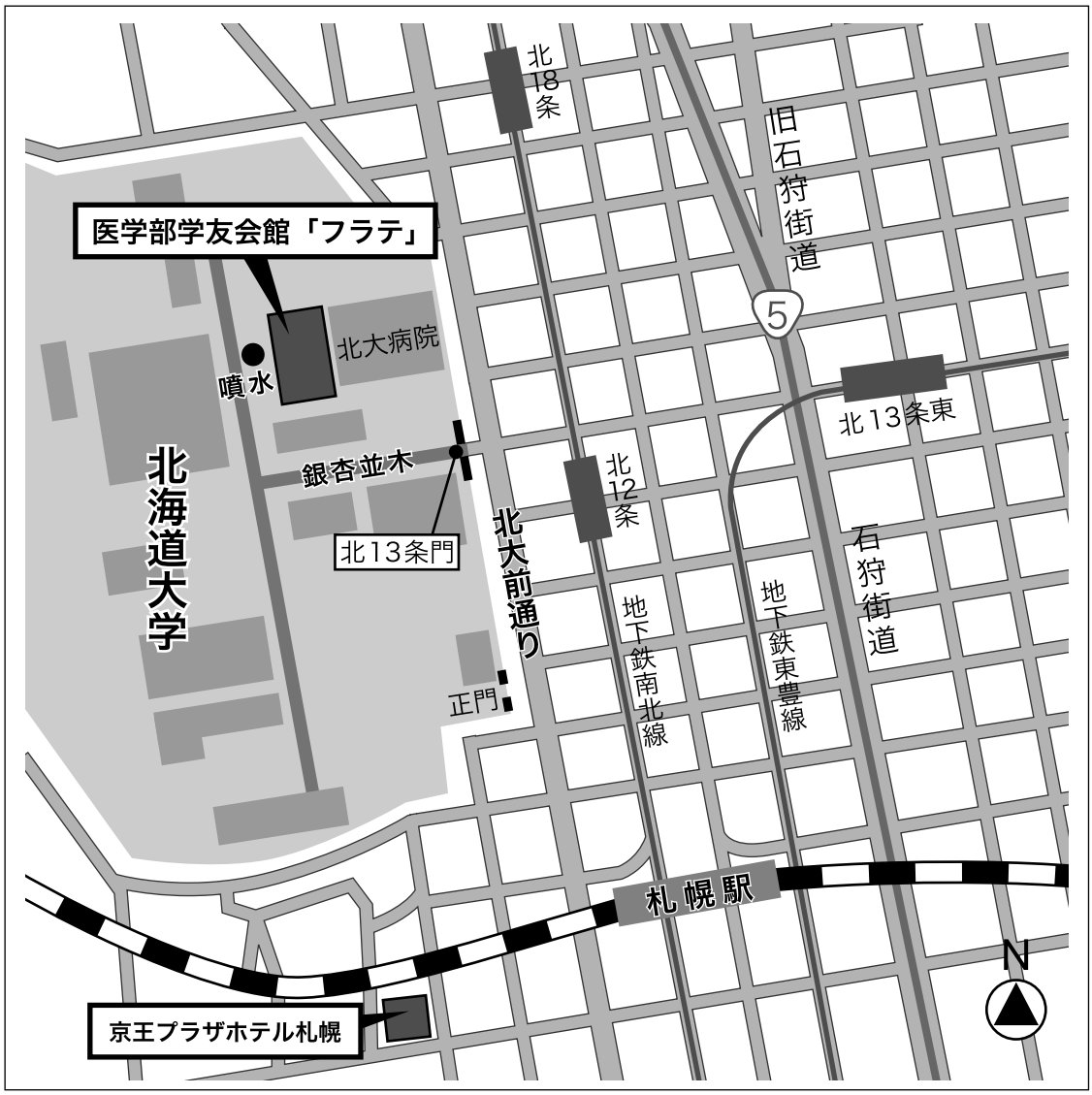
14:30 - 15:10 教育講演②
「リポソームの組成とその組織親和性」
演者：宗　慶太郎（早稲田大学）
司会：小田切優樹（崇城大学）

15:10 - 15:20 休憩

15:20 - 16:35 一般演題③
司会：藤原満博（北海道赤十字血液センター）
演者：氏平隼人（熊本大学）
萩沢康介（防衛医科大学校）
根矢三郎（千葉大院）
村山千恵子（東海大学）
百武　徹（横浜国立大学）

16:35
閉会の辞

交 通 案 内



年次大会会場

北海道大学医学部
学友会館「フラテ」
〒060-8638
北海道札幌市北区北15条西7丁目
TEL：011-716-2111(北海道大学代表)

懇親会会場

京王プラザホテル札幌
〒060-0005
北海道札幌市中央区北5条西7丁目2-1
TEL：011-271-0111

年次大会会場までのアクセス

■ＪＲ線
札幌駅北口　　徒歩約 20 分

■地下鉄南北線
北 12 条駅　　徒歩約 10 分
北 18 条駅　　徒歩約 10 分

■地下鉄東豊線
北 13 条東駅　　徒歩約 15 分

■新千歳空港～札幌駅まで
ＪＲ快速エアポート利用の場合
所要時間　　約 40 分
バス利用の場合
所要時間　　約 80 分

平成23年10月27日(木)

9:25　開会の辞

9:30〜10:30　一般演題①

司会：東　　寛（旭川医科大学小児科学講座）

1.「致死性低ヘモグロビン血症時の重要臓器でのHIF-1α蛋白発現と人工酸素運搬体投与による臓器の低酸素改善効果」
木下　学（防衛医科大学校免疫微生物）

2.「肺切除周術期出血モデルでのヘモグロビン小胞体投与の効果と安全性の検討」
河野光智（慶應義塾大学医学部呼吸器外科）

3.「ラット制御継続出血ショックモデルを用いた生理食塩液分散ヘモグロビン小胞体（Hb-vesicle）の検討」
勢司泰久（慶應義塾大学医学部呼吸器外科）

4.「ヘモグロビン小胞体のラット免疫能への影響―遺伝子発現プロファイルの解析―」
藤原満博（北海道赤十字血液センター）

10:30〜11:30　特別講演①

「まれな血液型およびHLAタイプ患者のためのiPS細胞技術を用いた新しい輸血システム開発」
江藤浩之（京都大学iPS細胞研究所）

司会：松野一彦（北海道大学病院 検査・輸血部）

11:35〜12:35　理事会

12:35〜13:05　評議員会

13:15〜13:45　総会

13:45〜15:35　シンポジウム①　「人工酸素運搬体の実用化を促進するためには」

司会：小林紘一（慶應義塾大学医学部），**高折益彦**（東宝塚さとう病院）

1.「カプセル型人工酸素運搬体の機能について－現状と課題－」
金田伸一（テルモ株式会社研究開発本部）

2.「リポソーム化ヘモグロビンの臨床研究へ向けて　その品質保証（製造法，品質および安全性）のレギュラトリーサイエンスからの考察」
山根恒彦（ニプロ株式会社医薬品研究所）

3.「LEHの輸血医療への期待」
東　　寛（旭川医科大学小児科学講座）

4.「微小循環と酸素運搬体　酸素治療への展望」
堀之内宏久（慶應義塾大学医学部呼吸器外科）

15:35〜15:45　休憩

15:45〜16:25　教育講演①

「臨床医から見たわが国の医療品・医療機器審査の課題」
岩本美智子（財団法人 東京都医療保健協会 練馬総合病院）

司会：米川元樹（社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院）

16:25〜17:40　一般演題②

司会：今村雅寛（北海道大学大学院医学研究科血液内科学）

1.「Liposome-Encapsulated Hemoglobin Ameliorates Ischemic Stroke in Nonhuman Primates - Longitudinal Observation -」
Akira T. Kawaguchi（Tokai University）

2.「Effect of Liposome-Encapsulated Hemoglobin onAntigen-Presenting Cells in Mice」
Junko Aokawa（Tokai University School of Medicine）

3.「Liposome-Encapsulated Hemoglobin Improves Energy Metabolismin Skeletal Muscle Ischemia and Reperfusion in the Rat」
Daisuke Kurita（Tokai University）

4.「Liposome-Encapsulated Hemoglobin Accelerates Gastric Wound Healing in the Rat」
Akira T. Kawaguchi（Tokai University School of Medicine）

5.「臓器移植保存液としてのS-ニトロソ化アルブミンの有用性評価」
品川拓也（熊本大院・薬）

18:30〜　　懇親会（京王プラザホテル札幌 3階 雅の間）

平成23年10月28日(金)

9:20〜11:10　シンポジウム②　「虚血灌流障害と酸素運搬体」
司会：**足立　健**（防衛医科大学第一内科循環器学講座），**三浦哲嗣**（札幌医科大学医学部内科学第二講座）
1.「**虚血再灌流による心筋細胞障害の分子病態**」
　　三木隆幸（札幌医科大学医学部内科学第二講座）
2.「Liposome-Encapsulated Hemoglobin Alleviates Hearing Loss After Transient Cochlear Ischemia and Reperfusion in the Gerbil」
　　岡田昌浩（愛媛大学耳鼻科）
3.「**虚血再潅流障害に対するヘモグロビン小胞体の心機能保護効果**」
　　中島　淳（防衛医科大学校　内科１）
4.「**臨床肺移植における虚血再灌流障害及び重症移植肺不全について**」
　　安樂真樹（慶應義塾大学医学部呼吸器外科）

11:10〜11:15　休憩

11:15〜12:15　特別講演②
「**地球大気の酸素の物語**」
　　角皆静男（北海道大学）
司会：**阿岸鉄三**（東京女子医科大学名誉教授）

12:15〜12:20　休憩

12:20〜13:20　ランチョンセミナー（主催：ニプロ株式会社）
12:20〜12:50「**脳梗塞の再生医療**」
　　本望　修（札幌医科大学医学部 フロンティア医学研究所 神経再生医療学部門）
　　司会：**三浦哲嗣**（札幌医科大学医学部内科学第二講座）
12:50〜13:20「**震災時の血液供給について**」
　　池田久實（北海道赤十字血液センター）
　　司会：**堀之内宏久**（慶應義塾大学医学部呼吸器外科）

13:20〜13:30　休憩

13:30〜14:30　特別講演③
「**日本の人工酸素運搬体の歴史と現状**」
　　酒井宏水（早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所）
司会：**池田久實**（北海道赤十字血液センター）

14:30〜15:10　教育講演②
「**リポソームの組成とその組織親和性**」
　　宗　慶太郎（早稲田大学先端生命医科学センター）
司会：**小田切優樹**（崇城大学薬学部薬物動態学研究室）

15:10〜15:20　休憩

15:20〜16:35　一般演題③
司会：**藤原満博**（北海道赤十字血液センター研究部）
1.「**マウス及びラットにおける血小板代替物（H12（ADP）リポソーム）の体内動態評価**」
　　氏平隼人（熊本大学大学院薬学教育部）
2.「**急性血小板減少病態におけるH12（ADP）リポソームの臓器出血部位への集積と止血制御効果**」
　　萩沢康介（防衛医科大学校生理学講座）
3.「**ミオグロビンによる人工酸素運搬体創成にむけた非平面性ヘムの導入**」
　　根矢三郎（千葉大院・薬）
4.「**リポソーム封入ヘモグロビンによる癌の放射線治療および化学療法に対する増強効果**」
　　村山千恵子（東海大学医学部）
5.「**微小血管内における人工赤血球動態に関する流体シミュレーション**」
　　百武　徹（横浜国立大学大学院工学研究院）

16:35　　閉会の辞

特別講演①

まれな血液型およびHLAタイプ患者のためのiPS細胞技術を用いた新しい輸血システム開発

江藤浩之

京都大学iPS細胞研究所

iPS細胞技術の登場は，革新的な医療を発展させる土壌を提供し，我々の研究分野である血液領域においてもこの細胞をどのように有効利用すべきかの議論が日夜繰り広げられている．

不特定多数のドナー由来献血に依存している輸血療法には，スクリーニング技術の改良にも関わらず未だにウイルス等の混入があり，ドナーの急激な減少やドナー側に生じる献血後の障害なども考慮した場合，献血に依存しない安全かつ安定的な新規の輸血システムを構築する必要性がある．均一なソースかつ大量に準備できる点からESおよびiPS細胞などの多能性幹細胞はそのソースとして非常に魅了的といえる．HLAタイピング毎に異なったドナー登録が成されている骨髄バンクと同様に，現在京都大学iPS細胞研究所が整備を進めている日本人のHLAタイプを網羅するiPS細胞バンクを利用する事で，iPS細胞から造血幹細胞，あるいは，多くの血液細胞が誘導できることになれば，免疫拒絶の無い血液疾患患者への治療に貢献できる．もちろん，繰り返し血小板輸血を受けなければならない患者のためにも有用である．他方，赤血球輸血においては非常にまれなタイプの血液型患者への輸血のためのドナー不足も最近問題になっている．

輸血システムの開発においては，こうした現況に対しては予めまれな血液型ドナーおよびHLAドナーの細胞を用いてiPS細胞を樹立し，さらにはこのiPS細胞から赤血球前駆細胞株や血小板産生のための巨核球細胞株を作製することでバンク化することも想定できる．このような考えに基づき，私たちはiPS細胞から血小板や赤血球を産生させる培養技術の開発を進めてきた．本学会では現在までの技術開発状況と今後の展望について紹介する．

特別講演②

地球大気の酸素の物語

角皆静男

北海道大学名誉教授

[誕生] 地球は，46億年前，太陽や他の惑星とともに星間塵からできた．この時，太陽の大気は水素とヘリウムからなり，地球の大気には酸素はなく，大部分が二酸化炭素で３％程度の窒素を含む，両隣の惑星，金星や火星と同様だった．この時を１月１日０時とし，現在を12月31日24時として，この間の地球大気の酸素の変遷を追ってみよう．

[天折期（３月１日以前から)] 実は，２月のうちに酸素は生まれていた．地球を融かし，大気，海洋，地殻，マントル，核に分けた熱が地球圏外へ放出されるにつれ，地表や海水の温度は下がり，生命活動の開始が可能となった．そして，38億年前（３月１日に相当）の堆積岩にシアノバクテリア（ラン藻）の化石が見つかった．この細菌は，太陽光が届く浅い海に生息し，酸素をつくっていた．つまり，これが地球に残された生命活動の最古の記録である．しかし，できた酸素は直ちに回りの還元物質の酸化に使われ，海水に残らなかった．その還元物質は硫化物イオンや２価の鉄，第１鉄イオンであった．

[少年期（６月14日頃から)] 地球史の半分が過ぎようとする頃，やっと周りの海水に酸素（O_2）が残り始めた．海水中濃度とその増加速度は極めて小さなものであったが，酸素の存否で環境が一変し，生物種を変え，ストロマトライト（縞状炭酸塩岩）や鉄鉱石などを造った．現在，大気中には海水の約200倍量の酸素が存在し，その比率は同じだが，その濃度は低く，陸の生物は太陽からの紫外線に殺され，上陸できなかった．

[青年期（11月18日頃から古生代の急成長)] 11月半ばを過ぎると，大気に出た酸素が増え，それが太陽紫外線でオゾンになると，それがまたより強く紫外線を吸収するので，動植物の上陸が可能となり，浅瀬や陸に根を持った植物は大きくなり，光合成量が急増し，地圏の炭酸塩が化石燃料となる有機炭素と酸素ガスとが急増した．そして，古生代後期の石炭紀（12月初旬）には，大気の酸素はほぼ現在と同じ濃度21％になった．

[壮年期（12月12日頃から中生代)] 古生代が90％以上の海洋種と70％の地上動物が死に絶えた史上最大の大量絶滅で終わり，中生代になると，化石燃料の形成が止まったわけではないが，陸には大型の動物，恐竜などが現れたり，高濃度の大気酸素による活発な有機物の分解が起こったりした．

[熟年期（6600万年前，12月26日17時頃から新生代)] 20％を超える大気中の酸素濃度はほとんど変化しなかったが，大気の二酸化炭素濃度の減少が顕著となった．それを反映する海の底層水の水温は極大だった5500万年前から3600万年前，1400万年前，300万年前に2-3℃ずつ３段階で下がり，現在と同レベルの値になり，氷期－間氷期の周期的変動が始まった．ここ80万年間，10万年周期が卓越し，氷期の大気中二酸化炭素濃度は植物の生育にぎりぎりの0.018％だった．現在は0.028％の間氷期に相当するが，人間活動により0.04％を越え，昔の地球に戻りつつある．

特別講演③

日本の人工酸素運搬体の歴史と現状

酒井宏水

早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所

蓑島らは1950年代に完全合成系の人工酸素運搬体としてコバルト-ヒスチジン錯体を用い，晶質・膠質・栄養分も混合した「人工血液」の作成を試みた．パーフルオロカーボン（PFC）の液体の中で呼吸する写真がScience誌に掲載（Clarkら，1966）された後，旧ミドリ十字社がPFCを乳化したFluosol-DAを開発し，世界で初めて米国FDA認可（1990）を受けた（その後1993年に製造中止）．味の素社が開発したPEG修飾ピリドキサル化Hb（PHP）は，米国で臨床試験の実施許可（1992）が出た最初の修飾Hbである．土田らは合成ヘムを用いた新規化合物を次々と提案した．1977年にDjordjevichとMillerが初めて報告したLiposome-encapsulated Hb（LEH）は，日本で1980年代後半から構成分子や製法に改良が加えられ，現在に至っている．日本から常に新しい物質系が誕生し，常に世界的に注目されている．

1985年頃から厚生省血液研究事業として「期限切れ赤血球の有効利用」の観点から，Hbを用いる人工酸素運搬体の研究が開始された（血液製剤の規格および試験法に関する研究：主任：松橋 直）．1993年には厚生省血液研究事業として「代替血液製剤に関する研究班」（主任：関口 定美）が組織され，人工血液全般に関する調査研究が行われた．また同年，日本血液代替物学会が組織された．1997年から厚生科学研究費補助金（高度先端医療研究事業）として「人工血液」の研究が強力に推進されるようになり，血液の諸成分の代替物について各研究班に分かれ実現に向けた取組みが現在も進められている．わが国は薬害問題や阪神淡路大震災を経験し，血液製剤の安定供給を目指す方針が掲げられ，2002年 改正薬事法：衆議院厚生労働委員会決議（医薬品・医療機器の安全対策推進に関する件）には，「人工血液についてはその有効性及び安全性が確保されたものの製品化が促進されるよう，研究開発の促進をはかること」が明記された．他方，2003年にはNEDOもナノカプセル型人工酸素運搬体の開発を支援した．人工赤血球は従来の医薬品と比較して投与量が多く，製造法や安全性試験法についても新たな概念が必要であり，日本血液代替物学会でも指針を作製した．

欧米では製法が簡単な修飾Hb（分子内架橋・重合）の開発が主流で，臨床試験が進展した．しかし開発の過程でHbの副作用（赤血球構造の生理学的意義）が明らかになり，開発中断が相次いでいる．他方，新しいバイオベンチャーも現れており，実現への期待は今なお大きい．

日本には半世紀以上に及ぶ「人工血液」の輝かしい歴史がある．だが未だ十分な性能のものは実現していない．それでも人工赤血球が必要なことは明らかであり，研究者の叡智を結集し，また厚生労働省，日本赤十字社，その他関連機関と綿密に協議しまた協力を得て，早期実現をめざす必要がある．

教育講演①

臨床医から見たわが国の医薬品・医療機器審査の課題

岩本美智子

財団法人 東京都医療保健協会 練馬総合病院

わが国の医療現場で使用される医薬品や医療機器は厚労省の許認可を受けることが義務づけられている．今日ではこれらの許認可は制度化され，米国のアメリカ食品医薬品局（FDA），欧州の欧州医薬品審査庁（EMEA），わが国の（独）医薬品医療機器総合機構（PMDA）などが国民の健康と安全を守るための規制当局として機能している．元々は粗悪な食品や医薬品を監督する目的に始まったこの制度は，今日では国民の健康と安全を守るミッションを持つ規制当局として，医薬品や医療機器の規制に重要な役割を果たしている．

規制当局の歴史は比較的新しく，1930年に米国ではFDAが設立されており，欧州では1995年にはEMEAが業務を開始し，わが国では2004年（平成16年）にPMDAが設立されている．そして，今日では，多くの国々が消費者視線に立った医薬品や医療機器の規制を行っている．

米国FDAでは，医薬品や医療機器などの製品の安全性と有効性を保証することによって国民の健康と安全を守ることがFDAの責務であると宣言しており，わが国のPMDAも国民の健康と安全を守る理念を掲げている．そして更にわが国では，PMDA独自の理念として薬害被害にあった国民を救う救済業務が取り入れられている．これは世界に類を見ない優れた理念として，世界からも高く評価されている．

このように高い理念に支えられたPMDAであるが，その成果は内外ともに十分に期待に応えられているかどうかは疑問視されている．国内にあってはドラッグラグやデバイスラグの非難はPMDAに向けられ，PMDAの問題として認識されており，世界規制当局とのハーモナイゼーション（調和）という点においても調和の枠外に置かれる傾向にあるPMDAの現状から，日本の規制システムの在り方に問題が在るのではないかとも指摘されている．これらの問題はPMDAだけの問題であるのか，あるいは厚労省も含めた行政の在り方に問題があるのか，あるいは，医師たちを含めた医療機関の関わり方に問題があるのか，自らのPMDAでの審査経験に基づいて，これらの問題点と課題を探ってみたい．

内容：①PMDAの歴史，②PMDAの理念，③PMDA組織，④実際の審査過程，⑤PMDAの改革，⑥世界の規制当局とPMDAのかかわり，最後に⑦臨床医の役割について．

最後に，規制当局と臨床医の協力関係の重要性を述べ，積極的に臨床医がかかわることで，さまざまな曖昧な問題点が明らかになり，解決へ向けた大きな成果が生み出される可能性について述べたい．

教育講演②

リポソームの組成とその組織親和性

宗　慶太郎

早稲田大学先端生命医科学センター

リポソームは両親媒性分子が水中で自発的に形成する分子集合体の一種で，僅か 4 ～ 5 nm厚の分子二層膜で構成される閉鎖小胞構造を特徴としている．この小胞体は，タンパク質，遺伝子，治療薬，診断薬などの機能分子を安定に封入するのに充分なバリアー能を有し，生体に対する馴染みが良く，さらに代謝に優れていることなどから，有望な生体材料として期待されてきた．血液代替物の研究開発分野においても，リポソーム技術を駆使した人工赤血球や人工血小板が開発されている．

リポソームの膜構造，安定性，分子間相互作用，体内動態などその機能に反映される物性は，膜を構成している分子の組成である程度制御できる．特にリポソーム表面の分子組成はタンパク質や細胞など生体成分との相互作用に直接関与し，各種分子でリポソーム表面を修飾することで，生体成分と非特異的あるいは特異的に相互作用するリポソームが得られる．例えば，リポソーム表面をカチオン性分子で修飾することにより，核酸や細胞など負に帯電している生体成分との間に静電的な親和性が生じる．この親和性によりカチオン性リポソームを利用すれば核酸を細胞内に効率的に導入できるため，遺伝子治療への応用が検討されている．一方，アニオン性リポソームの非特異的な組織親和性は低いと考えられているが，細胞や脂肪の代謝においてアニオン成分を介した特異的な相互作用の関与が知られており，アニオン成分をリポソーム表面に配置することにより，その分子構造に応じて特異的な相互作用を生起させることができる．

リポソーム表面にリガンド分子を取り付けることで，そのリガンドに特異的なレセプター（受容体）を発現している細胞組織を標的化することもできる．他方，生体成分との相互作用を回避する目的では，ポリエチレングリコールが広く用いられている．ポリエチレングリコールで表面修飾したリポソームが長時間血中に留まる性質を利用して，血管漏出性の高いがん組織に受動的にリポソームを集積させることができる．更に，膜組成に工夫を加えることで，各種の物理的刺激（温度，pH，光など）に応答して内包物を放出する機能性リポソームの研究開発も進められている．このように，リポソームはその構成分子により比較的容易に機能修飾ができ，加えて様々な物質を内包できることから，今後も新しい展開が期待できる．本講演では，リポソームの組成とその組織親和性，更にそれらの特性を利用した応用展開について紹介したい．

シンポジウム①-1

カプセル型人工酸素運搬体の機能について－現状と課題－

金田伸一，石塚隆伸，森本克己，粕川博明

テルモ株式会社研究開発本部

ヘモグロビンを利用した人工酸素運搬体については，非カプセル型に関し，その安全性上の重大な問題点が指摘され，多くの開発が失敗したことを受け，カプセル型人工酸素運搬体に期待が持たれている．そこで，本発表では，カプセル型人工酸素運搬体について，その機能面，応用面を中心に，現状と課題を述べる．

カプセル型人工酸素運搬体の機能を規定する要件は，酸素運搬能力，体内（血中）動態であり，これを規定することにつながる要素としては，酸素運搬能とその持続性，また，その機能を臨床の場にて十分に発揮させるためには，適切な用法と用量の設定が重要である．

酸素親和性については，過去，長きに渡り議論が行われて来たが，現状では，結論は得られていないと理解している．カプセル型人工酸素運搬体が，実際に，生体内で酸素運搬に寄与し得ることは，既に，複数の病態，疾患モデルでの有効性から確認されている．しかしながら，酸素親和性については，明確な結論が得られてない理由は，酸素を必要とする病態やその際の組織の酸素要求の多様性にあるのではないかという観点から考察したい．

また，体内動態に関しては，カプセル表面へPEG等の親水性高分子を導入する表面修飾技術により，血中での安定性が向上し，より長時間の血中滞留性が得られるようになったが，依然，その血中での寿命は赤血球に比較し著しく短く，その特性と，限界も踏まえた用法の設定が必用と考えられる．

一方，我々は，先に，有効血中半減期という考え方を提言したが，単にカプセルの血中寿命の延長のみではなく，内封ヘモグロビンのメト化の進行を抑え，酸素運搬能の維持とあわせて考えることで，実態としての，カプセル型人工酸素運搬体の機能の維持について論ずることが出来ると考えられることから，この点について，これまでの取り組みと，課題を考察する．

さらに，臨床的にカプセル型人工酸素運搬体の機能を有用に発揮させるには，適正な用法，用量が設定される必要がある．従来検討されて来た，輸血代替物としての応用に関しては，輸血必要量からの用量設定が可能であるが，よりカプセル型人工酸素運搬体の特性を生かした，医薬品としての適用の場合，酸素要求量は必ずしも明確ではなく，適用する病態に即した動物実験からの推定により設定する必要があるが，そこにも課題が存在し，議論が必要である．

リポソーム化ヘモグロビンの臨床研究へ向けて　その品質保証（製造法，品質および安全性）のレギュラトリーサイエンスからの考察

山根恒彦[1]，山本尚志[1]，松田健作[1]，菊地武夫[1]，高野久輝[2]，小林紘一[3]

ニプロ株式会社[1]医薬品研究所，[2]総合研究所人工臓器開発センター，[3]慶應義塾大学医学部呼吸器外科学

赤血球より抽出したヘモグロビンを酸素運搬体として利用する試みは，すでに四半世紀近い研究の歴史がある．この試みにはヘモグロビンに種々の化学修飾を施す方法とリポソーム化（カプセル化）する方法の大きく二つの流れがある．前者は，ヘモグロビン自身の生理作用や化学修飾剤による免疫原性など毒性につながる要素を結局のところ分離し切れず，課題が残ったままであり1)，近年は後者のリポソーム化ヘモグロビンに対する期待が高まっている．

リポソーム化ヘモグロビンは，規制対象の医薬品としてみたとき，ヒト血液由来の製剤（特定生物由来製品）に該当すること，またリポソームに由来する脂質成分のかつて無い大量投与となることに特段の注意を要する．長期の実用化研究の間，血液製剤をめぐる環境や，生物製剤やバイオ医薬品に対する規制も技術面・制度面で大きく変化してきた．それでもなおこのリポソーム化ヘモグロビン製剤は，現行規制の枠組みに必ずしも想定されたものではない．したがってこの製剤の品質保証を考えるには，製剤の特徴を捉えて，現行規制を補完しつつ最新の技術動向をも含めて考察し，工程や管理方法などを構築する必要がある．

そこで．現行の規制2)，ガイドライン3)，血漿分画製剤の実例，さらに現行工程の実績を参考に，リポソーム化ヘモグロビン製剤への要求事項，品質保証全般について考察したのでいくつか紹介したい．

・ヘモグロビン精製工程の再現性は原料たる「赤血球製剤」の品質安定性に負う所が大きい．製剤保存期間の長短はヘモグロビン収率を左右し，これは最終精製品の品質にも影響しうる．したがって,赤血球の最初の処理工程はできるだけ早い段階に，工程サイズはできるだけ小さく，頻度を上げて行うことが必要である．反面，原料の長期貯留保管や，タンパク質の品質のロット間差縮小のためにもロット規模の大型化も求められる．これらを整合させた精製工程設計がポイントとなる．
・リポソーム製剤は一般に微生物学的な品質保証が困難とされている．これは製造方法の課題だけでなく，通常の無菌試験，エンドトキシン試験が適用できない場合が多いことによる．この製剤もその品質保証のためには，原料の無菌化－閉鎖系無菌プロセスの構築－新しい試験方法の適用―工程内管理項目の充実などの組み合わせによる製造および品質管理が必要となる．

これらの検討経験を中心に現段階での製造可能な治験薬の品質安定性および安全性について概要と課題を紹介する．

なお，本研究は厚生労働省科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）を受けて実施したものである．

1）FDA，Public Workshop: Safety of Hemoglobin-Based Oxygen Carriers (HBOCs),2008
（http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/NewsEvents/WorkshopsMeetingsConferences/ucm091975.htm）
2）（日本の省令・基準など）
・生物由来原料基準（厚生労働省告示第210号）
・医薬品GMP第4節（厚生労働省令第179号）
・原薬GMP（医薬発第1200号，ICHガイドラインQ7）
・「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針（改訂版）」（H22年厚生労働省研究班）　など
3）（米国FDAのGuidance for Industry いずれも現時点でドラフト）
・Criteria for Safety and Efficacy Evaluation of Oxygen Therapeutics as Red Blood Cell Substitutes
・Liposome Drug Products（Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation）

LEHの輸血医療への期待

東　寛

旭川医科大学小児科学講座

我が国で開発されている人工酸素運搬体は，脂質二重膜にヒトhemoglobinが包埋されているもので，その構造から細胞型人工酸素運搬体とも言われている．その酸素運搬能は本来の赤血球に匹敵し，優れた生体適合性についても，様々な角度から実証されている．今後，LEHが輸血医療の中に導入されることを我々は期待する訳であるが，いかなる局面でLEHが使用されることが期待できるかを改めて考えてみたい．

アロ赤血球の有効期限は21日，血液型一致が原則，輸血感染症のリスクはゼロではない．これに対し，LEHの有効期限は1 - 2年で室温保存が可能，血液型が無いので誰にでも即投与可能，製造工程でウイルスは不活化されている，など，アロ赤血球の持つ問題点はクリアされていると思われる．また，アロ赤血球輸血では，輸血副作用が一定の頻度で発生しているが，LEHを使用すればこの発症も回避することができると思われる．一方，アロ赤血球とLEHの決定的な違いはその半減期であり，前者の生理学的半減期が約100日に対して，ヒトでのLEHの半減期は2日前後と推定されている．このことから，慢性の貧血を改善する為のLEHの使用はあまり期待できないことがわかる．もし頻回に使用すれば，急速にヘモジデローシスが進行するであろう．従って，LEHの導入が期待できるのは以下に述べるような局面になると予想される．

1）まず，交通事故，災害時における救急医療現場での救命を目的とした赤血球代替物としての使用がある．また，術場においても，急速に大量の出血が起こったために，アロ赤血球を準備し，輸血を開始する前に致死的な状況に陥ってしまうことがある．LEHの急速輸注，大量投与が可能であれば，このような不測の事態に迅速に対処することができると期待される．

2）いわゆる体外循環を行うECMOを新生児等に行う場合にはdead spaceの充填が必要である．アロ血液の代わりにLEHをその充填に使用できる可能性がある．

3）血液センターでは稀な血液型を凍結保存してあり，必要に応じて解凍赤血球として供給している．LEHはこの稀な赤血球の代替になりうる．

4）安全な血液の安定供給という血液事業の使命からLEHを見ることも必要である．集約化が進み，病院への緊急配送に時間がかかることを解決するために，病院の近くに供給基地を設置する案が出ている．しかしながら，LEHが医療に導入されれば，本来のアロ赤血球が届くまでに数時間の猶予ができると予想される．離島への血液供給についても，同様に考えられる．従って，LEHの導入は，輸血用血液の供給システムの構築に大きな影響をもたらすことが期待できる．

5）Buerger病や心筋梗塞等では，血管の狭窄（閉塞）による末梢あるいは局所の虚血，還流障害が起こる．こういった場合に，赤血球よりはるかに小さいLEHが，赤血球が到達できない部位に酸素を供給し，虚血状態を改善（酸素分圧を高める）することは十分に期待できる．すなわち，今後，輸血医療の範囲を越えて，LEHが酸素運搬体薬として臨床で使用されることも大いに期待される．

微小循環と酸素運搬体　酸素治療への展望

堀之内宏久*，佐々木信彦¶，山本尚志∫，小松晃之◇，山崎真敬†，饗庭　了†，富田　裕§，泉　陽太郎*，山本　学*，勢司泰久*，酒井宏水**，小林紘一*

慶應義塾大学医学部呼吸器外科*，同心臓血管外科†，同神経内科§，慶應義塾大学理工学部¶，ニプロ㈱医薬品研究所∫，中央大学理工学部◇，早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所**

組織への酸素供給に微小循環が果たす役割は重要である．さらに酸素供給の変化による虚血，あるいは低酸素環境が病態を決定している疾患も多い．低酸素環境あるいは虚血領域における組織の酸素化を効率よく行うことにより虚血性疾患や悪性腫瘍などに対する治療法が開発できると考えられる．微小循環での酸素移動を解明することは，酸素治療薬を開発する上でも重要である．われわれは細動脈での酸素拡散に着目し，細動脈における酸素拡散と，血管壁の酸素消費について検討した．そして人工酸素運搬体を投与した際にどのように変化するかを明らかにした．

方法：マウスの背部にSkinfold Window Chamberを設置し，内径40～80μmの細動脈を選び，血管内外の酸素分圧の変化をPd-coproporphilinの燐光の減衰より測定し，壁の酸素拡散係数，酸素消費率を求め，酸素運搬体を投与した際の変化について検討した．酸素治療への応用に関しては腫瘍の酸素加による放射線照射の抗腫瘍効果の増強をアルブミンヘムおよびHbVで検討し，実験的脳虚血に対する効果を頭蓋Window chamberで検討した．

結果：正常時の細動脈の酸素拡散係数は8.88+/-3.13x10^{-11}（cm^2/s）（ml O_2・cm^{-3} tissue・mmHg^{-1}），酸素消費率は1.13+/-0.61（ml O_2/100cm^3 tissue/min）であった．Hb溶液（8.6 g/dl）を循環血液量の20％Top loadした際には細動脈の酸素拡散係数は12.53+/-10.85x10-11（cm^2/s）（ml O_2・cm^{-3} tissue・mmHg^{-1}）と低下傾向（酸素透過性が減少）を示したが，有意差は認められなかった．HbV（10g/dl，生食分散）を投与したところ，細動脈径には著しい変化を認めず，酸素拡散係数は8.45+/-3.51x10^{-11}（cm^2/s）（ml O_2・cm^{-3} tissue・mmHg^{-1}）と明らかな変化をきたさなかった．酸素消費は1.33+/-0.88（ml O_2/100cm^3 tissue/min）の上昇傾向を示したが，有意差を認めなかった．人工酸素運搬体の投与により細動脈領域での酸素運搬に大きな変化を起こさないことが明らかとなった．

考察：皮下細動脈を含む微小循環での酸素運搬はHbVにより変化せず，投与した酸素運搬体も組織へ酸素を運搬することが明らかとなった．腫瘍に対する酸素加は，アルブミンヘム，HbVによって明らかとされ，放射線照射の治療効果増強が得られることを報告した．脳虚血に関しては虚血部の酸素分圧を上昇させることをマウスで証明し，今後，遠隔期の虚血部の縮小に対する検討を行う必要がある．このほか，体外循環時のHbV投与による高次脳機能の改善，虚血心筋の保護効果につき検討しており，酸素治療薬としての開発を行うことにより，新たな付加価値を創造できると考えられる．

シンポジウム②-1

虚血再灌流による心筋細胞障害の分子病態

三木隆幸，丹野雅也，三浦哲嗣

札幌医科大学医学部内科学第二講座

急性心筋梗塞は再灌流療法の進歩により急性期死亡は低下したが，慢性期の心室リモデリングや心不全発症が依然として問題となっている．心不全発症の予防にはACE阻害薬やアンギオテンシン受容体拮抗薬，β遮断薬の有用性が確立されているが，心不全患者の予後はこれらの治療によっても不良であり，心不全の予防・治療は循環器領域において克服すべき大きな問題の一つである．梗塞後心不全の予後は心筋梗塞サイズに大きく規定されており，梗塞発症の際に，虚血再灌流障害をいかに抑制させるかが基本的に重要である．

虚血再灌流による細胞死の機序として，酸素供給途絶による細胞内ATPの枯渇，細胞質およびミトコンドリアのカルシウム過負荷，細胞膜の破綻に加え，再灌流時のミトコンドリア透過性遷移の開口が重要な役割を担っている．

一方，心筋には先行する短時間虚血がその後の虚血耐性の増強をもたらす内因性の保護機構（プレコンディショニング）があることが知られている．その機序として，PKC，PI3K-Akt，ERKなどのシグナル活性化がglycogen synthase kinase（GSK）-3βのリン酸化（不活性化）をもたらし，ミトコンドリア透過性遷移の開口閾値を上昇させることが重要と考えられている．最近はプレコンディショニング効果をもたらす薬剤の開発や再灌流時に起動することのできる保護機構（ポストコンディショニング）の研究も進められている．

しかしその一方で，これら内因性の心筋保護機構が糖尿病や高血圧といった病態により修飾されていることが明らかとなった．我々は，糖尿病心では小胞体ストレスならびにカルシニューリン活性の上昇が，GSK-3βのリン酸化に至るシグナル伝達を阻害し，エリスロポエチンによる心筋保護機構が破綻していることを見出した．さらに，高血圧性肥大心ではGSK-3βリン酸化に至るシグナルには異常がないものの，ミトコンドリア透過性遷移の開口調節蛋白の結合に障害があることも見出した．このように病的心筋では内因性心筋保護機構が破綻しているが，その障害部位は病態により異なっていると考えられる．

本シンポジウムでは，虚血再灌流による心筋細胞障害の機序ならびに内因性の心筋保護機構に関する教室の研究成績を紹介し，臨床応用における課題を提示する．

Liposome-Encapsulated Hemoglobin Alleviates Hearing Loss After Transient Cochlear Ischemia and Reperfusion in the Gerbil

Masahiro Okada[1], Akira T. Kawaguchi[2], Nobuhiro Hakuba[1], Shoichiro Takeda[1], Jun Hyodo[1], Naohito Hato[1], Kiyofumi Gyo[1]

[1]Ehime University Graduate School of Medicine, [2]Tokai University

To test liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) in transient cochlear ischemia/reperfusion as a model of sudden deafness, Mongolian gerbils were randomly assigned to receive 2 ml/kg of either low-affinity LEH (l-LEH, $P_{50}O_2$=40 mmHg), high-affinity LEH (h-LEH, $P_{50}O_2$=10 mmHg), homologous red blood cells (RBCs), or saline (each group n=6) 30 min before 15-min occlusion of the bilateral vertebral arteries and reperfusion. Sequential changes in hearing were assessed by auditory brain response 1, 4, and 7 days after ischemia/reperfusion, when the animals were sacrificed for pathological studies. h-LEH was significantly more protective than l-LEH in suppressing hearing loss, in contrast to RBC- or saline-treatment, at 8, 16 and 32 kHz, where hearing loss was most severe (Figure 1, $P<0.05$ between any two groups) on the first day after cochlear ischemia/reperfusion. Thereafter, hearing loss improved gradually in all groups, with a significant difference among groups up to 7 days, when morphological studies revealed that the inner hair cells (Figure 2, arrows), but not the outer hair cells, were significantly lost in the groups in the same order. The results suggest that pretreatment with h-LEH is significantly more protective than l-LEH in mitigating hearing loss and underlying pathological damage, in contrast to transfusion or saline infusion 7 days after transient cochlear ischemia/reperfusion.

Figure 1. Auditory Brain Responses

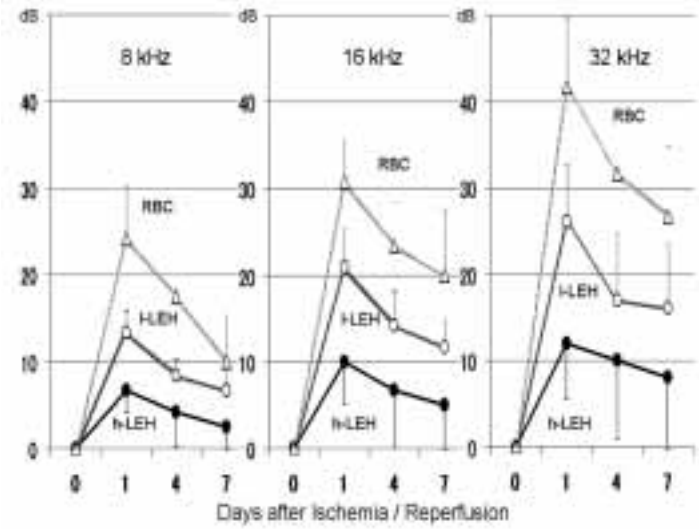
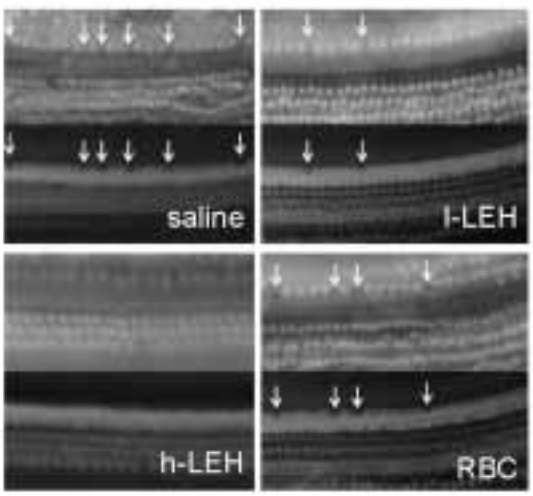


Figure 2. Inner Hair Cells



虚血再潅流障害に対するヘモグロビン小胞体の心機能保護効果

中島　淳，別所基明，浜　御幸，足立　健，大鈴文孝

防衛医科大学校　内科1

【目的】我々は，ラットの摘出心臓をランゲンドルフ潅流する方法を用いて，ヘモグロビン小胞体（HbV）が虚血-再潅流時の心機能を有意に回復させることを明らかにしてきた．本研究では，心筋組織や潅流液の各種酸化指標を測定することでHbVによる心機能保護効果の機序を検討した．
【方法】9-12週齢のWistar系雄性ラットにヘパリン1000Uを腹腔内投与し，pentobarbital 60mg/Kgを腹腔内投与して麻酔した．心臓を取り出し，Krebs-Henseleit buffer （KH-buffer）を用いて静水圧100 cmH_2O，37℃でランゲンドルフ潅流した．左心室にラテックスバルーンを挿入し，圧トランスデューサーを介して，心機能を連続的に記録した．NO合成阻害薬としてN^G-nitro-L-arginine methyl ester（L-NAME）を用いた．HbVはHb濃度が0.33g/dLになるようにKH-bufferで希釈・懸濁し，L-NAMEは100μMでKH-bufferに溶解させ，37℃に加温して95％O_2＋5％CO_2混合ガスを通気した．約20分間KH-bufferでcontrol潅流を行った後，対照群，HbV群，L-NAME群（各群n＝6）に分けて以下の実験を行った．対照群では，control潅流の後，虚血25分-再潅流30分の処置を施した．HbV群，L-NAME群では，虚血25分-再潅流30分処置の前に，それぞれの懸濁液と溶解液を10分間潅流した．潅流液（5分毎に採取）と再潅流後の心筋は測定まで-80℃で保管した．
【結果】①HbV群とL-NAME群では，対照群に比して有意に再潅流後の左室発生圧の回復が認められた．また両群で対照群に比して有意に再潅流後の左室拡張末期圧が低かった．②HbV群とL-NAME群では，対照群に比して有意に再潅流後の心筋組織中の酸化型グルタチオンが低値であった．また両群では対照群に比して有意に還元型と酸化型グルタチオンの比（GSH/GSSG）が高値であった．③心筋組織の酸化型グルタチオン値と再潅流後の左室発生圧，左室拡張末期圧はそれぞれ負，正の相関関係があった．④BIAM法により心筋蛋白の酸化の程度を評価したところ，HbV群とL-NAME群では酸化の程度は軽度であった．
【結語】HbVは虚血再潅流において，酸化ストレスを軽減することで再潅流後の心機能を保護すると考えられた．

シンポジウム②-4

臨床肺移植における虚血再灌流障害及び重症移植肺不全について

安樂真樹，堀之内宏久，後藤太一郎，大塚　崇，河野光智，野守裕明

慶應義塾大学医学部呼吸器外科

昨年の臓器移植法改正以降我が国でも脳死肺移植件数は増加している．臓器移植後の血液再灌流による移植片障害は，移植周術期だけでなく，長期的な患者予後にも影響を与える重要な因子であることは知られている．また，重症再灌流障害～移植肺不全はbronchiolitis obliterans syndrome（気管支閉塞性の肺障害症候群で，肺機能検査における一秒量の低下で知られる）と有意な相関を認めることが今までの予後解析で分かっている．

しかし再灌流障害に引き続く移植肺不全の機序や病態は，ドナー因子，レシピエント因子，手術など手技による因子，またドナー・レシピエント両者の免疫学的反応など，複数，複合的要素に因るため，いろいろの角度から研究されているのが現状である．
移植肺不全の発症予測（どのようなドナー肺がそれを引き起こすのか，どのような状態のレシピエントに発症しやすいのか，どのようなドナーとレシピエントの組み合わせが引き起こすのか等），発症予防（再灌流障害の診断後，どの時点で，何をすれば良いか），発症後の対処（いかに慢性移植肺拒絶への移行を防ぐか，もしくは移植肺の良好な状態をいかに長く保つか，等）など，解決すべき問題は多い．

筆者はカナダ・トロント病院において臨床肺移植に携わる一方で，多数のドナー肺のサンプルを用いてmessenger RNAの発現解析を行い，その発現パターンと移植後の重症再灌流障害～移植肺不全の関連を調べる機会を得たので結果を報告する．また結果に基づき，重症移植片再灌流障害軽減や予防につながる研究の今後の展開について，人工赤血球を用いた移植片保護の可能性を交えて論じたい．

一般演題①-1

致死性低ヘモグロビン血症時の重要臓器でのHIF-1α蛋白発現と人工酸素運搬体投与による臓器の低酸素改善効果

木下　学[1]，野上弥志郎[2]，高瀬凡平[3]，庄野　聡[4]，西川可穂子[5]，萩沢康介[6]，石原雅之[7]，斎藤大蔵[8]，関　修司[1]

[1]防衛医科大学校免疫微生物，[2]外科，[3]集中治療部，[4]防衛医学，[5]救急部，[6]生理学，[7]防衛医学研究センター医療工学研究部門，[8]外傷研究部門

Vital organにおける細胞レベルでの低酸素状態は，出血性ショック時の臓器不全の根本的な原因となる．Hypoxia inducible factor-1α（HIF-1α）は細胞が低酸素環境下に曝されると，これに適応しようとして誘導される蛋白で転写因子として働くことが知られているが，細胞レベルでの低酸素状態のよい指標ともなる．ラットの血液の95％を5％albumin（Alb）で置換することで致死的な低ヘモグロビン（Hb）血症を作成し，重要臓器でのHIF-1α発現と臓器障害の程度を洗浄赤血球やHb内包化リポゾーム（Hb-liposome）の輸血と比較した．

【方法】ラットの大腿動脈より0.2mL/minでの脱血と大腿静脈より等量の5％Albもしくは洗浄赤血球（RBC）やHb-liposome（共にHbは6g/dL）の投与を150分間行った．

【結果】血液交換終了後，Alb群はHbが平均2.1g/dLで全例が死亡し，RBC群，Hb-liposome群はHbが共に6.0g/dLで各々100％，75％が生存した．Alb群では乳酸値が130mg/mL，pH7.3，Base excess -18mmol/Lと著明なアシドーシスを呈し血中epinephrine，norepinephrine値も著増したが，RBC群，Hb-liposome群では共に顕著な変化を認めなかった．腎臓に関してはAlb群でクレアチニン値の上昇と，近位尿細管の急性尿細管壊死，HIF-1αの強発現が認められたが，他群でこのような変化はなかった．心臓に関してもAlb群で心拍出量が極端に低下し心筋虚血マーカーであるH-FABPが著増，心筋組織にHIF-1αの発現を認めたが，他群では認めなかった．肝臓に関してはAlb群でもALT，AST値の上昇はなかったが，他群と比べ組織学的に中心静脈周囲の肝細胞に著明な空胞変性とHIF-1αの発現を認めた．一方，肺に関してはAlb群では顕著な障害を認めなかったが，RBC群，Hb-liposome群共にBALF中蛋白濃度や，湿乾重量比，AaDO2の増加を認め，組織学的にもうっ血水腫を呈していた．

【結語】血液希釈による致死的な低Hb血症を実験的に作成すると，腎臓や心臓でHIF-1αの発現を伴う臓器障害が認められた．肝臓では中心静脈周囲の障害が著しかったが，肺では顕著な障害を認めなかった．RBCやHb-liposomeによるHbの補充で低酸素時のHIF-1αの発現を含めた変化や障害は回避された．

肺切除周術期出血モデルでのヘモグロビン小胞体投与の効果と安全性の検討

河野光智，堀之内宏久，野守裕明，小林紘一

慶應義塾大学医学部呼吸器外科

【背景】人工酸素運搬体として開発されたヘモグロビン小胞体（HbV）はヘモグロビンを内包させたリポソームで，期限切れ輸血用ヒト赤血球よりヘモグロビンを抽出，精製，ウィルス不活化を行ったのち，リポソームに内包，膜表面をPEG修飾して粒径を250nm，P50は32Torrに調製した粒子である．血液中で酸素運搬体として機能することは，ラットやビーグルにおける交換輸血試験で確認され，90％の脱血交換試験でも生存が可能であった．出血性ショックの蘇生に用いた場合も良好な成績が得らている．また，手術中の出血に対する投与により，輸血の回避が可能となると期待されている．
【目的】肺切除術中に大量出血する動物モデルとして，マウスに大量の交換輸血を行い，同時に左肺全摘術を行うモデルを作成した．HbV投与の有効性と安全性，血中及び肺胞洗浄液中のサイトカイン濃度の変化に及ぼす影響を検討した．
【方法】C57BL/6マウスを麻酔後，頚動脈にカテーテルを挿入し，試料溶液で循環血液量の40％を交換する．人工呼吸器下に左開胸し，左肺全摘術を施行する．輸血，輸液を替え以下の4群を作成する．（1）Lactate Ringer溶液（LR）群，（2）5％アルブミン生食液（rHSA）群：25％リコンビナントヒトアルブミンを生理的食塩水に5％濃度となるよう溶解した液体，（3）マウス保存血液（sRBC群）：マウス洗浄赤血球を生理的食塩水に再分させHb濃度を8.6g/dlに調整した液体，（4）ヘモグロビン小胞体分散液（HbV群）：Hb小胞体を5％アルブミンに分散した液体．Hb濃度は8.6g/dlに調整する．術後7日目まで観察を行い，血中及び肺胞洗浄液中のサイトカイン測定を行った．
【結果】LR群は術後1日で全例が死亡した．rHSA群は7日目の生存率が50％であったのに対し，sRBC群とHbV群では全例が生存した．術後2，3，4日目はsRBC群とHbV群ではrHSA群と比較して摂食量が多い傾向にあった．また，rHSA群では術後3日目に体重が最低となったが，sRBC群やHbV群では減少率が低く，回復が早い傾向を認めた．TNF-αをはじめとする炎症性サイトカイン濃度は，HbV群とsRBC群とで同等であった．
【考察】HbVによる40％交換輸液では，肺全摘術後にマウス保存血の輸血と同等の生存率が得られた．左肺全摘による酸素化能低下状態でHbVが有効に機能したと考えられる．また，術後の体重減少および回復，食事摂取量の回復もHbV投与後とsRBC投与後とでは差は認められなかった．体重変化と摂食量による検討では外科的侵襲からの回復過程に深刻な影響を与えず，明らかな炎症の惹起も認められなかった．HbV投与は肺切除手術での出血においても有効であると考えられた．

一般演題①-3

ラット制御継続出血ショックモデルを用いた生理食塩液分散ヘモグロビン小胞体（Hb-vesicle）の検討

勢司泰久[1]，堀之内宏久[1]，酒井宏水[2]，小林紘一[1]

[1]慶應義塾大学医学部呼吸器外科，[2]早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所

【目的】これまで我々のグループでは，様々な動物モデルを用いてHb-vesicleの効果を検討してきた．しかし，その多くはアルブミンあるいはヒドロキシエチルスターチ等の膠質成分との併用であった．そこで今回は晶質液分散Hb-vesicleの効果を検討した．
【方法】輸液検体としてHb-vesicle生食分散液（HbV）の他，対照として洗浄赤血球生食分散液（wRBC）及び生理食塩液（Sal）を用意した．Wistar系ラット（雄性，8 - 9 週齢）を用いて制御継続出血ショックモデルを作製し，総出血量に対して 3 倍量を輸液した．即ち，頸動脈より28mL/kg/hrの脱血を2hr（＝循環量100%出血）行い，脱血1hr経過時点（＝循環量50%出血）で尾静脈より各輸液検体を56mL/kg/hrで1hr（＝循環量100%輸液）注入した．更に，脱血完了と同時に輸液検体を生理食塩液と交換し，56mL/kg/hrで2hr（＝循環量200％輸液）注入した．輸液蘇生完了後はセボフルレン麻酔下で1hr安静を保った．その後覚醒させ，蘇生開始後24hrまで観察測定を行った．
【結果】Sal群の多くが覚醒以前に死亡したが，HbV及びwRBC群の多くが蘇生開始後24hr以上生存した．ヘマトクリット値（Ht）では，循環量50％脱血によって各群ともHtが約30％まで低下した．その後，HbV及びSal群は脱血継続及び輸液による稀釈で更に低下し，300％輸液蘇生完了時にはHtが約12％に達した．wRBC群は赤血球供給により上昇に転じたが，生理食塩液に交換した後は低下傾向を示した．血圧推移では，Sal群は蘇生開始後も血圧上昇はほとんど認められなかったが，HbV及びwRBC群では上昇し，輸液剤交換後もSal群より高値を維持した．血中乳酸値では，50％脱血により各群とも5-6mmol/L程度まで増加した．Sal群では輸液蘇生200％までは著しく上昇したが，その後，低下傾向に転じた．HbV及びwRBC群では蘇生開始後は低下傾向に転じたが，HbV群ではHbV投与終了時（＝循環量100％輸液）及び覚醒観察終盤に上昇傾向を示した．
【考察】本モデルの様な大量出血，大量投与下では，Htが12％まで低下するなど，血液稀釈が進行する為，生理食塩液のみでは生命維持は困難であった．しかし，HbV及びwRBCなど酸素運搬体を含む輸液では，膠質液成分を含まなくても初期の昇圧及び乳酸値抑制などの効果が認められ，酸素供給の重要性が改めて示された．

一般演題①-4

ヘモグロビン小胞体のラット免疫能への影響―遺伝子発現プロファイルの解析―

藤原満博[1]，東　寛[1]，大橋乃理子[1]，酒井宏水[2]，堀之内宏久[3]，小林紘一[3]，池田久實[1]

[1]北海道赤十字血液センター，[2]早稲田大学総合研究機構バイオサイエンス連携研究所，[3]慶応義塾大学医学部呼吸器外科

【目的】ヘモグロビン小胞体（HbV）を投与したラット脾細胞においては，非特異的刺激（concanavalin A; ConA）のみならずkeyhole limpet hemocyaninを用いた抗原特異的刺激においても，in vitroでの増殖応答が一過性に抑制されることをみいだしている．また，この抑制作用に，大量投与されたHbVを貪食する脾臓の未熟なマクロファージが関与していることを明らかとしている．そこでこの増殖抑制の機序をさらに理解するために，遺伝子発現プロファイルの解析を試みた．
【方法】今回の検討ではマクロファージまたはリンパ球に単離せず，脾細胞全体を対象とした．HbVまたはSalineを投与したWKAHラットから，16時間後に脾臓を摘出した．脾細胞を分離調製後，ConA（0.3ug/ml）存在下で培養し，2日または3日間後に細胞を回収した．RNeasy mini Kit（QIAGEN）によりRNAを抽出後，Low Input Quick Amp Labeling Kit（Agilent Technologies）を用い，cDNAの合成，cRNAのラベルと増幅をおこなった．ラベルしたcRNAをマイクロアレイ（whole rat, 44,000 gene, Agilent Technologies）にアプライし，ハイブリダイゼーションをおこなった．マイクロアレイの洗浄と乾燥後，Agilent Technologies Microarray Scannerを用いてスキャンした．得られた数値化データは，グローバルノーマライゼイションによってアレイ間の補正をおこなった．HbV投与脾細胞でConA刺激したものと，Saline投与脾細胞でConA刺激したものとを比較し，2倍以上あるいは1/2倍以下の発現量の差がみとめられた場合を有意とした．
【結果】HbVを投与したラットの脾細胞をCon A刺激した場合，Salineを投与したラットの脾細胞をConA刺激したものに比べ，54遺伝子において，ConA刺激2日および3日のいずれにおいても2倍以上の発現がみられた．その内訳は補体（5遺伝子），代謝酵素（20遺伝子），レクチン（4遺伝子），ケモカイン・サイトカイン・可溶性タンパク（8遺伝子），膜タンパク（11遺伝子），その他（6遺伝子）であった．一方，ConA刺激後3日目において特徴的な変化として，細胞周期，細胞分裂，細胞増殖に関わるタンパクをコードする遺伝子群の発現低下がみられた．その中には細胞周期に関わるCyclin familyタンパクやキナーゼが含まれていた．
【考察】HbV投与群の脾細胞ではSaline投与群に比べ，代謝酵素であるapolipoprotein Eやヘムの異化作用に関わるHeme oxygenaseの発現の増加がみられたが，これらの酵素の増加は，HbV投与と関連していると考えられる．また，各種補体系のタンパクの発現上昇が一つの特徴として認められたが，これらはマクロファージ系の細胞において産生されていると推察される．一方，HbV投与群の脾細胞でConA刺激後，細胞周期に係るCyclin familyタンパク，細胞分裂や細胞増殖に関与するタンパクやリン酸化酵素の有意な発現低下がみられることから，遺伝子プロファイルの結果からも細胞増殖抑制の状態になっていることが示された．これらの結果は，HbV投与した脾細胞におけるConA応答が著しく抑制するという我々のこれまでの結果と符合するものである．

Liposome-Encapsulated Hemoglobin Ameliorates Ischemic Stroke in Nonhuman Primates - Longitudinal Observation -

Akira T. Kawaguchi[1], Munetaka Haida[1], Hiroyuki Ohba[2], Mariko Yamano[3], Dai Fukumoto[2], Hiroyuki Furuya[1], Hideo Tsukada[2]

[1]Tokai University, [2]Hamamatsu Photonics, [3]Osaka Prefecture University

Although liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) is beneficial early after cerebral ischemia, it is not clear if the benefits persist beyond the acute phase of ischemia and reperfusion. Ten monkeys underwent middle cerebral artery occlusion and received LEH (2 mL/kg, n=5) or saline (n=5) five minutes later, and reperfusion 3 hours later. Studies using positron emission tomography (PET) with steady-state ^{15}O-gas inhalation were repeated for cerebral metabolic rate of O_2 ($CMRO_2$) and glucose (CMRglc) up to 8 days after reperfusion, when animals were sacrificed for morphological studies. There was no significant difference in O_2 metabolism until 3 hours after reperfusion, when $CMRO_2$ was significantly better preserved in the cortex, but not in basal ganglia, on Day 0 in the LEH-treated animals. Eight days later (Figure 1), the extents of cortical infarction (saline 34.4 ± 9.5%, LEH 15.4 ± 3.1%, $P<0.05$), cortical mild $CMRO_2$ reduction (Figure 2, 71-100%, $*P<0.05$) and cortical mild CMRglc reduction (71-100%, $*P<0.05$) were all attenuated with regained body weight (saline -7.3 ± 1.9%, LEH -3.3 ± 2.8%, $P<0.05$) in LEH-treated monkeys. Somatic weight control, histopathological damage, cortical $CMRO_2$, and CMRglc were better preserved immediately, and 8 days after occlusion and reperfusion of the middle cerebral artery in monkeys receiving LEH early after onset of ischemia.

Figure 1. PET images 8 days

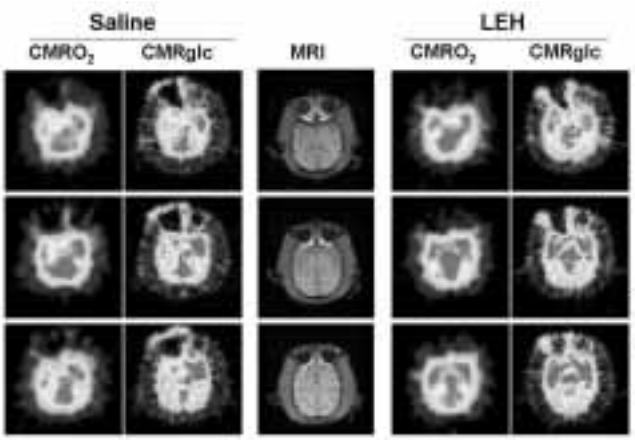
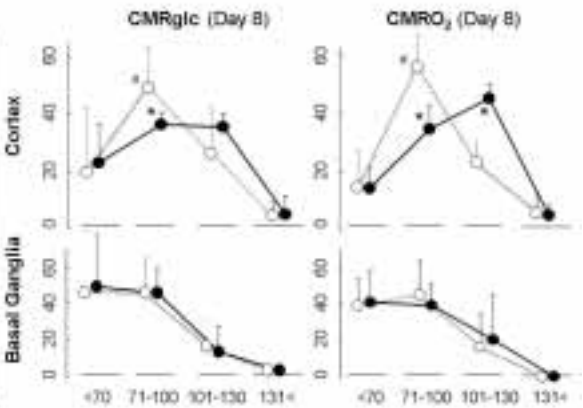


Figure 2. CMRglc and $CMRO_2$



Effect of Liposome-Encapsulated Hemoglobin on Antigen-Presenting Cells in Mice

Junko Aokawa, Akira T. Kawaguchi, Yuko Yamada, Fumiaki Yoshiba, Shunichi Kato, Yoshie Kametani

Tokai University School of Medicine

Liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) is removed from the circulation and degraded in the reticuloendothelial system, including dendritic cells (DCs) and macrophages. Therefore, LEH at a large dose may overload the system, cause a competitive inhibition in antigen-presenting activity, and impair the immune response of the host. Changes in cellularity of immunocompetent cells were monitored serially up to 4 weeks by flow-cytometry in wild-type mice receiving 20 mL/kg of LEH, syngeneic red blood cells (RBCs) or saline. DCs were collected from the host spleen 1, 7, and 28 days after receiving the solution, and were co-cultured with naïve CD4 T cells from T cell receptor transgenic mice in the absence or presence of third-party antigens (Figure Left). After LEH administration, the cellularity of DCs and macrophages in the recipient spleen remained unchanged from control mice receiving RBCs or saline. While subset populations and co-stimulatory molecule expressions were different, DCs from LEH-administered mice expressed high levels of IL-2 production and helper T cell activation in response to a third-party antigen and superantigens, as did the DCs from control mice receiving RBCs or saline (Figure Right). The results suggest that 20 mL/kg of LEH does not greatly alter antigen-presenting activity to third-party antigens.

Fig 1. Experimental Protocol

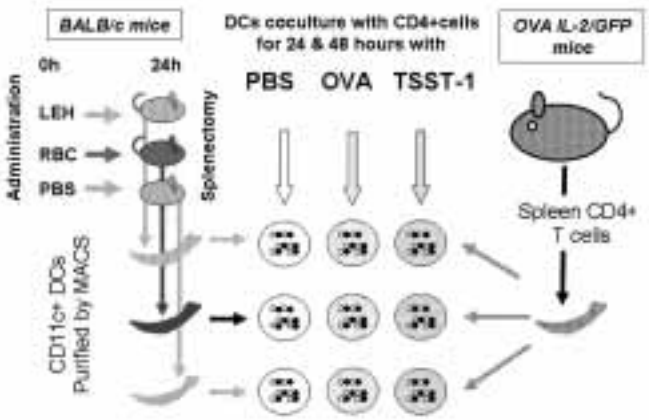
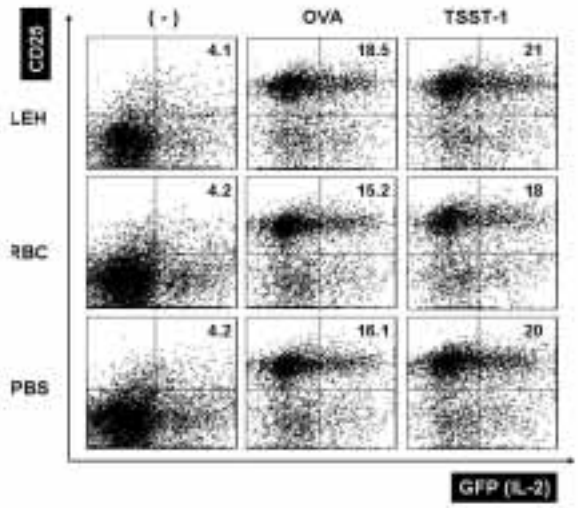


Fig 2. IL-2 production and T cell activation



Liposome-Encapsulated Hemoglobin Improves Energy Metabolism in Skeletal Muscle Ischemia and Reperfusion in the Rat

Daisuke Kurita[1], Akira T. Kawaguchi[1], Yusuke Aso[2], Mariko Yamano[3], Haruyuki Minamitani[2], Munetaka Haida[1]

[1]Tokai University, [2]Keio University, [3]Osaka Prefecture University

Effect of liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) was tested in a rodent model of limb ischemia and reperfusion—causing local reperfusion injury and a cascade of systemic responses. Intracellular pH (pHi) and phosphocreatine (PCr)/inorganic phosphate (Pi) ratio were serially monitored using ^{31}P-nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{31}P-NMR) with a 2-cm solenoid coil on a rodent hind limb. After baseline measurements, the right hind limb underwent ischemia for 70 min, followed 10 min later by intravenous administration of LEH (10 ml/kg, n=6), homologous red blood cells (RBC, n=6), saline (n=6) or no treatment (n=6). Reperfusion was then observed for an additional 60 min. While pHi (Figure 1) decreased precipitously after the onset of ischemia and even following reperfusion, LEH-treated rats had significantly milder intracellular acidosis compared with all other groups during ischemia, and after reperfusion as well throughout the observation with the saline-treated rats. In contrast, the PCr/Pi ratio (Figure 2) decreased regardless of treatment after ischemia until reperfusion, when the ratio returned toward normal or the energy status improved only in the LEH-treated rats, while the ratio remained depressed in the control animals receiving RBC, saline or no treatment. Morphological studies 7 days later revealed a tendency toward suppressed mononuclear cell infiltration with preservation of muscular mass and structure in the LEH-treated rats. LEH treatment after early limb ischemia appeared to improve intracellular energy metabolism and eventually preserve skeletal muscle in a rodent model of limb ischemia and reperfusion.

Figure 1. Intracellular pH

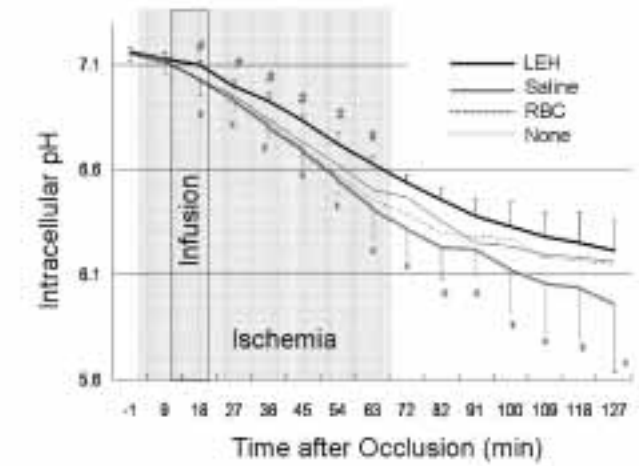
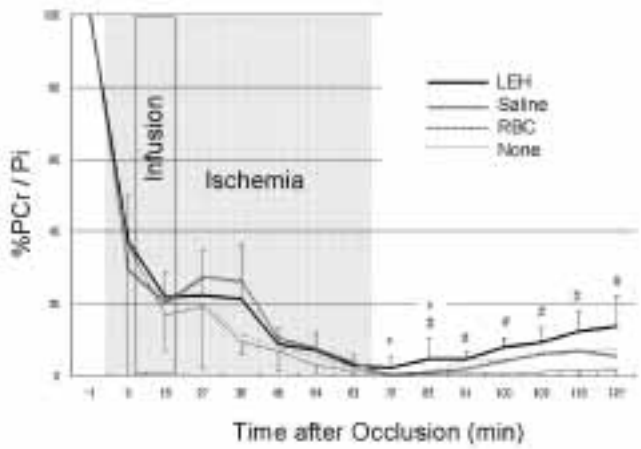


Figure 2. % PCr/Pi



Liposome-Encapsulated Hemoglobin Accelerates Gastric Wound Healing in the Rat

Akira T. Kawaguchi, Yuichi Okamoto, Yoshihumi Kise, Susumu Takekoshi, Kyouji Ogoshi, Hiroyasu Makuuchi

Tokai University School of Medicine

Background. Liposome-encapsulated hemoglobin with a high O_2 affinity (h-LEH) may improve microcirculation and O_2 metabolism at the surgical wound to accelerate its healing.

Methods. Ten mL/kg of h-LEH, empty liposome or homologous red blood cells (RBC) was infused before 10 mm incision and interrupted suture closure of the gastric wall in a total of 78 rats. Two and 4 days later, the stomach was excised for bursting pressure determination and histological sampling. The dose-response relationship was examined in additional 55 rats receiving progressively reduced doses of h-LEH. Hypoxia induced factor-1α (HIF-1α) was stained immunohistochemically in other 54 rats to examine its expression at the anastomotic sites.

Results. The bursting pressure of the surgical wound was significantly higher 2 days after surgery only in the h-LEH-treated rats (Figure 1, $P<0.05$), but not in 4 days after surgery, when other rats increased bursting pressure to a non-significant level. Histological examination revealed less granulocyte infiltration, a better granulation, and more macrophage infiltration in h-LEH-treated rats in 2 days, but no longer 4 days after surgery. Dose-response study (Figure 2) revealed 0.4 mL/kg of h-LEH (hemoglobin 24 mg/kg) was effective in elevating bursting pressure in 2 days. H-LEH-treated rats had significantly suppressed HIF-1α expression in the wound 6, 24 and 48 hours after surgery as compared to control animals treated with homologous RBC or saline.

Conclusion. The results suggest that h-LEH, but not empty liposome or homologous transfusion, may accelerate wound healing early after gastric incision and anastomosis in the rat.

Figure 1. Bursting Pressure

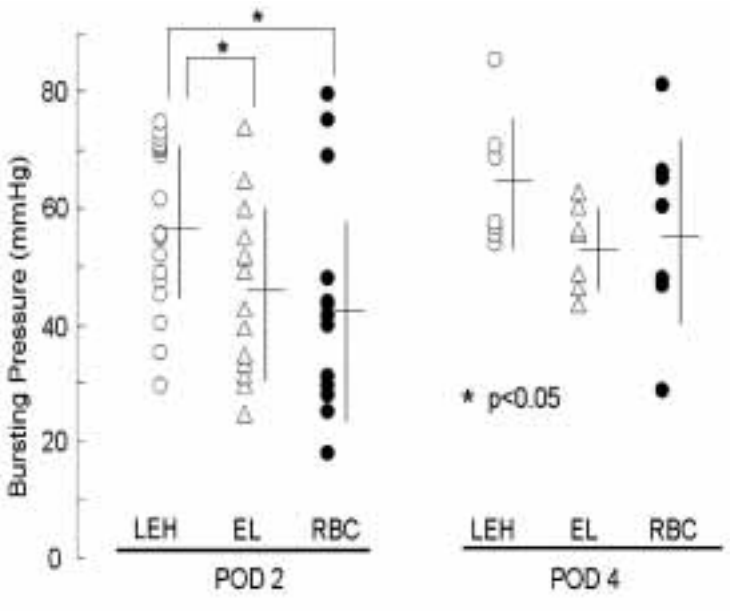
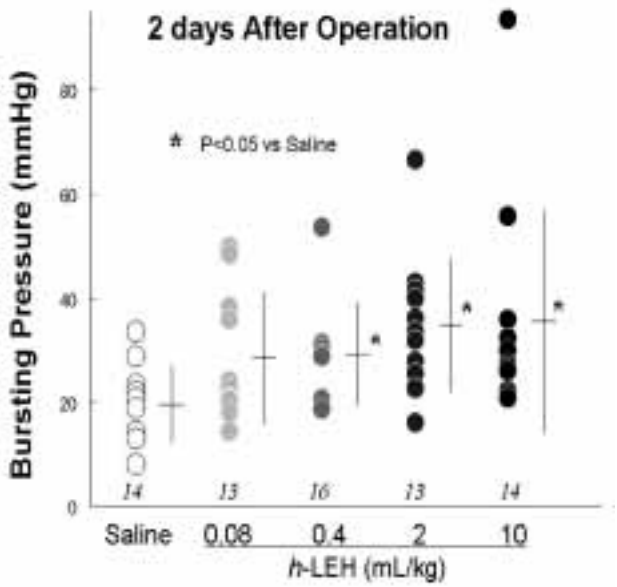


Figure 2. Dose-Response Relationship



一般演題②-5

臓器移植保存液としてのS-ニトロソ化アルブミンの有用性評価

品川拓也[1]，異島　優[1]，米重梓二[1]，末永綾香[1]，渡邊博志[1,2]，丸山　徹[1,2]，小田切優樹[1,3]

熊本大院・薬[1]，熊本大・薬・育薬フロンティアセンター[2]，崇城大・薬[3]

【目的】ヒト血清アルブミン（HSA）は，血中に最も多量に存在する血清タンパク質であり，その一部は，一酸化窒素（NO）が結合したS-ニトロソ化HSA（SNO-HSA）として存在している．SNO-HSAは，短時間で消滅するNOとは異なり，比較的安定に存在することができるため，生体内におけるNOのリザーバーとしての役割を果たしている．これまでに我々は，SNO-HSAが臓器移植時などに惹起される虚血再灌流障害に対して抗アポトーシス作用により保護的に機能することを明らかにしてきた．このようなSNO-HSAの特徴は，臓器移植における摘出臓器の新たな保存液としての可能性を期待させる．そこで今回，肝移植時に汎用される摘出臓器保存液のUniversity of Wisconsin solution（UW液）を取り上げ，本保存液の課題とされる抗アポトーシス作用を増強すべく，SNO-HSAを配合した改良型UW液の開発を試み，その有用性を評価した．
【方法】6週齢SDラットの肝臓を*in situ*にて還流後に摘出した．摘出したラット肝臓はUW液あるいはSNO-HSAを添加した改良型UW液に充たし，4℃にて24時間，引き続き37℃にて3時間保存した後に，それぞれの臓器保護効果を比較検討した．その際，肝障害の程度は保存液中の逸脱酵素（aspartate aminotransferase（AST），alanine aminotranferease（ALT），lactate dehydrogenase（LDH））の値により総合的に評価した．また，HE染色により肝臓の組織学的解析を行った．ラット肝の酸化ストレスはd-ROMs Testにより判定した．
【結果及び考察】臓器保存液中において，低分子のSNO化合物であるS-ニトロソグルタチオンの残存量は経時的に減少したが，SNO-HSA中のNO付加量はほとんど保持されていたことから，UW液におけるSNO-HSAの安定性が確認できた．次に，摘出肝臓に及ぼすSNO-HSAの影響を，UW液単独群とSNO-HSA添加群で比較したところ，SNO-HSA添加群ではAST，ALTやLDHの上昇を有意に抑制され，肝保護効果が認められた．また，その肝保護効果はHE染色像の結果とよく一致していた．d-ROMs Test結果から，SNO-HSA添加群では，肝臓中の酸化ストレスの低下が観察された．さらに，*In vitro*におけるメカニズム解析の結果から，SNO-HSAの保護効果にはHO-1の誘導を介する抗アポトーシス効果の関与が示唆された．今回得られた知見から，UW液へSNO-HSAを配合した改良型UW液は，摘出肝臓に対して持続的にNOを供給できるため，冷阻血状態だけでなく温阻血状態においても摘出臓器の障害抑制，ひいては保存期間の延長，さらには移植時の虚血再灌流障害の抑制など，臓器移植における課題克服の糸口につながることが期待される．

マウス及びラットにおける血小板代替物（H12（ADP）リポソーム）の体内動態評価

氏平隼人[1]，田口和明[1]，渡邊博志[1,2]，勝野俊介[3]，新井愛美[3]，武岡真司[3]，池田康夫[3]，半田　誠[4]，小田切優樹[5]，丸山　徹[1,2]

[1]熊本大学大学院薬学教育部，[2]熊本大学薬学部付属育薬フロンティアセンター，[3]早稲田大学理工学術院，[4]慶応義塾大学医学部，[5]崇城大学薬学部

【緒言】

血小板減少症には濃縮ヒト血小板による輸血治療が行われているが，ウイルス感染の危険性は否定できず，また，保存期間が短いなどの多くの課題がある．これらの課題を克服するために，リン脂質二重膜表面にフィブリノーゲンγ鎖C末端（H12）を担持し，内部にADPを内包したH12（ADP）リポソームが血小板代替物として開発された．これまでに，血小板減少モデル動物を用いた*in vivo*検討において，ヒト血小板に匹敵する止血効果を発揮することが確認され，その臨床応用が期待されている．しかしながら，前臨床試験段階で必須検討項目である体内動態に関する検討はほとんど行われていない．そこで，本研究では，リポソーム脂質膜の構成成分であるcholesterolを^{3}Hで，また内部ADPを^{14}Cで標識したH12（ADP）リポソームを用い，健常マウス及びラットにおけるH12（ADP）リポソーム構成成分の詳細な体内動態特性を検討した．

【方法】

RI標識H12（ADP）リポソームは^{3}H-cholesterol及び^{14}C-ADPを用い標識し，マウス及びラットの尾静脈から投与（10mg lipid/kg）した．その後，継時的に血漿及び臓器中の放射活性を測定し，MULTIを用いて各動態パラメーターを算出した．さらに，代謝ケージで採取した尿，糞中の放射活性を測定し，HPLCを用いて尿中のADP代謝物を検出した．

【結果及び考察】

マウス，ラットにおいて，投与後3時間まで^{3}Hの放射活性と^{14}Cの放射活性は，ほぼ同様な血漿中濃度推移を示すことが観察され，H12（ADP）リポソームはリポソーム構造を保持した状態で血中を循環しているものと推察された．また，臓器分布の検討を行ったところ，^{3}H及び^{14}Cともに肝臓と脾臓に高い放射活性を示し，主要分布臓器は肝臓・脾臓であることが判明した．しかしながら，投与7日後には各臓器より放射活性はほぼ消失しており，臓器内蓄積性を認めなかった．さらに，排泄経路を検討したところ，^{3}H放射活性は主に糞中で，^{14}C放射活性では大部分が尿中で検出された．また，投与7日後にはほぼ体外へ排泄されていた．尿中のADP代謝物を同定したところ，げっ歯類における終末代謝産物であるアラントインに代謝されることが明らかとなった．以上の結果から，マウス及びラットにおけるH12（ADP）リポソームの臓器分布及び排泄経路が明らかになるとともに，単回投与のデータではあるが，生体内蓄積性の低いことが判明した．

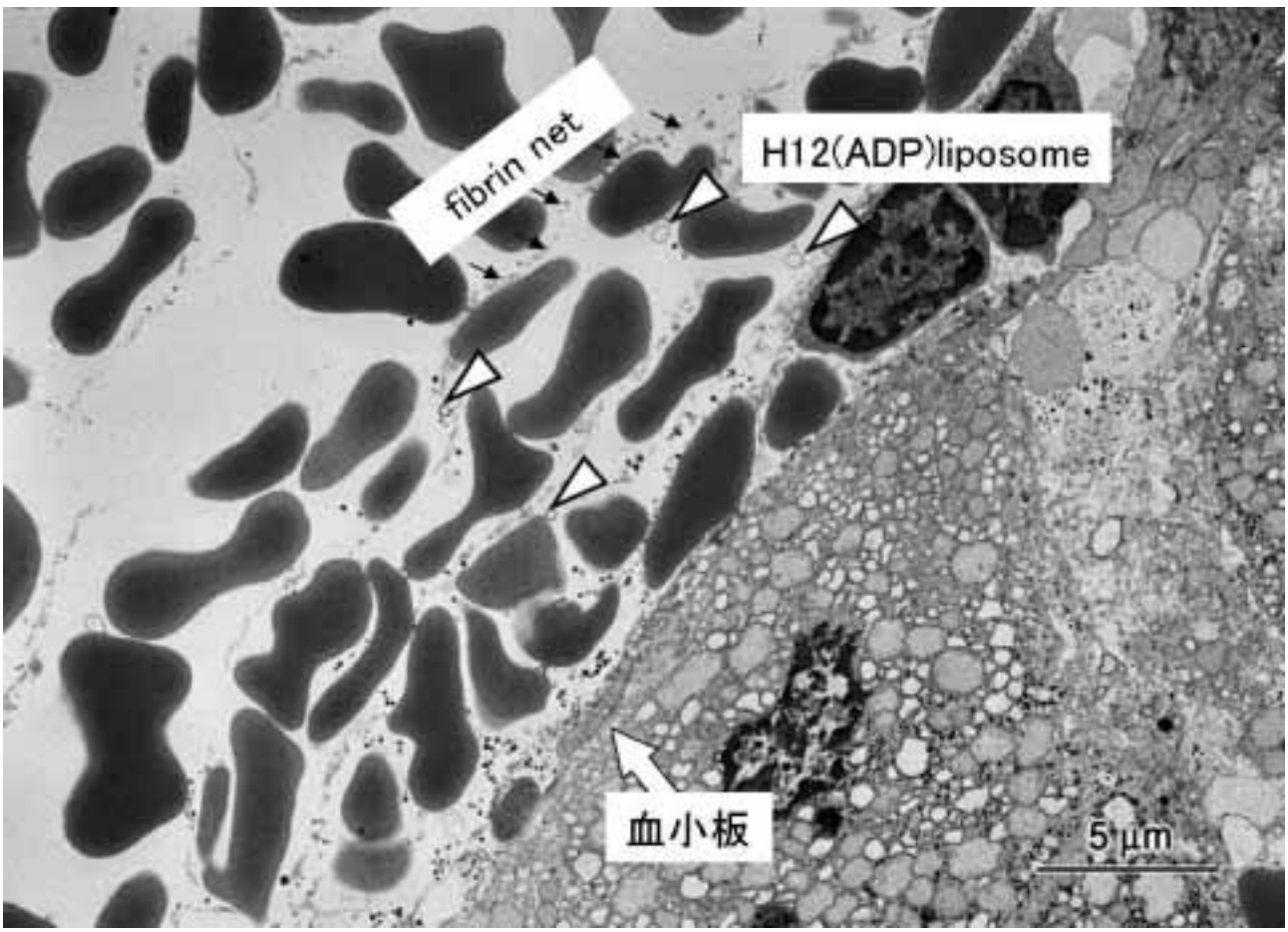
一般演題③-2

急性血小板減少病態におけるH12（ADP）リポソームの臓器出血部位への集積と止血制御効果

萩沢康介[1]，木下　学[2]，西川可穂子[3]，庄野　聡[2,4]，勝野俊介[5]，鈴木英紀[6]，斎藤大蔵[7]，関　修司[2]

[1]防衛医科大学校生理学講座，[2]同免疫微生物学講座，[3]同救急部，[4]同防衛医学講座，[5]早稲田大学先進理工学部，
[6]東京都臨床医学総合研究所，[7]防衛医科大学校防衛医学研究センター外傷研究部門

【背景】我々は従来より，H12（ADP）リポソームがウサギにおける外傷性大量出血とそれに引き続く大量輸血により惹起される致死的な急性血小板減少状態において，圧迫止血が不可能な肝臓損傷の止血に成功しその顕著な救命効果を報告してきた．今回，その効能を裏付けるべく肝損傷部位へのH12（ADP）リポソームの集積，止血制御についての超微形態学的検討を行った．
【方法】家兎の大腿動静脈より脱血および洗浄赤血球輸血を繰り返し（計約200 mL），急性血小板減少モデルを作製した．これにH12（ADP）リポソームを投与し，外傷性肝損傷後の予後と出血量への影響を血小板投与群（platelet rich plasma : PRP），血漿投与群（platelet poor plasma : PPP）と比較するとともに，各群の肝損傷部位でのH12（ADP）リポソームの集積，止血凝固効果について透過型電子顕微鏡で観察した．
【結果と考察】脱血･輸血により血小板の低下と（$<5\times10^4/\mu$ L），耳介出血時間の顕著な延長（>10 min）を認めたが，H12（ADP）リポソーム投与で，PRP投与に匹敵する出血時間短縮を認めた．PPP群では肝損傷後の止血制御が不能で10例中9例が出血死したが，PRPとH12（ADP）リポソーム群は全例止血に成功，救命し得た．透過型電子顕微鏡による観察では，H12（ADP）リポソームが損傷臓器表面の凝血部にフィブリン網と連接して集積し，血小板機能を代替していることが確認された．（下図）
【結語】H12（ADP）リポソームが外傷性大量出血時の輸血に伴う血小板減少病態において，出血部位に集積して血小板機能を代替し，止血制御に直接貢献していることが確認された．



ミオグロビンによる人工酸素運搬体創成にむけた非平面性ヘムの導入

根矢三郎[1]，川口　章[2]

[1]千葉大院・薬，[2]東海大・医

【序】人工酸素運搬体は，ヘモグロビン（Hb）小胞体，ヘムアルブミン複合体，リピドヘムなどを用いて開発されている．ミオグロビン（Mb）はHbから酸素を受けとり筋肉中に蓄えるタンパク質だが，酸素親和性が高すぎて酸素放出能に欠ける．そのため，酸素運搬体としてMbを利用する試みは限られてきた．しかし最近，Mbのヘムを鉄コルフィセンとよばれる合成ヘム異性体で置きかえると酸素親和性が下がり，Hbなみの酸素運搬能を付与できると判明した．[1]

ヘムは鉄ポルフィリン複合体である．HbがT型四次構造になると，ヘム鉄は近位ヒスチジン残基に引き寄せられてポルフィリン平面に収まりにくくなる．そのため，酸素結合が妨げられて酸素親和性が低下する．この結果は，鉄原子の動きの制御によりHbの酸素親和性が調節できる可能性を示している．そこで，私たちはMbにもとづく酸素運搬体をつくるために，ヘムを人為的に非平面化して鉄原子の動きを抑えてMb内部の酸素運搬能を向上させる試みを行った．[2,3]

【結果と議論】人為的にヘムをひずませるために，ポルフィリンのαメソ位炭素にエチル基をつけた合成ヘム1を設計した（図1）．このヘムでは，エチル基と隣接するメチル基2個の間で立体反発が起こり，ポルフィリン環は非平面化する．分子構造計算結果によると，エチル基導入によるポルフィリン環のひずみは天然ヘムと比べて4倍もあった．

デオキシMbのNMRスペクトルで近位ヒスチジンのNH信号を調べると，ひずんだヘム1をもつMb（ヘム1）ではひずみのないヘム2をもつMb（ヘム2）よりも3 ppmの低磁場シフトが観察された．この結果は，ヘムを非平面化すると近位ヒスチジンが鉄を引き寄せていること，および鉄がポルフィリン平面に収まりにくくなることを示唆する．酸素親和性を比べると，Mb（ヘム1）はP_{50}= 1.8 mmHgとなり，Mb（ヘム2）と比べて酸素親和性が1/27に低下した．

以上の結果より，人為的なヘム非平面化でMb酸素親和性が下がると判明した．しかし，Mb（ヘム1）を生理的条件で酸素運搬体として使うには，酸素親和性はまだ高く，ヒト赤血球のP_{50} = 20 mmHgには及ばない．酸素運搬能が高いMbの創出には，さらに大きく非平面化したポルフィリンが必要であり，現在分子設計を進めている．

【参考文献】（1）S. Neya et al.（2009）*Artificial Organs* ***2009***, 33, 189-193.（2）S. Neya et al.（2010）*Biochemistry* ***49***, 5642-5650.（3）S. Neya and A. T. Kawaguchi（2011）*Artificial Organs*, in press.

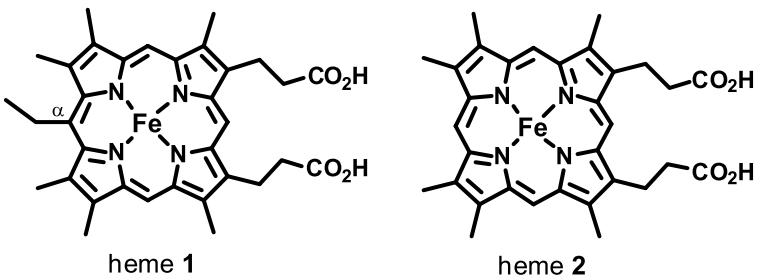


図1　非平面性ヘム1（左）と平面性ヘム2（右）

一般演題③-4

リポソーム封入ヘモグロビンによる癌の放射線治療および化学療法に対する増強効果

村山千恵子，川口　章，長戸康和，上條あけみ，小林広幸，灰田宗孝*

東海大学医学部，*東海大学医療技術短期大学

【目的】
癌細胞は低酸素環境下では，放射線ならびに抗癌剤に対する感受性が低く，癌に存在する低酸素細胞は癌の再発・転移，つまり治療成績向上を妨げる原因と考えられている．われわれはリポソーム封入ヘモグロビン（LEH）が脳梗塞・心筋梗塞などに対して有効な治療効果を示すことを報告しているが，癌に対しても同様に組織中の酸素状態を改善し，放射線ならびに抗癌剤による癌治療効果を増強させるかについて検討した．
【方法１：放射線療法】C3Hマウスの下肢に移植された扁平上皮癌細胞SCCVIIに対してX線20Gyを照射するモデルにおいて，Dose-Response関係を見るため，高酸素親和性LEH（h-LEH，$P_{50}O_2$=10mmHg）5，10，20ml/kgを尾静脈より投与した．続いて投与タイミングをみるため照射30，60，90，120分前にh-LEH（10ml/kg）を尾静脈より投与した．その後，経時的に腫瘍径・体積を計測し，Tumor Growth Time（TGT；腫瘍体積が照射前の5倍に達する時間と設定）を求めて評価した．
【方法２：化学療法】下肢にルイス肺癌細胞LLCを移植したC57BLマウスに対してアドリアマイシン（ADM；0.5mg/kg，腹腔内投与）またはTS-1（8mg/kg，経口投与）を毎日2週間投与した．h-LEH（5ml/kg）は，週3回隔日に抗癌剤投与後，尾静脈より投与した．2週間後に腫瘍と肺を摘出し，腫瘍重量，肺転移数を計測して評価した．
【結果１】10ml/kgのh-LEHを投与後30分にX線を照射した群のTGT（26.5日）が最も大きく，空リポソーム投与群（20日）と比べて有意な抗腫瘍効果を示した（P<0.01）．この時のSynery ratioは1.42であった．
【結果２】h-LEH（5ml/kg）をADM（0.5mg/kg）と併用した群では，ADM単独投与群と比べて腫瘍重量が30.5％，肺転移が41％減少した（P<0.05，P<0.01）．一方TS-1（8mg/kg）による抗腫瘍効果（腫瘍重量，肺転移ともに）は，h-LEH（10ml/kg）を併用しても有意な増強が得られなかった．
【考察】リポソーム封入ヘモグロビンの併用により，放射線治療またはADMなど作用機序に酸素が関与する癌治療法の効果増強が可能であり，癌治療成績の向上に寄与する可能性が示唆された．

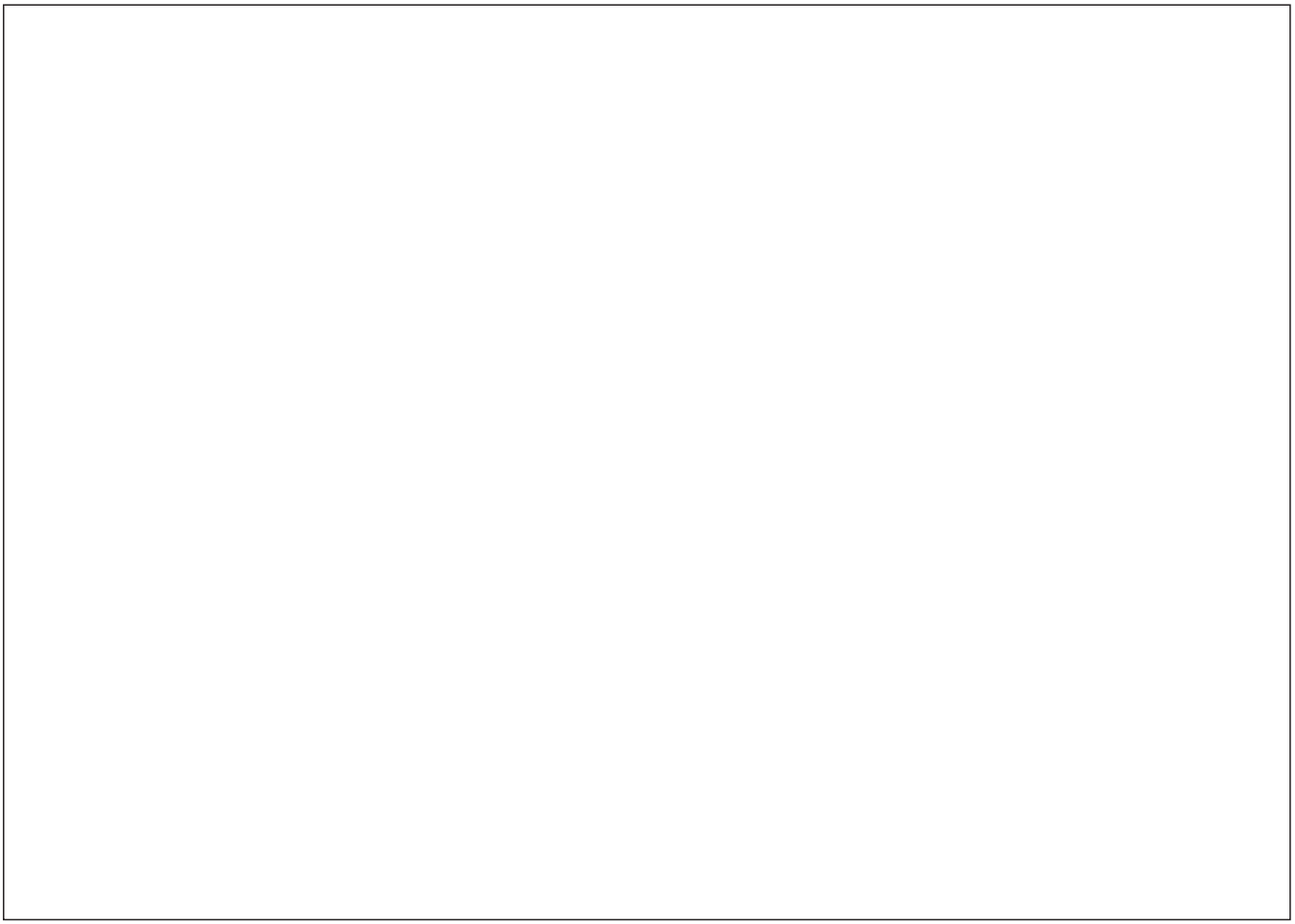
一般演題③-5

微小血管内における人工赤血球動態に関する流体シミュレーション

百武　徹

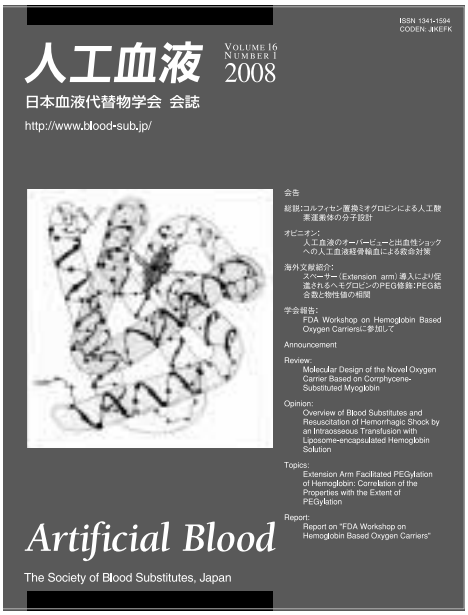
横浜国立大学大学院工学研究院

【緒言】急速な少子高齢化の到来に伴う輸血用血液製剤不足の解消，また現行の血液製剤に対する様々なリスクの軽減を目指し，現在，赤血球製剤の代替物として，ヘモグロビンをリポソームに封入したカプセル型人工赤血球の開発が進められている．カプセル型人工赤血球の特徴として，その直径が約200-250nmとヒトの赤血球の1/30程度のナノ粒子であり，微小循環系での人工赤血球の利用を考えた場合，血管内のおけるナノ粒子としての人工赤血球の流体力学的挙動の理解が非常に重要となってくる．特に，微小血管内における酸素運搬過程は，人工赤血球と赤血球とのインタラクションの影響下にあるため，人工赤血球による血流への作用は複雑となる．このようなことから，微小循環系における人工赤血球動態を解明するためには，実験的アプローチに加え，数値シミュレーションによる血球の挙動解析が有効であると考えられる．
【方法】本研究では，流体力学的観点から血球を含む微小血管内を固液混相流と捉え，解析手法としては混相流に有力な手法である格子ボルツマン法（Lattice Boltzmann Method：LBM）という流体解析手法を適用した．また，赤血球に関しては，Immersed boundary methodを用いて赤血球の変形を計算した．赤血球集合に関してカットオフ半径内において赤血球表同士にMorse potentialが働くと考え，赤血球集合現象を再現した．直径20μmの微小血管を考え，そこに赤血球と人工赤血球の混在した流れを作り，人工赤血球がどのような挙動を示すのかを調べた．
【結果及び考察】解析の結果，赤血球の変形に伴う軸集中および血漿層の形成が再現できた．さらに，人工赤血球に置換することにより，血漿層はさらに厚くなり，この血漿層部分に人工赤血球が多く分布するようになった．次に，人工赤血球の血管内における軌跡を調べた．人工赤血球のみの場合は，半径方向へはほとんど移動しなかったが，赤血球が存在することにより，赤血球と人工赤血球とのインタラクションが起こることで人工赤血球は半径方向へ大きく移動した．結果として，人工赤血球が血しょう層へと移動すると考えられる．



Call for Papers

Artificial Blood, **the official bilingual journal of The Society of Blood Substitutes, Japan, welcomes papers and other articles contributing to the research and development of blood substitutes.**
If you wish to submit an article for publication, please email it to the following address after first confirming the instructions for authors.



Instructions for Authors (last revised Sept. 30, 2008)

The Journal's purpose is to publish research and related articles contributing to the development of blood substitutes, information on Society proceedings, regulations, and other matters of interest to the Society members, and it welcomes original articles from a range of contributors regardless of format. Although contributors should ideally be members of the Society, this is not a requirement. Decisions on acceptance of manuscripts are made by the Editorial Board based on the results of peer review. Original articles will not be accepted if they have been previously published or are being considered for publication in another journal.

If an article is coauthored, the consent of all coauthors is required before submission. As copyright to articles must be transferred to the Society, the representative of the author(s) must sign and seal a copy of the Copyright Transfer Agreement found in the Journal or downloadable from the Society's website (http://www.blood-sub.jp/home/index.html), and submit it to the Editorial Board by post, fax, or by email as a PDF file attachment.

Manuscripts should, as a rule, be prepared by word-processor. However, handwritten manuscripts may be accepted.

1) Articles should be categorized into one of the followings: original articles, review articles, conference reports, topical pieces, and opinion pieces. The category into which a manuscript falls should be clearly indicated at the top right-hand corner of the first page. Manuscripts that do not fall into any of these categories may also be accepted, and manuscripts may also be re-categorized depending on the opinion of the reviewers. Submit your manuscripts to the Editor-in-Chief by either of the following methods with a covering letter (of any format):

i) Submission by email of electronic files of the text and figures (indicate the software used). Text and tables should be in DOC or TXT formats, and figures should be in PPT, JPG, or TIFF formats.

ii) Submission by post of four sets of hardcopies.

2) Manuscripts are reviewed by researchers in the field of artificial blood selected by the Editor-in-Chief, and revisions may be required depending on the opinion of the reviewers. Revised manuscripts should be submitted with a "Response to Reviewers" to the covering letter that responds to each of the points made by the reviewers, indicating any revisions made to the manuscript.

3) Once informed of the decision to accept for publication, the author should send by post files containing the text and figures of the accepted paper saved in electronic media to the address specified (indicate the software used). Text and tables should be in DOC or TXT format, and figures should be in PPT, JPG, or TIFF format.

4) Manuscripts should be typed on A4 or letter size paper. The title page should include the title, names of authors, institutions to which all the authors belong, and the address of the corresponding author. Handwritten manuscript should be written consisting of 20 lines to 1 page.

5) Original articles, review articles, topical pieces, and opinion pieces should include an abstract and about 6 keywords on the second or subsequent pages.

6) Research conducted with the aid of an official grant must be acknowledged, and any conflict of interests (for example, if the author has an interest in a company distributing the drug described in the manuscript: being an employee or consultant to that company, receiving research funding, owning shares or patents, and so on) must be described in a footnote on the first page or in acknowledgment section.

7) If a manuscript describes the results of research on humans or animals, it should be indicated that such research was performed in accordance with the guidelines of the institute concerned in the methods or other appropriate sections of the manuscript.

8) Abbreviations should be spelled out on their first appearance. The names of drugs, medical drugs, laboratory equipment, and so on should be given. The type, distributor (manufacturer) and the address should also be indicated.
Example: Rhodamine B (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) Polygraph system (LEG-1000; Nihon Kohden Corporation, Tokyo).

9) The English fonts should be Times, Helvetica, Courier, or Symbol. Text should be typed in lower-case one byte characters. However, sentences and proper nouns should begin with an upper-case letter.

10) Figures should be expressed in Arabic numerals. Weights and measurements should be expressed in units such as the followings: m, cm, mm, μm, L, mL, μL, mol, g, mg, μg, ng, pg, fg, N/10.

11) Figures and tables should be numbered in order of citation, and it should be clearly indicated where they are to appear in the main text. The title, legends and description in tables and figures should be written in English. Figures will be printed by direct offset printing. Tables will be inputted by the Editorials as originals.

12) References should be cited numerically in order of appearance in the text using superscript letters as follows: [2], [3-5], [1, 4-6], etc. References should be listed using the Vancouver style as follows:
Names of all authors. Title of paper. Title of journal. Year of publication; volume number: inclusive page numbers.
Abbreviations of journal names should be in accordance with *Index Medicus*. References to books should be given as follows:
Names of all authors. Title of paper. Name of editor(s). Book title. Place of publication: Publisher, year; inclusive page numbers.
References to electronic sources should be given as follows:
Name of website.
Address on new line (month and year of last access).

Examples:

1. Wong NS, Chang TM. Polyhemoglobin-fibrinogen: a novel oxygen carrier with platelet-like properties in a hemodiluted setting. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 2007; 35: 481-489.
2. Natanson C, Kern SJ, Lurie P, Banks SM, Wolfe SM. Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. J Am Med Assoc 2008; 299: 2304-2312.
3. Sakai H, Sou K, Takeoka S, Kobayashi K, Tsuchida E. Hemoglobin vesicles as a Molecular Assembly. Characteristics of Preparation Process and Performances or Artificial Oxygen Carriers. In: Winslow RM, ed. Blood Substitutes. London: Academic Press (Elsevier), 2006; 514-522.
4. Oxygen Infusion Project, Waseda University, Japan. http://www.waseda.jp/prj-artifblood/index-ja.html (last accessed Sept 2008)

13) In the case of citation or reproduction of previously published figures or tables and other content, the permission of the copyright holder(s) must first be obtained. Copyright in the published papers shall belong to the Society.

14) Regarding secondary use and copyright in works published in the Journal, secondary use may be made of the Journal, in whole or in part, via media such as CD-ROM or the Internet. Reproduction rights, translation rights, film rights, dominion, and public transmission rights (including the right to make the works transmittable) are transferred to the Society by the author's submission of the aforementioned Copyright Transfer Agreement. This clause shall not restrict reuse by the author himself/herself, but the Editor-in-Chief must be informed in the event of reuse.

15) No publication fee is charged for publication in the Journal, and the author(s) shall receive as a gift 30 offprints of their contributions. Authors will be charged for copies in excess of this number (approximately 100 yen per copy). Authors wanting prints of color photos or on art paper, etc. must pay the actual cost of such prints.

16) Address for manuscripts to be sent:

Attn: Artificial Blood Editorial Office
The Society of Blood Substitutes, Japan
Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery,
Keio University, School of Medicine
35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan
Tel: +81-3-5363-3493 Fax: +81-3-5363-3499
E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp

投稿規定（平成20年9月30日改訂）

本誌は，血液を構成するあらゆる成分について，その代替物を開発する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，査読結果に従って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．

共著者がいる場合には，共著者全員の承諾を得てから投稿する．論文の版権は本学会に譲渡しなければならない．このため，著者の代表者は，本誌に添付の著作権譲渡同意書（Copyright Transfer Agreement）或は，本会のホームページサイト（http://www.blood-sub.jp/home/index.html）からダウンロードしたものに署名捺印の上，郵送，Fax，またはpdfファイルとしてE-mailにて編集委員会宛に提出する．

ワープロを用いて作製した原稿の投稿を原則とする．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）原稿の種類は，「原著論文」，「総説」，「学会報告」，「トピックス」，「オピニオン」，「海外文献紹介」から選び，これを第1頁の右肩上に明記すること．これらに該当しない原稿も受け付ける．査読意見によっては種類が変更される場合がある．次のいずれかの方法により，送付状（任意のフォーマット）を添えて編集委員長宛に投稿する．

i）文章と図表の電子ファイルをE-メールで送付する（使用したソフトを明記すること）．文章・表のファイル形式は，doc, txtが好ましい．図は，ppt, jpg, tiffが好ましい．

ii）ハードコピー4部を郵送する．

2）投稿論文の査読は，編集委員長が選んだ人工血液分野の研究者に依頼する．査読意見によっては，原稿の修正を求める場合がある．修正論文（Revised Manuscript）の投稿に際しては，送付状に「査読意見に対する回答」を添え，意見に対して一つ一つ回答をするとともに，修正箇所がある場合にはこれを明記する．

3）掲載決定通知の後，著者は採択論文の文章・図表のファイルを電子媒体として，指定する宛先に送付すること（使用したソフトを明記すること）．文章・表のファイル形式は，doc, txtが好ましい．図は，ppt, jpg, tiffが好ましい．

4）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，英文著者所属，続いて連絡の取れる著者（corresponding author）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．

5）「原著論文」，「総説」，「トピックス」，「オピニオン」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．

6）投稿論文に記載の研究が公的助成を受けて実施された場合には，謝辞にその旨を記載すること．また，Conflict of Interests（例えば，論文に記載された薬品を販売する企業と著者との利害関係: 雇用，コンサルタント，研究助成，株式，特許など）があれば，これを第1頁の脚注，謝辞などに記載すること．

7）ヒトを対象とした研究結果，および動物実験の結果を掲載する場合には，各研究機関のガイドラインに従って実施したことを方法等に明記すること．

8）論文中の略語は初出の際に省略しないこと．薬品，医薬品，測定装置等は，外国語名の場合は言語のまま用い，日本語化しているものはカタカナとする．型式，販売（製造）元とその所在地も記入すること．
（例） Rhodamine B (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), ポリグラフシステム（LEG-1000; 日本光電工業, 東京）

9）句読点はコンマ（,）ピリオド（.）とする．

10）文中の英語に使用するフォントは，Times, Helvetica, Courier, Symbol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．

11）数字はアラビア数字を使い，度量衡の単位はm, cm, mm, μm, L, mL, μL, mol, g, mg, μg, ng, pg, fg, N／10などを用いる．

12）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が好ましい．本文中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．

13）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．電子文献の場合は，ホームページ名．改行してアドレス（引用した西暦年月）とする．

（例）

1. 高折益彦. 人工酸素運搬体:その将来への期待. 人工血液 2007;15:90-98.
2. 橋本正晴. 単回投与毒性試験. 野村 護, 堀井郁夫, 吉田武美 編. 非臨床試験マニュアル. 東京: エルアイシー, 2001;37-48.
3. Wong NS, Chang TM. Polyhemoglobin-fibrinogen: a novel oxygen carrier with platelet-like properties in a hemodiluted setting. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 2007; 35: 481-489.
4. Natanson C, Kern SJ, Lurie P, Banks SM, Wolfe SM. Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. J Am Med Assoc 2008; 299: 2304-2312.
4. Sakai H, Sou K, Takeoka S, Kobayashi K, Tsuchida E. Hemoglobin vesicles as a Molecular Assembly. Characteristics of Preparation Process and Performances or Artificial Oxygen Carriers. In: Winslow RM, ed. Blood Substitutes. London: Academic Press (Elsevier), 2006; 514-522.
5. 早稲田大学酸素輸液プロジェクト. http://www.waseda.jp/prj-artifblood/index-ja.html (2008年9月現在)

14）既発表の図表，その他を引用，転載する場合には，あらかじめ版権所有者の許可を得ること．また，掲載論文の著作権は本学会に帰属する．

15）二次掲載について．本誌は，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るが，著者は以下の事項を遵守する．

a）すでに掲載された論文であること．
b）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．
c）論旨を変えないこと．執筆者は同一（順不同）であること．
d）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）として投稿する．

16）本誌掲載著作物の二次利用および著作権について．本誌の一部，もしくは全部をCD-ROM，インターネットなどのメディアに二次利用する場合がある．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，著者が上述の著作権譲渡同意書を提出することにより，本学会に譲渡される．本項は，著作者自身の再利用を拘束するものでは無いが，再利用する場合は，編集委員長に通知をすること．

17）掲載料．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．

18）原稿の送付先

〒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
日本血液代替物学会　会誌「人工血液」編集部　宛
電話：03－5363－3493，FAX：03－5363－3499
E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp

人工血液
日本血液代替物学会会誌

Artificial Blood
The Official Journal of The Society of Blood Substitutes, Japan

日本血液代替物学会
会長　小林　紘一 殿
To: Dr. Koichi Kobayashi
President
The Society of Blood Substitutes, Japan

日本血液代替物学会　会誌「人工血液」に投稿した論文

表題
Manuscript Title: _____

_____

_____

につきまして，倫理規定に準拠した内容であること，また，共著者の全員が内容を確認していることを誓約いたします．なお，掲載された論文の著作権は，貴学会に帰属することを認めます．

I attest that the content of the above manuscript, submitted for publication in *Artificial Blood*, the journal of the Society of Blood Substitutes, Japan, conforms to ethical standards and has been confirmed by all coauthors. We acknowledge that copyright will be held by the Society.

平成　　年　　月　　日

Date:

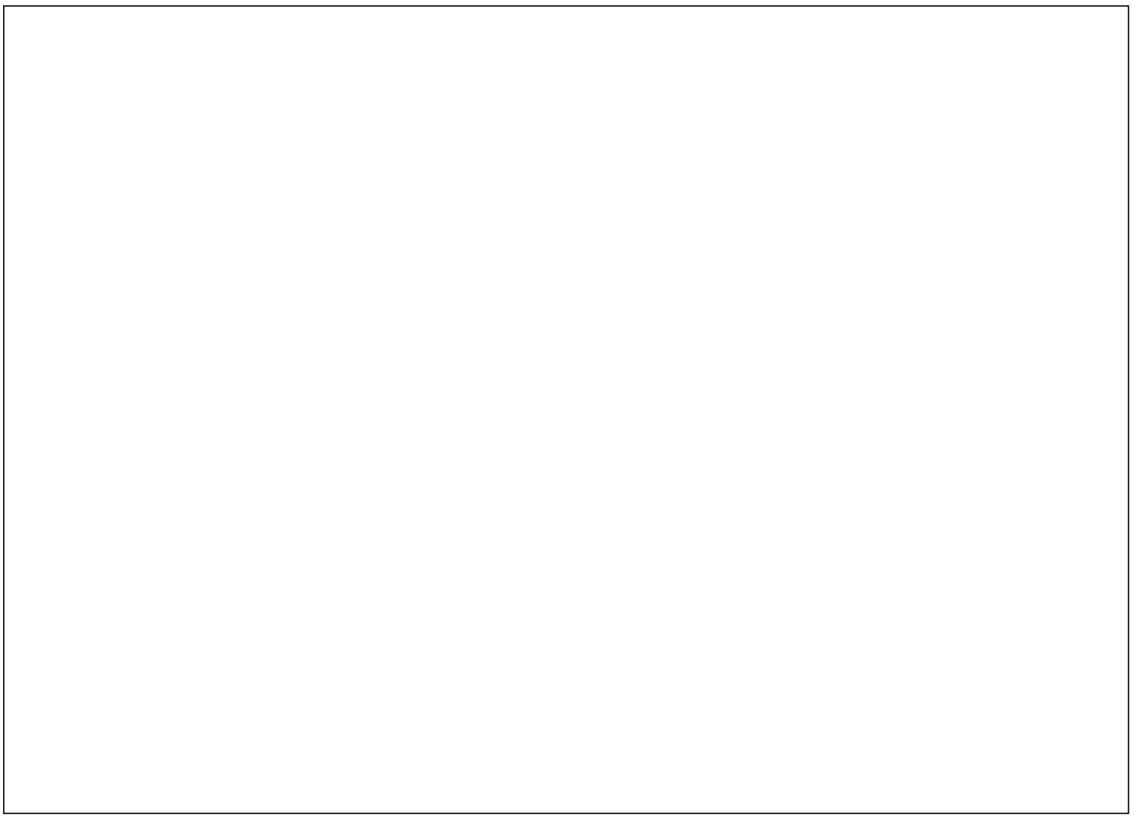
代表著者（署名）
Corresponding Author（Signature）_____

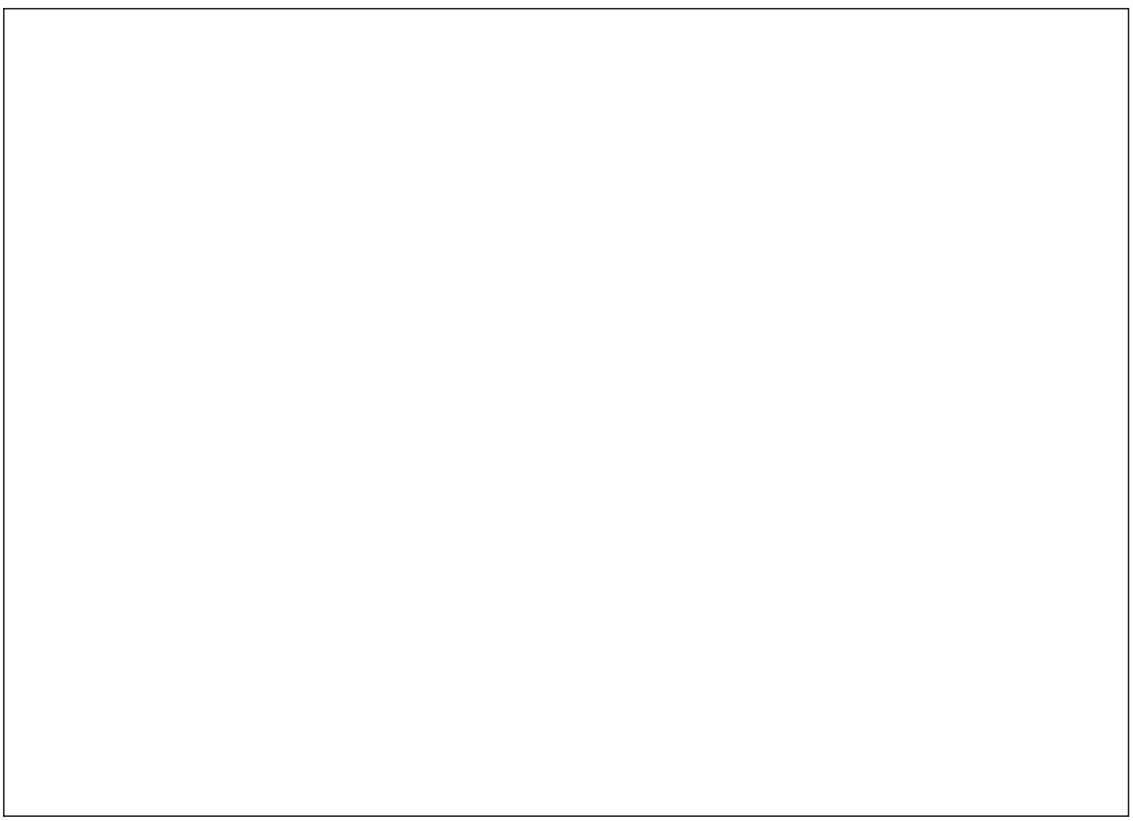
連絡先
Contact Address:

（本用紙はコピーしたものを使用されても結構です．）
This form may be photocopied for use.

日本血液代替物学会　会誌「人工血液」編集部
〒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　E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp

Artificial Blood Editorial Office
The Society of Blood Substitutes, Japan
Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery, Keio University, School of Medicine
35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan
Tel: +81-3-5363-3493　Fax: +81-3-5363-3499　E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp





編集委員会

●酒井 宏水（委員長），東　寛，武岡 真司，堀之内 宏久，棟近 公司，村田　満，渡辺 真純●

日本血液代替物学会　会誌

人工血液 vol.19（2）　2011年10月4日発行

■**発行**　日本血液代替物学会

〒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

■**編集・制作**「人工血液」編集委員会

〒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

■**印刷**　株式会社　研恒社

〒102-0073　東京都千代田区九段北1-1-7
TEL（03）3265-8961　FAX（03）3264-1995