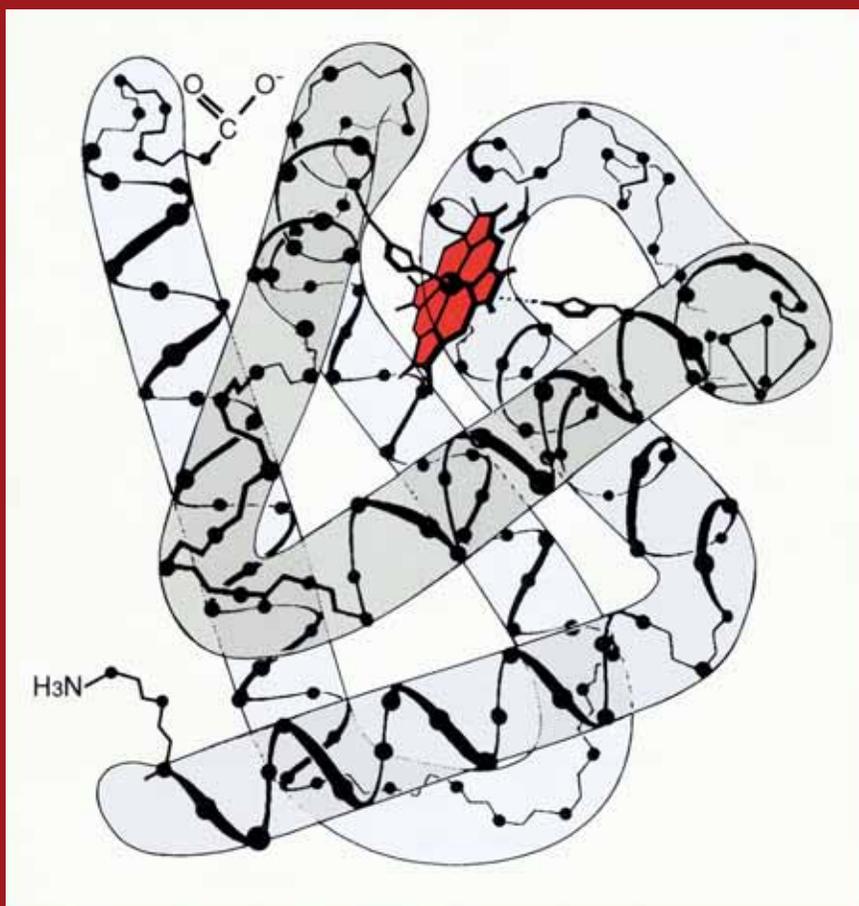


人工血液

VOLUME 27
NUMBER 1
2019

日本血液代替物学会 会誌

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



第26回年次大会，第17回血液代替物国際会議
(同時開催)プログラム

総説： PEG 修飾リポソームに対する免疫応答

トピックス：

人工ヘムタンパク質モデル錯体による血中内
在性一酸化炭素の除去によって惹起される生
体内反応

事務局たより

Program for the Joint Symposium of the 26th
Annual Meeting & the 17th International
Symposium on Blood Substitutes and Oxygen
Therapeutics

Review:

Immune Responses against PEGylated
Liposomes

Topics:

In Vivo Reactions Triggered by Selective
Removal of Endogenous Carbon Monoxide in
Blood Using an Artificial Hemoprotein Model
Complex

Artificial Blood

The Society of Blood Substitutes, Japan

ひたむきな命の頑張りに、
未来を届ける薬があります。

JB

「**血漿分画製剤**」で、皆様のお役に立ちたいから。
日本血液製剤機構は、さらに前進していきます。

善意と医療のかけ橋



JBキャラクター
ジエイバード(JBird)です。

一般社団法人
日本血液製剤機構
Japan Blood Products Organization



人工血液

第 27 卷 第 1 号 2019 年 11 月

目次

第 26 回年次大会, 第 17 回血液代替物国際会議 (同時開催) プログラム	
大会長挨拶	4
WELCOME MESSAGE	5
Committees / Sponsors	6
Speakers List (Collected by 3 Oct. 2019)	8
Registration	30
Abstract Submission	31
Accommodation / Excursion	33
Venue and Access	34
総説: PEG 修飾リポソームに対する免疫応答	
清水 太郎 他	37
トピックス:	
人工ヘムタンパク質モデル錯体による血中内在性一酸化炭素の除去によって 惹起される生体内反応	
北岸 宏亮	44
事務局たより	

Contents

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 27 No. 1 November, 2019

<i>Program for the Joint Symposium of the 26th Annual Meeting & the 17th International Symposium on Blood Substitutes and Oxygen Therapeutics</i>	
<i>Address from the President</i>	4
<i>WELCOME MESSAGE</i>	5
<i>Committees / Sponsors</i>	6
<i>Speakers List (Collected by 3 Oct. 2019)</i>	8
<i>Registration</i>	30
<i>Abstract Submission</i>	31
<i>Accommodation / Excursion</i>	33
<i>Venue and Access</i>	34
<i>Review: Immune Responses against PEGylated Liposomes</i>	
Taro Shimizu, et al.	37
<i>Topics: In Vivo Reactions Triggered by Selective Removal of Endogenous Carbon Monoxide in Blood Using an Artificial Hemoprotein Model Complex</i>	
Hiroaki Kitagishi	44

第26回日本血液代替物学会年次大会

The 26th Annual Meeting of the Society of Blood Substitutes, Japan

(同時開催)

第17回 血液代替物国際会議

The 17th International Symposium on Blood Substitutes &
Oxygen Therapeutics

会 期：2019年11月21日(木) — 23日(土)

会 場：奈良春日野国際フォーラム薨

【年次大会事務局】

奈良県立医科大学医学部化学教室内
〒 634-8521 奈良県橿原市四条町 840 番地
TEL & FAX : 0744-29-8810
E-mail : artificial-blood@naramedu.ac.jp

【国際会議事務局】

ISBS2019 Secretariat, c/o Proactive Inc.
3F Sannomiya Century Bldg, 83 Kyomachi Chuo-ku, Kobe 650-0034, Japan
FAX: +81-78-332-2506, E-MAIL: isbs2019@pac.ne.jp

大会長挨拶

平素は日本血液代替物学会の活動、運営について格別のご高配を賜り、感謝申し上げます。

さてこの度、第26回日本血液代替物学会年次大会（26th-SBSJ）を、第17回血液代替物国際会議（17th-ISBS）と同時開催することになりました。会期は2019年11月21日（木）—23日（土）の3日間、奈良公園・東大寺の東側にあります、奈良春日野国際フォーラムに於いて開催を予定いたしております。

血液代替物国際会議（ISBS: International Symposium on Blood Substitutes）は、これまでほぼ2年おきに、北米—アジア—欧州の順で開催されてきました。過去二回、1997年（7th-ISBS, 大会長：土田英俊）と2003年（9th-ISBS, 大会長：小林紘一）に東京で開催されたことがございますので、今回は16年ぶり、3回目の日本での開催となります。米国FDAのNatansonらが、臨床試験中であった修飾ヘモグロビン溶液系の副作用について2008年にJAMA誌に発表し、北米の多くの企業が開発から撤退せざるを得ない状況になりましたが、その後も新しい物質系が誕生し続けています。中国では、輸血用血液の慢性的不足のため、人工酸素運搬体について高い開発意欲を示しています。またご存知のように、日本では、人工酸素運搬体のみならず、人工血小板のほか、様々な代替物も、実用化に向けての取り組みが進められています。今回の会合には、計135演題、計15カ国の国々からの参加発表を予定しており、日本における血液代替物研究の成果を広く世界に発信するうえで、また血液代替物研究のグローバルな動向を知るうえで、絶好の機会となります。

多くの皆様に紅葉が見頃となる晩秋の奈良にご参集いただき、本学会での活発な議論を展開していただきますよう、心よりお願い申し上げます。

第26回 日本血液代替物学会年次大会 大会長

第17回 血液代替物国際会議 Co-president

酒井 宏水

日本血液代替物学会 会長

奈良県立医科大学医学部化学教室 教授

WELCOME MESSAGE

Dear respected colleagues,

The 17th International Symposium on Blood Substitutes & Oxygen Therapeutics (XVII-ISBS-2019) will be held in November 21 -23, 2019 in Nara, Japan. Experts from China and Japan will co-host the symposium. In the meantime, the 26th Annual Meeting of the Society of Blood Substitutes, Japan, will be held. On behalf of the organizing committee, we are honored to warmly welcome researchers and business friends from all over the world who are engaged in R&D of blood substitutes and related fields to participate in this symposium.

Our programs will include traditional and new topics related to blood substitutes, oxygen therapeutics, and artificial cells, etc. Specifically, we expect to include substitutes for RBC and platelets, plasma expanders, coagulation factors and growth factors of blood cells, iPS- and ES-derived artificial blood cells, preclinical and clinical evaluations, basic sciences on tissue oxygenation and gas biology, mechanism of adverse reactions, new applications, design of clinical trials, industrial activities and regulatory sciences of blood substitutes, and others. In addition, considering the fact that blood substitute research is one important part of modern transfusion medicine, the organizing committee decided to expand the topics. The programs will cover the new concepts on clinical transfusion, new technologies, new experiences, new development trends and related basic research, updates and perspectives on transfusion related infectious and non-infectious risks, and related basic research, pre-clinical evaluation on pharmacological, toxicological, hemodynamic, and pharmacokinetic studies of various products.

Nara was the capital of ancient Japan from 710 to 784 AD. The conference venue is in the middle of Nara Park near several UNESCO World Heritage sites (Historic Monuments of Ancient Nara) including Kasugataisha-shrine, Todai-ji, and Kohfuku-ji, where sacred wild deer will also welcome you.

We look forward to your attendance in Nara to make this event a success.

Best regards,

Honorary President

Thomas M.S. Chang (McGill Univ., Canada)

Co-presidents

Hiromi Sakai (Nara Med. Univ., Japan)

Chengmin Yang (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Co-Executive Presidents

Hiroshi Azuma (Asahikawa Med. Univ., Japan)

Jiaxin Liu (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Committees / Sponsors (Alphabetical Order)

Committees

◆ Organization Members of XVII-ISBS-2019

Honorary President:

Thomas M.S. Chang (McGill Univ., Canada)

Co-Presidents:

Hiromi Sakai (Nara Med. Univ., Japan)

Chengmin Yang (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Co-Executive Presidents:

Hiroshi Azuma (Asahikawa Med. Univ., Japan)

Jiaxin Liu (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Local Organizing Committee: (*executives)

Chao Chen* (Northwest Univ., China)

Gang Chen (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Hirohisa Horinouchi (Saitama City Hospital, Japan)

Yubin Huang (Chin. Acad. Sci., China)

Yasuo Ikeda (Waseda Univ., Japan)

Koichi Kobayashi (Keio Univ., Japan)

Teruyuki Komatsu (Chuo Univ., Japan)

Feng Ma (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Tohru Maruyama (Kumamoto Univ., Japan)

Masanori Matsumoto (Nara Med. Univ., Japan)

Masaki Otagiri (Sojo Univ., Japan)

Hiromi Sakai* (Nara Med. Univ., Japan)

Midori Shima (Nara Med. Univ., Japan)

Masaru Shimizu (Saijo Hospital, Japan)

Shinji Takeoka (Waseda Univ., Japan)

Keizo Yamamoto (Nara Med. Univ., Japan)

Kunping Yan (Northwest Univ., China)

Motoki Yonekawa (Sapporo Hokuyu Hospital, Japan)

Kewei You (Redpharm. Co., China)

Local Scientific Programming Committee: (*executives)

Hiroshi Azuma* (Asahikawa Med. Univ., Japan)

Manabu Kinoshita (Natl Defense Med. Coll., Japan)

Mitsutomo Kohno (Tokai Univ., Japan)

Liangmin Liu (Chin. Third Mil. Med. Univ., China)

Zhong Liu (IBT, Chin. Acad. Med. Sci., China)

Takashi Matsuhira (Nara Med. Univ., Japan)

Masanori Matsumoto (Nara Med. Univ., Japan)

Carl W. Rawsch (Redpharm. Co., China)

Jinhai Shi (Tianjin Inst. Int. Biomed., China)

Zhiguo Su* (Chin. Acad. Sci., China)

Kazuaki Taguchi (Keio Univ., Japan)

Bonpei Takase (Natl Defense Med. Coll., Japan)

Shinji Takeoka (Waseda Univ., Japan)

Ziyuan Wang (Xuzhou Normal Univ., China)

Binglou Wong (HongKong Aihua Biotech., China)

Hong Zhou (Chin. Acad. Mil. Med., China)

International Advisory Board Members: (alphabetical order)

Alayash A (USA)

Abuchowski A (USA)

Bian Y (China)

Biro B (Canada)

Bucci E (USA)

Bülow L (Sweden)

Burhop K (USA)

Chang TMS (Canada)

Chen C (China)	Cooper C (UK)	D'Agnillo F (USA)	Estep T (USA)
Feola M (USA)	Gould S (USA)	Greenburg AG (USA)	Hong Z (China)
Intaglietta M (USA)	Jahr S (USA)	Keipert P (USA)	Kim HW (USA)
Kluger R (Canada)	Kobayashi K (Japan)	Krafft MP (France)	Liu Q (China)
Liu JX (China)	Ma L (USA)	Meßmer K (Germany)	Mozzarelli A (Italy)
Palmer A (USA)	Privalle C (USA)	Pugach I (Russia)	Rausch C (USA)
Riess JG (France)	Sakai H (Japan)	Simoni J (USA)	Su ZG (China)
Tsai AG (USA)	Wang Z (China)	Wei G (China)	Wong B (China-HK)
Xiu RJ (China)	Yang CM (China)	Yu BL (USA)	Zafirris G (USA)
Zal F (France)	Zapol W (USA)	Zhao L (China)	Zhu YJW (China)

| Sponsors

Nara Medical University
 The Society of Blood Substitutes, Japan
 The Chemical Society of Japan
 Nara Visitors Bureau

| Grants (by 3 Oct.)

The Naito Foundation
 Terumo Life Science Foundation
 Society for Blood Saving
 Nara Visitors Bureau

| Donation (by 3 Oct.)

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
 Nipro Corporation
 Japan Blood Products Organization
 Janssen Pharmaceutical K.K.
 MediRidge Co., Ltd.
 GlaxoSmithKline K.K.
 KNC Laboratories Co., Ltd.

プログラムの詳細は決定次第、17th-ISBS-2019のホームページ
<https://www.pac-mice.jp/isbs2019/>に掲載します。本誌には演者リストのみ掲載します。

Speakers List (Collected by 3 Oct. 2019)

– Presidential Lectures –

What is the most effective replacement for blood loss?

Thomas M. S. Chang, OC, MD, CM, PhD, FRCPC, FRS(C)

Director, Artificial Cells & Organs Research Centre, Depts Physiology, Medicine & Biom Eng, Faculty of Medicine, McGill University, Montreal, QC, Canada

Artificial Red Cells Project in Japan

Hiromi Sakai¹, Hirohisa Horinouchi², Koichi Kobayashi³, Masaki Otagiri⁴, Hiroshi Azuma⁵

¹ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

² Saitama City Hospital, Saitama, Japan

³ Keio University, Tokyo, Japan

⁴ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo University, Kumamoto, Japan

⁵ Department of Pediatrics, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan

The exploration and discussion about the guiding principle of HBOCs research and design

Gang Chen, Jiaxin Liu, Chengmin Yang

Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Chengdu, China

– Plenary Lectures –

Preclinical Perspective on the Cardiovascular Responses to Hemoglobin-Based Oxygen Carriers*

Felice D’Agnillo

Laboratory of Biochemistry and Vascular Biology, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Silver Spring, MD 20993, USA

Turning Stem Cells into Platelets

Koji Eto^{1,2}, Sou Nakamura¹, Naoshi Sugimoto¹

¹ Department of Clinical Application, CiRA, Kyoto University

² Department of Stem Cell Therapy, Graduate School of Medicine, Chiba University

Preclinical investigation of polymerized porcine hemoglobin

Chao Chen

Northwest Univ., China

Blood Component, Transfusion Requirements and Mortality in the Two Largest Phase III Trials of Hemoglobin-based Oxygen Carriers: Hemopure® and PolyHeme

Jonathan S. Jahr, M.D.¹, Arkadiy Pitman, M.S.², Gregory P. Dubé, Ph.D.³, Jessica Riley, D.O.⁴, John P. Williams, M.D.⁵

¹ Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, California

^{2,3} Hemoglobin Oxygen Therapeutics, Souderton, PA

⁴ St. Joseph Mercy Hospital, Ann Arbor, MI

⁵ University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA

Development and Future of Chinese Transfusion Medicine

Jiixin Liu

Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences, P.R.China

Current blood program and blood substitutes

Masahiro Satake

Japanese Red Cross Central Blood Institute, Japan

– Keynote Lectures –

Protein engineering in the design of safe and robust HBOCs

Sandeep Chakane¹, Li-Hua Zhu², Dina Petranovic Nielsen³, Magnus Gram⁴, Lei Ye¹, Bo Åkerström⁴, Olena Ishchuk³, José Luis Martínez Ruis³, Emanuel Smeds⁴, Nelida Leiva Eriksson¹, Solmaz Hajizadeh¹, Tongchang Zhou¹, Selvaraju Kanagarajan², Karin Kettisen¹, Ka Zhang¹, Magnus Carlsson², Leif Bülow¹

¹ Pure and Applied Biochemistry, Dept of Chemistry, Lund University, Sweden

² Plant Breeding, Swedish Agricultural University, SLU-Alnarp, Alnarp, Sweden

³ Biology and Biological Engineering, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden

⁴ Biomedical Center, Lund University, Sweden

Acellular Hemoglobin-based Oxygen Carrier (HBOC)-mediated Bradycardia: Another Affair with Nitric Oxide?

Hae Won Kim and A. Gerson Greenburg

Brown University, Providence, RI, USA.

SanFlow for Unmet Medical Needs Caused by Superoxide Toxicity

Carleton J.C. Hsia

AntiRadical Therapeutics LLC, Sioux Falls, South Dakota, 57107

Innovative research approach to produce a large quantity of regenerated platelets/platelet substitutes in Japan

Yasuo Ikeda

Waseda University, Japan

Restoration of oxygen carrying capacity/delivery capacity in anemia

Judith Martini¹, Amy G. Tsai², Pedro Cabrales², Daniel M. Tartakovsky³, Konrad Meßmer⁴, and Marcos Intaglietta²

¹ Clinic for Anaesthesia and Intensive Care Medicine, Medical University Innsbruck, Austria

² University of California, San Diego, La Jolla, California, USA

³ Stanford University, Palo Alto, California., USA

⁴ Universität München, Munich, Germany

History of Blood Substitutes Research in Japan

Koichi Kobayashi

Keio University, Japan

Human Albumin Based Drug Delivery : SNO-Albumin dimer for cancer therapeutic application

Masaki Otagiri

Sojo University, Japan

Evaluation of fibrinogen dodecapeptide(H12)-coated, ADP-encapsulated liposomes as hemostatic nanoparticles

Shinji Takeoka¹, Genki Komakine¹, Suyun Janet Tan^{1,2}

¹ Department of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, TWIns, Waseda University, Tokyo, Japan

² Centre Grant, Department of Clinical Research and Innovation Office, Tan Tock Seng Hospital, Singapore, Singapore

(Luncheon Seminars)

Big issues for the world malaria elimination

Shigeyuki Kano

Res. Inst. Natl Center for Global Health & Med., Japan

New therapy for hemophilia A by factor VIII mimicking bispecific antibody

Midori Shima

Dept. of Pediatrics, Nara Med. Univ., Kashihara, Japan

– Invited Lectures –

Increased Oxygen Extraction from RBCs during Anemia by High O₂ Affinity Hb in Plasma: Combining Supra Plasma Expansion with O₂ Transfer Catalysis by Hb for Treating Anemia.

Seetharama Acharya, Amy G. Tsai, Savita Bhutoria, Fantao Meng, Sangeetha Thangaswamy, Craig Branch, and Marcos Intaglietta.

Departments of Medicine; Physiology & Biophysics, and Radiology,
Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY
Department of Bioengineering, UCSD, La Jolla, CA.

Normothermic preservation of the rat hind limb with artificial oxygen-carrying hemoglobin vesicles and the possibility of therapeutic application

Jun Araki¹, Hiromi Sakai², Munekazu Naito³, Junichi Nakao¹ and Masahiro Nakagawa¹

¹ Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Shizuoka Cancer Center Hospital, Shizuoka, Japan

² Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

³ Department of Anatomy, Aichi Medical University, Aichi, Japan

Induction of B7-H3 positive myeloid-derived suppressor cells (MDSC) by liposomal nanoparticles

Hiroshi Azuma¹ Yoichiro Yoshida¹, Tsunehisa Nagamori¹, Emi Ishibazawa¹, Hiroya Kobayashi, Hiromi Sakai³, Daisuke Takahashi⁴, Mitsuhiro Fujihara⁵

¹ Department of Pediatrics, Asahikawa Medical University, Asahikawa Japan

² Department of Immunopathology, Asahikawa Medical University, Asahikawa Japan

³ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

⁴ R & D Department, Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan

⁵ Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center, Sapporo, Japan

Hemoglobin submicron particles as carriers for oxygen and drugs

Hans Bäuml

Institute of Transfusion Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany

Mitered oxygen delivery and transport to prevent ischemia and reperfusion injury of the heart

Olga Bockeria, MD, Professor of Cardiology

Medical Technology Associates (MTA) II, VP Clinical Development, PA, USA

Different oxygen stress induced by high- and low-affinity PEGylated hemoglobin-based oxygen carriers in a Guinea pig exchange transfusion model

Stefano Bruno^{1,3} Esra'a Ali Mohammad Alomari¹, Luca Ronda^{2,3,4}, Stefano Bettati^{2,3,4}, Giuseppe Ristagno⁵, Chris E. Cooper⁶, Brandon J. Reeder⁶, Andrea Mozzarelli¹,

¹ Department of Food and Drug, University of Parma, Parma, Italy

² Department of Medicine and Surgery, University of Parma, Parma, Italy

³ Biopharmanet-TEC, University of Parma, Parma, Italy

⁴ Institute of Biophysics, CNR, Pisa, Italy

⁵ Istituto di Ricerche Farmacologiche 'Mario Negri', Milan, Italy

⁶ School of Biological Sciences, University of Essex, Colchester, United Kingdom

PolyHb toxicity is determined by molecular weight

Pedro Cabrales

Dept. of Bioengineering, University of California San Diego

Characterization of hydroxypropyl, acid-thinned waxy tapioca starch based plasma expander

Surapong Chatpun¹ Atitaya Sookasem¹ Sirithorn Lertphanich² Kuakoon Piyachomkwan²

¹ Institute of Biomedical Engineering, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand 90110

² National Center of Genetic Engineering and Biotechnology, Pathum Thani, Thailand 12120

What we learned from the cure of HCV: Road leads to the control of transfusion-transmitted infectious diseases (TTIDs)

Limin Chen^{1,2}

¹ Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Chengdu, China

² Toronto General Research Institute, University of Toronto, ON, Canada

New design approaches for a recombinant hemoglobin based oxygen carrier

Chris Cooper¹, Gary Silkstone¹, Michelle Simons¹, Svetlana Gretton¹, Victoria Allen-Baume¹, Natalie Syrett¹, Luca Ronda², Nélida Leiva Eriksson³, Alex Dyson⁴, Andrea Mozzarelli², Leif Bülow³, Mervyn Singer⁴, Brandon Reeder¹

¹ School of Life Sciences, University of Essex, Colchester, UK

² Dept. of Medicine and Surgery and Department of Food and Drug, University of Parma, Parma Italy

³ Department of Pure and Applied Biochemistry Lund University, Sweden

⁴ Division of Medicine, University College London, UK

ErythroMer: Bio-inspired Design & Performance Data for Nanofabricated Artificial RBCs

Jennifer Richards, Zhuozhi Wang, Stephen Rogers, Xue Lin, Dinabandhu Sar, Esra Altun, Jose Aldana, Rohit Rasane, Anja Fuchs, Sarba Ghosh, Grant Bochicchio, Philip Spinella, Dipanjan Pan, Allan Doctor

KaloCyte, University of Maryland, USA

Combination therapy using fibrinogen γ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes and hemoglobin vesicles for trauma-induced massive hemorrhage in thrombocytopenic rabbits

Kohsuke Haggisawa¹, Manabu Kinoshita², Masato Takikawa³, Shinji Takeoka⁴, Daizoh Saitoh⁵, Shuhji Seki², Hiromi Sakai⁶

Depts of ¹Physiology, ²Immunology and Microbiology, National Defense Med Coll, Tokorozawa, Japan

Depts of ³Advanced Science and Engineering, and ⁴Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

⁵ Division of Traumatology, National Defense Med Coll Research Institute, Tokorozawa, Japan

⁶ Dept. of Chemistry, Nara Med. Univ., Kashihara, Japan

Hemoglobin Vesicle: resuscitation fluid for hemorrhagic shock

Hirohisa Horinouchi¹, Yasuhisa Seishi², Koichi Kobayashi², Hiromi Sakai³

¹ Saitama city hospital, Saitama, Japan,

² Center for Integrated Medical Research, Sch. Med, Keio Univ., Japan

³ Dept. of Chemistry, Nara Med Univ., Kashihara, Japan

Patient blood management (tentative)

Lihua Hu

Huazhong Univ. Sci.&Eng., China

Design of Hemoglobin-Polymer Nano-assemblies for Oxygen Transfusion and Other Biomedical Attempts

Yubin Huang

State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, ChangChun 130022, People's Republic of China

Immunological response to PEGylated liposomes: production of anti-PEG antibodies and their affection on PK of second dose

Tatsuhiro Ishida

Dept. of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Inst. of Biomedical Sciences, Tokushima Univ., Japan

CMC Regulatory Considerations in the Drug Development of Hemoglobin-Based Oxygen Carriers*

Yiping Jia

Laboratory of Biochemistry and Vascular Biology, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Silver Spring, MD 20993, USA

Pegylated HBOCs with Higher Oxygen Affinity Effectively Target Oxygen Delivery to Ischemic and/or Hypoxic Tissues

Peter E. Keipert, PhD*§

* President & Consultant, Keipert Corp. Life Sciences Consulting, San Diego, CA

§ Formerly, VP, Clinical Development, Sangart Inc., San Diego, CA

Medical countermeasure using hemoglobin vesicles against trauma hemorrhagic shock

Manabu Kinoshita¹, Kohsuke Hagsawa², Hiroki Ishibashi³, Hiromi Sakai⁴

¹ Dept. of Immunology and Microbiology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

² Dept. of Physiology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

³ Dept. of Obstetrics and Gynecology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

⁴ Dept. of Chemistry, Nara Med. Univ., Kashihara, Japan

Biological Roles of Endogenous Carbon Monoxide in Blood

Hiroaki Kitagishi

Dept. of Molecular Chemistry and Biochemistry, Doshisha Univ., Kyoto, Japan

Crocodile hemoglobin: Challenging and beyond

Napaporn Roamcharearn^{1,2}, Phanuphong Wannaphong^{1,2}, Wisarat Payoungkiattikun^{1,2}, Sompong Klaynongsruang^{1,2}

¹ Protein and Proteomics Reacher Center for Commercial and Industrial Purposes (ProCCI), Faculty of Science, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

² Dept. of Biochemistry, Faculty of Science, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

Designs and Benefits of Oxygen Carriers from Site-Selectively Coupled Cross-Linked Hemoglobins

Aizhou Wang, and Ronald Kluger

Department of Chemistry, University of Toronto, Toronto, Ontario M5S 3H6, Canada

Hemoglobin-Albumin Cluster “HemoAct™” as Red Blood Cell Substitute and O₂ Therapeutic Reagent

Teruyuki Komatsu

Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering, Chuo University

1-13-27 Kasuga, Bukyo-ku, Tokyo 112-8551, Japan

Advances in Fluorocarbon-Assisted Oxygen Delivery, Diagnostics and Theranostics

Marie Pierre Krafft

Institut Charles Sadron, Centre National de la Recherche Scientifique, University of Strasbourg, France

Individualized Red-cell Transfusion Strategy for Non-cardiac Surgery in Adults: a prospective, open-label, randomized clinical trial

Ren Liao, Jin Liu, et al.

Dept. of Anesthesiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, China.

Selection of animal model and index for pharmacodynamic evaluation of blood substitutes (tentative)

Liangmin Liu

Inst. Surgery, Army Med. Univ., China

20 Year Journey of blood safety in China

Liu Zhong

Inst. of Blood Transfusion, Chin. Acad. Med. Sci., China

Erythrocytes derived from hematopoietic stem cell-independent pathway (tentative)

Feng Ma

Inst. Blood Transfusion, Chin. Acad. Med. Sci., China

Bleeding management is coagulation management: The European approach of targeted coagulation therapy in massive bleeding

Judith Martini¹, Dietmar Fries², Petra Innerhofer¹, Corinna Velik-Salchner¹, Amy G Tsai³

¹ Clinic for Anaesthesia and Intensive Care Medicine, Medical University Innsbruck, Austria

² Clinic for General and Surgical Intensive Care Medicine, Medical University Innsbruck, Austria

³ Dept. of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA

Albumin Fusion Protein : Next Generation of Albumin Preparation

Toru Maruyama¹, Masaki Otagiri²

¹ Dept. of Biopharmaceutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Japan

² Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo University, Japan

Megakaryocytes and Platelets from Novel Human Adipose Tissue-derived Mesenchymal Stem Cells

Yumiko Matsubara

Clinical and Translational Research Center, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan,

Present status of transplant organ preservation by dynamic machine perfusion system:

How important is the development of a novel organ preservation solution?

Naoto Matsuno

Asahikawa Medical University, Japan

Identification of potential chemical compounds able to trigger enucleation of immortalized human erythroid cell lines

Svetlana Soboleva¹, Ryo Kurita², Fredrik Ek³, Roger Olsson³, Yukio Nakamura⁴, Kenichi Miharada¹

¹ Div. Molecular Medicine and Gene Therapy, Lund Stem Cell Center, Lund University, Lund, Sweden

² Dept. Research and Development, Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo, Japan

³ Dept. Experimental Medical Science, Lund University, Lund, Sweden

⁴ Div. Cell Engineering, RIKEN BioResource Center, Tsukuba, Ibaraki, Japan.

Hemoglobin vesicles treatment in future perinatal medicine: application of artificial oxygen carriers for pre-eclampsia

Hidehiko Ohta^{1,2}, Maiko Kaga³, Heng Li⁴, Hiromi Sakai⁵, Koichi Kobayashi⁶, Kunihiro Okamura⁷, Nobuo Yaegashi⁷

¹ Department of Neuropsychiatry, Akita University Graduate School of Medicine, Akita, Japan

² Department of Psychophysiology, National Institute of Mental Health, Kodaira, Japan

³ Department of Pediatrics, National Hospital Organization Sendai Medical Center, Sendai, Japan

⁴ Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, Kodaira, Japan

⁵ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

⁶ Department of General Thoracic Surgery, School of Medicine, Keio University, Tokyo

⁷ Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University Hospital, Sendai, Japan

Mixtures of tense and relaxed state polymerized human hemoglobin regulate oxygen affinity and tissue construct oxygenation.

Donald A. Belcher¹, Uddyalok Banerjee¹, Christopher M. Baehr², Kristopher E. Richardson¹, Pedro Cabrales³, Francois Berthiaume⁴, Andre F. Palmer¹

¹ William G. Lowrie Department of Chemical and Biomolecular Engineering, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA

² Department of Biomedical Engineering, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA

³ Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA, 92039, USA

⁴ Department of Biomedical Engineering, Rutgers University, Piscataway, NJ 08854, USA

A different perspective on hemoglobin solutions: The need to move beyond the mis-directed classification of “blood” substitutes

Carl W. Rausch

MTA2

Artificial red blood cells as potential photosensitizers in laser treatment against red birthmarks

Naoaki Rikhisu¹, Kae Shimanouchi¹, Nobuyuki Mitsukawa¹, Kaito Iuchi², Norimichi Tsumura², Yoshiaki Saito³, Hiromi Sakai⁴

¹ Dept. of Plastic, Reconstructive, and Aesthetic Surgery, Chiba Univ., Graduate School of Medicine, Chiba, Japan

² Dept. of Imaging Sciences, Chiba Univ., Graduate School of Engineering, Chiba, Japan

³ Laboratory of Pathology, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Hatano, Japan

⁴ Dept. of Chemistry, Nara Med. Univ., Kashihara, Japan

Microscopic Structural Insights into Hemoglobin Vesicles (HbVs) and Closely Related Polymer and Protein solutions

Takaaki Sato¹, Otto Glatter², and Hiromi Sakai³

¹ Dept. of Chemistry and Materials, Shinshu Univ., Ueda, Japan

² Inst. for Inorganic Chemistry, Graz Univ. of Technology, Graz, Austria

³ Dept. of Chemistry, Nara Med. Univ., Kashihara, Japan

Hemoglobin Modification Engineering

Zhiguo Su

State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Liposome-encapsulated hemoglobin: Review of the progress of a synthetic red cell

János Szebeni

Nanomedicine Research and Education Center, Semmelweis University, Budapest, Hungary
SeroScience LLC., Cambridge, MA, USA

Carbon monoxide bound Hemoglobin-vesicles are effective in treating inflammatory disorders

Kazuaki Taguchi^{1,2}, Toru Maruyama³, Hiromi Sakai⁴, Masaki Otagiri^{2,5}

¹ Faculty of Pharmacy, Keio University, Tokyo, Japan.

² Faculty of Pharmaceutical Science, Sojo University, Kumamoto, Japan.

³ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan.

⁴ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

⁵ DDS Research Institute, Sojo University, Kumamoto, Japan.

Myocardium through improving myocardial electrical remodeling and the arrhythmogenic substrate in hemorrhagic shock heart syndrome

Bonpei Takase¹, Yuko Higashimura¹, Hiromi Sakai²

¹ Department of Intensive Care Medicine, National Defense Medical College, Japan

² Department of Chemistry, Nara Medial University, Japan

Critical obstetric hemorrhage: perinatal system problem in Japan and need for blood substitutes

Katsuo Terui

Dept. of Obstetric Anesthesiology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University, Kawagoe, Japan

Microvascular response to blood transfusion in a moderately anemic hamster model shows the importance of oxygen delivery over oxygen-carrying capacity.

Amy G Tsai¹, Pedro Cabrales¹, Joel M. Friedman², Marcos Intaglietta¹

¹ Dept. of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, California, US

² Dept. of Biophysics and Hematology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, US

VirTech Bio's Progress and Future Plans with a Large Human Hemoglobin Polymer

Kim D. Vandegriff¹, Bjorn K. Song², William H. Nugent², Joseph Tucker¹, and William R. Light¹

¹ VirTech Bio, Inc., Natick MA, USA

² Song Biotechnologies, Baltimore MD, USA

From a different angle: How to make hemoglobin based oxygen carrier (HBOC) work for human application.

Bing Lou WONG

Advisor and Adjunct Professor, Institute of Blood transfusion, Chinese Academy of Medical sciences, PRC

Basic and clinical aspects of Platelet Transfusion Refractoriness

Rong Xia

Department of Blood Transfusion, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai, China

Hemopure, in the aftermath of HBOC industry's collapse following the 2008 FDA/NIH workshop: What have we learned since then?

Zafiris Zafirelis, Gregory P. Dubé, Fantao Meng

1Hemoglobin Oxygen Therapeutics LLC

First-in-human use of a marine oxygen carrier for organ preservation: a safety and proof-of-principle study

Yannick Le Meur, Emmanuel Morelon, Marie Essig, Antoine Thierry, Matthias Büchler, Sarah Drouin, Charles Deruelle, Lionel Badet, Francis Pesteil, Pierre-Olivier Delpéch, Jean-Michel Boutin, Felix Renard, Benoit Barrou, Franck Zal
CHU Brest, Lyon, Limoges, Poitiers, Tours, Paris La Pitié Salpêtrière. HEMARINA, France

The safety and efficacy evaluation of porcine hemoglobin based oxygen carrier (tentative)

Hongli Zhu

Northwest University, China

Study on the Mechanism of Plasma Adsorption (PA) in Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and Potential Pathogenesis of ALS

Hequn Zou¹, Lei Chen²

¹ Institute of Nephrology and Urology, The 3rd Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510630, China.

² Department of Nephrology, The First People's Hospital of Guangzhou City, Guangzhou, China.

– General presentations –
poster or oral presentation
(in order of submission)

Study on universal virus-inactivated plasma for Chinese population

Liguo Zhu¹, Deqing Wang¹

¹ Dept. of Blood Transfusion, Chinese PLA General Hospital, Beijing, China

SanFlow™ : A Neuroprotective Superoxide Dismutase/Catalase Mimetic Drug for Resuscitation after Traumatic Brain Injury Combined with Hemorrhage Shock for the Combat Casualty Care and Global HealthCare

Soichiro Seno^{1,2}, Jun Wang¹, Suyi Cao¹, Manda Saraswati¹, Sharon Park¹, Bohdan J. Soltys³, Jan Simoni³, Li Ma³, W. Keith Miskimins⁴, Carleton J.C. Hsia³, Raymond C. Koehler¹, Courtney L. Robertson¹

¹ Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA

² Division of Traumatology, Research Institute, National Defense Medical College, Saitama, Japan

³ AntiRadical Therapeutics LLC, Sioux Falls, SD, USA, ⁴ Cancer Biology and Immunotherapies, Sanford Research, Sioux Falls, SD, USA

Effects of stem cell collection and cryopreservation at -80°C on the count and activity of CD34⁺ cells and mononuclear cells

LU Zimin, LI Xuechen, FANG Qi, WANG Jia-yong

Department of Blood Transfusion Affiliated Tongji Hospital, Shanghai Tongji University, Shanghai, 200065, China

Metal-Organic Framework-Hemoglobin Conjugates for Oxygen Carriers

Zhigang Xie,* Yubin Huang

State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun, 130022, P. R. China

Antiplatelet and Antithrombotic Activity of a Novel Phthalide Derivative (CD21) and its Neuroprotective Effect against Ischemic Stroke in Rodents

Junrong Du, Xiao Zhou

Dept. of Pharmacology, West China School of Pharmacy, Sichuan University, China

Properties of Oxygen Carrier Acto₂Hem® Particles Fabricated by CCD Technique

Yu Xiong^{1,2}, Axel Steffen^{1,2}, Radostina Georgieva^{2,3}, Chiraphat Kloypan^{2,4}, Ijad Kao², Hans Bäuml²

¹ Biophyll GmbH, Germany

² Inst. of Transfusion Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany

³ Department of Medical Physics, Trakia University, Bulgaria

⁴ Division of Clinical Immunology and Transfusion Sciences, University of Phayao, Thailand

Synthesis of the hemoglobin-conjugated polymer micelles by thiol Michael addition reaction

Yanxin Qi, Yubin Huang

State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, China

Targeted depletion of tumor-associated macrophages by hemoglobin-based nanomedicines for cancer chemo/immunotherapy

Dongfang Zhou^{1*}, Yubin Huang^{1*}

¹ State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences Changchun, P. R. China

Challenges and opportunities in product development – Act-O₂-Hem a story of ups and downs

Maria Seriakov¹, Alexander Haeusl², Stefanie Dolling², Axel Steffen², Yu Xiong², Dr. Peter Haeusl²

¹ M bioserviceS GmbH, Linz, Austria

² Biophyll GmbH, Dietersburg, Germany

Engineering Heme Stability in Recombinant Human Hemoglobin to Design Potential Hemoglobin Based Artificial Oxygen Carrier

Mohd. Asim Khan¹, Nidhi Mittal¹, Sanjeev Kumar Yadav¹, Gaurav Mittal², Amit Tyagi² and Suman Kundu^{1*}

¹ Department of Biochemistry, University of Delhi, South Campus, New Delhi, India

² Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences, Defence Research and Development Organisation, Delhi, India

Tumor Vascular Status is the Determinant of Oxygen Delivery Facilitated by Transfused Polymerized Hemoglobins

Donald Belcher¹, Alexander Williams², Pedro Cabrales², Andre Palmer¹

¹ William G. Lowrie Department of Chemical and Biomolecular Engineering, The Ohio State University, Columbus, OH, 43210

² Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA, 92093

Conformational changes and oxygen affinity shifts of glutaraldehyde polymerized crocodile (*Crocodylus siamensis*) hemoglobin during storage

Phanuphong Wannaphong¹, Wisarut Payoungkiattikun¹, Napaporn Roamcharern², Sompong Klaynongsruang^{1,2}

¹ Protein and Proteomics Reacher Center for Commercial and Industrial Purposes (ProCCI), Faculty of Science, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

² Dept. of Biochemistry, Faculty of Science, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

Toward Understanding the Impact of Hemoglobin-Based Oxygen Carriers on Erythropoiesis

Jan Simoni¹, Paula Simoni², Donald E Wesson³

¹ Texas HemoBioTherapeutics & BioInnovation Center, Lubbock, TX, USA

² Texas Tech University HSC, School of Pharmacy and Covenant Health, Lubbock, TX, USA

³ Baylor Scott & White Health and Texas A&M University College of Med., Dallas/Temple, TX, USA

Arginine-based cationic liposomes promoted antigen presentation and T cell activation *in vitro*

Tianshu Li¹, Matthias Zehner², Sven Burgdorf², Shinji Takeoka^{1,3}

¹ Institute for Advanced Research of Biosystem Dynamics, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

² Molecular Immunology and Cell Biology, Life and Medical Sciences Institute, University of Bonn, Bonn, Germany

³ Department of Life Science and Medical Bioscience, Waseda University, Tokyo, Japan

A Hidden Cooperative Function of NAD(P)H and HbO₂ for Suppressing MetHb Formation and Elucidation of Its Antioxidative Pseudo-enzymatic Mechanism

Magohei Yamada¹, Takashi Matsuhira¹, Keizo Yamamoto¹, Hiromi Sakai¹

¹ Dept. of Chemistry, Nara Med. Univ., 840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521, Japan

Hemoglobin-Albumin Cluster “HemoAct™” for Resuscitation from Hemorrhagic Shock in Rats

Wataru Okamoto^a, Tomonori Kashima^a, Hiroto Onozawa^b, Ryo Hashimoto^b, Mitsutomo Kohno^b, Masayuki Iwazaki^b, Teruyuki Komatsu^a

^a Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering, Chuo University, Tokyo, Japan

^b Department of Thoracic Surgery, School of Medicine, Tokai University, Isehara, Japan

A uniquely homogenous PEGylation method without significantly affecting hemoglobin oxygen affinity and cooperativity.

Brandon Reeder¹, Michelle Simons¹, Victoria Allen-Baume¹, Svetlana Gretton¹, Gary Silkstone¹, Natalie Syrett¹, Nélida Leiva Eriksson², Alex Dyson³, Luca Ronda⁴, Matthew Bird⁵, Andrea Mozzarelli⁴, Leif Bülow², Ji-won Choi⁵, Mervyn Singer³, Chris Cooper¹

¹ School of Life Sciences, University of Essex, Wivenhoe Park, Colchester, UK

² Department of Pure and Applied Biochemistry Lund University, Sweden

³ Division of Medicine, University College London, UK

⁴ Department of Medicine and Surgery & Department of Food and Drug, University of Parma, Italy

⁵ Abzena, Babraham Research Campus, Babraham, Cambridge, UK

Hemoglobin Vesicles prolong the time to circulatory collapse in rats during apnea

Yusuke Naito¹, Satoki Inoue¹, Hiromi Sakai², Masahiko Kawaguchi¹

¹ Department of Anesthesiology, Nara Medical University, Kashihara, Japan

² Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

Electronic Control of Myoglobin Function

Tatsuro Sugita¹, Takashi Matsuo², Shun Hirota², Sachiko Yanagisawa³, Takashi Ogura³, Osami Shoji⁴, Yoshihito Watanabe,⁴ Akihiro Suzuki⁵, Saburo Neya⁶, Atsuya Momotake¹, and Yasuhiko Yamamoto¹

¹ Department of Chemistry, University of Tsukuba, Japan

² Graduate School of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology, Japan

³ Department of Life Science, Graduate School of Life Science, University of Hyogo, Japan

⁴ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Nagoya University, Japan

⁵ Department of Materials Engineering, National Institute of Technology, Nagaoka College, Japan

⁶ Department of Physical Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, Japan

***In vitro* Toxicity and Physiological Effects of Polymerized Crocodile Hemoglobin (Poly-cHb) on Hemorrhage Class II and Resuscitation in Hamster Model**

Napaporn Roamcharern^{1,2}, Wisarut Payoungkiattikun², Sompong Klaynongsruang^{1,2}

¹ Dept. of Biochemistry, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

² Protein and Proteomics Research Center for Commercial and Industrial Purpose (ProCCI), Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand

Does a perfluorooctylbromide-core improve the performance of albumin-derived perfluorocarbon-based artificial oxygen carriers?

Katja Bettina Ferenz¹, Alexandra Scheer², Anna Wrobeln¹, Johannes Jaegers¹ and Michael Kirsch²

¹ Institute of Physiology, University of Duisburg-Essen, University Hospital Essen, Germany

² Institute of Physiological Chemistry, University of Duisburg-Essen, University Hospital Essen, Germany

Polydopamine-Based Surface Modification on Hemoglobin Particles for Stability Enhancement of Oxygen Carriers

Jilin Hu, Quan Wang, Ying Wang, Guoxing You, Yuhua Zhang, Jin Zhao, Penglong Li, Lian Zhao, Hong Zhou
Institute of Health Service and Transfusion Medicine, 100850 Beijing, PR China

Microsized perfluorocarbon-based oxygen carriers prepared *via* SPG membrane emulsification

Xiaoting Fu¹, Seiichi Ohta², Masamichi Kamihira³, Yasuyuki Sakai¹, Taichi Ito^{1,2}

¹ Dept. of Bioengineering, Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan

² Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan

³ Dept. of Chemical Engineering, Kyushu Univ., Fukuoka, Japan

Synthesis and Oxygen Binding Property of Recombinant Hemoglobin(β C93A)-Albumin Cluster “HemoActTM” with Allosteric Effect of Inositol Hexaphosphate

Yoshitsugu Morita, Teruyuki Komatsu

Department of Applied Chemistry, Chuo University, Tokyo, 112-8551, Japan

Efficient Synthesis Procedure of Hemoglobin-Albumin Cluster “HemoAct™”

Tatsuhiko Hamano¹, Sho Sakata,¹ Ryosuke Funaki,¹ Yoshitsugu Morita,¹ Teruyuki Komatsu¹

¹ *Department of Applied Chemistry, Faculty of Sci. and Eng., Chuo University, Tokyo 112-8551, Japan*

Development of High-Sensitive and Rapid Biomolecule Detection Method by Using Temperature-responsive Fluorescent Liposomes

Runkai Hu¹, Keitaro Sou², Shinji Takeoka^{1,3}

¹ Department of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

² Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

³ Institute for Advanced Research of Biosystem Dynamics, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

Hemoglobin-based oxygen carrier with antioxidant properties towards hypoxia treatment

Michelle M. T. Jansman, Xiaoli Liu, and Leticia Hosta-Rigau.

Department of Health Technology, Centre for Nanomedicine and Theranostics, Technical University of Denmark, Produktionstorvet, B423, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

The formation of oxygen carrying hemoglobin nanoparticles through desolvation precipitation

Richard Hickey¹, Andre Palmer¹

¹ William G. Lowrie Dept. of Chemical and Biomolecular Engineering, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

Polymerized bovine hemoglobin derivatives by 8-arm PEG: Different abilities of oxygen delivery and unloading

Weili Yu¹, Lian Zhao², Hong Zhou², Tao Hu^{1,*}

¹ State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

² Institute of Health Service and Transfusion Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Total liquid ventilation with oxygen fine bubbles for acute lung injury

Kenta Kakiuchi¹, Norikazu Harii², Takehiro Miyasaka³, Shinji Takeoka¹, Kenichi Matsuda²

¹ Dept. of Life Science and Medical Bioscience, Waseda University, Japan.

² Dept. of Emergency and Crit. Care Medicine, Univ. Yamanashi School of Med., Japan

³ Dept. of Materials and Human Environmental Science, Shonan Institute of Tech., Japan

Evasion of the Accelerated Blood Clearance Phenomenon by Polysarcosine Coating of Liposomes

Kon Son^{1,2}, Motoki Ueda^{1,3}, Kazuaki Taguchi^{4,5}, Toru Maruyama⁶, Shinji Takeoka*², Yoshihiro Ito*^{2,3}

¹ RIKEN Cluster for Pioneering Research (CPR)

² School of Advanced Science and Engineering, Waseda University

³ RIKEN Center for Emergent Matter Science (CEMS)

⁴ Faculty of Pharmacy, Keio University

⁵ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo University

⁶ Graduate School of Pharmaceutical Science, Kumamoto University

Supramolecular Ring-Opening Polymerization of Hemoglobin and Subsequent Fixation

Using Site-Specific Cross-Linking within $\alpha_2\beta_2$ Tetramers

Takashi Matsuhira, Keizo Yamamoto, and Hiromi Sakai

Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

Nanoparticles Fully Made of Hemoglobin and Their Evaluation as Potential Oxygen Delivery Systems

Xiaoli Liu¹, Michelle M. T. Jansman¹, Peter W. Thulstrup², Ana C. Mendes³, Ioannis S. Chronakis³, Leticia Hosta-Rigau¹

¹ DTU Health Tech, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby, Denmark

² Dept. of Chemistry, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

³ DTU Food, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby, Denmark

Quantification of Hybrid $\alpha_2\beta_2$ Tetramer Formed by Spontaneous Exchange of Dimeric $\alpha\beta$ Subunits between PEGylated and Native Hemoglobins Using Intra-Molecular Cross-Linking

Takashi Matsuhira, Keizo Yamamoto, and Hiromi Sakai

Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

Therapeutic Potential of Fibrinogen gamma-Chain Peptide-Coated, ADP-Encapsulated Liposomes, as a Synthetic Platelet Substitute, for Post-Cardiopulmonary Bypass Coagulopathy

Osamu Ishida¹, Kohsuke Haggisawa², Nozomu Yamanaka¹, Koji Tsutsumi¹, Hidenori Suzuki³, Shinji Takeoka⁴ and Manabu Kinoshita⁵

¹ Dept. of Cardiovascular Surgery, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

² Dept. of Physiology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

³ Div. of Morphological and Biomolecular Research, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan

⁴ Dept. of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

⁵ Dept. of Immunology and Microbiology, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

Genetically modified fetal hemoglobins for HBOC development

Karin Kettisen, Leif Bülow

Dept. of Chemistry, Div. of Pure and Applied Biochemistry, Lund University, Lund, Sweden

Analysis of adverse reactions of blood transfusion in China

Ling Li, Xue Tian, Zhong Liu

Institute of Blood Transfusion, CAMS& PUMC, China

Effect of Cationic Lipid Structure on Cellular Membrane Fusion Behavior of Cationic Liposomes

Mizuki Fujisawa¹, Tianshu Li², Shinji Takeoka^{1,2}

¹ Department of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan, ² Institute for Advanced Research of Biosystem Dynamics, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

Encapsulation of S-Nitrosoglutathione within liposomes for Enhanced Nitric Oxide Donor stability and Delivery

Ye Cao^{1,#}, Yee Shan Wong^{1,#}, Anastasia Darwitan¹, Subbu Venkatraman^{*1}

¹ School of Materials Science and Engineering, Nanyang Technological University, Singapore 648364

Co-first author, * corresponding author

Regulation of Blood Substitutes in Japan

Teruyo Arato¹

¹ Clinical Research and Medical Innovation Center, Hokkaido University Hospital, Sapporo, Japan

Site-specific propylation of hemoglobin at Val-1(α) improves the structural and functional properties of di-PEGylated hemoglobin at Val-1(β)

Weili Yu¹, Lian Zhao², Hong Zhou², Tao Hu^{1,*}

¹ State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

² Institute of Health Service and Transfusion Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Protective effect and mechanism of high oxygen affinity hemoglobin oxygen carrier on isolated rat hearts

Wentao Zhou, Shen Li, Shasha Hao, Honghui Zhang, Yaojin Li, Lingxi Liu, Hong Wang, Jiabin Liu, Chengmin Yang

Institute of Blood Transfusion, Chin. Acad. Med. Sci., China

Reperfusion of subepithelial capillaries after tracheal transplantation and systemic administration of hemoglobin vesicles in a mouse model.

Hiroto Onozawa¹, Mitsutomo Kohno¹, Kana Oiwa¹, Ryo Hashimoto¹, Masazumi Watanabe², Hirohisa Horinouchi³, Hiromi Sakai⁴, Koichi Kobayashi², Masayuki Iwazaki¹

¹ Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery, Tokai University School of Medicine, Isehara,

² Department of General Thoracic Surgery, Keio University School of Medicine, Tokyo,

³ Department of General Thoracic Surgery, Saitama City Hospital, Saitama,

⁴ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Nara, Japan.

Recombinant Hemoglobin-Albumin Cluster “HemoAct™” as an Entirely Synthetic O₂ Carrier

Ryosuke Funaki¹, Wataru Okamoto¹, Chihiro Endo¹, Yoshitsugu Morita¹, Kiyohito Kihira², and Teruyuki Komatsu¹

¹ Department of Applied Chemistry, Chuo University, Tokyo 122-8551, Japan

² JEM Utilization Center, Human Spaceflight Technology Directorate, Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), Tsukuba-shi 305-8505, Japan

Preparation of anionic liposomes encapsulating FITC-Dextran in microfluidic device for multivariate analyses

Morihiro Hotta¹, Shutaro Uehara¹, Yohei Nishikawa^{1,2}, Li Tianshu³, Masahito Hosokawa³, Haruko Takeyama^{1,2,3,4}, Shinji Takeoka¹

¹ Dept. Life Sci. Med. Biosci., Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., Tokyo, Japan

² AIST-Waseda Univ. Comput. Bio Big-Data Open Innov. Lab., Tokyo, Japan

³ Waseda Res. Inst. Sci. Eng., Waseda Univ., Tokyo, Japan

⁴ Res. Org. Nano Life Innov., Waseda Univ., Tokyo, Japan

Pre-treatment with Doxebo suppresses anti-PEG IgM immune responses through PEG-specific immune tolerance

Taro Shimizu¹, Koga Miyahara¹, Gergely Tibor Kozma², Hidenori Ando¹, Yu Ishima¹, Janos Szebeni², Tatsuhiko Ishida¹

¹ Dept. of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Tokushima Univ., Tokushima, Japan

² Semmelweis Univ., Hungary

Immediate effects of systemic administration of high-O₂-affinity hemoglobin vesicles in a rat pneumonectomy model

Ryo Hashimoto¹, Mitsutomo Kohno¹, Masazumi Watanabe², Hirohisa Horinouchi³, Hiromi Sakai⁴, Koichi Kobayashi², Masayuki Iwazaki¹

¹ Division of Thoracic Surgery, Department of Surgery, Tokai University School of Medicine, Isehara, Japan.

² Department of General Thoracic Surgery, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan.

³ Department of General Thoracic Surgery, Saitama City Hospital, Saitama, Japan.

⁴ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Nara, Japan.

Measures to prohibit post mortem hemoglobin mediated lipid oxidation in herring and rainbow trout

Semhar Ghirmai¹, Haizhou Wu¹, Michael Axelsson² and Ingrid Undeland¹

¹ Chalmers University of Technology, Department of Biology and Biological Engineering – Food and Nutrition Science, Gothenburg, Sweden

² Gothenburg University, Department of Biological and Environmental Sciences

Effects of carbon monoxide-bound hemoglobin-vesicles on the cranial nervous system

Chie Okuda, Hiromi Sakai

Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

Therapeutic Effect of Albumin-based Nitric Oxide Donor on the Renal Fibrosis

Shun Oshiro¹, Yu Ishima², Hitoshi Maeda¹, Hiroshi Watanabe¹, Masaki Otagiri³, Toru Maruyama¹

¹ Dept. of Biopharmaceutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto Univ., Japan

² Dept of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Univ., Japan

³ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo Univ., Japan

Polymerized human placenta hemoglobin attenuates severe burns-induced myocardial and vascular damage

Yan Deng¹, Shen Li², Wentao Zhou², Chengmin Yang², Tao Li¹

¹ Laboratory of Anesthesiology and Translational Neuroscience Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

² China Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences, Chengdu 610052, China.

Preparation of Hb-V Using Rotation-Revolution Mixer for High Encapsulation Efficiency

Tomoko Kure, Hiromi Sakai

Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

Efficacy of Resuscitative Transfusion with Hemoglobin Vesicles for severe postpartum hemorrhage

Hiroki Ishibashi¹, Kohsuke Haggisawa², Manabu Kinoshita³, Yukako Yuki⁴, Morikazu Miyamoto¹, Hiromi Sakai⁵, Daizoh Saito⁶, Katsuo Terui⁴, Masashi Takano¹

Department of Obstetrics and Gynecology¹, Physiology² and Immunology and Microbiology³ National Defense Medical College Hospital, Saitama, Tokorozawa, Japan

⁴ Division of Anesthesiology, Saitama Medical University, Kawagoe, Japan

⁵ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Nara, Japan

⁶ Division of Traumatology, National Defense Medical College Research Institute, Tokorozawa, Japan

Hemoglobin-vesicles as a transfusion alternative for perioperative hemorrhage in pneumonectomized mice

Kana Oiwa¹, Mitsutomo Kohno¹, Hiroto Onozawa¹, Ryo Hashimoto¹, Ryota Masuda¹, Masazumi Watanabe², Hirohisa Horinouchi³, Hiromi Sakai⁴, Koichi Kobayashi², Masayuki Iwazaki¹

¹ Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery, Tokai University School of Medicine

² Department of Surgery, Keio University School of Medicine

³ Department of General Thoracic Surgery, Saitama City Hospital

⁴ Department of Chemistry, School of Medicine, Nara Medical University

Surface-Anchored Framework for Generating RhD-Epitope Stealth Red Blood Cells

Ben Wang^{1,2}, Yueqi Zhao³, Ruikang Tang^{3,4}

¹ Cancer Institute (Key Laboratory of Cancer Prevention and Intervention, China National Ministry of Education), The Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, 310009, China

² Institute of Translational Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China

³ Center for Biomaterials and Biopathways, Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou, 310027, China

⁴ Qiushi Academy for Advanced Studies, Zhejiang University, Hangzhou, 310027, China

Hemoglobin Transition to Membrane-Bound State and its Correlation with Erythrocyte Stability

Alexey F. Topunov¹, Olga V. Kosmachevskaya², Elvira I. Nasybullina¹, Valentina N. Blindar²

¹ Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

A de novo molecular mechanism of hypertyrosinemia mediated by TTC36-STK33-PELI1 signaling axis

Qin Zhou

College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, China

Preliminary study on the effect of polymerized human cord hemoglobin on rat myocardial tissue

WANG Jing, LI Wanjing, LI Yaojin, LI Hongying, LI Shen, WANG Hong, YANG Chengmin, LIU Jiabin

Inst. of Blood Transfusion, Chin. Acad. Med. Sci., China

A novel S-sulfhydrated human serum albumin suppresses reactive oxygen species induced by kidney injuries

Mayumi Ikeda¹, Yu Ishima¹, Toru Maruyama², Takaaki Akaike³, Masaki Otagiri⁴, Tatsuhiro Ishida¹

¹ Dept. of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Tokushima Univ., Tokushima, Japan

² Dept. of Biopharmaceutics, Kumamoto Univ., Kumamoto, Japan

³ Dept. of Environmental Medicine and Molecular Toxicology, Tohoku Univ., Sendai, Japan

⁴ Dept. of Biopharmaceutics, Sojo Univ., Kumamoto, Japan

Microbiota-host interactions in an *ex vivo* arterially perfused intestinal loop: Searching for neuroactive molecules.

Chiko Shimbori¹, Lauren Baerg¹, Giada De Palma¹, Hiromi Sakai², Stephen M Collins¹, Premysl Bercik¹

¹ Dept. of Medicine, Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University, Hamilton, Canada

² Dept. of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Japan

From Blood Substitutes to Medicine for ischemic Cardio-cerebrovascular Diseases

Lei Kai¹, Xingsheng Hou², Ziyuan Wang¹

¹ School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou, China

² School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan, China

The study of 300% isovolemic exchange transfusion with polymerized porcine hemoglobin in rats

Kunping Yan, Dan He, Shuangshuang Huo, Xiaofeng Lei, Yuanyuan Zhang, Zhipeng Yang, Ke Fang

College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an, China

PolyCHb oxygen-carrying fluid resuscitation can reduce tissue hypoxia caused by hemorrhagic shock

Wanjing Li, Jing Wang, Yaojin Li, Shen Li, Wentao Zhou, Hong Wang, Jiaxin Liu*

Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences, Chengdu, P.R. China

The efficacy of hemoglobin vesicles (HbV) containing solution in machine perfusion in donation after cardiac death (DCD) in pig liver model.

Tatsuya Shonaka¹, Naoto Matsuno¹, Hiromichi Obara², Ryo Yoshikawa², Yuji Nishikawa³, Yo Ishihara¹, Hiroki Bochimoto⁴, Mikako Gochi¹, Masahide Otani¹, Hiroyuki Kanazawa¹, Hiroshi Azuma⁵, Hiromi Sakai⁶, Hiroyuki Furukawa¹

¹ Department of Surgery, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Hokkaido, Japan

² Department of Mechanical Engineering, Tokyo Metropolitan University, Hachioji, Tokyo, Japan

³ Department of Pathology, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Hokkaido, Japan

⁴ Division of Aerospace Medicine, Department of Cell Physiology, The Jikei University School of Medicine, Nishi-shinbashi, Tokyo, Japan

⁵ Department of Pediatrics, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Hokkaido, Japan

⁶ Department of Chemistry, Nara Medical University, Kashihara, Nara, Japan

Effect of PolyCHb on pulmonary tissue of resuscitating hemorrhagic shock rats

Hongying Li, Wentao Zhou, Chengmin Yang, Jiaxin Liu

Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Chengdu 610052)

Preliminary study on the effect of PolyCHb on liver of resuscitating hemorrhagic shock rats

Siyang Xie, Yaojing Li, Jiawei Li, Shen Li, Wentao Zhou, Hong Wang, Chengming Yang, Jiaxin Liu

Inst. of Blood Transfusion, CAMS&PUMC, China

Registration

Advance registration is strongly encouraged for smooth operation.

For abstract submission, you are required to complete registration beforehand.

Please go to the registration page.

<https://www.pac-mice.jp/isbs2019/registration.html>

Registration Period

July 1 (MON) - September 15 (MON): Deadline for early bird registration (reduced rate)

Registration Fees (Tentative)

	ADVANCE REGISTRATION (by 23:59 September 15)	Regular/On-site Registration (After 0:00 September 15)
Regular (Company)	JPY 70,000	JPY 80,000
Regular (Academia)	JPY 50,000	JPY 60,000
Student	JPY 20,000	JPY 30,000
Accompanying Person	JPY 10,000	JPY 20,000

*1) Regular and Student registration fee includes the followings: Abstract Book, Social Events below, and lunches (Nov. 21 and Nov. 22 and Nov. 23).

*2) Accompanying Person means family or friends of the participating scientists with no academic purpose. Accompanying person is welcome to Social Events below.

*3) No refund can be made for cancellation, however, you can give your right over to your colleague.

*4) JPY 50,000 is approximately USD 450, EU 400, and CNY 3,000 (Rates as of the 11th of March, 2019)

Social Events

- Welcome Party Nov. 20 (WED) at HOTEL NIKKO NARA
- Banquet Nov. 21 (THU) at Nara Kasugano International Forum
- Get-together Nov. 22 (FRI) at Restaurant “Half Time” (Nara National Museum)

Application Procedure

<https://www.pac-mice.jp/isbs2019/registration.html>

Please register your personal information first and log in to your “My Page”.

A valid passport is needed to enter Japan. Attendees who require a VISA and an invitation letter for the application should address their request to the organizers: isbs2019@pac.ne.jp. For your VISA requirement, please refer to the webpage of Ministry of Foreign Affairs of Japan: https://www.mofa.go.jp/j_info/visit/visa/index.html. The invitation letter will be issued upon completion of the registration.

Abstract Submission

(提出締め切り日が過ぎていますが、参考資料として掲載します)

We welcome oral and poster presentations from general participants, in addition to the Symposium of plenary, keynote, and invited speakers.

Please follow the instruction for abstract submission as below.

In order to submit your abstract, click the button below to go to the abstract submission page.

Instruction:

- Please fill out all the required fields in the abstract submission page.
- Abstract must be prepared concisely in English.
- Please use the abstract template. You can download the docx. template below.
- Length: The abstract should be in one page (including statements of introduction, materials & methods, results, discussion, references, acknowledgments, etc.).
- Keywords: Up to 5 keywords required.
- Abstract submission is only accepted through our online system as below.
- After submitting your abstract online, auto-reply mail will be delivered to your registered e-mail. Please make sure to secure your submission number and password.
- You may view, confirm, and edit your abstract during the submission period. Please note that you will not be able to access to your abstract online after the submission deadline.

| Topics of the symposium

◆ 1. Blood Substitutes

1-1. Novel products development, e.g.,

- (a) RBC substitutes,
- (b) platelet substitutes,
- (c) WBC substitutes,
- (d) plasma expanders,
- (e) coagulation factors, and
- (f) blood cell growth factors,

that can be generated by various technologies, such as chemical modification, chemical synthesis, encapsulation, genetic recombination, and iPS or ES cells derived.

1-2. Pre-clinical safety and efficacy evaluation on pharmacological, toxicological, hemodynamic, microhemodynamic and pharmacokinetic studies of various products.

1-3. Novel technologies on production including pathogen inactivation/removal of biological products.

1-4. Clinical research, such as design on clinical trials, studies on efficacy and adverse effects of various products.

1-5. Others.

◆ 2. Bio-nano carriers for oxygen/carbon monoxide/nitric oxide therapeutics

2-1. New products and their manufacturing technologies

2-2. Biological nano oxygen carrier therapeutics for hypoxia related diseases, such as tumor, vascular disease and donor organ preservation during transplantation, with emphasis on pre-clinical efficacy, safety evaluation and related basic research

2-3. Biological nano carbon monoxide carrier therapeutics for inflammatory and oxidative diseases.

2-4. Biological nano nitric oxide carrier therapeutics for various diseases.

2-5. Research on the design of clinical trials, evaluation on efficacy and adverse reactions of various products and related basic research.

2-6. Others

◆ 3. Artificial cells

3-1. New products that can be used for blood perfusion, drug controlled-release, enzyme immobilization and their manufacturing technologies as well as related basic research.

3-2. Clinical application and other applications, evaluation on the efficacy, safety and related basic research.

3-3. Nanosized soluble artificial cells.

3-4. Others.

◆ 4. Updates and perspectives on clinical transfusion and its adverse reactions

4-1. New concepts on clinical transfusion, new technologies, new experiences, new development trends and related basic research

4-2. Updates and perspectives on transfusion related infectious and non-infectious risks, and related basic research

4-3. Patient blood management

4-4. Others.

Abstract Submission Period

July 1 (MON) - September 15 (SUN)

Accommodation / Excursion

| Accommodation

The hotels nearby the conference venue are available through our travel agency. Please log in and book your accommodation beforehand. For cancellation / modification of your hotel reservation, please refer to the guideline indicated on the booking page.

Please note that the hotels in Nara become very crowded during the tourist season (late November), so we advise you to make reservations well in advance.

◆ Application Procedure (From July 1st)

Please register your personal information first and log in to your “My Page”.

<https://www.pac-mice.jp/isbs2019/accommodation.html>

You may apply for the advance registration as well as reservation for your accommodation at your “My Page”.

Venue and Access

Venue

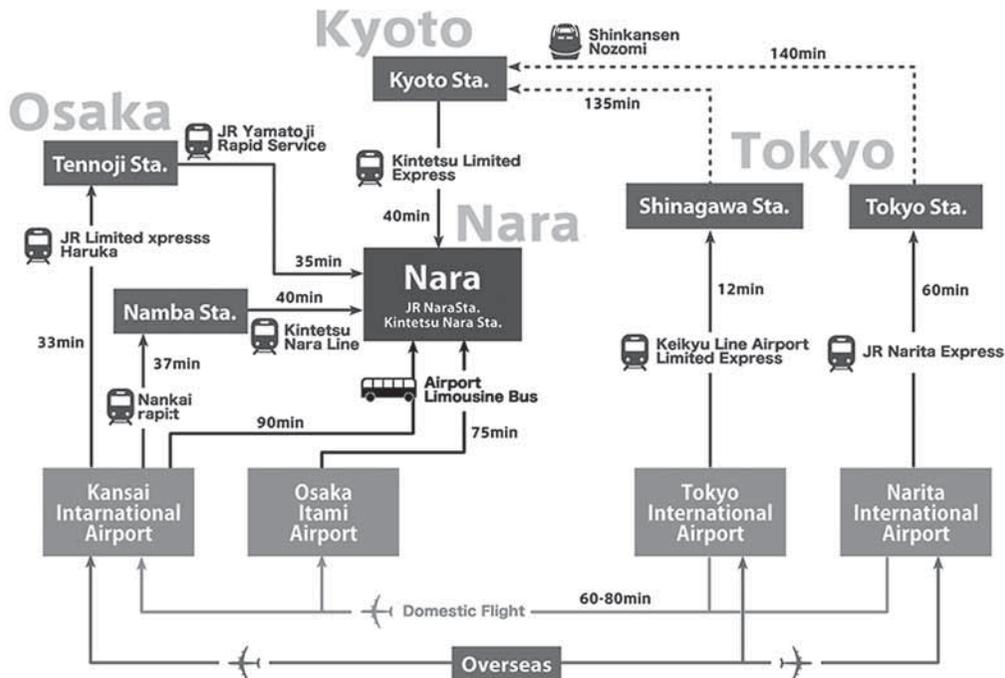
“Nara Kasugano International Forum 菟 IRAKA, Japan”

〒630-8212 奈良市春日野町101 [TEL] 0742-27-2630 [FAX] 0742-27-2634

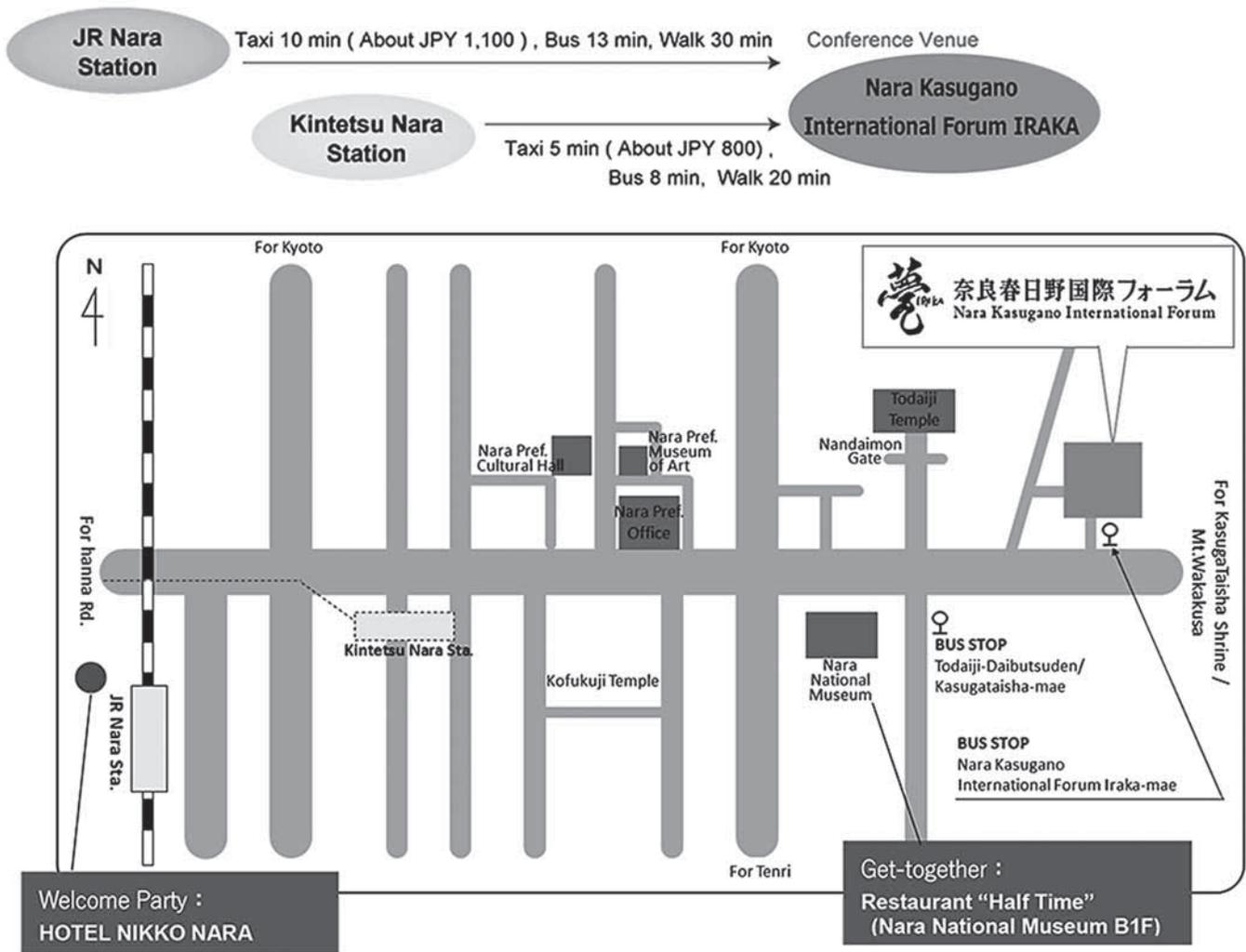
From overseas



From each airport



Access from JR and Kintetsu Nara stations to the venue



◆ On foot

The distances from JR and Kintetsu Nara stations to the venue are 2 km and 1.2 km, which are about 30 min and 20 min walk, respectively.

◆ Taxi

The taxi fees from JR and Kintetsu Nara stations to the venue are 680-750 and 1040-1200 JPY, respectively. It takes about 10 min from the stations to the venue.

◆ City-circle bus

The city-circle bus runs along the red line on the map both clockwise (outer circle (市内循環・外)) and counter clockwise (inner circle (市内循環・内)). The city-circle bus is operated every 6-10 minutes from early morning (around 6:00) to midnight (around 23:30). The fee is 210 JPY.

PEG 修飾リポソームに対する免疫応答

Immune Responses against PEGylated Liposomes

清水 太郎, 安藤 英紀, 異島 優, 石田 竜弘*

Taro Shimizu, Hidenori Ando, Yu Ishima, Tatsuhiko Ishida

和文抄録

Polyethylene glycol (PEG) は低免疫原性・低毒性の高分子として知られており、既に数多くの PEG 修飾製剤が臨床応用されている。しかしながら、PEG 修飾リポソームや PEG 修飾タンパクを繰り返し投与すると、抗 PEG IgM が誘導されて 2 回目投与 PEG 修飾体の血中滞留性を著しく低下する。本免疫応答には、脾臓辺縁帯 B 細胞、補体系、肝臓のクッパー細胞などの様々な自然免疫系が関与することが明らかになっており、今後の PEG 修飾製剤の有用性向上のためには、本免疫応答メカニズムの詳細な解明と回避法の開発が重要となる。

Abstract

Polyethylene glycol (PEG) is considered less immunogenic and less toxic and several PEGylated therapeutics have been approved for clinical use. However, when PEGylated liposomes or PEGylated proteins are administered repeatedly, second doses are rapidly cleared from blood by anti-PEG IgM. The immune responses involve innate immunity, such as splenic marginal zone B cells, complement system, and liver kupffer cells. In order to improve the usefulness of PEGylated therapeutics, it is important to elucidate the mechanism of the immune responses and develop the method that can escape from immune system.

Keywords

PEG, anti-PEG IgM, complement, accelerated blood clearance, marginal zone B cell, T cell-independent antigen

1. はじめに

Polyethylene glycol (PEG) による表面修飾は、ナノ粒子やタンパクの血中滞留性を向上させるための有用な技術の 1 つであり、既に様々な PEG 修飾製剤が臨床応用されている。しかし、従来の予想に反して、PEG はある条件下では免疫原性を示すようになり、抗 PEG 抗体を誘導してしまい、PEG 修飾製剤の有用性が低下することが報告されている。本総説では、これまで我々が研究を行ってきた PEG 修飾体に対する抗 PEG 抗体誘導とそれに伴う PEG 修飾体の血中からの消失メカニズムについて、各 PEG 修飾体を例に紹介させて頂く。

2. PEG 修飾リポソームに対する免疫応答

PEG 修飾リポソームは長期血中滞留性を示すものと従来考

えられていたが、2000 年に Dams らが、マウス・ラット・サルに PEG 修飾リポソームを繰り返し投与すると、2 回目投与 PEG 修飾リポソームの血中滞留性が著しく低下することを報告し、accelerated blood clearance (ABC) 現象と名付けた^{1,2)}。また、この現象に熱感受性の血清因子が関与することを明らかにした。同様に我々も 2003 年に、マウスやラットに PEG 修飾リポソームを繰り返し投与した場合に同様の現象がみられることを確認した^{3,4)}。またこの ABC 現象の発現強度は、PEG 修飾リポソームの投与量、投与間隔、PEG の密度などに依存するが、サイズや電荷にはあまり依存しないことを明らかにした^{5,6)}。2006 年になるまで ABC 現象を引き起こす因子は血清因子ということしか分かっていなかったが、我々の検討から、2 回目投与 PEG 修飾リポソームに免疫グロブリンである IgM や補体系タンパ

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 薬物動態制御学分野

〒 770-8505 徳島県徳島市庄町1-78-1 Department of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University, 1-78-1 Sho-machi, Tokushima 770-8505, Japan

*E-mail: ishida@tokushima-u.ac.jp

論文受付 2019 年 7 月 17 日 論文受理 2019 年 8 月 6 日

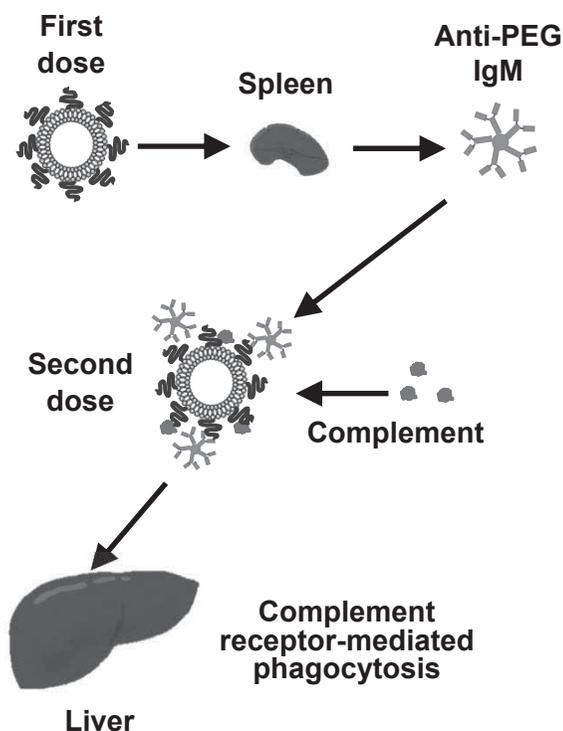
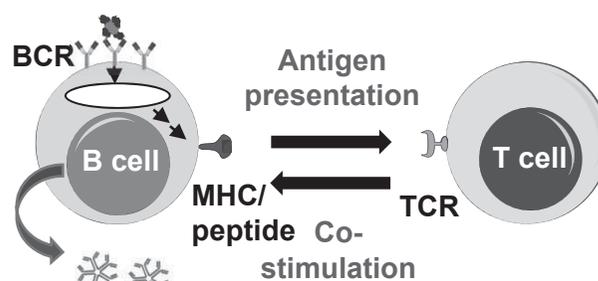


Fig. 1. Accelerated blood clearance of second dose PEGylated liposomes

クである C3 が多量に結合していることが明らかになった (Fig. 1.)⁷⁾. さらに検討を進めた結果, PEG 修飾リポソームに結合している IgM は, ホスファチジルコリンやコレステロールではなく, PEG 修飾脂質を認識していた⁸⁾. これはつまり PEG 修飾リポソームに結合した IgM は抗 PEG IgM であることを示している.

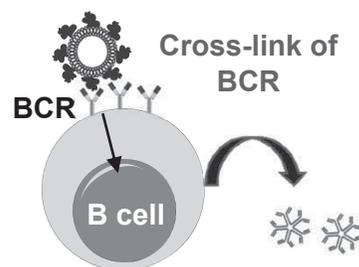
PEG 修飾リポソーム投与による抗 PEG IgM 分泌誘導機構についても明らかになってきている. 脾臓を摘出した動物に PEG 修飾リポソームを投与してもほとんど抗 PEG IgM は分泌されなかった⁹⁾. またシクロホスファミドを投与して脾臓辺縁帯に存在する marginal zone B (MZ-B) 細胞を枯渇するとやはり抗 PEG IgM 分泌は抑制された¹⁰⁾. これらのことから, 初回投与された PEG 修飾リポソームの一部が脾臓に到達して MZ-B 細胞を活性化し, 抗 PEG IgM を分泌するようになると考えられる. また興味深いことに, T 細胞を欠損しているマウスに PEG 修飾リポソームを投与した場合でも, 抗 PEG IgM 分泌が観察された¹¹⁾. 通常のタンパク抗原を投与した場合, B 細胞が B cell receptor (BCR) を介して抗原を認識するとともに, T 細胞からの補助刺激が B 細胞に送られ, 抗原特異的な抗体が分泌されるようになる (Fig. 2.). このような性質から, タンパク抗原は T cell-dependent (TD) 抗原と呼ばれている. 一方で PEG 修飾リポソームのように, T 細胞の補助を必要としない抗原は T cell-independent (TI) 抗原と呼ばれている. TI 抗原としては細菌のリポ多糖や莢膜多糖類が挙げられ, 前者は B 細胞のポリクローナル活性化作用を持つ TI-1 抗原, 後者はポリクローナル

T cell-dependent antigen



- Affinity maturation
- Class-switch to IgG

T cell-independent antigen



- No need of T cell help
- Rapid IgM production

Fig. 2. Immune responses against T cell-dependent and T cell-independent antigens

活性化作用を持たない TI-2 抗原として知られている¹²⁾. PEG 修飾リポソームを分類化したところ, TI-2 抗原として機能することも分かっている¹¹⁾. TI-2 抗原のほとんどが繰り返し構造を持つ高分子であり, 抗原決定部位 (エピトープ) が連続して存在することにより, 複数個の BCR を架橋することが可能となり, それが引き金となってシグナルが伝達される. PEG 修飾リポソームは, 100nm 程度のリポソームの上に多数のエピトープとなる PEG が存在するために, BCR を架橋して TI-2 抗原として機能したと推定している. その一方で, 遊離型の PEG は BCR を架橋できるだけの大きさがなく, 抗 PEG IgM は誘導されない.

誘導された抗 PEG IgM の抗原認識性については種々報告があり, PEG の繰り返し構造にあたるエチレングリコール部分に加えて, PEG の末端構造, PEG と被修飾体のリンカー部分が抗 PEG IgM によって認識されると言われている. 主なエピトープであるエチレングリコールの繰り返し部分については, その長さが重要であり, 最小のエピトープは 6-7 個のエチレングリコールユニットと言われており¹³⁾, PEG の長さに応じて抗原性が増加する. また TI 抗原の中には, 様々な抗原に反応するような poly-reactive な抗体を誘導する抗原もあるが, PEG 修飾

リポソームで誘導される抗 PEG IgM はそのような性質を示さない。実際、poly-reactivity の指標として汎用される細菌や細胞核成分への抗 PEG IgM の結合は観察されなかった¹⁴⁾。

分泌された抗 PEG IgM は、2 回目投与 PEG 修飾リポソームに結合した後に古典経路を介して補体系を活性化する。各種カスケード反応を経た後に C3 が結合し、アナフィラトキシンである C3a が切断され、残った C3b がオプソニンとして機能する。肝臓のクッパー細胞などのマクロファージは C3b 受容体を発現しているため、抗 PEG IgM および C3b が結合した PEG 修飾リポソームを貪食する。マクロファージの貪食活性については、初回投与の有無によらず変化はないことが分かっており¹⁵⁾、あくまで血清因子である抗 PEG IgM や補体系が ABC 現象の直接の原因となっている。一方で肝臓のマクロファージを枯渇・傷害すると、2 回目投与 PEG 修飾リポソームの血中滞留性が維持されるため²⁾、最終的な貪食細胞は肝臓のマクロファージであると考えられる。

脾臓にも C3b 受容体を持つ免疫細胞が存在するため、2 回目投与 PEG 修飾リポソームを取り込むことができる¹⁰⁾。特に MZ-B 細胞が 2 回目投与 PEG 修飾リポソームを積極的に取り込む。脾臓には濾胞 B 細胞と MZ-B 細胞の 2 種類の B 細胞が存在するが、MZ-B 細胞は C3b の受容体の一種である CD21 を高発現していることが知られており、これを介して PEG 修飾リポソーム / 抗 PEG IgM / C3b の複合体を取り込んでいと推定している。さらに興味深いことに、PEG 修飾リポソームを取り込んだ MZ-B 細胞は辺縁帯から濾胞へと遊走することも分かっている¹⁶⁾。しかしながら、ABC 現象発現時においてほとんどの PEG 修飾リポソームが肝臓に蓄積するために、ABC 現象発現への脾臓の関与は小さい。

3. 薬物搭載 PEG 修飾リポソームに対する免疫応答

ここまで空の PEG 修飾リポソームを投与した際の抗 PEG IgM と ABC 現象誘導について述べてきたが、薬物を搭載することによって誘導の程度は変化する。

抗がん剤であるドキソルビシンやオキサリプラチンをリポソームに封入すると抗 PEG IgM 分泌は低下し、ABC 現象は起こらなくなる^{17,18)}。抗がん剤は B 細胞傷害活性を持っているため、抗 PEG IgM を分泌する PEG 特異的 B 細胞の増殖を抑制し、抗 PEG IgM 分泌量が低下する¹⁹⁾。そのため、臨床で用いられている Doxil を通常量で投与した場合には抗 PEG IgM の誘導や ABC 現象の発現は起こらない。しかしながら、ヒト第一相臨床試験など、安全性を見極めるために低投与量からの投与が必要となす際には、抗がん剤の投与量が少ないために PEG 特異的 B 細胞の傷害が起こらず、抗 PEG IgM が誘導されてしまう可能性があるため注意が必要である。

また Taguchi らは、人工赤血球（ヘモグロビン封入 PEG 修飾リポソーム）²⁰⁾ や人工血小板（アデノシン 2 リン酸封入 PEG 修飾リポソーム）²¹⁾ を用いて抗 PEG IgM 誘導と ABC 現象が発現するかを検討している。健常動物にこれらを投与した場合、投与したりポソームに対する IgM の分泌と ABC 現象の発現が

観察された。また、出血性ショックモデルでは 2 回目投与人工赤血球のクリアランスの増大が観察された。一方で、血小板減少症モデルでは人工血小板のクリアランスの増大は観察されず、病態自体や病態モデル作製のための前処置によって抗 PEG 免疫応答の程度は変化することが示唆されている。

薬物搭載 PEG 修飾リポソームの中で特に注意が必要なものが、PEG 修飾カチオニックリポソームと核酸の複合体である。核酸の中には免疫刺激性の強いものが一部存在するため、抗 PEG IgM 分泌が増加してしまうことがある。Judge らは、plasmid DNA (pDNA) を封入した PEG 修飾リポソームを投与すると抗 PEG IgM および IgG が誘導されることを報告した²²⁾。またこの pDNA 封入 PEG 修飾リポソームを繰り返し投与すると、やはり血中滞留性が低下し、また過敏性反応が生じた。我々も pDNA と PEG 修飾カチオニックリポソームの複合体を投与した場合に同様の現象が起こることを報告し、さらに空のリポソームとの違いについて詳細な検討を行った (Table 1.)²³⁾。まず、pDNA 搭載 PEG 修飾カチオニックリポソームは、空の PEG 修飾カチオニックリポソームよりも抗 PEG IgM 分泌量が高かった。また興味深いことに、空の PEG 修飾カチオニックリポソームを投与した場合は、投与量が多くなると B 細胞が免疫寛容に陥り、抗 PEG IgM 分泌量が減少したが、pDNA を搭載することによって免疫寛容が解除され、高投与量時においても抗 PEG IgM が誘導されていた。さらに、空の PEG 修飾カチオニックリポソーム投与時の抗 PEG IgM 分泌は脾臓に依存していたが、pDNA 搭載リポソームは脾臓非存在下においても抗 PEG IgM 分泌を誘導した。以上のように、pDNA の搭載は抗 PEG IgM 分泌を明らかに増強する方向に働いていた。この原因は、pDNA が自然免疫受容体である toll-like receptor 9 (TLR9) を刺激するためであることも明らかになっており²⁴⁾、pDNA 中の免疫刺激性に寄与する CpG モチーフを排除することの重要性が示唆されている。

pDNA だけでなく、small interfering RNA (siRNA) においても同様のことが言える²⁵⁾。GU-rich な免疫刺激性の siRNA を PEG 修飾カチオニックリポソームに搭載した場合、抗 PEG IgM 分泌量の増加、免疫寛容の解除、脾臓依存性の解除がみられた。siRNA の場合においては TLR9 ではなく、TLR7 がこの免疫刺激性の向上に寄与している²⁶⁾。一方で核酸の修飾技術 (2'-OMe 化、2'-F 化) の進歩により、このような問題は解決できるものと考えられる。

4. PEG 修飾タンパクに対する免疫応答

タンパク医薬品の血中滞留性を向上させ、免疫原性を減弱させるために、タンパクの PEG 修飾も頻繁に行われている。実際に PEG 修飾タンパク医薬品は既に 10 品目以上が上市されている (Table 2.)。しかしながら、いくつかの PEG 修飾タンパクは、抗 PEG 抗体をやはり誘導することが報告されている。そのため、近年 FDA (Food and Drug Administration) は、PEG 修飾タンパク医薬品開発時において抗タンパク抗体だけでなく、抗 PEG 抗体も同時に測定することも推奨している。ここで

Table 1. Characteristics of immune responses against empty PEGylated liposomes and pDNA-PEGylated liposomes

	Empty PEGylated liposome	pDNA-PEGylated liposome
Low dose injection	Moderate anti-PEG IgM induction	High anti-PEG IgM induction
High dose injection	Low anti-PEG IgM induction (Tolerance)	High anti-PEG IgM induction
Source of anti-PEG IgM	Spleen	Spleen and other lymphoid tissues
T cell dependence	No TI-2 antigen	No TI-1 antigen

Table 2. Approved PEGylated protein therapeutics

Name	Indication	Year approved
Adagen/Pegadamasase	Severe combined immunodeficiency	1990
Oncaspar/Pegaspargase	Acute lymphocytic leukemia	1994
Peg-Intron/Peginterferon alpha 2b	Hepatitis C	2001
PEGASYS/Peginterferon alpha 2a	Hepatitis B and C	2002
Neulasta/Pegfilgrastim	Neutropenia	2002
Somavert/Pegvisomant	Apical hypertrophy	2002
Mircera/Pegerythropoietin	Renal anemia	2007
Cimzia/Certolizumab Pegol	Rheumatoid arthritis	2008
Krystexxa/Pegloticase	Chronic gout	2010
Plegridy/Peginterferon beta-1	Multiple sclerosis	2014
Jivi/Damoctocog Alfa Pegol	Hemophilia A	2018

は PEG 修飾リポソームと異なる部分についてのみ紹介する。

PEG 修飾リポソームは T 細胞非存在下においても抗 PEG IgM を誘導するが、PEG 修飾タンパクは T 細胞存在下においてのみ抗 PEG IgM を誘導する TD 抗原である²⁷⁾。異なるキャリアに結合したハプテンが異なる免疫特性を示すことはよく知られている。ハプテンとして汎用されている trinitrophenol (TNP) は、牛血清アルブミンに結合すると TD 抗原として、LPS に結合すると TI-1 抗原として、多糖類であるフィコールに結合すると TI-2 抗原として機能する²⁸⁾。PEG 修飾リポソームと PEG 修飾タンパクの免疫特性もこれに類似していると考えられる。PEG 修飾タンパクが TI-2 抗原として機能できない理由としては、PEG 修飾リポソームと比較して分子サイズが小さく、BCR を架橋できないためであると推定している。その一方で、タンパクの免疫原性が強い場合、抗原提示細胞がタンパクをプロセシングして major histocompatibility complex (MHC) にペプチドを提示し、タンパク特異的な T 細胞を活性化することができる。そのため、PEG 修飾タンパクはより強い抗体誘導や抗 PEG IgM から IgG へのクラススイッチを起こす可能性が

ある。

実際、PEG 修飾タンパクと PEG 修飾リポソームで誘導された抗 PEG IgM の特性が異なることも明らかになっている。PEG 修飾タンパクで誘導された抗 PEG IgM は、PEG 修飾タンパクおよび PEG 修飾リポソームを共に血中からクリアランスする能力を持つが、PEG 修飾リポソームによって誘導された抗 PEG IgM は PEG 修飾リポソームしかクリアランスできない (Fig. 3.)²⁷⁾。この原因として、誘導された抗 PEG IgM の補体活性化能の違いを想定している。前者は両方の PEG 修飾体と反応後に補体系を活性化するが、後者は PEG 修飾リポソームと反応した場合にのみ補体系を活性化する²⁹⁾。これまでの研究では、抗 PEG 抗体の量ばかりが注目されてきたが、今後は抗 PEG 抗体の質にも注目するべきである。

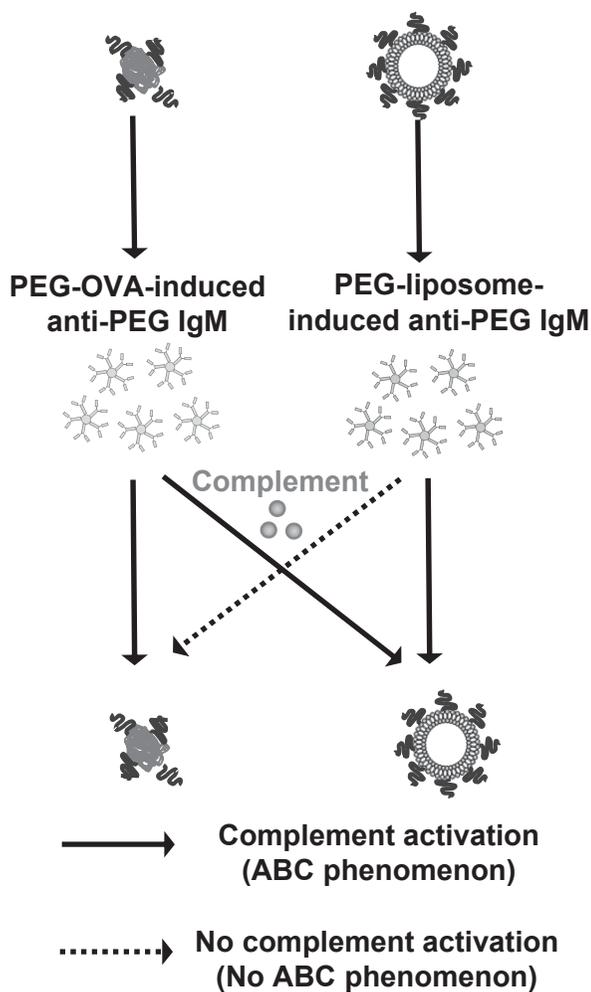


Fig. 3. Anti-PEG antibodies induced by PEGylated liposomes and proteins have different characteristics

5. PEG 修飾の代替法の開発

PEG に代わる高分子修飾法も長年研究されており、PEG のような人工高分子を用いる方法とポリペプチドを用いる方法が報告されている。

以前我々は、PEG に代わる人工高分子として polyglycerol (PG) を用い、PG 修飾リポソームの抗ポリマー抗体と ABC 現象発現の誘導を検討した³⁰⁾。PG 修飾リポソームは、PEG 修飾リポソームと比較して血中滞留性に劣るものの、抗 PG IgM や抗 PEG IgM を誘導することなく、2 回目投与時にも同様の血中滞留性を示していた。同様の傾向を示す人工高分子として、poly (N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide) や poly (vinylpyrrolidone), poly (N,N-dimethyl acrylamide), poly (N-acryloyl morpholine), polycarboxybetaine^{31,32)}を用いた検討も行われている。しかし残念ながら、臨床応用までには至っていない。

別の手法として生分解性や生体適合性がより高いポリペプチド修飾がある (Table 3.)³³⁾。例としては XTEN, PAS, ELP などがあり、XTEN はアラニン / グルタミン酸 / グリシン / プロリン / セリン / トレオニンから構成されるポリペプチド、PAS はプロリン / アラニン / セリンからなるポリペプチド、ELP はバリン / プロリン / グリシンからなるポリペプチドである。これらのポリペプチド修飾技術を利用したタンパク医薬品は、既にいくつかが臨床試験中である。例えば、エキセナチドや成長ホルモン製剤においては XTEN 修飾により生体内半減期が約 100 倍に増加することが明らかになっている^{34,35)}。また、XTEN 修飾エキセナチドをアジュバントと共に投与しても、エキセナチドに対する抗体も XTEN に対する抗体もほとんど誘導されなかった事が報告されている。XTEN で修飾したヒト成長ホルモンをサルに複数回投与した場合にも、XTEN に対する抗体は誘導されず、薬物動態や薬理効果も低下していない。免疫原性を示さない詳細な理由は明らかになっていないが、免疫原性の高い疎水性のアミノ酸を除外して設計しているためと考察されている。今後このようなポリペプチドによる修飾が PEG 修飾の代替になるかもしれない。

Table 3. Modification of protein therapeutics with polypeptide

	XTEN	PAS	ELP
Amino acid	A, E, G, P, S, T	P, A, S	V, P, G
Length	864 amino acids	200-600 amino acids	100-600 amino acids
Application	GH (phase 3) Factor VIII (phase 2) GLP-1 (phase 1)	GH (pre-clinical) IFN (pre-clinical)	GLP-1 (phase 2) Insulin (phase 1)

6. おわりに

最初のPEG修飾製剤が上市されてから30年近く経過するが、未だにPEG修飾製剤の臨床試験は20製剤以上で行われており、PEG以外の人工高分子も含めて今後も臨床応用が続くものと考えられる。一方で、人工高分子に対する免疫応答に関する研究は、被修飾体のタンパクなどに対する免疫応答に関する研究と比較して遅れている。抗PEG免疫応答の詳細なメカニズムの解明が人工高分子を利用した様々な医薬品開発の発展に寄与することを期待する。

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（基盤研究B（15H04639）、国際共同研究加速基金（15KK0310））、上原記念生命科学財団、コスメトロロジー研究振興財団、武田科学振興財団の助成を受けて行ったものである。

引用文献

1. Dams ET, Laverman P, Oyen WJ, Storm G, Scherphof GL, van Der Meer JW, et al. Accelerated blood clearance and altered biodistribution of repeated injections of sterically stabilized liposomes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 292: 1071-9.
2. Laverman P, Carstens MG, Boerman OC, Dams ET, Oyen WJ, van Rooijen N, et al. Factors affecting the accelerated blood clearance of polyethylene glycol-liposomes upon repeated injection. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 298: 607-12.
3. Ishida T, Masuda K, Ichikawa T, Ichihara M, Irimura K, Kiwada H. Accelerated clearance of a second injection of PEGylated liposomes in mice. *Int J Pharm.* 2003; 255: 167-74.
4. Ishida T, Maeda R, Ichihara M, Irimura K, Kiwada H. Accelerated clearance of PEGylated liposomes in rats after repeated injections. *J Control Release.* 2003; 88: 35-42.
5. Wang XY, Ishida T, Ichihara M, Kiwada H. Influence of the physicochemical properties of liposomes on the accelerated blood clearance phenomenon in rats. *J Control Release.* 2005; 104: 91-102.
6. Ishida T, Harada M, Wang XY, Ichihara M, Irimura K, Kiwada H. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes following preceding liposome injection: effects of lipid dose and PEG surface-density and chain length of the first-dose liposomes. *J Control Release.* 2005; 105: 305-17.
7. Ishida T, Ichihara M, Wang X, Yamamoto K, Kimura J, Majima E, et al. Injection of PEGylated liposomes in rats elicits PEG-specific IgM, which is responsible for rapid elimination of a second dose of PEGylated liposomes. *J Control Release.* 2006; 112: 15-25.
8. Wang X, Ishida T, Kiwada H. Anti-PEG IgM elicited by injection of liposomes is involved in the enhanced blood clearance of a subsequent dose of PEGylated liposomes. *J Control Release.* 2007; 119: 236-44.
9. Ishida T, Ichihara M, Wang X, Kiwada H. Spleen plays an important role in the induction of accelerated blood clearance of PEGylated liposomes. *J Control Release.* 2006; 115: 243-50.
10. Shimizu T, Ishida T, Kiwada H. Transport of PEGylated liposomes from the splenic marginal zone to the follicle in the induction phase of the accelerated blood clearance phenomenon. *Immunobiology.* 2013; 218: 725-32.
11. Ishida T, Wang X, Shimizu T, Nawata K, Kiwada H. PEGylated liposomes elicit an anti-PEG IgM response in a T cell-independent manner. *J Control Release.* 2007; 122: 349-55.
12. Mond JJ, Lees A, Snapper CM. T cell-independent antigens type 2. *Annu Rev Immunol.* 1995; 13: 655-92.
13. Richter AW, Akerblom E. Antibodies against polyethylene glycol produced in animals by immunization with monomethoxy polyethylene glycol modified proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1983; 70: 124-31.
14. Ando H, Abu Lila AS, Kawanishi M, Shimizu T, Okuhira K, Ishima Y, et al. Reactivity of IgM antibodies elicited by PEGylated liposomes or PEGylated lipoplexes against auto and foreign antigens. *J Control Release.* 2018; 270: 114-9.
15. Ishida T, Kashima S, Kiwada H. The contribution of phagocytic activity of liver macrophages to the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon of PEGylated liposomes in rats. *J Control Release.* 2008; 126: 162-5.
16. Shimizu T, Mima Y, Hashimoto Y, Ukawa M, Ando H, Kiwada H, et al. Anti-PEG IgM and complement system are required for the association of second doses of PEGylated liposomes with splenic marginal zone B cells. *Immunobiology.* 2015; 220: 1151-60.
17. Ishida T, Atobe K, Wang X, Kiwada H. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes upon repeated injections: effect of doxorubicin-encapsulation and high-dose first injection. *J Control Release.* 2006; 115: 251-8.
18. Nagao A, Abu Lila AS, Ishida T, Kiwada H. Abrogation of the accelerated blood clearance phenomenon by SOXL regimen: promise for clinical application. *Int J Pharm.* 2013; 441: 395-401.
19. Shimizu T, Abu Lila AS, Awata M, Kubo Y, Mima Y, Hashimoto Y, et al. A Cell Assay for Detecting Anti-PEG Immune Response against PEG-Modified Therapeutics. *Pharm Res.* 2018; 35: 223.
20. Taguchi K, Iwao Y, Watanabe H, Kadowaki D, Sakai H, Kobayashi K, et al. Repeated injection of high doses of hemoglobin-encapsulated liposomes (hemoglobin vesicles) induces accelerated blood clearance in a hemorrhagic shock rat model. *Drug Metab Dispos.* 2011; 39: 484-9.
21. Taguchi K, Hashimoto M, Ogaki S, Watanabe H, Takeoka S, Ikeda Y, et al. Effect of Repeated Injections of Adenosine

- Diphosphate-Encapsulated Liposomes Coated with a Fibrinogen gamma-Chain Dodecapeptide Developed as a Synthetic Platelet Substitute on Accelerated Blood Clearance in a Healthy and an Anticancer Drug-Induced Thrombocytopenia Rat Model. *J Pharm Sci.* 2015; 104: 3084-91.
22. Judge A, McClintock K, Phelps JR, Maclachlan I. Hypersensitivity and loss of disease site targeting caused by antibody responses to PEGylated liposomes. *Mol Ther.* 2006; 13: 328-37.
 23. Tagami T, Nakamura K, Shimizu T, Yamazaki N, Ishida T, Kiwada H. CpG motifs in pDNA-sequences increase anti-PEG IgM production induced by PEG-coated pDNA-lipoplexes. *J Control Release.* 2010; 142: 160-6.
 24. Hashimoto Y, Uehara Y, Abu Lila AS, Ishida T, Kiwada H. Activation of TLR9 by incorporated pDNA within PEG-coated lipoplex enhances anti-PEG IgM production. *Gene Ther.* 2014; 21: 593-8.
 25. Tagami T, Nakamura K, Shimizu T, Ishida T, Kiwada H. Effect of siRNA in PEG-coated siRNA-lipoplex on anti-PEG IgM production. *J Control Release.* 2009; 137: 234-40.
 26. Hashimoto Y, Abu Lila AS, Shimizu T, Ishida T, Kiwada H. B cell-intrinsic toll-like receptor 7 is responsible for the enhanced anti-PEG IgM production following injection of siRNA-containing PEGylated lipoplex in mice. *J Control Release.* 2014; 184: 1-8.
 27. Mima Y, Hashimoto Y, Shimizu T, Kiwada H, Ishida T. Anti-PEG IgM Is a Major Contributor to the Accelerated Blood Clearance of Polyethylene Glycol-Conjugated Protein. *Mol Pharm.* 2015; 12: 2429-35.
 28. Mond JJ, Mongini PK, Sieckmann D, Paul WE. Role of T lymphocytes in the response to TNP-AECM-Ficoll. *J Immunol.* 1980; 125: 1066-70.
 29. Shimizu T, Ichihara M, Yoshioka Y, Ishida T, Nakagawa S, Kiwada H. Intravenous administration of polyethylene glycol-coated (PEGylated) proteins and PEGylated adenovirus elicits an anti-PEG immunoglobulin M response. *Biol Pharm Bull.* 2012; 35: 1336-42.
 30. Abu Lila AS, Nawata K, Shimizu T, Ishida T, Kiwada H. Use of polyglycerol (PG), instead of polyethylene glycol (PEG), prevents induction of the accelerated blood clearance phenomenon against long-circulating liposomes upon repeated administration. *Int J Pharm.* 2013; 456: 235-42.
 31. Kierstead PH, Okochi H, Venditto VJ, Chuong TC, Kivimae S, Frechet JM, et al. The effect of polymer backbone chemistry on the induction of the accelerated blood clearance in polymer modified liposomes. *J Control Release.* 2015; 213: 1-9.
 32. Zhang P, Sun F, Tsao C, Liu S, Jain P, Sinclair A, et al. Zwitterionic gel encapsulation promotes protein stability, enhances pharmacokinetics, and reduces immunogenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112: 12046-51.
 33. Zaman R, Islam RA, Ibnat N, Othman I, Zaini A, Lee CY, et al. Current strategies in extending half-lives of therapeutic proteins. *J Control Release.* 2019; 301: 176-89.
 34. Schellenberger V, Wang CW, Geething NC, Spink BJ, Campbell A, To W, et al. A recombinant polypeptide extends the in vivo half-life of peptides and proteins in a tunable manner. *Nat Biotechnol.* 2009; 27: 1186-90.
 35. Podust VN, Balan S, Sim BC, Coyle MP, Ernst U, Peters RT, et al. Extension of in vivo half-life of biologically active molecules by XTEN protein polymers. *J Control Release.* 2016; 240: 52-66.

人工ヘムタンパク質モデル錯体による血中内在性一酸化炭素の除去によって惹起される生体内反応

In Vivo Reactions Triggered by Selective Removal of Endogenous Carbon Monoxide in Blood Using an Artificial Hemoprotein Model Complex

北岸 宏亮

Hiroaki Kitagishi

和文抄録

一酸化炭素 (CO) は一般的に有毒ガスとして認知されるが、生体内では余剰のヘムが代謝分解される際に副産物として発生し、体内には恒常的に CO が存在する。このような内在性 CO は、ガス状シグナル物質として生理機能を示すと考えられるが、その機能の全容は明らかではない。我々はシクロデキストリン二量体とポルフィリン鉄 (II) 錯体からなる人工ヘモグロビン錯体 “hemoCD” が動物体内において内在性 CO を選択的に除去することを見出し、この hemoCD の特性を利用して内在性 CO の生理機能にアプローチすることを試みた。腹腔に hemoCD 水溶液を投与されたマウス体内では、血中のカルボキシヘモグロビン (CO-Hb) 量が一時的に著しく減少し、その後すみやかに定常値へと回復していった。これは hemoCD が血中の内因性 CO-Hb から CO を除去したことを示すだけでなく、一旦減少した CO がフィードバック機構により補償されるメカニズムが存在することを示す結果となった。次に hemoCD によって内在性 CO を除去したマウス肝臓内における時計遺伝子の発現量について調査した。その結果、CO の除去により肝臓内の概日リズムが大きく乱されることが判明した。時計遺伝子の発現には CO 応答性を有する転写因子である NPAS2 および CLOCK が関与するため、これらの転写因子の機能変化が時計システムに変化をもたらしたものと考えられる。さらに内在性 CO 除去によって誘発される炎症反応も時計遺伝子の発現を乱す一因となっていた。hemoCD は内在性 CO 定量試薬として利用することもできるため、培養細胞内に含まれる内在性 CO の定量方法についても記載した。

Abstract

Whereas carbon monoxide (CO) is generally regarded as a toxic gas, it is continuously produced in the living systems during the metabolic degradation of excess heme. CO is thus constantly present in the living organisms. This endogenous CO is considered to work as a gaseous signal mediator in the living systems. However, the whole biological function of endogenous CO has not been fully understood. In our laboratory, we have synthesized a synthetic hemoglobin (Hb) model complex, hemoCD, that is composed of a cyclodextrin dimer and iron(II)porphyrin. We have found that hemoCD is a highly specific CO receptor that can remove endogenous CO *in vitro* and *in vivo*, which might be useful for elucidating unknown biological functions of endogenous CO in the living systems. When the O₂ complex of hemoCD (oxy-hemoCD) was intraperitoneally injected to mice, the amount of CO-Hb in blood was temporally reduced and quickly returned to the homeostatic level. This result indicates that the reduced level of endogenous CO exerts the feedback response to keep the CO homeostasis in blood.

同志社大学 理工学部 機能分子・生命化学科

〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3 Department of Molecular Chemistry and Biochemistry, Faculty of Science and Engineering, Doshisha University, 1-3 Tatara Miyakodani, Kyotanabe, Kyoto 610-0321, Japan

hkitagis@mail.doshisha.ac.jp

論文受付 2019年7月26日 論文受理: 2019年8月20日

Then we investigated the clock gene expression of the hemoCD-injected mice liver. We have found that the selective removal of endogenous CO causes disruption of the circadian clock system in mice. A plausible mechanism for the circadian clock disruption is described in this paper. Finally, we have established the assay using hemoCD to detect a small amount of endogenous CO in cells.

Keywords

Carbon monoxide, hemoglobin, homeostatic feedback, circadian clock, gas biology

1. 緒言

一酸化炭素 (CO) は一般的には有害な毒ガスとして認知されている一方、我々の体内において常に産生されている。CO は、細胞内で余剰のヘムが酵素ヘムオキシゲナーゼ (HO) によって代謝分解される際に、ビリベルディン、鉄イオンとともに代謝産物として発生する (図 1)。HO によるヘム分解反応のメカニズムは、主に Ikeda-Saito, Matsui らの研究により全容が解明されてきた¹⁻³⁾。ヘムの代謝により得られる鉄イオンは、細胞内でフェリチンタンパク質により貯蔵され、ヘムや他の鉄含有タンパク質の生合成系に必要に応じて再利用される。ビリベルディンは、ビリベルディンレダクターゼにより還元されてビリルビンとなって排泄されるほか、ビリルビンには抗酸化作用があるために、生理活性物質として機能する。一方 CO は、ガス状シグナル伝達物質として機能すると考えられているが、その機能は完全には解明されていない。HO によるヘム代謝および副生成物である CO の生理機能の詳細に関しては、総説⁴⁻⁶⁾を参照されたい。

CO の生理機能は一酸化窒素 (NO) の生理機能と同列に考えられる傾向にある。両者とも毒性ガスでありながら、生体内において内因的に産生され、ガス状シグナル伝達物質として機能する。CO は NO と類似の血管拡張作用を示すが^{7,8)}、CO の血管拡張作用は NO のそれよりも著しく低い⁹⁾。さらに CO には強い抗炎症効果が報告されている^{10,11)}。化学的性質に着目すると、NO は反応性の高いラジカル性の活性分子であり、タンパク質表面のシステイン残基等と素早く結合するため生体内寿命は短い。一方、CO は反応性の低い安定な二原子分子であり、生体内ではヘム鉄 (II) に結合する以外の特徴的な反応性は見ら

れない¹²⁻¹⁴⁾。すなわち、NO と CO はともに有毒ガスかつ内在性ガスでありながら、生理的および化学的には全く異なる性質を有する。

NO は NO 合成酵素により生体内で産生するため、この合成酵素を遺伝的に消去したノックアウト動物/ノックダウン検体を作製することによって、生理機能の研究が可能であった。遺伝子工学による機能欠失検体の作製は生理活性物質の機能を確かめるためには一般的にとられる不可欠な実験的アプローチである。同様に CO の生理機能を確認するために図 1 に示した HO による酵素反応を阻害すると、HO の欠失は CO の発生を止めるだけでなく、余剰ヘムの代謝不足、鉄イオンおよびビリベルディンの産生停止をも同時に引き起こすこととなる。そのため CO の欠乏のみの生体反応を観測することは困難であった。さらに HO にも誘導型の HO-1 と定常型の HO-2 といった 2 種のアイソザイムが存在することも問題を複雑化していた。したがって、外部から CO を投与した効果を調査することは可能であったが、一方で内在性 CO を除去してその生理機能を調査するといった研究はこれまでに行われてこなかった。CO の生理機能を確認するための実験的アプローチが乏しい事情から、内在性 CO の生理機能はあまり研究が進められてこなかった。

我々の研究室では以前に水溶液中で酸素 (O_2) および CO を可逆的に結合する合成化合物 hemoCD を開発した (図 2)¹⁵⁻¹⁷⁾。hemoCD は、シクロデキストリン二量体 Py3CD とポルフィリン鉄錯体 FeTPPS から成る分子錯体であり、水中室温において中心の鉄に可逆的に酸素 O_2 や CO を結合する人工ヘモグロビン化合物である。この hemoCD の分子設計、合成方法および物性評価に関しては、以前に本誌に掲載された前回の総説を参考に

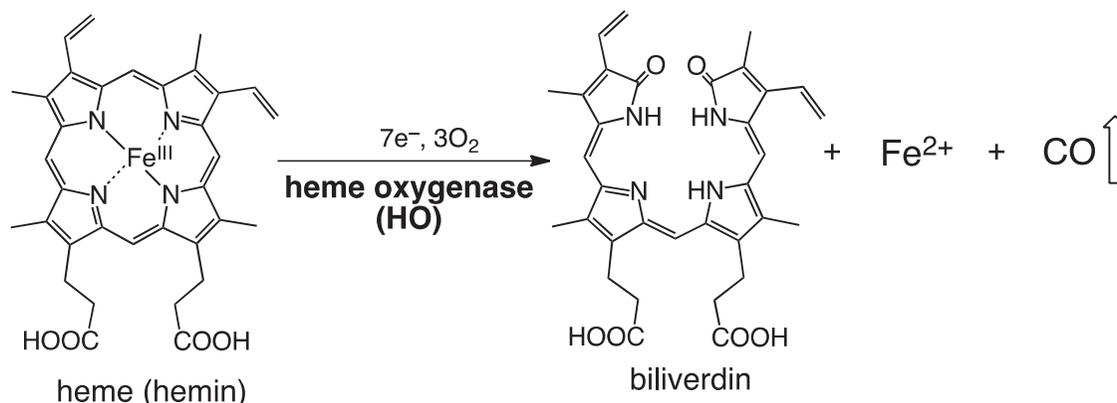


図 1. ヘム (ヘミン) のヘムオキシゲナーゼによる代謝分解反応, ビリベルディン, 鉄 (II) イオン, および内在性 CO の産生

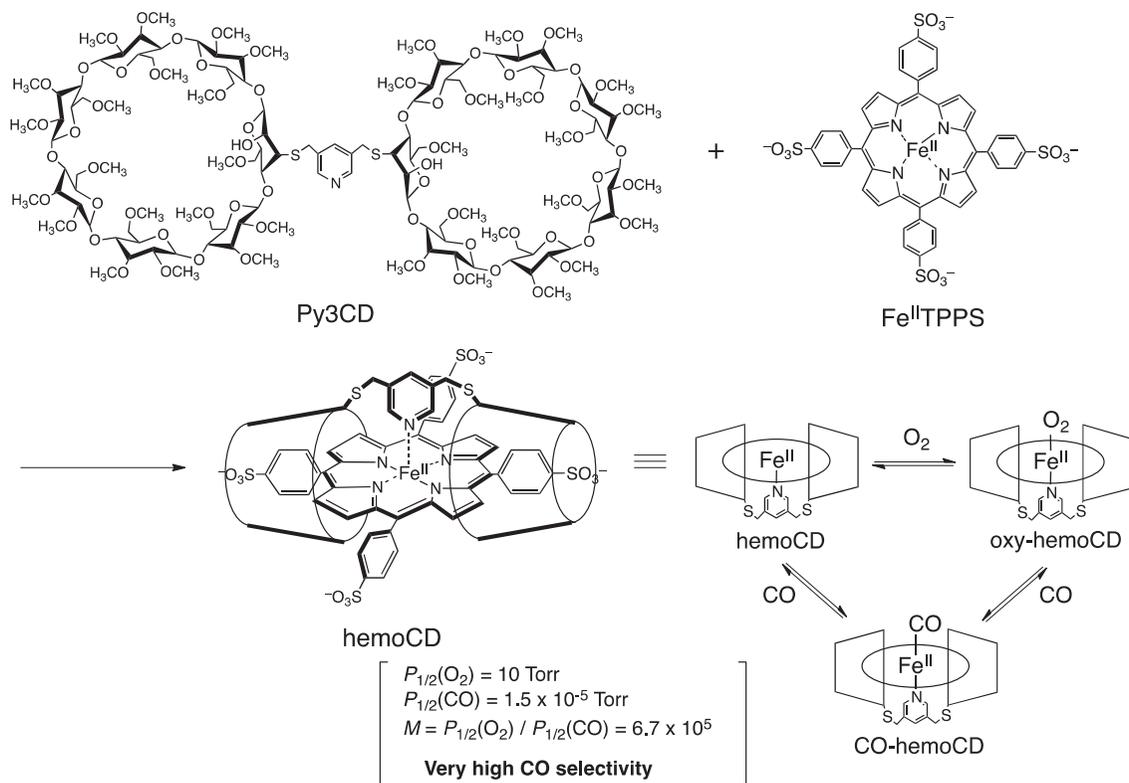


図2. シクロデキストリン二量体Py3CDと水溶性ポルフィリン鉄錯体FeII TPPSから構成される人工ヘモグロビンモデル化合物 hemoCD

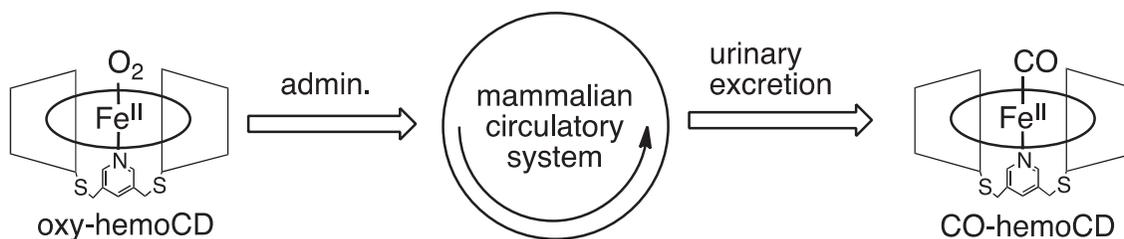


図3. hemoCD の酸素錯体 oxy-hemoCD を動物に投与すると、CO 錯体 (CO-hemoCD) として尿中に排出される。

されたい¹⁷⁾. hemoCD の特徴のひとつとして、 O_2 と比べて CO に対する親和性がきわめて高く、ヘモグロビン (Hb) のガス親和性が高い R 状態と比較しても約 100 倍以上高いことが挙げられる。我々は以前、hemoCD を人工 O_2 運搬体として利用する目的でラットの体内に投与すると、内在性 CO が定量的に捕捉されて尿中に排出されるといったユニークな現象を発見した (図3)¹⁸⁾. すなわち hemoCD は生体内の内在性 CO を選択的に除去する機能を有する。我々はこの現象について 2010 年に報告し、それ以降 hemoCD 投与による内在性 CO の除去 (CO の疑ノックダウン法) を活用することによって、CO の生理機能についての検討を行ってきた。本論文では前回の総説以降に進展した比較的新しい研究課題である「hemoCD による内在性 CO の除去によって引き起こされる生体反応」について、これまで得られた知見を記載する。

2. 血中 CO の欠乏が引き起こすフィードバック機構

マウスに hemoCD の O_2 結合体 (oxy-hemoCD) 水溶液を腹腔から投与すると、投与後 30 分で尿中へと排出される。尿の吸収スペクトルおよび共鳴ラマンスペクトル分析の結果、尿中には CO-hemoCD が含まれていた¹⁸⁾. マウスには外来性 CO を与えていないため、排出された CO は内在性由来のものである。尿中に排出される CO 量を oxy-hemoCD および CO-hemoCD のモル吸光係数を用いて定量すると、ある一定量以上の oxy-hemoCD を投与しても、排出される CO 量は一定値で飽和することがわかった。すなわち十分量の hemoCD を投与すれば、捕捉可能な内在性 CO はすべて体外へと排出させることができる。oxy-hemoCD 投与量変化の実験から、平均的なマウス (22-24g) の内在性 CO を完全に除去するためには、1.0 mmol/L, 0.15 mL の oxy-hemoCD 水溶液を腹腔へ投与すれば十分である

ことを確認した¹⁹⁾。

次に hemoCD を投与した際におけるマウス血中カルボキシヘモグロビン (CO-Hb) 量をガスクロマトグラフィーにより定量した (図 4a)。細胞内で HO の作用によりヘムから産生された CO は、細胞内ヘムタンパク質への結合と解離を繰り返しながら細胞外へと拡散し、血中では Hb に捕捉され、しばらくのあいだ循環する。CO-Hb から解離した CO はやがて呼吸として排出される。血中 CO 量は、産生と排出のバランスにより恒常的に一定値に保たれる。マウスでは全 Hb 中の約 0.2% が CO-Hb であることが報告されており²⁰⁾、我々の定量実験によっても同一の値が得られた (図 4a)。一方、oxy-hemoCD 投与群では、投与 30 分後に CO-Hb の割合が 0.03% まで減少した。すなわちマウス腹腔に投与した hemoCD は血中へと移行し、CO-Hb から内在性 CO を奪っていることが示された。さらに注目すべきことに、一旦減少した CO-Hb は、時間経過とともにすみやかに上昇し、90 分後には定常値である 0.2% へと完全に回復した。すなわち hemoCD が尿中へ排出された後、CO 減少を補うためのフィードバック機構がはたらいて、内在性 CO を一定値に回復

させたものと考えられる¹⁹⁾。

内在性 CO の除去によって CO 産生が亢進されるのかどうかを確かめるために、oxy-hemoCD 投与後のマウス肝臓内における HO-1 および HO-2 の発現量変化について、リアルタイム PCR 測定により評価した。その結果、恒常型である HO-2 の mRNA 発現量には変化が見られなかった一方、誘導型 HO-1 の場合は発現量が強く誘導されていることがわかった (図 4b)。すなわち hemoCD による一時的な CO 量の減少は、HO-1 の発現誘導を促すことによって補充されるフィードバック反応を誘発することが示唆された。

内在性 CO に関するフィードバック機構メカニズムについて考察した。HO-1 は様々な要因によって誘導されることが知られているが、CO の欠乏によって誘導されることは知られていない。我々はマウスに oxy-hemoCD を投与すると HO-1 の発現が誘導されることを観測した一方で、シャーレでの培養細胞に oxy-hemoCD を投与しても、HO-1 の発現誘導は確認できなかった。そこで我々は動物 (in vivo) と細胞 (in vitro) の環境の違いとして、図 4a に示した血中 CO-Hb 量の変化に着目した。血中と培養細胞では、周囲の Hb 濃度環境が大きく異なる。培地中にも少量の Hb は混在するはずであるが、血中 Hb と比べると微量である。したがって動物 (in vivo) では oxy-hemoCD の投与による CO-Hb 量の変化が著しい。血液中における CO-Hb からの CO 除去は、CO-Hb を O₂ 結合体 (oxy-Hb) へと変換させる。赤血球に内包された O₂ 結合型 Hb は、赤血球膜中のメトヘモグロビン (met-Hb) 還元システムによって鉄二価状態が安定に保たれる一方で²¹⁾、赤血球が古くなり膜が破損することによって血しょう中に漏出した赤血球外 Hb (セルフリー Hb) は、血中の過酸化水素などの活性酸素種 (ROS) により直ちに酸化され、鉄三価のメトヘモグロビン (met-Hb) となる²²⁾。鉄三価の met-Hb は鉄二価の Hb よりもヘム (ヘミン) 保持能力が低いいため、フリーのヘムを放出しやすい²³⁾。フリーヘムは HO-1 の基質であり、かつ誘導物質でもあるため、自らが HO-1 を誘導し、分解されて CO を産生する要因となる。一方、鉄二価 Hb の ROS によるメト化は、CO の結合により著しく抑制される²⁴⁾。

上記の考察を一つのスキームに示したものが図 5 である¹⁹⁾。hemoCD の投与によって CO を除去されたセルフリー oxy-Hb は、すみやかに ROS による酸化を受けてメト化し、フリーのヘムを増加させる。実際、hemoCD 投与後のマウス血中のフリーヘム濃度を測定したところ、血中 CO 除去によるフリーヘム濃度の有意な上昇が見られた。フリーヘムの上昇が HO-1 を誘導発現し、CO を補充するきっかけとなる。すなわち血中における内在性 CO の生理的役割は、セルフリー Hb のメト化を抑制することであり、そのバランスが一時的に乱れたとしても、フリーヘム/HO-1 の発現誘導システムにより補充されて、Hb/met-Hb のバランスはすみやかに保たれる。

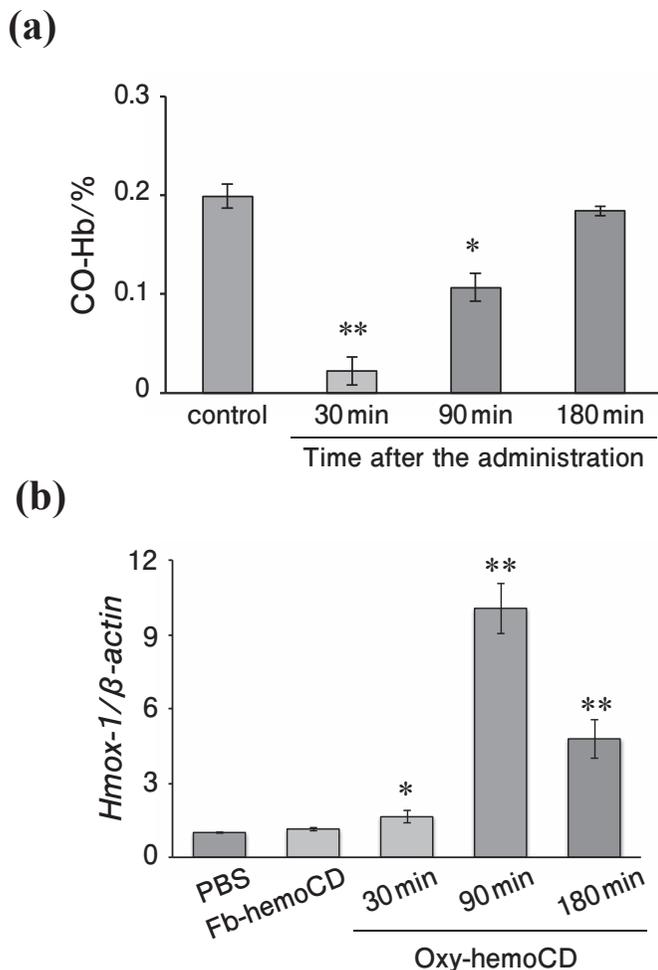


図 4. Oxy-hemoCD 投与における血中 CO-Hb 量変化(a)および肝臓内 HO-1 発現量変化(b)。コントロール群として、PBS 溶液投与群および Fe フリー hemoCD (Fb-hemoCD) を用いた。

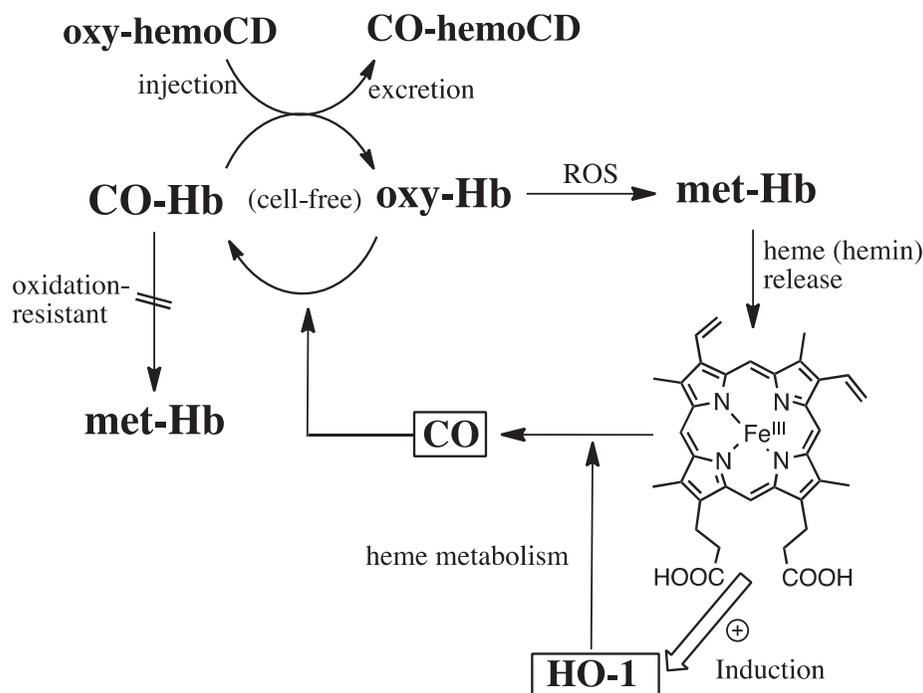


図5. 血中 CO が hemoCD によって除去された際におこる恒常性維持機構

3. 血中 CO の欠乏による概日リズム乱れの観測

地球上に存在する多くの細胞は内部に約24時間周期の転写/翻訳システムが成立しており、これを概日リズムと呼ぶ^{25,26}。PerおよびCryといった時計遺伝子はBMAL/CLOCKあるいはBAML/NPAS2のヘテロダイマーからなる転写因子によって転写が制御されており、PerおよびCryから翻訳される時計タンパク質PERおよびCRYは、BMAL/CLOCKおよびBMAL/NPAS2に作用することにより、自らの転写を抑制する(図6)。PERおよびCRYは次第に分解され、これらの細胞内濃度が減少すると、BMAL/CLOCKおよびBMAL/NPAS2はE-boxと呼ばれるDNA領域に結合し、時計遺伝子の転写を開始する。これらの転写と翻訳のフィードバックループは、約24時間周期で起こる細胞内時計の中核系であり、このリズムに同調して数多くのタンパク質の細胞内濃度変化が約24時間周期で制御されている。

2002年にMcKnightらの研究により、転写因子であるNPAS2にCO応答性があることが判明した²⁷。NPAS2には補因子としてヘムが含まれており、そこへCOが結合すると、NPAS2/BMAL1ヘテロダイマーがE-boxから解離することを報告した。彼らの報告以降、COは概日リズムの調節因子のひとつであると考えられてきた²⁸。しかしながら実際にCOが概日リズム調節に影響をおよぼす実験的証拠はほとんど得られていなかった。生体内で常時産生するCOの機能を一時的にでも停止させる方法がなかったためである。

我々はoxy-hemoCDの水溶液をマウス腹腔に投与し、マウス血中の内在性COを一時的に低減させ、そのときのマウス肝臓内における概日リズムの変化について調査した²⁹。時計遺伝子

Per1, Per2, Cry1, およびCry2のいずれのmRNA発現においても、コントロールとしてのPBS投与群およびFb-hemoCD投与群(Fb-hemoCD: 鉄イオンを持たないhemoCD, CO結合能がない)と比較して、内在性COの一時的な低減により時計遺伝子mRNA発現リズムに乱れが生じた。図7には例としてPer1の発現リズム乱れのデータを示している。oxy-hemoCDの単回投与によって、Per1の発現リズムは大きく乱れ、その乱れは投与後19時間にわたって観測された。生体内COの変化が時計遺伝子に影響を与えることを捉えた初めての実験的証拠である。

次に我々はhemoCD投与時に観測された時計遺伝子の発現乱れのメカニズムについて調査した。以下に述べるメカニズムについて、スキームにまとめたものを図8に示す。まずCO応答性転写因子であるNPAS2に着目し、NPAS2の転写活性をChIPアッセイにより評価したところ、COの濃度の減少が起こる初期段階(1st phase)において、NPAS2の転写活性が有意に上昇していた。これはNPAS2のCO応答性に関するMcKnightらが提案した機能と一致している²⁷。NPAS2と類似の機能を持ち、NPAS2よりも存在量の多いCLOCKについても、CO濃度の変化による転写活性の変化が認められた。CLOCKにはCOが結合することは報告されているが³⁰、それが時計遺伝子の発現変化と相関することは知られておらず、我々の実験によって内在性CO量の変化がNPAS2およびCLOCKの両者の機能に影響を及ぼすことをはじめて証明した。次に第2および第3段階(2nd phaseおよび3rd phase)では、コントロール群と比較してhemoCD投与群における時計遺伝子の発現量が減少している(図7)。第2段階においては、CO除去により誘導されるフィードバック産生により肝臓内のCO

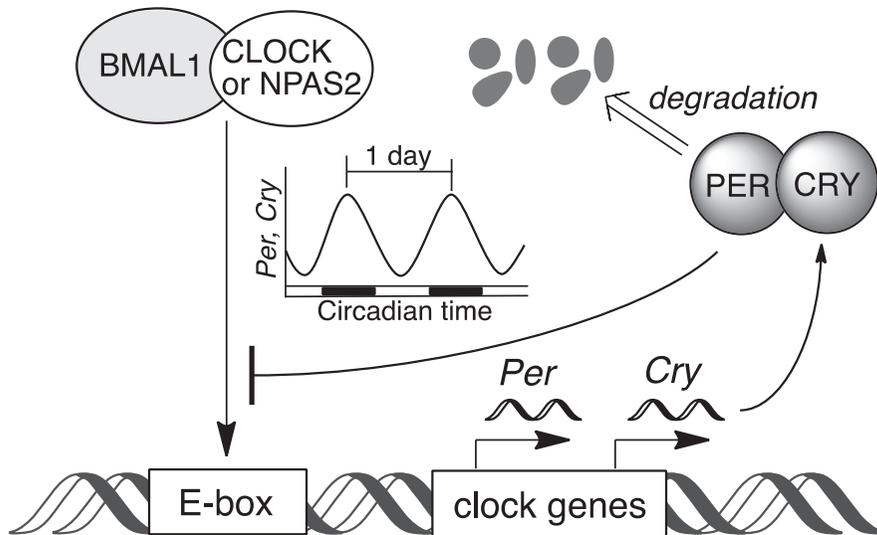


図6. 概日リズムを形成する時計遺伝子の転写 / 翻訳フィードバックループシステム

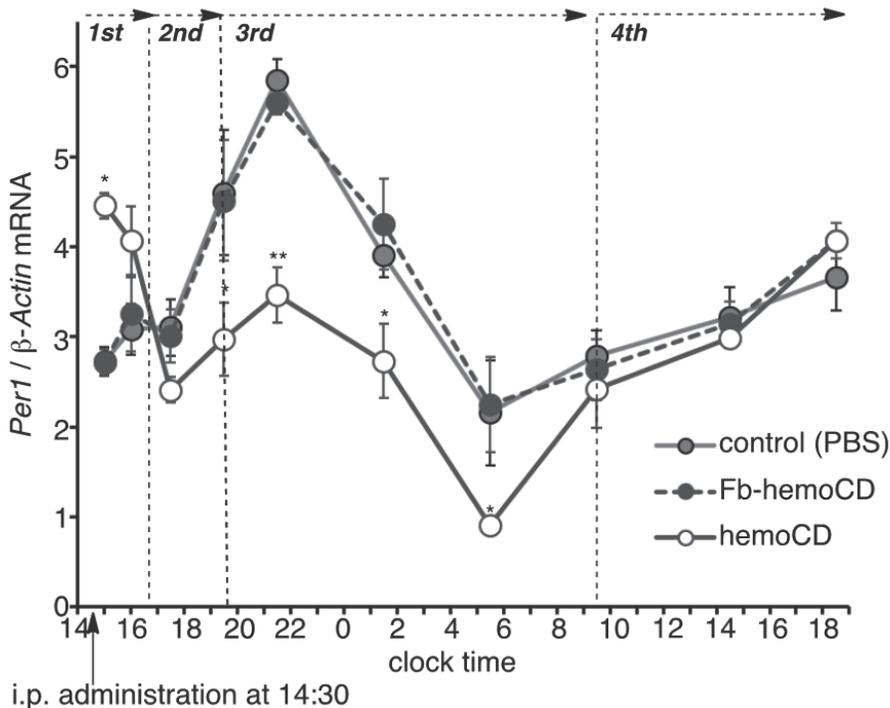


図7. hemoCD投与後におけるマウス肝臓内の *Per1* mRNA 発現量の変化. メカニズム解析のために時間を4つの領域に分割している.

濃度が一時的に上昇しており、その影響によって NPAS2 および CLOCK の活性が低下し、時計遺伝子の発現量低下につながったと考えられる (図8)。第3段階においては、肝臓内 CO は定常状態となり、NPAS2 および CLOCK の転写活性もコントロール群と違いがなかった。それにもかかわらず、hemoCD 投与群における時計遺伝子の発現レベルは低い状態が継続した。これは CO の一時的除去によって誘発される炎症反応によって説明される (図8)。図5に示すように、血中 CO の除去

はフリーヘムの濃度を増加させる。フリーヘムは ROS 産生源となる。実際に hemoCD 投与後の肝臓内においては ROS 濃度および炎症マーカーである TNF- α の濃度が優位に増加しており、その増加期間は時計遺伝子が低下している第3段階と一致していた。TNF- α の発現変化が概日リズムを乱すことは知られている³¹⁾。すなわち CO 除去は NPAS2 および CLOCK の転写システムに影響をおよぼすことに加えて、炎症反応を誘発することによって時計システムに影響を与えることが示唆された。

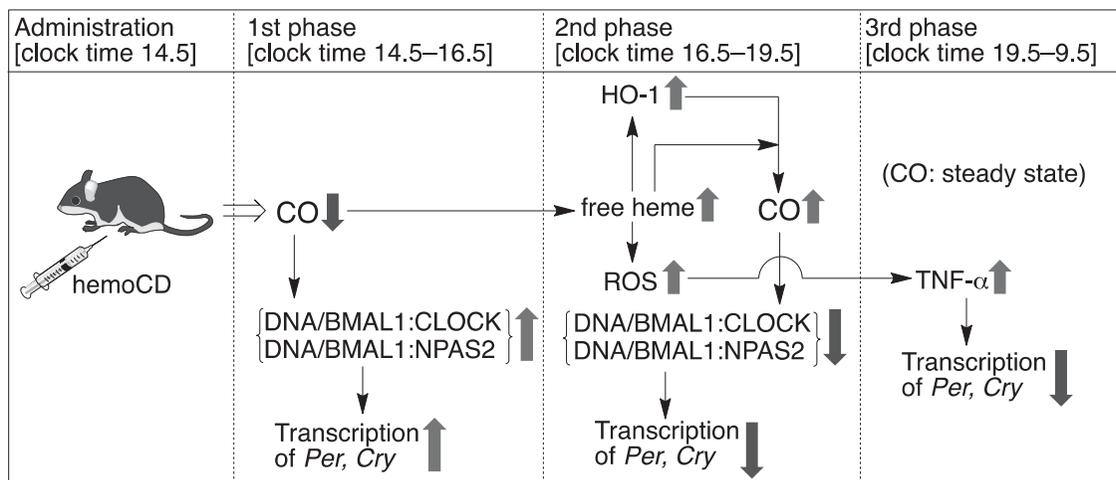


図 8. hemoCD 投与による時計遺伝子 *Per* および *Cry* の発現量変化メカニズム

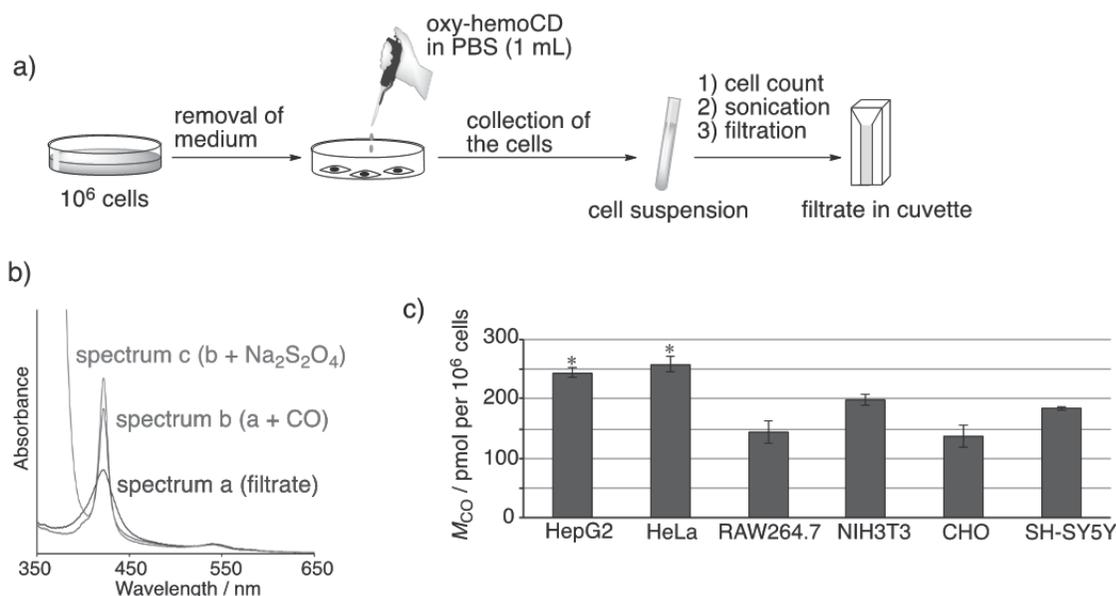


図 9. hemoCD アッセイによる細胞内 CO の定量実験. (a) 実験プロトコル, (b) 吸収スペクトルデータ, (c) hemoCD アッセイにより得られた細胞内 CO 量

4. hemoCD アッセイによる微量 CO の定量

hemoCD は CO を選択的に捕捉し、Hb と同様に CO 結合により吸収スペクトルが鋭敏に変化するため、hemoCD を用いた CO 定量解析が可能である³²⁾。hemoCD による培養細胞内の CO 定量につき概要を図 9 に示す。細胞に oxy-hemoCD の水溶液を加えた後、細胞を破碎してろ過することにより、細胞からの hemoCD ろ液を得る (図 9a)。このろ液には、加えた oxy-hemoCD の他に、内在性 CO を捕捉した CO-hemoCD および自動酸化により生成した鉄三価の met-hemoCD が混在する。これらの成分の濃度を定量するために (a) ろ液, (b) (a) に CO ガスを加えたもの, (c) (b) に還元剤である $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ を加えたものの吸収スペクトルをそれぞれ測定した (図 9b)。これらの吸収スペクトルの吸光度より、それぞれのモル吸光係数を用い

て、ろ液に含まれる CO-hemoCD 量を定量した。各種細胞において内在性 CO 量を定量した結果を図 9c に示す。このように hemoCD を用いれば、従来測定が困難であった細胞内 CO 量を簡単な実験手順により求める事がわかり、我々はこれを hemoCD アッセイと名付けた。生体内 CO の定量にはガスクロマトグラフィーがよく用いられるが検出感度が問題となる。高感度検出のための赤外分光法や³³⁾、CO ケミカルプローブの開発³⁴⁾が試みられているが、hemoCD ほどの感度と定量性はなく実験手法も簡単ではない。hemoCD アッセイによる CO 定量は、細胞だけでなく動物組織にも応用可能である。すなわち内在性 CO だけでなく、外来性 CO がどの臓器や組織にどの程度分散するのかを hemoCD を用いて測定可能である。血液中や組織中の CO 測定については、Vreman および Stevenson らにより、

ガスクロマトグラフィーを用いた様々な条件下でのCO量が報告されている³⁵⁾。我々は現在、動物(ラット)の各組織におけるCO量について、hemoCDアッセイを用いて測定し、彼らの出版したCO量との比較を進めているが、特筆すべきことにhemoCDアッセイにより得られたCO量は、彼らのデータと様々な組織において非常に良い一致を示した。したがってhemoCDアッセイは簡単な吸光分析により正確にCO量を定量できると考えられる。しかしながら動物組織を用いる場合にはoxy-hemoCD水溶液と混合した後に組織中のHbおよびミオグロビン成分からhemoCDを分離する必要がある、その効率化が問題である。現在、我々の研究室においてhemoCDアッセイの行程の効率化および簡便化を試みている。

5. 結言

本論文では我々の研究室で開発した人工HbモデルであるhemoCDを血液中のCO除去剤として用いることにより、内在性COを除去したときに起こる生体内反応についての最近の知見を紹介した。COはNOに続く重要な生体内ガスであると考えられているが、実験的アプローチの難しさにより研究が停滞していた。我々が開発したhemoCDは血中COの有効な除去剤であり、その機能は極めて選択的で他の生体機能には影響を与えない。我々の研究により、(1)血中COの恒常性維持のためのフィードバック機構、および(2)内在性COの時計システムにおける必要性の2つのCOの生理機能が新たに明らかとなった。COには他の重要な生理機能がある可能性も高く、新たな内在性COの生理機能の発見につながることを期待して研究を進めている。さらに余剰外来性COによる中毒の解毒剤としても十分に期待できるシステムであり、hemoCDの血中COの除去剤としての利用価値を今後も継続して見出していきたい。

なお本稿に記載の動物実験は「同志社大学倫理審査室」および「同志社大学動物実験委員会」の定める規定に従って実施した。

謝辞

本稿に記載の研究は、日本学術振興会科研費(Grant No. 15H02569, 16K13092, 17H02208, 18KK0156, 19K22260)、文部科学省私立大学戦略的基盤形成事業、内藤記念科学技術振興財団、サントリー生命科学財団、武田科学振興財団、ノバルティス科学振興財団に支援を受けて実施した。

参考文献

1. Matsui T, Kim SH, Jin H, Hoffman BM, Ikeda-Saito M. Compound I of Heme Oxygenase Cannot Hydroxylate Its Heme *meso*-Carbon. *J Am Chem Soc* 2006; 128: 1090-1.
2. Matsui T, Omori K, Jin H, Ikeda-Saito M. Alkyl Peroxides Reveal the Ring Opening Mechanism of Verdoheme Catalyzed by Heme Oxygenase. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 4220-1.
3. Matsui T, Unno M, Ikeda-Saito M. Heme Oxygenase Reveals

Its Strategy for Catalyzing Three Successive Oxygenation Reactions. *Acc Chem Res* 2010; 43: 240-7.

4. Wu L, Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 585-630.
5. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 2006; 86: 583-650.
6. Motterlini R, Otterbein LE. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 728-43.
7. Thorup C, Jones CL, Gross SS, Moore LC, Goligorsky MS. Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppresses endothelial NOS. *Am J Physiol* 1999; 277: F882-9.
8. Fayad-Kobeissi S, Ratovonantenaina J, Dabiré H, Wilson JL, Rodriguez AM, Berdeaux A, Dubois-Randé JL, Mann BE, Motterlini R, Foresti R. Vascular and angiogenic activities of CORM-401, an oxidant-sensitive CO-releasing molecule. *Biochem Pharmacol* 2016; 102: 64-77.
9. Stone JR, Marletta MA. Soluble guanylate cyclase from bovine lung: activation with nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states. *Biochemistry* 1994; 33: 5636-40.
10. Otterbein LE, Bach FH, Alam J, Soares M, Tao Lu H, Wysk M, Davis RJ, Flavell RA, Choi AM. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med* 2000; 6: 422-8.
11. Sawle P, Foresti R, Mann BE, Johnson TR, Green CJ, Motterlini R. Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs) attenuate the inflammatory response elicited by lipopolysaccharide in RAW264.7 murine macrophages. *Br J Pharmacol.* 2005; 145: 800-10.
12. Szabo C. Gasotransmitters in cancer: from pathophysiology to experimental therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2016; 15: 185-203.
13. Shimizu T, Huang D, Yan F, Stranova M, Bartosova M, Fojtiková V, Martínková M. Gaseous O₂, NO, and CO in signal transduction: structure and function relationships of heme-based gas sensors and heme-redox sensors. *Chem Rev* 2015; 115: 6491-533.
14. Kajimura M, Fukuda R, Bateman RM, Yamamoto T, Suematsu M. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H₂S gas biology. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 157-92.
15. Kano K, Kitagishi H, Kodera M, Hirota, S. Dioxxygen binding to a simple myoglobin model in aqueous solution. *Angew Chem Int Ed* 2005; 44: 435-438.
16. Kano K, Kitagishi H, Dagallier C, Kodera M, Matsuo T, Hayashi T, Hisaeda Y, Hirota S. Iron porphyrin-cyclodextrin

- supramolecular complex as a functional model of myoglobin in aqueous solution. *Inorg Chem* 2006; 45: 4448-60.
17. 北岸宏亮, 加納航治. 水中で二原子分子 (O₂, CO, NO) を捕捉する完全合成化合物. *人工血液* 2009; 17: 160-8.
 18. Kitagishi H, Negi S, Kiriyama A, Honbo A, Sugiura Y, Kawaguchi AT, Kano K. A diatomic molecule receptor that removes CO in a living organism. *Angew Chem Int Ed* 2010; 49: 1312-5.
 19. Kitagishi H, Minegishi S, Yumura A, Negi S, Taketani S, Amagase Y, Mizukawa Y, Urushidani T, Sugiura Y, Kano K. Feedback Response to Selective Depletion of Endogenous Carbon Monoxide in the Blood. *J Am Chem Soc* 2016; 138: 5417-25.
 20. Matthew E, Warden G, Dedman J. A murine model of smoke inhalation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001; 280: L716-23.
 21. Shikama K. The Molecular Mechanism of Autoxidation for Myoglobin and Hemoglobin: A Venerable Puzzle. *Chem Rev*. 1998; 98: 1357-74.
 22. Gladwin MT, Kanas T, Kim-Shapiro DB. Hemolysis and cell-free hemoglobin drive an intrinsic mechanism for human disease. *J Clin Invest*. 2012; 122: 1205-8.
 23. Ferreira A, Balla J, Jeney V, Balla G, Soares MP. A central role for free heme in the pathogenesis of severe malaria: the missing link? *J Mol Med*. 2008; 86: 1097-111.
 24. Pamplona A, Ferreira A, Balla J, Jeney V, Balla G, Epiphany S, Chora A, Rodrigues CD, Gregoire IP, Cunha-Rodrigues M, Portugal S, Soares MP, Mota MM. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide suppress the pathogenesis of experimental cerebral malaria. *Nat Med*. 2007; 13: 703-10.
 25. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002; 418: 935-41.
 26. Ko CH, Takahashi JS. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet*. 2006; 15: R271-7.
 27. Dioum EM, Rutter J, Tuckerman JR, Gonzalez G, Gilles-Gonzalez MA, McKnight SL. NPAS2: a gas-responsive transcription factor. *Science* 2002; 298: 2385-7.
 28. Boehning D, Snyder SH. Circadian rhythms. Carbon monoxide and clocks. *Science* 2002; 298: 2339-40.
 29. Minegishi S, Sagami I, Negi S, Kano K, Kitagishi H. Circadian clock disruption by selective removal of endogenous carbon monoxide. *Sci Rep* 2018; 8: 11996.
 30. Lukat-Rodgers GS, Correia C, Botuyan MV, Mer G, Rodgers KR. Heme-based sensing by the mammalian circadian protein CLOCK. *Inorg Chem* 2010; 49: 6349-65.
 31. Cavadini G, Petrzilka S, Kohler P, Jud C, Tobler I, Birchler T, Fontana A. TNF-alpha suppresses the expression of clock genes by interfering with E-box-mediated transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 12843-8.
 32. Minegishi S, Yumura A, Miyoshi H, Negi S, Taketani S, Motterlini R, Foresti R, Kano K, Kitagishi H. Detection and Removal of Endogenous Carbon Monoxide by Selective and Cell-Permeable Hemoprotein Model Complexes. *J Am Chem Soc* 2017; 139: 5984-91.
 33. Morimoto Y, Durante W, Lancaster DG, Klattenhoff J, Tittel FK. Real-time measurements of endogenous CO production from vascular cells using an ultrasensitive laser sensor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H483-8.
 34. Michel BW, Lippert AR, Chang CJ. A reaction-based fluorescent probe for selective imaging of carbon monoxide in living cells using a palladium-mediated carbonylation. *J Am Chem Soc* 2012; 134: 15668-71.
 35. Vreman HJ, Wong RJ, Kadotani T, Stevenson DK. Determination of carbon monoxide (CO) in rodent tissue: effect of heme administration and environmental CO exposure. *Anal Biochem* 2005; 341: 280-9.

日本血液代替物学会 総会

- | | |
|---|---|
| <p>1. 日 時：
平成30年10月18日（木）13：00～</p> <p>2. 場 所：
旭川大雪クリスタルホール
北海道旭川市神楽3条7丁目</p> | <p>3. 議 題：① 第25回年次大会の報告
② 会員動向
③ 平成29年度事業報告
④ 平成29年度会計報告
⑤ 平成30年度事業計画（経過報告）</p> |
|---|---|

以下審議内容を略記します。

① 年次大会の開催状況として下記事項が報告された。

- 1) 事業名 第25回日本血液代替物学会年次大会
(大会長 東 寛)
- 2) 開催年月日 平成30年10月18日（木）・19日（金）
- 3) 開催場所 旭川大雪クリスタルホール
- 4) 参加範囲 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

② 会員状況は以下の通り

- 1) 施設会員：2社
- 2) 正会員：80名
- 3) 購読会員：3箇所

③ 平成29年度事業報告（平成29年4月1日～平成30年3月31日）が行なわれ各々承認された。

- 1) 定期総会の開催
平成29年12月7日（木）早稲田大学西早稲田キャンパスにて開催
- 2) 第24回年次大会の開催（大会長 木下 学）
平成29年12月7日（木）・8日（金）於 早稲田大学西早稲田キャンパス
- 3) 会誌「人工血液」の発行：第25巻1号

④ 平成29年度収支決算報告が行なわれ承認された。

平成29年度会計報告
収支決算表

（自 平成29年4月1日 至 平成30年3月31日）

（単位：円）

収 入		支 出	
摘 要	金 額	摘 要	金 額
前期繰越金	5,757,290	会誌出版費	458,050
正会員会費	430,000	集会・委員会費	361,053
施設会員会費	600,000	年会補助金	0
購読会員会費	6,000	ホームページ維持費	324,000
学生会員会費	0	謝 金	669,000
雑 収 入	69,956	事務費(消耗費)	2,750
利 息	941	事務費(通信費)	28,340
		雑 役 務 費	11,688
		次期繰越金	5,009,306
計	6,864,187	計	6,864,187

⑤ 平成30年度事業計画（経過報告）（平成30年4月1日～平成31年3月31日）

- 1) 定期総会の開催
平成30年10月18日（木）13：00～
於 旭川大雪クリスタルホール
- 2) 第25回年次大会の開催（大会長：東 寛）
平成30年10月18日（木）・19日（金）
於 旭川大雪クリスタルホール
- 3) 会誌「人工血液」の発行：第26巻1号

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. 事務局は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るものである。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適正使用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) 購読会員 本会の会誌を購読する団体または個人とする。
- 3) 学生会員 本会の目的に賛同する学生で所定の手続きを行い、会費を納入した者とする。
- 4) 施設会員 本会の目的に賛同する施設とする。

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) 年会費 (年額)
 - 1) 正会員 1万円
 - 2) 購読会員 3千円
 - 3) 学生会員 3千円
 - 4) 施設会員 1口以上 (1口5万円)
- 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、所定の入会申込書を事務局宛に提出し、入会審査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：(未納者) 年会費未納の会員には、年度末に催促する。2年間未納の場合には会誌の送付を停止する。入金確認後会誌の送付を再開する。

第10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11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 5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12条：(役員を選任) 役員は、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13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14条：(会長) 会長は、各事業を司り本会を代表統括する。

第15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16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17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18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19条：(評議員) 評議員は正会員、施設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20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21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22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23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24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25条：(理事会) 理事会は、理事をもって構成する。

2. 理事会は年2回以上会長が召集する。ただし、会長が必要と認めるとき、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。持ち回りで理事会を開催する場合には、理事会構成現在数の3分の2以上の意思表示により成立する。

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ことができる。

第26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27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28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29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30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31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、会誌および学会ホームページに掲載する。

第32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33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34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35条：(議事録の保存) 全ての会議には議事録を作成し、これを事務局に保存する。

第6章 資産及び会計

第36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37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、または定期郵便貯金とするか、もしくは確実な信託銀行に信託するか、あるいは定期預金として会長が保管する。

第38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39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40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41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42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43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44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45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46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。

第47条：(専門委員会の設置と委員の選任) 学会運営に伴う専門委員会の設置ならびに委員の選任は理事会の承認を経て行うことができる。

委員には会員の他に非会員の学識経験者もなることができる。

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。

平成16年10月15日改定

平成26年12月8日改定

令和1年度 日本血液代替物学会役員名簿

顧問	高久史磨	地域医療振興協会 会長
会長	酒井宏水	奈良県立医科大学医学部 教授
副会長	堀之内宏久	さいたま市立病院 副院長
理事	東 寛	旭川医科大学 教授
	池田康夫	早稲田大学 特任教授
	小田切優樹	崇城大学薬学部 教授
	小松晃之	中央大学理工学部 教授
	武岡真司	早稲田大学理工学術院 教授
	丸山 徹	熊本大学薬学部 教授
	米川元樹	社会医療法人北楡会 理事長
監事	清水 勝	西城病院 理事
	小林 紘一	慶應義塾大学 名誉教授

歴代会長：

土田 英俊（早稲田大学 名誉教授）	1993年7月～1999年3月
小林 紘一（慶應義塾大学 名誉教授）	1999年4月～2013年3月
武岡 真司（早稲田大学 教授）	2013年4月～2018年3月

日本血液代替物学会 評議員名簿

(五十音順)

東 寛	旭川医科大学 教授	佐久間一郎	カレスサッポロ北光記念クリニック 院長
阿部喜代司	筑波大学 名誉教授	佐竹 正博	日本赤十字社血液事業本部 中央血液研究所 所長
池田 康夫	早稲田大学 特任教授	清水 勝	西城病院 理事
池淵 研二	埼玉医科大学 教授	高久 史磨	地域医療振興協会 会長
石田 竜弘	徳島大学大学院医歯薬学研究部 教授	高橋 英嗣	佐賀大学大学院 教授
伊藤 俊之	京都府赤十字血液センター	田口 和明	慶應義塾大学医学部 講師
稲田 英一	順天堂大学医学部 教授	武岡 真司	早稲田大学理工学術院 教授
大柳 治正	近大姫路大学 副学長	長澤 俊郎	筑波記念病院 院長
奥 直人	帝京大学薬学部 特任教授	西出 宏之	早稲田大学 名誉教授
小田切優樹	崇城大学薬学部 教授	萩沢 康介	防衛医科大学校 助教
北岸 宏亮	同志社大学理工学部 准教授	福島 昭二	神戸学院大学薬学部薬学科 教授
木下 学	防衛医科大学校 准教授	堀之内宏久	さいたま市立病院 副院長
河野 光智	東海大学医学部 准教授	丸山 徹	熊本大学薬学部 教授
小林 紘一	慶應義塾大学 名誉教授	村田 満	慶應義塾大学医学部 教授
小松 晃之	中央大学理工学部 教授	米川 元樹	社会医療法人北楡会 理事長
酒井 宏水	奈良県立医科大学医学部 教授		

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 Nov. 20, 2013)

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>), 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, μ m, L, mL, μ L, mol, g, mg, μ g, 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 of Artificial Oxygen Carriers. In: Winslow RM, ed. *Blood Substitutes*. London: Academic Press (Elsevier), 2006; 514-522.
4. Department of Chemistry, Nara Medical University, Japan. http://www.naramed-u.ac.jp/~chem/ENGLISH_PAGE/e_invest_blood.html (last accessed Nov. 2013)

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:

Prof Hiromi Sakai
Editor of Artificial Blood
Department of Chemistry
Nara Medical University
840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521, Japan
E-mail : artificial-blood@naramed-u.ac.jp

投稿規定（平成25年11月20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。論文の著作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>）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), ポリグラフィシステム (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, μ m, L, mL, μ L, mol, g, mg, μ g, 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. Department of Chemistry, Nara Medical University, Japan. http://www.naramed-u.ac.jp/~chem/ENGLISH_PAGE/e_invest_blood.html (last accessed Nov. 2013)

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.

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ないが, 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

〒634-8521

奈良県橿原市四条町840

奈良県立医科大学化学教室内

「人工血液」編集委員長 酒井宏水 宛

E-mail: artificial-blood@naramed-u.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 酒井 宏水 殿

To: Dr. Hiromi Sakai

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.

令和 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
〒634-8521 奈良県橿原市四条町840 奈良県立医科大学医学部化学教室内
E-mail : artificial-blood@naramed-u.ac.jp

Artificial Blood Editorial Office
The Society of Blood Substitutes, Japan
Department of Chemistry, Nara Medical University
840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521, Japan
E-mail : artificial-blood@naramed-u.ac.jp

編集委員

●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

■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.27(1) 2019年11月8日発行

〒634-8521 奈良県橿原市四条町840
奈良県立医科大学化学教室内
TEL & FAX (0744) 29-8810

〒634-8521 奈良県橿原市四条町840
奈良県立医科大学化学教室内
TEL & FAX (0744) 29-8810

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

日本血液代替物学会
<http://www.blood-sub.jp/>