# 人工血液

第 19 巻　第 3 号　2012 年 4 月

目　次

会告　…… 86

報告　Tsuchida Memorial Award授賞式について …… 87

原著　明治時代の「輸血学」
……松田 利夫　他　89

総説　ヒト多能性幹細胞を用いた血小板再生
……中村 壮　他　99

二次投稿論文
ヘモグロビンを小胞体に内包することによりガス透過性細管内を流動するときNO-，CO-結合，$O_2$-放出が遅延される
……酒井 宏水　他　103

事務局たより

# ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 19　No. 3　April，2012

Contents

*Announcement* …… 86

*Report：Tsuchida Memorial Award Ceremony* …… 87

*Original Article：*
*Blood Transfusion during the Meiji Era in Japan*
……*Toshio Mzada, et al.*　89

*Review: Generation of functional platelets from human pluripotent stem cells*
……*So Nakamura, et al.*　99

*Secondary Prepublication：*
*Hemoglobin encapsulation in vesicles retards NO- and CO-binding and $O_2$-release when perfused through narrow gas-permeable tubes*
……*Hiromi Sakai, et al.*　103

# 会　告

## 第19回日本血液代替物学会年次大会

会　期：平成24年10月25日（木）、26日（金）

会　場：旭川大雪クリスタルホール

大会長：東　寛（旭川医科大学　小児科学講座）

テーマ：細胞型血液代替物の新たな展開
――酸素治療薬としての臨床応用をめざして――

### プログラム

・ 一般演題

・シンポジウム

1：「人工酸素運搬体治療薬のヒトでの実効性について」

2：「人工血小板開発の現状」

・ トピックス　1

HGFによる神経の再生医療について（仮題）（旭川医科大学　船越　洋　先生）

・特別講演 Ⅰ

New ET-Kyoto solution（仮題）（京大呼吸器外科　坂東　徹　先生）

・特別講演 Ⅱ

臓器保存から臓器蘇生へ（仮題）（自治医科大学　小林　英司　先生）

＊プログラム、演題募集の詳細につきましては、学会ホームページにて随時お知らせしていきます。

事務局連絡先

〒078-8510　北海道旭川市緑が丘東２条１丁目１-１

旭川医科大学小児科学講座内

電話：0166-68-2481　FAX：0166-68-2489

E-mail：ketsueki-daitai@asahikawa-med.ac.jp

担当：金田　眞

報　告

# Tsuchida Memorial Award授賞式について

第13回国際血液代替物学会（XIII-ISBS） が2011年7月27-29日に米国ボストンで開催されました（会場：マサチューセッツ総合病院，大会長：Prof. Warren M. Zapol）．2010年4月25日にお亡くなりになりました，日本血液代替物学会の前会長，故土田英俊先生（早稲田大学）の血液代替物の研究に関する御業績を讃え，Prof. Zapol大会長のお計らいで，若手研究者の優れた発表に対しTsuchida Memorial Awardを贈呈しました．ポスター発表者46名を対象に，厳選な審査を行い，次の2名が受賞しました．

Dr. Amy G. Tsai
Department of Bioengineering, University of California, San Diego, CA, USA
(Title) Influence of oxygen affinity of pegylated hemoglobin on microvascular perfusion during induced acute extreme hemodilution

Dr. Paula Moon-Massat
NeuroTrauma Department, Operational and Undersea Medicine Directorate, Naval Medical Research Center, Silver Spring, MD, USA
(Title) Point of diminishing return: contribution of tetramer content and molecular weight on vasoactivity of HBOC-201

XIII-ISBS二日目の7月28日午後に開催された授賞式では，Prof. Zapolから受賞者名（2名）の発表，そして日本血液代替物学会の会長，小林紘一先生（慶大医）から，パワーポイントを使った土田先生のご略歴とご業績のご紹介のあと，小林先生から表彰，また各受賞者から研究内容について口頭発表をして頂きました．

尚，日本血液代替物学会から二名に対し，それぞれ賞状と賞金US$500を贈呈致しました．

小林紘一先生による故土田英俊先生のご紹介

Dr. Amy G. Tsaiの表彰

Dr. Paula Moon-Massatの表彰

原著

# 明治時代の「輸血学」

# Blood Transfusion during the Meiji Era in Japan

松田 利夫[(1)]，清水 勝[(2)]

**Toshio Mazda[(1)], Masaru Shimizu[(2)]**

和文抄録

日本における最初の輸血は大正 8（1919）年 2 月に後藤七郎により実施され，その後同年 6 月に塩田広重が行い，急速に広まって行ったというのが通説となっている．しかし，それ以前にすでに輸血が行われたと伝えられているが，具体的な記録は残っていない．そこで，われわれは明治時代（1867-1910年）の医学書に記載されている輸血に関する項目を渉猟した結果，明治時代に輸液の他に輸血も行われていたとしても何ら不思議ではないと思われる程に具体的な詳しい記述内容のあることが明らかになった．しかも，医学書のみではなく法律書（1906年刊）にも輸血に関する事項があり，医師は「血を取られる者」にもその危険性などに関する説明をし，承諾をとる必要性のあることが記述されていた．このようなことは明治時代，輸血を実施する行為はoperationと呼ばれる特殊な技術であったというが，患者の輸血に伴う副作用（現在のABO血液型不適合による溶血反応）が実務的に認識されていただけでなく，供血者側の危険性についても認識されていたことを示唆するものと考える．さらに，輸液（食塩水液）も試みられ，輸血の代替として安全かつ容易に行えると記述されていることから，わが国における輸液は輸血の代替として導入されてきたと思われる．しかしながら，明治時代末期には欧米諸国と同様に，輸血の危険性と手技の煩雑さからか，わが国においても輸血は顧みられなくなった．その後，欧米ではABO血液型の発見（1900年），その輸血への応用（1912年頃），さらに第一次世界大戦時（大正時代）に前線での輸血を視察したわが国の医師による国内での輸血の再開へと繋がって行ったと考えられる．最近，血液代替物としての人工酸素運搬体の開発がすすめられ，赤血球輸血の代替として血液型にとらわれないことから，より安全性が高いとして，輸液と同様な応用が検討されていることは，興味深い経緯である．

Abstract

The earliest record of blood transfusion was in 1919 in Japan. However, transfusions are said to have been done in the mid-Meiji era by German doctors at Tokyo Imperial University but no record has been found. Transfusion was included by description and illustration in the Meiji era in at least thirty books. Translations from German and English described multiple details about different methods of direct donor-to-patient transfusion. Around 1880 to 1890 some Japanese doctors detailed practical procedures about blood transfusion so well that could strongly suggest any medical persons to try blood transfusion in fact. In the 1890's books began to describe not only blood transfusion but also saline (0.6%) infusion. After that, books about intravenous injection in Japan changed gradually as transfusion declined in the West and saline infusion increased. Saline (0.9%) was introduced around the end of the Meiji era. In 1906, a Japanese jurist described the importance of informed consent from blood donors. From these books, Japanese doctors of the Meiji era had already known well not only of adverse effects of blood transfusion to patients but also dangers to blood donors. In the West blood transfusion developed quickly after 1900, with ABO blood typing, cross match testing, citrated blood, etc. During World War 1, Japanese professors from both Kyushu Imperial University and Tokyo Imperial University went to Europe and observed transfusion practice in field hospitals. They came back and described patient outcomes in their own use of the therapy. After that, blood transfusion gained in popularity in Japan. Recently, development of blood substitutes as an oxygen transporter were started. Those substitutes without blood type should have the safety of the saline infusions of the Meiji era.

（1）日本赤十字社中央血液研究所品質検査部　〒135-8521　東京都江東区辰巳2-1-67　Quality Control Department, Japanese Red Cross Central Blood Institute　Tatsumi 2-1-67, Koto-ku, Tokyo 135-8521, Japan

（2）医療法人西城病院内科　〒021-0871　岩手県一関市八幡2-43　Department of Internal Medicine, Saiki Hospital　Hachiman 2-43, Ichinoseki, Iwate Prefecture　021-0871, Japan

論文受付 2011年 8 月29日　論文受理 2011年10月 6 日

Keywords
history of blood transfusion, transfusion during Meiji era, saline infusion, blood substitute

## 1．はじめに

我が国の記録に残る最も早い時代の輸血は大正 8（1919）年である[1-4]．同年 2 月に，後藤[5]（1881-1962：九州帝国大学）は陳旧性膿胸の患者にシェーデ氏（Schede）手術を施行時に多数の肋骨を切除し，脈拍が非常に悪くなったことから，近親者の血液を輸血し，同年 6 月に塩田[6]（1873-1965：東京帝国大学）は29歳女性の子宮筋腫による重度の貧血患者（赤血球数110万/μl，輸血直前83万/μl）に輸血を行った．その後，輸血は多くの医師により，施行されるようになった．

しかし，廣瀬[1]によると，輸血を日本で最初に行ったのは，東京帝国大学の外科教師Julius Karl Scriba（1848-1905）で，血管縫合による輸血だったが，その記録はないという．Scribaは，ドイツ人で，内科のErwin von Bälz（1849-1913）とともに日本の近代医学の基礎を築いた恩人であり，塩田の恩師でもある（遠山博よりの私信）．また，桐原[2]は「明治22，23（1889-1890）年頃に輸血が行はれたことがあると云はれているが記録は残っていない」という．これらの記述から，記録は残っていないものの，大正 8 年以前に，すでに輸血が行われていた可能性はあると思われる．そこで，もし明治時代に輸血が行われているとすればどのように行われたのかについて，明治時代の医学書の輸血に関する記述内容を検討したので報告する．

## 2．方法

輸血に関する一般的な認識の程度を評価するには，その時代の医学的な成書の記載内容によることが最も相応しいと考えられる．そこで明治時代に発行され国立国会図書館などに所蔵されている，主に外科系の医書を中心に，「輸血」についての記述内容の検討を行った．輸血に関する記述のある明治時代の参考文献（1875-1908年）（以下［参］）をTable 1．にまとめた．その中には，輸血に関する法的な立場から論述したもの［参27］

Table 1. 輸血に関する記述のある明治時代の参考文献

| | 書名／論文名・雑誌名等 | 著者/訳者等 | 出版者 | 出版地 | 出版年 明治（西暦） | 備考 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 弗氏生理書 | 弗知遜（ホユチソン）著，坪井為春，小林義直訳 | 山中市兵衛等 | 東京 | 8 （1875） | |
| 2. | 華氏病理摘要 | ハルツホールン著，長谷川泰訳 石黒忠悳補訂 | 行余堂 | 東京 | 8 （1875） | |
| 3. | 医学七科問答（産科学之部） | 律度羅（リュドロー）著，内務省衛生局訳 | 東京医学会社 | 東京 | 12 （1879） | |
| 4. | 病理総論 | 三宅秀 | 三宅秀 | 東京 | 14 （1881） | |
| 5. | 輸血法論・弘医月報 10号 11-18 | 片山国嘉 | 弘醫月報社 | 東京 | 14 （1881） | |
| | 同上 13号 13-20 | 片山国嘉 | 弘醫月報社 | 東京 | 15 （1882） | |
| 6. | 人工呼吸法 | 片山国嘉編 | 島村利助 | 東京 | 15 （1882） | |
| 7. | 軍陣外科手術 | エスマルク著, 片山国嘉訳 | 石黒忠悳 | 東京 | 16 （1883） | |
| 8. | 蘭氏生理学上巻 第二版 | 蘭土亜（ランドア）著，山田良叔訳 | 山田良叔 | 東京 | 22 （1889） | 初版：明治20 |
| 9. | 外科通論 上-中編 | 芳賀栄次郎 | 芳賀栄次郎 | 東京 | 23 （1890） | |
| 10. | 外科汎論 上編 | 土肥慶蔵，高橋金一郎 | 松崎留吉 | 東京 | 23 （1890） | |
| 11. | 医家宝典 下 | 中原恭弥編 | 細謹舎 | 岡山 | 24 （1891） | |
| 12. | 人身生理学 | ハクスレー著，小林義直訳 | 丸善ほか | 東京 | 24 （1891） | |
| 13. | 外科通論 | 有松戒三編訳 | 緑蔭堂 | 金沢 | 25 （1892） | |
| 14. | 柴氏軍陣外科学 巻 1 | カル・ザイデル著, 足立寛訳 | 足立寛 | 東京 | 27 （1894） | |
| 15. | 外科学講本 | 佐藤勤也，谷峰太郎編 | 半田屋書籍 | 東京 | 27 （1894） | |
| 16. | 外科手術関鍵 下巻 | エスマルヒ著　岡田和一郎，田代義徳訳補 | 松崎留吉 | 東京 | 28 （1895） | |
| 17. | 生理学講義 巻壱 | 宮入慶之助 | 半田屋医籍 | 東京 | 28 （1895） | |
| 18. | 医療筌蹄 下巻 | リーデル著　入沢達吉等訳 | 南江堂 | 東京 | 30 （1897） | |
| 19. | ルンゲ氏産科学 | ルンゲ著，水原漸訳，千葉稔次郎補訳 | 金原寅作 | 東京 | 30 （1897） | |
| 20. | 袖珍外科医典 上巻 | 田村光顕，岡隆太郎編 | 南江堂 | 東京 | 35 （1902） | |
| 21. | 病理通論　増訂 8 版 | 昆海母著，山田良叔編訳 | 山田良叔 | 東京 | 35-6（1902-3） | 初版：明治23 |
| 22. | 応用肺結核療法 学説実地 | 竹中成憲 | 半田屋医籍 | 東京 | 36 （1903） | |
| 23. | 外科総論 上巻 増訂10版 | 桂秀馬編 | 金原医籍 | 東京 | 36 （1903） | 初版：明治23 |
| 24. | 臨床医典 増訂15版 | 筒井八百珠編 | 南江堂 | 東京 | 37 （1904） | 初版：明治23 |
| 25. | 新纂外科総論 後編 | 下平用彩 | 吐鳳堂 | 東京 | 39 （1906） | |
| 26. | 簡明外科汎論 | 川村泰次郎編 | 博文館 | 東京 | 39 （1906） | |
| 27. | 医師之権利義務 | 市村光恵 | 宝文館 | 東京 | 39 （1906） | |
| 28. | 食塩水注入療法 | 渡辺房吉編 | 治療学社 | 東京 | 40 （1907） | |
| 29. | 身心修養長命術 | フーフェーランド著，杉谷泰山訳 | 博文館 | 東京 | 40 （1907） | |
| 30. | 近世診療技術 上巻 | 篠原昌治，久賀六郎編 入沢達吉，田代義徳閲 | 南江堂 | 東京 | 41 （1908） | |
| 31. | 近世外科総論 上巻 | エーリヒ・レキセル著 山村正雄訳 近藤次繁閲 | 南江堂 | 東京 | 41 （1908） | |

もあった．

なお，文献からの引用文は読みやすいように，原文のカタカナ表記を総てひらがな表記にし，長文には句読点を付し，さらに難解と思われる字句については振り仮名や注を付して，理解を容易することに努めた．しかし，原文の意を損なわないようにできるだけ忠実に引用したために，濁点など，現代文と異なっている箇所もある．

## 3．結果と考察

明治時代の多くの医書に「輸血」に関する記述を認めたが，欧米の医書の翻訳が多く，日本人による著作もあるが，これらの内容の多くは欧米の医書の強い影響を受けていることが窺えた．

明治時代の初期から10年毎に経時的に輸血に関する記述内容の変遷を検討した参考文献は31である．その結果は，以下のごとくであるが，これらの医書の輸血に関する概要を簡略にTable 2. にまとめた．

### 3-1．明治初期

明治時代の輸血に関する最初の医学書としては，明治8（1875）年7月に刊行された坪井為春，小林義直訳『弗氏生理書』［参1］があるが，この訳書の原著はJoseph C Hutchisonの『A treatise on physiology and hygiene, for educational institutions and general readers』である．そこには，動物間の輸血に関する記述の後，人への輸血について「不幸の災害継ぎ来り官命じて之を禁ずるに至り，其法速に廃止せり，輓近（ばんきん．注：近頃）に至りて篤劇なる出血の症，百薬効なく死に瀕する者に輸血法を施め，危急を挽回し或は命緒を維持すること間々之れあり」と記載されている．

この本は文部省が教科書として刊行したもので，各條ごとに小試問を，そして各篇の巻末には「全篇の問題」があり，「第七血液循環篇」には輸血に関する問題もあげられている（Fig. 1.）．

Fig. 1. 『弗氏生理書』［参1］の「全編の問題」中の輸血関連問題．
「第七　血液循環編」には48題の「全編の問題」があるが，そのうち図に示す4題に「輸血」という言葉が含まれている．

明治8年11月にはもう一冊，長谷川泰訳『華氏病理摘要』［参2］が刊行されている．本訳書の原著はHenry Hartshorneの『Essentials of the principles and practice of medicine: a handbook for students and practitioners』の第4版（1874年刊）と考えられる．残念ながら本原著は参照し得なかったが，第3版（1871年刊）には輸血の記述がなく，第5版（1881年刊）には輸血に関する記載があり，この第5版から1874年以後の文献引用事項を削除すると『華氏病理摘要』とほぼ同じ内容であり，さらに本訳書の刊行年からしても，長谷川の訳書は第4版と考えられる．なお，この『華氏病理摘要』に輸血の記載があることは山崎佐により紹介されている．[3,7]

この『華氏病理摘要』には，「血液注入法」の章があり，「劇甚なる衰弱の状態例之分娩後，若くは外科手術後の出血過度より生せる衰弱に於て，鮮血を静脈中に輸入するの法」として，輸血の歴史，次に輸血の実際について，「古法は血液を動脈（人の動脈血を用いるのは稀で通常羊仔の動脈血を用ふ）より直接に患者の静脈に輸注する」とし，「静脈血を一器中に受容し」「繊維素を去れる血液」の使用が「頗る便宜なり」とあるが，その作成方法の記述はない．この手術（輸血のこと）における危険として，「空気の脈管に竄入（ざんにゅう）」により「エンボリスム」（embolism）を起こすとある．そこでは，「アウィリング（Aveling）氏の静脈より静脈に直接に輸血するの法は諸法中最も佳良なるに似たり」とし，彼の血液注入器を図入りで紹介しているが（Fig. 2.），さらに「注輸すへき血量は四号（注：オンス．1オンスは28.35g）乃至十二号以上の差あり，通常四号乃至八号を以て足れり」としている．その後に，他の輸血器具の紹介があり，予め血液を暖めて用いるとの記載もある．最後に輸血の適応として，出血の患者以外に稀に虎狼痢（コレラ）に施すとしているが，肺労の末期（肺結核）には効績はないという説を紹介している．いずれにせよ，「極めて危急なる時の

Fig. 2. Avelingの血液注入器（『華氏病理摘要』［参2］より）．
「此法に用ふる器は，大約長さ1フートの小護謨管にして，中央には一箇の球を有ち，両端には静脈に刺入すへき管針を有つ者是なり．此球は圧搾して血液の進行を促すに供す」との説明がある．

外，頻回に渉るを以て行へ難しとす」と結んでいる．

James Hobson Aveling（1828-92）[8] は英国の医師で，供血者から患者への直接輸血を行うための持ち運びのできる輸血用器具を発明し（1863年），使用すべき患者にめぐりあうまで9年間もポケットに入れてもち歩き，それを使用した結果は非常に満足すべきもので，いくつかの成功例があったという．普仏戦争（1871年）中に，抗凝固剤を使用することなく，この器具を使って，多数の直接輸血が行われた．

また，Hartshorne（1823-1897）については，阿知波[9] の「明治初期の日米医学交流について」に詳しい．米国フィラデルフィアのペンシルバニア大学で衛生学を最初に講じ，1893年にQuakerとして来日し，1897年に死亡するまで東京で暮らした．彼は，簡易医学書を書いた人として明治初期の日本で歓迎され，十種に近い訳本を出した．阿知波はHartshorneの没年を1886年としているが，NLM catalogによると1897年である．

以上のごとく，この時代の輸血に関する医書は翻訳書である．その記載内容も動物血の使用や使用量あるいは脱繊維素血を静脈へ輸血することなどを述べているが，輸血を禁止あるいは手技の難しさから緊急時を除き推奨していないような内容である．このような簡単な記述では実際に輸血を行うことは無理なことであったと思われる．

### 3-2．明治10年代

明治14（1881）年から16（1883）年に刊行された片山国嘉（1855-1931）の次の三つの著書にも輸血の記述がある．片山は明治21年に母校東京大学の教授に就任し，わが国最初の法医学講座を開講している．

まず最初の「輸血法論」（『弘医月報』に連載）［参5］の最初のページには輸血の歴史が記述され，次に打血（注：脱繊維素血）についての記載がある．血液は，「紅血球」が主成分であり，「打血」してもその能力は失われず，氷水中に浸し貯えれば四五日間保存できるが，52度以上に温めてはその生活力を失う．人から人への輸血は静脈血が便利であり，「硝子杆」を以ってこれを攪拌し，繊維素を去り後ちこれに酸素ガスを通すと動脈血になるが，凝固した繊維素が混入していると「エンホリー（血栓）」を起こす．さらに，輸血の適応の第一は大失血などの急性貧血であり，「輸入す可き血量は失血量に必適せざるも可なり，是れ動静脈管は共に縮張自在なれば常量［体重十三分の一］より多少増減するも害なければなり」とし，「健康なる人の血を取り之を用ふ健人に於ては仮令血を失ふも大害を見す（注：ず）」としている．人体は感覚過敏なので，「血液全量の十分の一，若しくは十分の二以内に止まる可し」という．しかも，輸血は中毒症にも適応で，この場合は刺絡（しらく．注：瀉血のこと）をして多量の毒血を除いた後に輸血を行うが，「百治効なきとき」において始めてこれを試用するとし，人の脈管中へ健康なる血液を注射すれば，大抵15分から30分後に発熱が起こるのが常であると述べている．

この「輸血法論」では，輸血の実際について，「イルリガートル」に似た器に血液を入れ，その器を高低適宜の位置に保持し，器中の血液自体の圧力によって，静脈若しくは動脈内に輸血する．注射器の使用については，1. 圧力を平等に保てず，2. 栓子に油するので，その油質血中に入って危害を来たす，3. 空気の挿入により肺毛細管に栓塞するの危ありとし，2は防げないから，適していないとしている．さらに，『華氏病理摘要』［参2］で紹介されたAvelingの血液注入器については，「直接に人より人に輸血するの法あり．是れ一種の管器を以て二者の脈管切端を互に吻接せしむるに由てす．此法尤（もっと）も便なるに似たりと雖も敢て否らす．凡そ血液は血管を離れて他器に抵触するときは，忽ち凝固するの性あるか故に甚しき危害を来たすものなり」と否定している．また，「動物血は供せざるを佳とす」とし，その理由として輸血血球の溶壊により，大害を招くからであり，さらに，米国における乳汁の動脈中輸注も紹介しているが，著者は危険とみて否定的である．

次の片山国嘉訳『軍陣外科手術』［参7］はFriedrich von Esmarch（1823-1908）の著書『Handbuch der Kriegschirurgischen Technik』の初版（1877年刊）を翻訳したもので，9葉の図とともに，輸血の手技を詳しく説明している．Esmarchはドイツの外科医で，彼の考案したエスマルヒ駆血帯は有名である．

本書では「第四章　輸血法　人より人に致す輸血法」として，まず，脱繊維素血の調製から始まる．調製法はFig. 3. の第二百九十九図から第三百一図とともに紹介されている．さらに備考として，得られた血液は，「密封し氷を以て之を掩ひ貯れは，二十四時間の長きも尚ほ能く貯ることを得へし，然れども輸血前にはこの器を温湯の中に入れ摂氏の三十六度に温め，数回酸素を流通飽和せしむることを必要とす」との記述もある．次にこれを患者の皮下静脈に輸血する方法も図入りで詳述されてい

Fig. 3. 脱繊維素血の調製法の図（国立国会図書館所蔵『軍陣外科手術』［参7］より）．
「即時に清浄なる硝子棒又は篦（へら），木片，硬固のゴム棒等を以て強く攪拌（かくはん）すること殆んと五分時間にして，先つ繊維素を除去す可し（第299図）」，そして「清浄の麻布にて濾過し，後ち復た一回強く之を攪攪（らんかく）し更に清浄緻密なる白絹を取り･･･濾過す可し（第300図及ひ301図）」と説明している．

る（Fig. 4.）.「注射管とこれに連結したるゴム管とは，先つ前以て繊維素を除去した血液か又は炭酸那篤倫（炭酸ナトリウム）の稀薄液（水百分に其0.3を溶解したるもの）或は食塩水（水百分に其0.5を溶解したるもの）を以て充満し，挾子（きょうし）にて閉塞す」．次いで脱線維素血を300-400g入れるが，輸血中に冷えないように，温湯を入れたゴム袋で容器を覆い手で保持する．輸血が終了したら石炭酸水で創所を洗浄し，充分防腐法を施して縫合する．また，注射器は「輸血法論」[参5]と同様の理由から適していないとしている．輸血用には，空気挿入を避けるための輸血装置（ウテルハルト氏輸血注射器，コルリン氏輸血注射器，ハッセ氏輸血注射器など）を紹介し，注射器の圧により「右心を過充」しないように，一分間に注入する血量は25gまでとし，最後に，空気竄入の危害を確実に避ける方法として「動脈輸血法」も紹介している．

なお，このEsmarchの Fig. 4. に示す第三百三図は，『外科通論（有松）』[参13]，『柴氏軍陣外科』[参14]，『外科総論（桂）』[参23]，『新纂外科総論（下平）』[参25] にも掲載されている．

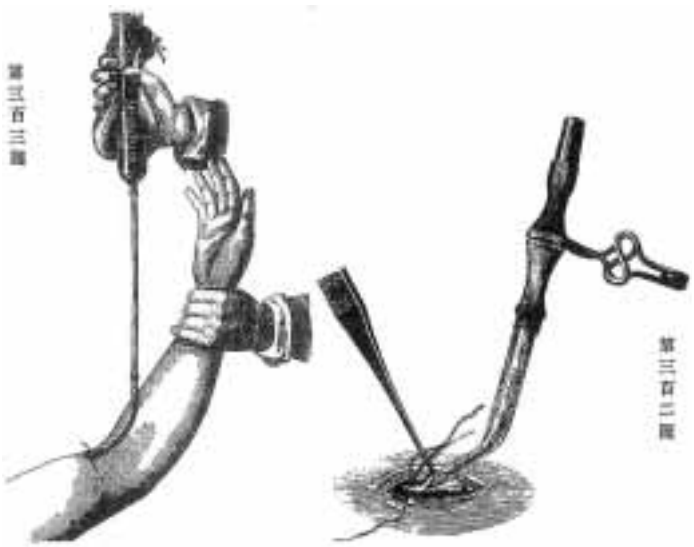



Fig. 4. 輸血の図（国立国会図書館所蔵『軍陣外科手術』[参7] より）．
「患者の輸血すへき部分の皮膚を切開し，皮下静脈を露出し･･･注射管を送入し第二の線を以て之を固結す（第302図）」，さらに「血液の冷ゆるを防ぐには，温湯を入れたるゴム嚢を以て此円筒の外壁を掩ひ（おおい）手にて其上を保持す可し（第303図）」との説明がある．

さらに三つ目の片山国嘉編『人工呼吸法』[参6] では，「附録」に輸血法および食塩溶液注射法が紹介されている．「大失血のために死地に陥る者は，単に赤血球の欠乏に因るに非ず，血液の頓に減少して脈管の容積に適する能はず」，それ故に「速に血量を増補し，脉管内容に適節せしめさる可らす．此に由て観れは大失血に起因する仮死者を済ふ方に，輸血及び食塩溶液注射の二法を措て他に求むる術なき」と記載し，輸血法に関しては，「実地に最も良きは人血」とし，もし動物血を用いるとすれば子羊血は「代償の効益」があるが，犬血は「人血球を壊滅する」ので「決して用ふべからす」と述べている．輸血に関しては以上の記載のみで，詳しいことは前二書を参照とし，0.6％の食塩溶液を少しアルカリ性にしたものを用いた食塩溶液注射法を詳しく紹介している．

その他，John L. Ludlow著，内務省衛生局訳『医学七科問答（産科学之部）』[参3] には，産後出血の章に「健康なる人の血液を取り其繊維素を去り之を患者の静脈に注入する」，三宅秀著『病理総論』[参4] には，貧血の章に「急性貧血を救ふに輸血法を用ひ」と，簡単な記載があった．

この時代になると，翻訳書の他に，日本人による輸血に関する記述のある著書も出されるようになった．輸血法については，適応症のほかに，脱繊維素血の製法や輸血法の実技がかなり詳細に紹介されるよになり，輸血副作用にも言及されている．さらに，食塩水の注射法の有用性なども記述されている．

### 3-3．明治20年代

明治20（1887）年代に入ると「輸血」の記載がある医書が増加する．

山田良叔訳『蘭氏生理学』[参8] は，Leonard Landois著『Textbook of human physiology』の訳本で，第87章に「輸血とは生活動物の血管内に他の血液を注入するの法なり」とあり，「赤血球は血液の最要なる成分にして，血液の回蘇力（かいそりょく）は専ら此成分に係るものなり」，しかも「鞭打（とうだ）して繊維素を除く後（の）ちにも能く其機能を保有するか如し」とあり，適応症は，急性貧血，酸化炭素中毒，赤血球減少症，悪性貧血，水血病，白血病等となっている．輸血後15分乃至30分を経て多少の反応熱を発することは常なりとし，方法として，脱繊維素血の輸血，直接輸血，そして腹腔内の注入について簡単な記載があるが，人類に動物血を注入することは「廃棄すへし」とある．最後に，貧血症の危急を救うために，0.6％食塩水或は血清を注入することも1行だけ書かれている．

われわれは第二版（明治22（1889）年刊）の訳本しかみていないが，訳者による「例言」には，これは原著第六版（1889年刊）の訳本で，明治20（1887）年刊の訳本初版は1887年刊の原著を訳したものであるという．

なお，Leonard Landois (1837-1902) は『Die Transfusion des Blutes』(Leipzig, Vogel) を1875年に刊行してる．彼の異種動物間輸血による血液の運命についての研究により，動物血の人間への輸血はほぼ世界的に放逐されたと考えられている．[10]

『外科通論』[参9] の著者芳賀栄次郎はスクリバのもとで学んでおり，緒言に「書中説く所多くはスクリバ氏「クリニック」に於て実験せる者に基き煩を芟（か）り要を攬（と）り専ら実用を肯とせり」とある．引用文献として12冊の外科関連の洋書が引用されており，Esmarchの『Handbuch der Kriegschirurgischen Technik』も入っている．

輸血の章は適応症の記載からはじまり，「（1）急性に血量を減耗せるとき，例之は急性出血等の如き者．（2）或る原因の為め血球の溶崩を来すとき，例之は大なる火傷，酸化炭素中毒又炭酸中毒，嗝囉仿謨（クロロホルム）中毒等に之を行ふ．（3）結核，白血病，敗血病等」としているが，輸血の乱用は

危険を招くとある．

輸血法には直達と介達の二法があり，直達（直接輸血）は血液が小管を通過するや速に凝固する性があり危険であり，介達が安全であるが，人血を動脈に注入するのは難しく，静脈を選ぶとし，繊維素を脱し，体温に温めた血液を静脈中に輸血するが，輸血法の術式として「カニユーレ」を静脈中に挿入する方法を記載している．動物血は「独り牝羊の血球は人類の血球に均きを以て供用し得可し，然れども一般人血の優れるに若かす」と記述している．さらに，輸血は「只流動体の量を補給するに止り･･･主として血圧低下の症に対て其効を奏する」ことから，血液に限らず「中和性液」でも奏功あるとしているが，乳汁は毛細血管中で凝固する恐れがあり，0.6％の食塩水が優れているとし，その注入法の術式は輸血法と同じであるという．

土肥慶蔵，高橋金一郎の『外科汎論』［参10］では「斯（輸血）法漸く衰へ，注液（輸液）法日に益々行はる」と述べ，輸血については「直接輸血法は危険にして漫りに行ひ難し，間接輸血法は更に分て静脈輸血法と動脈輸血法とす」としている．採血にあたり，まず「強健の人に刺絡を行ひ，其静脈より凡そ200瓦の血を摂取」し，その血液から「繊維素を去り」，一方，患者の「静脈を切開」して，血液の入った「注射器を上向し二三滴を排出せしめては器中の空気を絶ち」，輸血する．「過度充漲の兆あらば急に佗（ほか）の遠隔せる静脈に刺絡」し，「注入したる血液と同量を再ひ排泄すへし」と，極めて具体的に輸血の実施上の手技を述べている．さらに「動脈輸血は先ず毛細管を通過するが故に，恰も濾過の作用を受け且つ気胞竄入の患なし」と称している．それに対して，注液法は糖分を含める0.6％食塩水をアルカリ性となし，それを静脈に500-1500瓦注入するが，「其効輸血法に優ることあるも決して劣ることなし」としている．

中原恭弥の『医家宝典』［参11］の記載内容は芳賀の『外科通論』［参９］とよく似ている．

小林義直訳『人身生理学』［参12］は， Thomas H. Huxley の『Lessons in Elementary Physiology』の翻訳である．そこには「他人或は他犬の血液を取り其繊維質を去りて，之を静脈中に注射する･･･此手術は即ち已に久く輸血法Transfusionの名にて人の熟知せる療法なり」としている．動物血輸血に関しては「甚た善く相類せる種族の動物の血液は無害有効．甚た相違せる動物の血液は多少有害なり，加之或は頓死を生す」と記載されている．

有松戒三の『外科通論』［参13］では，「動物血液を輸入すれば大害ありて寸功なし」とし，「健康にして肥満せず且つ梅毒及び結核等に罹らざる者の血液を取り」，麻酔を施さず常に患者の状態を観察しつつ輸血をし，呼吸困難及び皮膚蒼白を現せば直に中止すると述べている．さらに直輸血，静脈輸血，動脈輸血，食塩水輸入法を簡単に記載し，静脈輸血では「患者の上膊静脈凡２乃至３糎（注：cm）顆出（かしゅつ）し」，「盪打血液200乃至300瓦を輸入」するとしている．一方，食塩水輸入については，「大出血後の死因は必ずしも赤血球の減少より起る酸素の欠耗ではなく，血管虚空となれば血圧沈降して血行停止するより来る故に，必ず輸血するを要せず．液体を輸入すれば血圧は上昇し，血管内の血液は自然流通する」とし，通常0.6％食塩水に糖３％乃至５％を加え，あるいは0.6％食塩水に0.1％炭酸ナトリウムを加え，輸入すると記述している．

足立寛訳『柴氏軍陣外科学』［参14］では，輸血は「極めて危術なるを以て全く之を廃すべし」と述べ，戦場においては血液を供給すべき人を得難き故に，輸血法に代わり，静脈注入法で失血の危急を救うことができるとし，食塩水静脈注入法の記載が主となっている．

宮入慶之助の『生理学講義』［参17］は「移血法，附注塩法」として，「大失血によりて死に瀕したる人，或は獣に，之を救はんか為に，他の獣の血液を取り来りて，（其繊維素を除きて後，之を）其動脈，若くは静脈内に注入」することを「移血法と云う」と述べ，「打ちたる血液（注：脱繊維素血）」の調製法については別項に記述している．さらに，動物血輸血は属が同じなら害なし，属を異にするは忽ちにして新入の血球は分解し，血尿が出て，呼吸困難を起こす．また，血管系統内の血量が足らないと，血圧が降下するので，その時は「四分三％食塩溶液」を以て，血液に代へて注塩法を行うとしているが，この「四分三％食塩溶液」は明治45年刊の第八版では「0.9％食塩溶液」に代わっている．

そして明治28（1895）年には岡田和一郎，田代義徳訳『外科手術関鍵』［参16］が出版されるが，これは Esmarch の『Handbuch der Kriegschirurgischen Technik』の第三版（1885年刊）の翻訳である．輸血の章は原著，訳本とも初版とは全く異なり，「供血者を求むること甚だ難しく，異種の血液は血球を融解する．方今（ほうこん．注：今日）に在ては諸般の輸血法一も賞用すべきものなし」と，簡単な否定的記載のみである．その後に食塩溶液注入に関する記載があり，初版と同じものは二葉にすぎず，食塩溶液注入法の説明に使用されている．

Esmarchのもう一つの訳本，高橋金一郎訳『エスマルヒ外科手術書精華』（1894-1895年刊）[11] の訳者序文には「吾は原書中最必要の部分のみを抄訳し･･･訳する所は本年出版即ち最新版」とあるが，輸血・輸液に関する記載はない．

以上述べてきたごとく，明治10年代後半から20年代にかけて，人から人への輸血の手技を具体的に非常に詳しく記載した「輸血法論」［参５］，『軍陣外科手術』［参７］，あるいは『外科汎論（土肥・高橋）』［参10］などの医書があり，医学的な知識がある者であれば輸血が可能と思われる程である．そして，桐原[2] は「明治22，23年頃に輸血を行はれたことがあると云はれている」というが，この可能性は十分考えられることと思われる．一方，「輸血法論」［参５］の著者である片山は，輸血量に関して，海外のデータによると，動物では常量より多量（100分の83）の血液を注入しても「害なかりと云ふ」がそれを信ぜず，「余は他日之を動物に実試し以て其可否を判定し之を諸君に報告する」とある．その報告書は今回も見出し得なかったが，動物実験を行っていたことが十分に推測される．これらの記述は，日本で人から人への輸血が実際に行われていたことを強く示唆するものと考えられる．

明治20年代前半には，輸血のみならず食塩水注入法を用いることを推奨している記述も加わってくる．そしてその後，明治20年代後半以後になると，明らかに輸血法に関する記述は少なくなり，食塩水注入法が主となる．このことはEsmarchの著書においても同様で，西洋と日本の連動した動きとも考えられる．

### 3-4．明治30年以後

明治30年刊の入沢達吉，宮島満治，田代義徳共訳『医療筌蹄』［参18］の「輸血法」の章には，「急性貧血及び出血危険に際して攪雑せし血液（注：脱線維素血），血清，食塩水，乳汁等を静脈内に輸送するの法は，漸（ようや）く退歩するに至れり，動物血は久しく不適当なるものとして認識せられたり．方今如比き目的には新鮮なる血液の静脈内注射或は食塩溶液（又は血液）の皮下注射を用ゆ」とし，注射器を用いた輸血法が紹介され，注入部の皮膚の切開は不要と記述されている．

明治35年刊の田村光顕，岡隆太郎の『袖珍外科医典』［参20］では，「輸血法は大出血後に来る続発症の療法にして，古来多く用ひられたるも，其結果良好ならざるを近来殆んど廃棄せらるるに至り，現今用ひらるるは之に類属せる食塩液の輸入に過ぎず」，また，「輸血法は如何なる法に由て用いるも，有害無効の手術」と記載されている．その一方で，静脈内輸血法，動脈内輸血法，直達輸血法について紹介し，ここでは未だ皮膚を切開し，静脈を露出する術式を用いるとしている．

桂秀馬の『外科総論』［参23］でも，輸血は「種々の害あるを以て近代に至り漸く廃れ，食塩水を静脈内若くは皮下に注入する法起れり」とし，「失血の危機は血液の減量即赤血球の減少に因りて酸素摂取の能力衰退し以て窒息を来すが為に非ずして，血管の容積と其内容との比例当を得さるにあり」と言うことから，「血液を要せす」としながらも，「中毒は血球より其酸素摂取の能力を奪ふので此能力を有する物を移入せさる可からす」と記述している．しかも，食塩水は「大失血には功を奏するに如かさるなり」と，「輸血法を行ふに至るまて一時の救急法として用う可きのみ決して血液の代用を為さす」とも述べている．

さらに，「単に繊維を脱したる血液」では，赤血球は崩壊して，「血中に溶解したる血色素は白血球を崩壊せしめて･･･大凝血を起す（所謂醗酵素中毒）」が，「初めより血液を凝固せしめ即ち繊維を発生せしめさるときは，此禍を被ることなし」としている．そして，1-2％蓚酸曹達溶液を加える，あるいは水蛭口内腺の分泌物が有効なことを紹介している．これらに関しては「後年を俟つて初て是非を判す可し」と述べている．その後に，脱繊維素血を用いた間接輸血法を詳しく記載し，「デムメ*Demme*は静脈を切開せず，単に之を怒張せしめ，套管針を以て皮膚の上より穿刺することを唱道」と紹介している．「皮膚の上より静脈に的中すること難く，危険大なり」という．一方，食塩水輸入法は「輸血法と異ならず」と簡単に述べているのみである．

明治40年になると渡辺房吉の『食塩水注入療法』［参28］が刊行される．この「輸血法と食塩水注入法」の章には，輸血の歴史から始まり，動物血輸血法の危険性の故にそれを用いるべきでないとし，現在の異型不適合血輸血による溶血の詳しい臨床症状の例を挙げている．

人血輸血法においても「輸入すべき血液は勿論繊維素を濾過し去るべきものなれども」，異型不適合血輸血による溶血の症状を起こすことが稀ではないため，「之（脱繊維素血）を使用するに就ては，臨床家の大いに躊躇するところなり」として，食塩水注入法を推奨し，それが無効な場合，輸血法を施すことを提唱している．また，Landoisの「古来輸血法の優れるを主張し，食塩水注入は断じて之に匹敵すべきにあらず」という意見も紹介している．

さらに，食塩水の濃度については，生理的食塩水は0.9％内外なので，Landoisは「若し注入するならば必ず0.9％（注：生理食塩の濃度）ならざるべからず」といっているが，「然れども古来治療用に供せられ，今も尚ほ使用せられつつあるは，多くは0.6乃至0.75％なりとす･･･却て吸収せられ易き長所ありて，又さまで害とすべき所もなく，却て0.9％の溶液よりも寧ろ適当なるが如し」と述べている．しかし，アルカリ性溶液は危険であり，もし他薬を混ぜるとすれば，3-3.5％の糖を加えた食塩水などがあるが，「吾人は通常単に他の薬品を配合せざる0.6乃至0.7％の食塩水を使用するを例とせり」と記載している．

一方，明治41年に至っても輸血法を詳しく記述した医書もある．篠原昌治，久賀六郎による『近世診療技術』［参30］の内容は『医療筌蹄』［参18］とよく似ている．「輸血法は急性，慢性あるいは進行性貧血において，生命に危険なる症状を来すときに通用する」とし，静脈内輸血法と皮下輸血法に分け，詳しく記述している．しかし，「動物血輸送法は久しく不適当なるもの」と簡単に1行の記載のみである．輸血法については，「静脈内輸血法は新鮮なる血液を給血者の腕より受血者の腕に輸送するものにして其簡便なると無危険なるとに於て他法に優れりとす」としている．三個の注射器を用い，供血者及び受血者とも，膊静脈を刺絡繃帯（ほうたい）で鬱血（うっけつ）させ，皮膚表面から管針を静脈内に入れて行う方法が詳しく記載されている．「血液凝固又は静脈損傷等を来たせる際」のことを考慮し，第二の供血者を準備しておく．「血液を充満せる注射器を･･･平等なる速力を以って其内容を噴出せしむ」ことにより，200-300cm$^3$の血液を15-20分で輸送することができ，容易に輸血ができることから，注入部の皮膚の切開は不要であるとしている．食塩水注入法については輸血法の前章に独立して「輸液法」の章があり，「血清中塩類の濃度は0.9％の食塩水に相当す，然れども古来治療上生理食塩水として用ゆるものは0.6-0.8％なり」と記載している．

このように，明治30年以後になると輸血を完全に否定する医書も出てくる．その結果，『新纂外科総論』［参25］に述べられているごとく，「輸血法は危険な手術として殆んど廃棄せられたり」となってしまう．『近世外科総論』［参31］に述べられているが「完全な防腐法の下に施行するに係はらず戦慄及び発熱を発起し，且つ又往々重篤の全身症状を招き致死的転帰を取る」ことがあるからであろう．

Table 2. 引用文献よりみた明治時代における輸血の変遷

| No. | 書名，著者・訳者 | 出版年（明治） | 輸血等の記述章名と頁数 | その内，血液代替物関連の記述，頁数等 | 動物血 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | **弗氏生理書** 坪井，小林訳 | 8 | 輸血法：3頁 | × | × |
| 2 | **華氏病理摘要** 長谷川訳 | 8 | 血液注入法：8頁 | × | 通常羊仔の動脈血を用ふ |
| 3 | **医学七科問答** 内務省衛生局訳 | 12 | 産後出血：4行 | × | × |
| 4 | **病理総論** 三宅 | 14 | 第二貧血［療法］：1行 | × | × |
| 5 | **輸血法論・弘医月報** 片山 | 14－15 | 14頁 | 乳汁：1.5頁 | 大害を招く |
| 6 | **人工呼吸法** 片山 | 15 | 其一輸血法：3頁，<br>其二食塩溶液注射法：7頁 | アルカリ性0.6%食塩水 | 子羊血代償の効益あり，犬は危害あり |
| 7 | **軍陣外科手術** 片山訳 | 16 | 輸血法：9頁 | 乳汁輸送法，水輸送法の術式：1行のみ | × |
| 8 | **蘭氏生理学上** 二版 山田訳 | 22 | 第87章 輸血：2.5頁 | 0.6%食塩水：1行のみ | 廃棄すへし |
| 9 | **外科通論** 芳賀 | 23 | 輸血法，輸液法：5頁 | 0.6%食塩水．乳汁は毛細管中に於て凝固する恐れ：1頁 | 一般人血が優れている |
| 10 | **外科汎論** 土肥，高橋 | 23 | 輸血法：8頁，注液法：2頁 | 糖加アルカリ性0.6%食塩水 | 血の必す人類より採らさるへからさる |
| 11 | **医家宝典** 中原 | 24 | 輸血法：4頁，輸液法：0.5頁 | 0.6%食塩水．乳汁は毛細管内に於て凝固する恐れ | 動物血代用は賞用せず |
| 12 | **人身生理学** 小林訳 | 24 | 血液及ひ淋巴（19）輸血法：1頁 | × | 善く相類せる種族の動物の血液は代用可 |
| 13 | **外科通論** 有松 | 25 | 輸血及食塩水輸入：3頁 | 糖加アルカリ性0.6%食塩水．其他アルカリ性乳汁輸入，血液の腹腔若くば結締織内注入，等あれども行はず：7行 | 大害ありて寸効なし |
| 14 | **柴氏軍陣外科学** 足立訳 | 27 | 補血法則輸血法及注入法：5頁 | アルカリ性0.6%食塩水の静脈注入法：3頁 | × |
| 15 | **外科学講本** 佐藤，谷 | 27 | 輸血法及注入法：1頁 | アルカリ性0.6%食塩溶液：3行 | × |
| 16 | **外科手術関鍵** 岡田，田代訳 | 28 | 輸血法：5頁 | 0.7%食塩溶液：3頁 | 全く廃棄するを良とす |
| 17 | **生理学講義** 宮入 | 28 | 移血法，附注塩法：2頁，室内の最高圧（瀉血及移血の際）：1頁 | 四分の三%食塩溶液：1頁<br>［第8版（明治45年刊）では0.9%］ | 属が同じなら害なし，属を異にする血球は分解 |
| 18 | **医療筌蹄** 入沢等訳 | 30 | 輸血法：5頁，輸液法：4.5頁 | 生理的食塩溶液（0.6%） | × |
| 19 | **ルンゲ氏産科学** 水原訳 | 30 | 急性貧血ノ現象及ヒ療法：1頁 | 生理的食塩溶液（0.6%）：1頁 | × |
| 20 | **袖珍外科医典** 田村，岡 | 35 | 輸血法（血液，食塩液，乳汁等ノ輸注法）：8頁 | アルカリ性0.7%食塩液注入法：1.5頁，乳汁注入法：0.5頁，酸性乳汁は危険，アルカリ性乳汁は危害を認めず | 其非なること論を俟たず |
| 21 | **病理通論** 増訂8版 山田 | 35－36 | 上巻出血：1行，下巻全身貧血：2行（輸血法） | 食塩水注入 | × |
| 22 | **応用肺結核療法** 竹中 | 36 | 輸血療法：2行 | × | 所謂好奇療法に属す |
| 23 | **外科総論** 増訂10版 桂 | 36 | 移血法：14頁 | アルカリ性0.6%食塩水：7頁 | 大害あり断して不可なり |
| 24 | **臨床医典** 増訂15版 筒井 | 37 | 輸血法及食塩注入法：5行 | 0.6－0.7%食塩液：3行 | × |
| 25 | **新纂外科総論** 下平 | 39 | 輸血法－食塩水輸入法：9頁 | 糖加アルカリ性0.7%食塩水：6頁 | 方今之を行ふこと無し |
| 26 | **簡明外科汎論** 川村 | 39 | 輸血法：1頁，食塩水輸入法，食塩水皮下注入法：1頁 | アルカリ性0.6%食塩水 | × |
| 27 | **医師之権利義務** 市村 | 39 | 移血法植皮法：2頁 | × | × |
| 28 | **食塩水注入療法** 渡辺 | 40 | 輸血法と食塩水注入法：5頁 | ［全編（58頁）にわたり食塩水注入法に関する記載］ | 用ふべからざる |
| 29 | **身心修養長命術** 杉谷訳 | 40 | 刺胳法と移血法：2頁 | × | 良成績を得たることあり |
| 30 | **近世診療技術** 篠原，久賀 | 41 | 輸液法：11頁，輸血法：7頁 | 皮下輸液法：9頁，<br>静脈内0.6－0.8%食塩水注入法：2頁 | 不適当（1行のみ） |
| 31 | **近世外科総論** 山村訳 | 41 | 輸血法：3頁，食塩水輸入法：3頁 | 0.9%食塩溶液 | 人血に比し一層危険 |

×： 記載なし．

山極勝三郎の『病理総論講義』（明治28年刊）[12] では，「出血の量体重の三分一に達するときは，通例致死の原因をなす，而して近者，食塩溶液の血管注入によりて，往々（出血の為め）瀕死の患者を救助することを得」とある．明治30年頃以後，このような輸血には触れず食塩水注入のみを記述するいくつかの医書が存在する．

最後に，明治39年刊の法律の本にも「輸血」は登場する．市村光恵の『医師之権利義務』［参27］という法律書である．この書はTransfusionを「移血法」と訳しているが，「移血法　植皮法」において医師は「血を取られる者」にその危険性などに関する説明をし，承諾をとる必要性があることが記述されている．

このように明治時代の輸血に関する認識の時代的な経緯を見ていくと，Table 2. に示すように，動物血の使用に対しては，明治初期の頃は羊の血液を許容しているものもあるが，否定的な見解が一般的である．さらに，明治10年代には直接輸血が紹介されたが，凝固の問題から否定された．その後，多くの医書には，健康人の静脈から採血し，脱繊維素血を調製し，患者の静脈への間接輸血が推奨されている．

しかし，このような人から人への輸血も，当時の血液型の知識のない時代の輸血では，その効能効果は知られていたとしても，輸血された血球は溶血によりすぐに崩壊し組織への酸素供給という働きはしておらず，また致死的な重篤な副作用をもたらすこともあったであろう．それ故に，たとえ人への輸血が実施されたとしてもごく少数例であり，しかも重大な副作用を惹起したとすれば，報告するのをためらわせ，現在まで当時の人への輸血実施例の報告を見出せない理由であるとも考えられる．このようなことから，副作用も少なく，簡単で，より安全な食塩水輸注が主として血液の代替物として行われるようになったと思われる．

明治時代の医書に見られる食塩水等の血液代替物についてみると（Table 2.），明治22年刊の『蘭氏生理学』［参８］には，血液の性質として，亜爾加理（アルカリ）性液であり，塩類の量は「0.85布仙（注：%）」，全血液量は体重の13分の1であることなどが記載されている．食塩水は当初濃度が0.6%で，アルカリ性に調製したものが多く，0.9%を使用するようになったのは明治の終わり頃と思われる．もうひとつの代替物，乳汁も明治10年代には登場しているが（「輸血法論」13号［参５］），これは毛細管内で凝固する恐れを『外科通論（芳賀）』［参９］，『医家宝典（中原）』［参11］が指摘しており，受け入れられなかった（『外科通論（有松）』［参13］）．このような経緯をみると，食塩水の輸注法は，血液代替物の開発・使用の始まりとも考えられる．

今回参照した文献の中では，「輸血法」という言葉以外に，「血液注入法」,「移血法」などの用語が用いられている．明治８(1875)年に出版された『弗氏生理書』［参1］ではすでに「輸血」,「輸血法」という単語が使用されており，同年出版の『華氏病理摘要』［参２］では，「静脈より静脈に直接に輸血するの法」として一ヵ所に輸血という単語が使用されている．それ以前の江戸時代には「輸血」に関する記述のある書籍として文政２(1819) 年刊『瘍科精選圖解』[13]（Lorenz Heister著 『Chirurgie』の図とその説明を訳した本[8,14]）と安政４（1857）年刊『扶氏経験遺訓』[15]（Christoph Wilhelm H. Hufeland著『Enchiridion medicum oder Anleitung zur medicinischen Praxis, Vermächtniss einer 50 jähringen Erfakrung』の訳本）があるものの，いずれも「輸血」という単語は用いられていない．後者には「他人の静脈或は動脈より血を転輸せしして」という文章が出てくる．ここから「輸血」という言葉が生まれたのではないかと考えられる．

## ４．まとめ

今回渉猟した明治時代の多数の医書中の輸血に関する記載は，外国の医書からの引用が多いものの，一部の医書にみられる輸血についての具体的かつ詳細な記述からして，日本でも実際に輸血が行われていた可能性は非常に高いと思われる．しかし，輸血に伴う重大な副作用の発生や手技上の煩雑さもあって，例え実施されたとしても当然症例数は少なく，また失敗例の方が多かった，あるいは 殆ど総て失敗したために，自験例の開示を見送ったのではないかと考えられる．さらに，欧米での輸血法に関する記載の衰退とも重なり，わが国でも輸血は次第に顧みられなくなり，血液の代替物としてより安全な食塩水の使用が盛んに行われるようになっていった．このような輸血の空白期間の後に，第一次世界大戦後のわが国での相次ぐ輸血の成功例の報告に結びつくことになったというのが，この時代の輸血の歴史的経緯であったと考えられる．

## 謝辞

本論文について，貴重なご助言を頂いたPaul J. Schmidt先生に深謝申し上げる．

## 参考文献

1. 広瀬信善．輸血法（第４版）．東京：金原商店, 1931.
2. 桐原眞一．（宿題報告）輸血．日本外科学会雑誌　1931; 32 (4): 501-569.
3. 飯島博．赤い構図．東京：春秋社，1960.
4. 飯島博．本邦に於ける輸血の現況並に空襲下の輸血対策．日本医事新報　1941; 1000: 4292-4296.
5. 後藤七郎．追加．日本外科学会雑誌　1919; 20: 235-236.（注: 文献６への「追加」報告）
6. 塩田広重. 子宮筋腫ニ因スル高度ノ貧血患者ニジャンブロー氏輸血法ヲ施行シ好結果ヲ得シ一例ノ供覧. 日本外科学会雑誌　1919; 20: 234-235.
7. 山崎佐．温故知新医事談叢．東京：日本臨牀社東京支局，1948.
8. Singer C, Underwood EA. A short history of medicine (2nd Ed). Oxford: Oxford University Press, 1962, p.699.
9. 阿知波五郎．明治初期の日米医学交流について．日本医事新報　1965; 2174: 43-46.
10. 柴田昭監訳．ウイントローブ血液学の源流．新潟：西村書

店，1982.
11. 高橋金一郎訳．エスマルヒ外科手術書精華．東京：国文社，1894-1895.
12. 山極勝三郎．病理総論講義．東京：半田屋医籍，1895.
13. 越村徳基訳．牧墨仙画．瘍科精選圖解．名古屋：永楽屋東四郎，1819［序による］.
14. 松田利夫，Schmidt PJ．日本における西洋医学の移入と刺絡，そして輸血へ．刺絡　2010; 13: 20-30.
15. 緒方洪庵訳．扶氏経験遺訓．大阪：秋田屋太右衛門，1857.

総　説

# ヒト多能性幹細胞を用いた血小板再生

# Generation of functional platelets from human pluripotent stem cells

中村 壮，高山 直也，江藤 浩之

**So Nakamura, Naoya Takayama, Koji Eto**

和文抄録

ヒト多能性幹細胞は試験管内で無限に増殖可能であることから細胞療法の有益なソースとして期待されている．特に自己の体細胞を初期化することで誘導する，誘導型多能性幹細胞（Induced Pluripotent Stem Cell；iPSC）は，移植時に拒絶を受けないことや，ヒト胚性幹細胞樹立時に議論される倫理面の問題がないことから，iPS細胞を用いた再生医療の研究が加速している．最近，筆者らはヒトiPS細胞から生体内で血栓形成能を保持する血小板誘導に成功した．一方，筆者らを含め，多くの研究では医療へ応用できるレベルの細胞をヒト多能性幹細胞から直接誘導することは効率面から非常に困難であることが分かってきた．この解決策として，筆者らは目的分化細胞あるいはその前駆細胞段階での細胞不死化技術の可能性を提示する．本稿では，ヒト多能性幹細胞を用いた不死化巨核球細胞株由来血小板産生システムの将来性について概説したい．

Abstract

Human pluripotent stem cells are capable of proliferating infinitely in vitro and are a promising source for cell therapies. Of note, human induced pluripotent stem cells (iPSCs), which can be generated from self-somatic cells by defined factors, are an attractive tool towards clinical application because of avoiding ethical problems and immunological rejection. We have previously demonstrated that human iPSC-derived platelets contribute to form thrombi in immune-deficient mice after transfusion. However there have been unresolved issues including insufficient number of platelets obtained from standard in vitro culture dishes thus far. To achieve the constant supply of huge amount of platelets with a given quality, we herein propose the novel system of platelet production system using a cryopreserved megakaryocyte progenitor cells which show the "self-replication" capability.

Keywords

Human iPSCs, iPS-Sac, Megakaryocyte, Platelet, c-MYC

## 1．はじめに

善意の供給に支えられた献血システムは，多くの病気や病態の改善に寄与している．しかし，近年，若者を中心とする献血者の減少，ウイルス感染症に汚染された献血者の増加により，献血医療の将来性への懸念が広がっている（Fig. 1）．さらに血小板製剤は，血小板機能を保持する為に20～24℃で振とうしながら保存する．このため，室温保存によるバクテリアの繁殖を回避するため我が国では，血小板製剤の使用可能期間を4日以内と厳密に義務づけられている．したがって，需要と供給のバランスが一致せず，献血に代わる輸血ソースを開発する研究も推進されてきた．

臍帯血や骨髄血に含まれる造血幹細胞をソースとして血小板を体外で産生させる試みでは，機能的な血小板産生が確認されたが[(1)]，造血幹細胞自体の対外増幅法が確立されていないため，安定供給には不向きである．

一方で多能性幹細胞である胚性幹（ES）細胞や誘導型多能性幹（iPS）細胞[(2)]は試験管内で半永久的に増殖可能であり，血小板を含む血液細胞のソースとしては魅力的である．血小板は無核の細胞であり，さらに輸血前にフィルターによる有核細胞の除去や放射線照射[(3)]を併用する事で，安全性の確保が容易である．以上の背景から，筆者らはヒトiPS細胞を用いた血小板製剤作成に着手した．

京都大学iPS細胞研究所（CiRA）臨床応用部門　〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院河原町53　Center for iPS Cell Research and Application (CiRA) Kyoto University 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8507, Japan

論文受付 2011年3月1日　論文受理 2012年3月9日

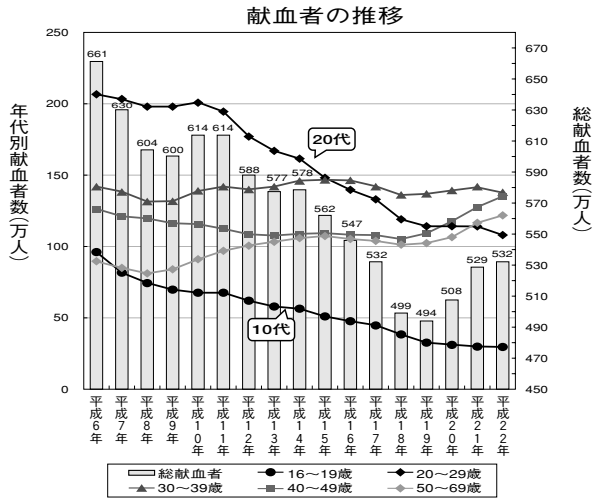



Fig. 1. 厚生労働省調査に基づくわが国における献血者の推移（2012年度厚生労働省ホームページより）

## 2．ヒトiPS細胞を用いる利点

血小板輸血後に血小板数が二回連続して増加しない状態を血小板輸血不応（platelet transfusion refractoriness : PTR）と定義される．PTRの原因は，非免疫学的機序（発熱，感染症，脾腫等）と免疫学的機序（多くは血小板膜表面上に発現する同種HLA〔human leukocyte antigen〕に対する抗体による破壊）に大別される．非免疫学的機序は原疾患の治療により改善が見込めるものも多いが，抗HLA抗体によるPTRの患者にはHLA適合血小板輸血が必須となる．HLA適合血小板は，日赤がドナー登録者の中からHLAの適合するドナーに献血を要請し，用事調整するため，安定的な確保が極めて困難である．

近年確立された体細胞を初期化する革命的な技術であるヒトiPS細胞の樹立により，この問題点への解決策が示された．

様々なHLAを持つiPS細胞をバンク化する事で，HLA適合血小板を安定して供給するシステムが構築可能である（Fig. 2）．

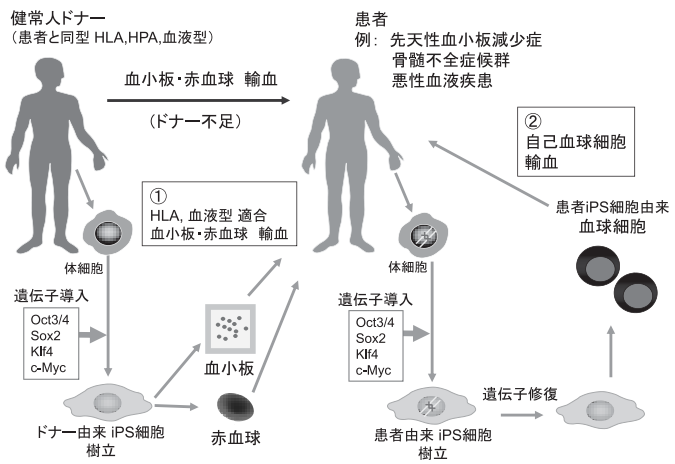



Fig. 2. iPS細胞を用いた新しい輸血システム

さらにこのシステムは赤血球を含む他の血液細胞供給も可能である．

## 3．ヒトiPS細胞からのiPS-sacの誘導

筆者らはこれまでに様々なサイトカイン，フィーダー細胞の組み合わせを検討し，世界で初めてヒトES細胞から機能を有する血小板の誘導に成功している[4]．

この培養系では，血管内皮増殖因子（VEGF）存在下で，C3Hマウスの全胎仔由来の細胞株10T1/2細胞と共培養を14日間続けることで，内皮細胞由来の多胞性の嚢状構造体（ESC-derived sac like strycture;ES-Sac）が誘導され，内部には多分化能を持つ造血前駆細胞が確認できる．ES-Sac内の造血前駆細胞を新たな10T1/2細胞に播き直し，SCF，TPO，ヘパリン存在化で培養したところ培養26日前後に大型，多核の巨核球の増殖が観察でき，培養上清には血小板が観察された．この培養系を用いて皮膚線維芽細胞由来iPS細胞から血小板に分化誘導を試みたところ，培養14日前後にiPS-sac及び造血前駆細胞が誘導され，培養26日前後には巨核球，血小板が観察された．

産生された血小板の生体内での機能を確認するために，東京大学医学部循環器内科の西村智先生との共同研究により，高速撮影可能な共焦点顕微鏡[5]を用いてin vivoでの血栓形成を観察した．この系では，プロトポルフィリンを投与後，アルゴンレーザーを照射することで，ROS（Reactive Oxygen Spiecies）産生を介して，部位特異的に血管内皮に障害を与えることが可能である．

TMRE（テトラメチルローダミンエチルエステル；赤色色素）で染色したヒトiPS細胞由来血小板を尾静脈から免疫不全マウスに輸血したところ，血管内皮正常部位では血栓を作らず循環することが観察された．一方，血管内皮障害部位では，ヒトiPS細胞由来血小板が粘着し，ホスト由来の血小板とともに血栓を形成することが確認された（Fig. 3）．以上からヒトiPS細胞由来血小板は正常な血栓形成能を保持することが確認された[6]．

## 4．ヒトiPS細胞から血小板誘導システムの課題

ヒトiPS細胞から誘導された血小板は，将来の医療への応用の可能性が示唆された．

しかし，現システムの課題点として，①医療目的で用いるためには，目的の細胞への分化誘導効率が低い，②最終産物への誘導期間が長い（1ヶ月前後）といった問題点が挙げられる．

以上の問題点への解決策として筆者らは，血小板の直前の前駆細胞である巨核球の不死化技術確立を目指している．

iPS細胞から誘導した造血前駆細胞を遺伝子制御する事で不死化巨核球株を作製し，各HLA毎にバンク化することで，HLA適合血小板製剤を効率よく，短期間で作製可能になることが期待される．

## 5．不死化巨核球株作製の手がかり；c-MYC発現量による巨核球増殖，成熟の運命決定

不死化巨核球を作製する手掛かりとして，筆者らは巨核球におけるc-MYCの役割に着目した．レトロウイルスベクターを用

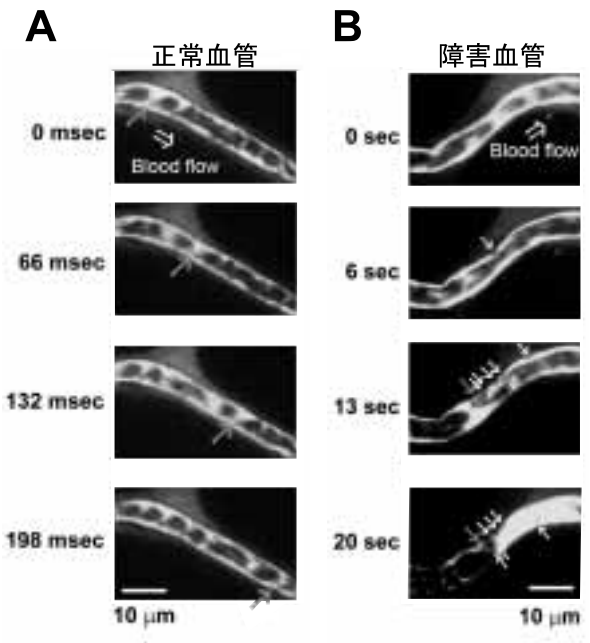



Fig. 3. ヒトiPS細胞由来血小板のマウス生体内での血栓形成
高速撮影可能な共焦点顕微鏡を用いて，マウス体内での血栓形成を観察した．ヒトiPS細胞由来血小板をTMRE染色し，NOGマウスの尾静脈より輸血した．正常血管では異常な血栓は確認されなかった（A）．一方ヘマトポルフィリン投与後，Arレーザー照射により，血管内皮に障害を与えた部位では，ヒトiPS細胞由来血小板（赤色）が障害血管壁に粘着し，ホスト由来血小板（黒色）とともに血栓を形成することが確認できた（B）．
（東京大学循環器内科　西村智先生　御提供）

いて4因子（OCT3/4，SOX2，KLF4，c-MYC）及び，3因子（c-MYCを除く）を導入することで作製した皮膚細胞由来iPS細胞の複数のクローンを巨核球に分化誘導したところc-MYCを含む4因子で作成されたiPS細胞では，3因子iPS細胞やES細胞と比較し，巨核球数が増加していた．遺伝子発現解析の結果，未分化状態では多能性幹細胞特有の外来性遺伝子抑制機構（サイレンシング）により発現が抑えられていた外来性のc-MYCの発現が，巨核球分化に伴い再活性化していることが確認された．さらに詳細に解析を進めると4因子iPS細胞間でも血小板の産生効率は異なっていた．いずれのクローンも巨核球前駆細胞の段階では外因性c-MYCの再活性化により未熟な巨核球が増殖するが，その後c-MYCの発現様式により巨核球の成熟度が影響を受けていた[6]．

つまり過剰なc-MYCの発現が維持されたクローンでは，巨核球成熟に必須であるGATA1の発現が抑えられ，成熟過程に入らず，さらに細胞老化／死が誘導される．一方，血小板放出の良いクローンは，一過性にc-MYCが再活性化するが，その後発現が低下し，それに伴ってGATA1，NFE2などの血小板放出に必須の転写因子群の発現が上昇し，成熟巨核球になると考えられる．以上から筆者らは，c-MYCによる巨核球成熟モデルを提唱した（Fig. 4）[6]．

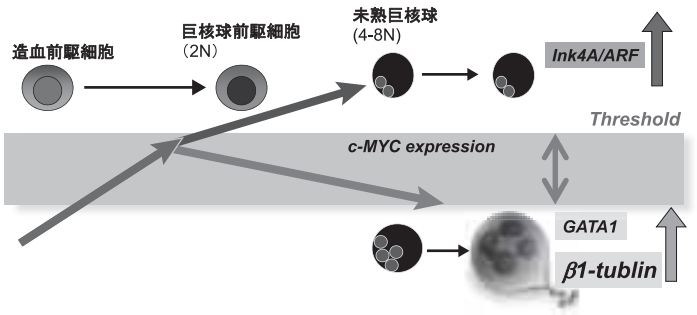



Fig. 4. c-MYCによる巨核球成熟モデル
c-MYCが増加することで，巨核球前駆細胞が増加する．その後c-MYCが上昇し続けると，INK4A/ARFの発現を上げ，未熟な段階で巨核球の老化/死を誘導する．一方，c-MYCが低下することで，GATA1，β1-tubulinの発現が上昇し，成熟過程に入る．効率よい血小板産生にはc-MYCの一過性の増加とその後の低下が必須である．

これらの知見を基に，筆者らは不死化巨核球株の樹立に成功した（Nakamura et al., ASH,abstract, 2011）．この細胞株は凍結による長期保存後も，安定して増殖可能であり，一定品質の血小板供給の新しいモデルになる可能性を呈示している．

## 6．おわりに

多能性幹細胞は無限に増殖可能である一方で，現段階では目的細胞への誘導効率は低い．筆者らが提示する目的分化細胞あるいはその前駆細胞段階での細胞不死化技術は，再生医療実現に向けた，新たな選択肢として注目を集めている．

様々なHLAのiPS細胞から不死化巨核球株を作成し巨核球細胞株をバンク化する事で，各種HLAに対応した血小板製剤を安定的に提供できるかもしれない．今後は，臨床への還元が私たちの命題である．

## 参考文献

1. Tao H, Gaudry L, Rice A, Chong B. Cord blood is better than bone marrow for generating megakaryocytic progenitor cells. Exp Hematol. 1999; 27: 293-301.
2. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007; 131: 861-72.
3. van der Meer PF, Pietersz RN. Gamma irradiation does not affect 7-day storage of platelet concentrates. Vox Sang. 2005; 89: 97-9.
4. Takayama N, Nishikii H, Usui J, Tsukui H, Sawaguchi A, Hiroyama T, Eto K, Nakauchi H. Generation of functional platelets from human embryonic stem cells in vitro via ES-sacs, VEGF-promoted structures that concentrate hematopoietic progenitors. Blood. 2008; 111: 5298-306.
5. Takizawa H, Nishimura S, Takayama N, Oda A, Nishikii H,

Morita Y, Kakinuma S, Yamazaki S, Okamura S, Tamura N, Goto S, Sawaguchi A, Manabe I, Takatsu K, Nakauchi H, Takai S, Eto K. Lnk regulates integrin alphaIIbbeta3 outside-in signaling in mouse platelets, leading to stabilization of thrombus development in vivo. J Clin Invest. 2010; 120: 179-90.

6 . Takayama N, Nishimura S, Nakamura S, Shimizu T, Ohnishi R, Endo H, et al. Transient activation of c-MYC expression is critical for efficient platelet generation from human induced pluripotent stem cells. J Exp Med. 2010; 207: 2817-30.

二次投稿論文

# ヘモグロビンを小胞体に内包することによりガス透過性細管内を流動するときNO-，CO-結合，$O_2$-放出が遅延される

# Hemoglobin encapsulation in vesicles retards NO- and CO-binding and $O_2$-release when perfused through narrow gas-permeable tubes

酒井宏水[1,2*]，奥田直人[3]，佐藤敦[3]，山上達也[4]，武岡真司[2,3]，土田英俊[1]
Hiromi Sakai[1,2*], Naoto Okuda[3], Atsushi Sato[3], Tatsuya Yamaue[4], Shinji Takeoka[2,3], and Eishun Tsuchida[1]

## 要　旨

非細胞型のHb溶液は投与に際し血管収縮を引き起す事が知られているが，これは血管弛緩因子であるNOやCOを捕捉すること，また酸素を速やかに放出するために，血管の自動調節機能が働くためと考えられている。そこでこれらガス反応の詳細を調べるため，ガス透過性のある微小細管（内径25μm）を用い，実質的な濃度（10g/dL）のHbを含有する各種溶液［ヒトHb，重合ウシHb（$Poly_B$Hb），Hb小胞体（HbV），ヒト赤血球（RBC）］を1mm/sの中心流速で灌流させ，Hb溶液のガス反応率を顕微可視吸収スペクトルにより計測した。細管をNOあるいはCOガスが溶解した水溶液に浸漬した場合，deoxy状態のHb，$Poly_B$Hbは，HbVおよびRBCよりも速くガスを結合し，またHbVとRBCは同等の結合速度であった。細管を窒素雰囲気に曝した場合，酸素を結合したHbと$Poly_B$Hbは，HbVおよびRBCよりも速い酸素放出を示した。$Poly_B$Hbは酸素親和度が最も低いため，最も速い酸素放出速度を示した。管内における粒子の拡散挙動をNavier－StokesおよびMaxwell－Stefan式を用いてシミュレーションしたところ，微小なHb（6nm径）では，側方拡散が速く流体の撹拌が促進されるが，粒子径の大きいHbVではそのような速い拡散はみられなかった。この側方拡散の違いが，ガス反応性の違いを生じていると考えられる。純粋に物理化学的な性質の相違が，血管収縮の有無を決定している因子のひとつである可能性がある。

## 1．緒言

非細胞型のHb利用人工酸素運搬体（Hb-based oxygen carrier, HBOCs）には，分子内架橋型，重合型，PEG結合型などが知られており，臨床試験の最終段階にある製剤もある[5]。HBOCsの利点は明らかで，長らくその実現が期待されているが，血管収縮と血圧亢進の問題のため，認可された製剤はまだ無い[23]。血管収縮の原因としては，主に血管弛緩因子であるNOを捕捉することが考えられて来た[26,28,55]。小粒径のHb分子は血管内皮を透過して平滑筋近傍にまで到達し，NOを捕捉する可能性がある。対してHb小胞体は粒子径が大きいので，そのようなことは起こらないと考えられる[32,37]。ストップドフロー-ラピッドスキャン分光法により，HbのNO結合速度は，Hbを粒子内に内包することで粒子内にNOの拡散障壁が形成されることで遅延されることが明らかになっている。この拡散障壁が形成される条件としては，i）粒子内のHb濃度が高いことと，ii）粒子径がより大きいことである[34,36]。いわゆるLiposome-encapsulated Hbは1977年のDjordjeviciの研究以来，多くの研究者が試して来たが[29,38]，我々のHb小胞体の特長は，35g/dLの高濃度Hb溶液を内包し，また粒子径が250-280nmに制御され，その分散液としてHb濃度10g/dLを達成している。HbVが血管収縮や血圧亢進を生起しない理由としては，NOの結合速度がHb溶液に比較して遅いことが挙げられる。しかし，NO結合速度は赤血球に比較するとまだ速く，十分な説明が出来ない[34]。粒子径が大きく血管壁の平滑筋近傍にまで到達できないことが効いているのかもしれない。

他方，HBOCsを投与した際の血管収縮の原因は，NO捕捉のことだけではない[31,46,50]。例えば，肝実質細胞のhemeoxygenase-2によりヘムが分解される過程で産生されるCOは，肝微小循環系において血管弛緩因子として作動する。小粒径のHb分子は，類洞血管のfenestrationを透過してDisse腔に到達し，COを捕捉するため，血管収縮と灌流圧の上昇が認められる[8]。また，酸素

(1) 早稲田大学 理工学研究所；(2) 早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所；(3) 早稲田大学大学院先進理工学研究科；(4) コベルコ科研
(1) Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo 169-8555, Japan; (2) Waseda Bioscience Research Institute in Singapore, 11 Biopolis Way, #05-01/02 Helios, Singapore 138667; (3) Graduate School of Advanced Sciences and Engineering, Waseda University, Tokyo 162-8480, Japan; and (4) Kobelco Research Institute, Inc., Kobe 651-2271, Japan.

†本論文は，American Physiological Societyの許可のもと，American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology第298巻 H956頁-H965頁， 2010年に最初に掲載された論文に基づき和文として作製したものである。
0363-6135/05 $8.00 Copyright © 2010 the American Physiological Society, Am J Physiol Heart Circ Physiol 298 (3)
論文受付 2012年 2 月29日　論文受理 2012年 3 月 6 日

過多になると血管は自動調節機能により収縮し，酸素供給を調節する[10,14,16,19]。小粒径のHb修飾体の投与は酸素の“促進輸送”を誘発し，血管収縮を生起するとの報告が幾つかある[1,18]。従って，HBOCsについて，NOのみならずCO，$O_2$との反応性について詳細を検討する必要がある。従来，Hbとガス分子の反応速度定数を調べる方法としては，ストップドフロー-ラピッドスキャン分光法や，フラッシュホトリシス法が知られている[25,26,31,34,36,42]。しかし，キュベット内のHb濃度を2μM（約0.003g/dL）にまで希釈する必要があり，投与における実質的な濃度（4-10g/dL）に比較して非常に希薄な濃度となる。また，フラッシュホトリシス法では，光照射によって解離したガス分子の再結合反応を追跡するが，量子収率が低いので（Φ= 0.5 for CO; 0.002 for NO)[43]，結合過程のごく一部を見ているに過ぎない可能性がある。またHb小胞体や赤血球のような巨大な粒子では，解離したガスが粒子外に放出される前に再結合が起こりうるので，結果の解釈が複雑になることが問題である[11]。要するにこれらの方法では，血管内で生起するガス反応の生理的条件からかなり逸脱した条件といえる。

ガス透過性のある微小細管を用いれば，実質的な濃度（例えば10g/dL）でこれらのガス反応を観測できる[18,27,40,48]。過去に我々はテフロン製の微小細管（内径25μm）を用い，酸素の放出について観測しているし，海外でもHellumsやWinslowらのグループでガス透過性が高いシリコン製の微小流路を用いて酸素放出について検討している。今回我々は，同じモデルを用い，$O_2$放出のみならず，NO結合，CO結合についても検討した。また，修飾Hbや赤血球との相違を検討した。そして，粒子の拡散挙動をシミュレーションし，Hb小胞体の拡散の特徴との相関について検討した。

## 2．方法

### 1．Hb小胞体（HbV），Hb溶液，Poly$_B$Hb，赤血球の調製

Hb小胞体は従来法に従って調製した[33,40,45,47]。日本赤十字社から供与された期限切れ赤血球からHbを精製単離した。アロステリック因子として，化学的に不安定な2,3-diphosphoglyceric acidの代わりにpyridoxal 5'-phosphate（PLP, Sigma, St. Louis, MO）を使用した[53]。脂質膜は，1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholine, cholesterol, 1,5-*O*-dihexadecyl-*N*-succinyl-L-glutamate（Nippon Fine Chemical Co. Ltd., Osaka, Japan），および，1,2-distearoyl-*sn*-glycerol-3-phosphatidylethanolamine-*N*-PEG$_{5000}$（NOF Corp., Tokyo, Japan）より構成される。粒子径は押し出し法により調節した[45]。Hb溶液は，PBSに溶解させ，PLPをPLP/Hb＝4 の割合で添加した。何れもHb濃度が10g/dLになるようにした。また比較対象として，重合ウシHb（Poly$_B$Hb, Biopure社製 Oxyglobin）を用いた[2,3]。13g/dL濃度で封入されているので，これをPBSで10g/dLに希釈して用いた。Poly$_B$Hbは修飾Hb溶液の中で唯一入手可能な物質であり，動物臨床用に認可されたものである。血管活性があることや，その37.2%が非重合体であることなど，詳細が報告されている[2,3]。また，比較対象として，ヒト赤血球を用いた。早稲田大学「人を対象とする研究に関する倫理委員会」の承認を得て，ヒト新鮮血を採取し，洗浄と白血球除去フィルタ処理（Pall Corp.製）を行い（洗浄RBCを得た。生理食塩水に分散させHb濃度を10g/dLとした。酸素親和度はHemox Analyzerにより測定した。分散液の粘度はレオメータ（Physica MCR 301; Anton Paar社製）により測定した（Table 1)。

Table 1. Physicochemical properties of HbV, Poly$_B$Hb, Hb, and RBC.

| | HbV | Poly$_B$Hb | Hb | RBC |
|---|---|---|---|---|
| [Hb]（g/dl） | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Hb/PLP by mol. | 1/2.5 | - | 1/4 | - |
| $k'_{on}{}^{(CO)}$ ($10^5$ $M^{-1}s^{-1}$) | 2.1 | 2.7 | 2.1 | 0.65 |
| $k'_{on}{}^{(NO)}$ ($10^7$ $M^{-1}s^{-1}$) | 0.61 | 2.4 | 2.4 | 0.012 |
| $k'_{off}{}^{(O2)}$ ($s^{-1}$) in 50 mM $Na_2S_2O_4$ | 32 | 119 | 84 | 4.4 |
| $P_{50}$（Torr） | 25-28 | 54 | 26 | 27 |
| Size | 279 nm | 87－502 kDa[c] | 65 kDa | 8μm |
| Viscosity（mPa s）at $10^3$ $s^{-1}$ | 3.75 | 1.48 | 1.35 | 2.46 |
| Viscosity（mPa s）at 10 $s^{-1}$ | 6.88 | 1.54 | 1.35 | 3.18 |
| PerfusionPressure（kPa） | 21.0－23.0 | 7.0－8.0 | 6.0－7.0 | 9.0－10.0 |

$k'_{on}{}^{(NO)}$, apparent NO-binding rate constant; $k'_{on}{}^{(CO)}$, apparent CO-binding rate constant; $k'_{off}{}^{(O2)}$, apparent $O_2$-releasing rate constant; $P_{50}$ ; oxygen partial pressure at which Hb is half-saturated.

### 2．微小細管内の流動

本実験で用いた微小細管（内径25μm，壁厚37.5μm，長さ150mm）は，平河ヒューテック社より購入した[15,35,39,48]。材質はフッ素化ethylene-propylene copopymerで撥水性，ガス透過性である。細管の一端をHb溶液が入っているリザーバータンクに連結させた。透明アクリル板とシリコン板を用いて水槽を作製し，細管を水槽の中に浸漬した。装置の概略をFigure 1に示す。リザーバータンク内の溶液は小型スターラーで撹拌した。顕微鏡（Olympus IX-71）のステージに水平に置き，リザーバータンクにシリンジで圧力をかけることで，Hb溶液を流動させた。圧力は圧力センサー（AP-C30，キーエンス社製）でモニターした。細管内の中心流速の測定には，フォトダイオード相関法を用い（Velocity Tracker Mod-102 B; Vista Electronics Co.)[13]，全ての実験において1 mm/sに調節した。この流速を選んだのは，12cmの灌流距離内で十分なガス反応が観測できること，またTateishiらの方法に従ったことが理由である[39,48]。フォトダイオード相関法では，測定部位のコントラストの変化が必要なので，均一な溶液，HbV，Poly$_B$Hb単独では測定が出来ない。そこで，5 vol%のRBC分散液を添加した。この添加量では，スペクトル測定に影響が無いことを確認している。水槽には亜ニチオン酸ナトリウム（$Na_2S_2O_4$，10mM）の溶液を満たし，完全に酸素を排除した。NO結合およびCO結合挙動を観測する場合には，水槽を低濃度NOガス（NO, 4.7%; $N_2$, 95.3%）あるいはCOガス（CO, 14.14%; $N_2$, 85.86%）で通気した亜ニチオン酸水溶液で満した。$Na_2S_2O_4$，は微量残存しうる酸素を完全排除するのに有効である。細管壁はガスのみが透過でき，$Na_2S_2O_4$は透過できない。灌流は25度にて行った。本実験系において，細管内

の容積は$5.9\times10^{-5}$cm$^3$，であり，水槽の体積（11 cm$^3$）に比較して極めて小さい（1/180,000）。酸素放出の実験では，酸素は細管の外壁で急速に消費され，またCO-，NO-結合の実験では，水槽にはCOまたはNOが大量に存在し，継続して細管内に供給されるものと考えた。

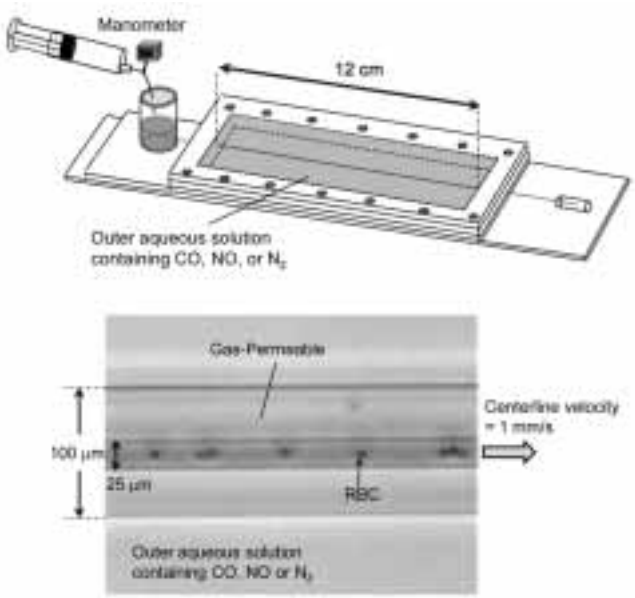



Fig. 1. (Top) Experimental setup of a gas-permeable artificial narrow tube (red line) immersed in a water bath (light blue) made by the gap between two transparent acrylic plates with a rubber supporting plate. One end of the narrow tube was connected to a reservoir (pink colored) of the Hb containing suspension. The reservoir is pressurized by $N_2$ gas for perfusion of a fluid through the tube. (Bottom) Microscopic view of a gas-permeable artificial narrow tube. The tube, made of perfluoro polymer, is gas permeable. The tube is immersed in water equilibrated with $N_2$, low concentration CO, or NO gases. The wall thickness, {(100-25)/2 = 37.5 μm}, is important not only for regulation of measurable gas permeability but also for the stiffness of the tube of greater than 12 cm traveling distance. The centerline flow velocity was adjusted to 1 mm/s. To monitor the velocity, a small amount of RBC solution is mixed. Measurements of absorption spectrophotometry of the fluid in the tube were performed at several traveling distances.

**3．測定装置**

測定装置の構成は，倒立型顕微鏡（IX-71，対物レンズx40 ULWD CDPlan 40 PL，Olympus）に顕微スペクトル装置（Photonic multi-channel analyzer Model PMA-11，浜松ホトニクス）を接続させたもので，顕微鏡ハロゲンランプを光源としチューブに照射し，25 μm径のスポットについて194-956 nmの範囲の吸収スペクトルを計測した（スキャン速度100 ms/scan，100 scan，0.2 nm間隔）。1点の測定に10秒を要した。測定ポイントは常にCCDカメラにて撮影し，モニターで確認した。

**4．酸素放出速度の測定**

酸素放出速度を観察する場合は，細管を窒素雰囲気の亜ニチオン酸ナトリウム水溶液に浸漬し，酸素を結合したHb溶液を灌流させ，流動距離10，30，50，70，90 mmのスポットのスペクトルを測定した。Hb小胞体分散系は光散乱のために短波長側で吸光度が高めになった[41]。100％デオキシ型と100％オキシ型のスペクトルを測定し，Q帯の等吸収点（522，586 nm）を直線で結びベースラインとし，555 nm（$A_{555}$，$\lambda_{max}$ deoxyHb）および576 nm（$A_{576}$，$\lambda_{max}$ oxyHb）の吸光度比（$R = A_{555}/A_{576}$）と酸素飽和度（％）の検量線を作製した（Fig. 2）[39]。各試料の各測定ポイントにおける測定は3回行い，mean±SDとして表記した。

**5．CO結合速度の測定**

CO結合速度の測定の場合には，細管をCOが溶解した溶液に浸漬し，deoxy状態のHb含有溶液を灌流させた。通気したガスのCO濃度は14.14％で，水槽溶液中には135 μMのCOが溶解していた計算になる。100％デオキシ型のスペクトルと，100％カルボニル型のスペクトルを測定し，等吸収点（454，578 nm）を直線で結びベースラインとし，555 nm（$A_{555}$，$\lambda_{max}$ deoxyHb）および569 nm（$A_{569}$，$\lambda_{max}$ HbCO）の吸光度比（$R = A_{555}/A_{569}$）とCO結合率（％）の検量線を作製した。測定は$O_2$放出の場合と同様に行った。

**6．NO結合速度の測定**

NO結合速度の測定の場合には，細管をNOが溶解した溶液に浸漬し，deoxy状態のHb含有溶液を灌流させた。通気したガスのNO濃度は4.7％で，水槽溶液中には88 μMのNOが溶解していた計算になる。100％デオキシ型のスペクトルと，100％ニトロシル型のスペクトルを測定し，等吸収点（449，592 nm）を直線で結びベースラインとし，555 nm（$A_{555}$，$\lambda_{max}$ deoxyHb）および575 nm（$A_{575}$，$\lambda_{max}$ HbNO）の吸光度比（$R = A_{555}/A_{575}$）とNO結合率（％）の検量線を作製した。測定は$O_2$放出，CO結合の場合と同様に行った。

**7．Hb溶液およびHb小胞体の拡散挙動のシミュレーション**

Hb分子（6 nm）およびHb小胞体（250 nm）が細管内を流動している際に溶液がどのように撹拌されるかを明らかにするため，粒子の拡散挙動をシミュレーションした。ここでは，細管内の入口において管壁近傍に流入した粒子の拡散挙動を追跡した。物性の異なる，二種類の流体が流入することを仮定し，Component-1は管中心から半径11.5 μmまでの領域に流入し，Component-2は，半径11.5 μmから管壁（半径12.5 μm）までの領域に流入したと仮定した。そしてComponent-2が管中央方向に拡散して溶液が混合される様子をシミュレーションした。

1）Hb溶液

Hb分子の大きさ（6 nm）は細管内径（25 μm）に比較して非常に小さい。ここでは，Navier-Stokes方程式を用い，incompressive conditionとし流速 v と圧力 $p$ を得る。

$$\rho(\partial \mathrm{v}/\partial t)+(\rho \mathrm{v}\cdot\nabla)\mathrm{v}=-\nabla p+\nabla\cdot\left(\eta\left(\nabla \mathrm{v}+(\nabla \mathrm{v})^t\right)\right) \qquad \text{(Eq. 1)}$$

ここで，$\rho$ は密度，$\eta$ は粘度を示す。An advection－diffusion equation を用い，溶質の移送について次の式で示せる。

$$\partial C_i/\partial t+\nabla\cdot(-D_i\nabla C_i)=-(\mathrm{v}\cdot\nabla)C_i \qquad \text{(Eq. 2)}$$

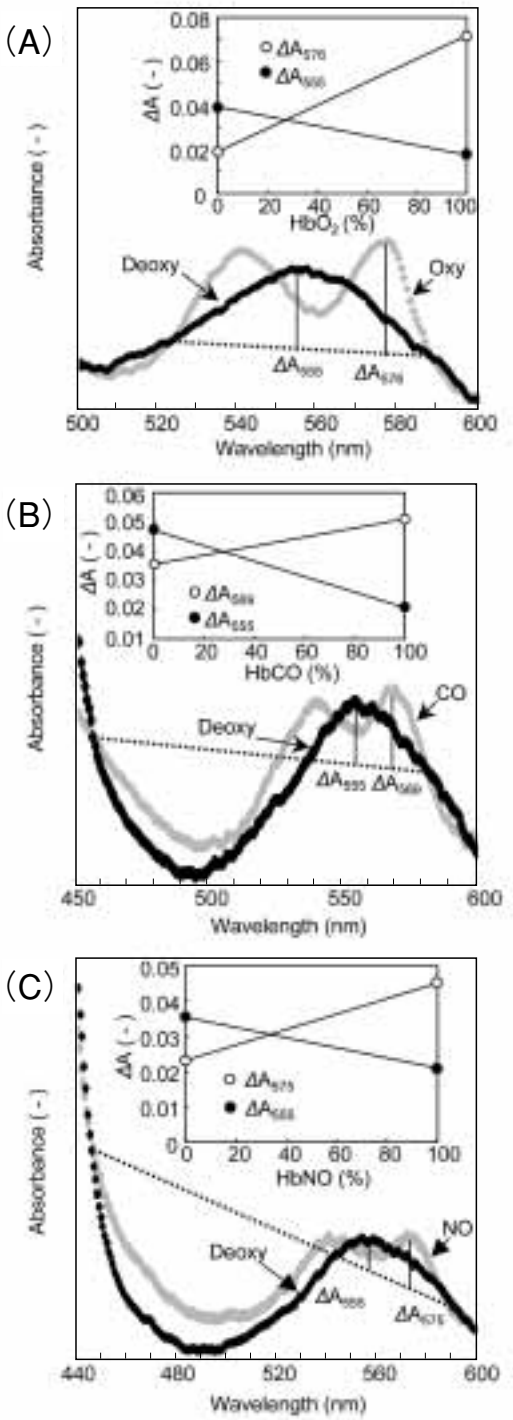



Fig. 2. Calculation of reaction levels (A) $HbO_2$, (B) HbCO, and (C) HbNO from the absorption changes. For the oxygen saturation determination, for example, two isosbestic points of the spectra of deoxygenated (deoxy-) and oxygenated (oxy) HbVs (at 522 and 586 nm) were connected by a straight line (baseline). Based on absorbances at 555 ($\Delta A_{555}$, $\lambda_{max}$ of deoxyHb) and 576 ($\Delta A_{576}$, $\lambda_{max}$ of oxyHb) nm from the baseline, linear relations between the level of $HbO_2$ (%) and $\Delta A_{555}$ and $\Delta A_{576}$ are obtained individually as shown in the inset. Then the ratio of the two absorbances ($R = A_{555}/A_{576}$) was utilized to obtain the level of $HbO_2$. The levels of HbCO (B) and HbNO (C) were calculated similarly.

ここで，$C_i$ は溶質の濃度，$D_i$ は拡散係数である。溶質のflux densityは，次式にて表される。

$$N_i = C_i \mathrm{v} - D_i \nabla C_i \qquad \text{(Eq. 3)}$$

細管壁には溶質の透過性は無いので，Neumann condition を適用した。

$$N_i \cdot \mathrm{n} = -D_i \nabla C_i \cdot \mathrm{n} = 0 \qquad \text{(Eq. 4)}$$

細管の入口における$C_i$ を固定する。細管の出口においては，濃度勾配の無いNeumann conditionを適用し，$N_i \cdot \mathrm{n} = C_i \mathrm{v} \cdot \mathrm{n}$とした。$D_i$ は次式 で示される。

$$D_i = kT/(6\pi\eta_c d_d) \qquad \text{(Eq. 5)}$$

2）Hb小胞体

Hb小胞体の場合は，細管内径の1/100と無視できない体積を持つため，球状の個体粒子として扱い，個液2相の混相流動解析を行った。Maxwell-Sterfan移流・拡散方程式を用いた。粒子と液相の流速を個別に解くにあたり，次の仮定を用いた。i) HbVと分散媒体の密度差は大きくない，ii）粒子と液層は変形しながら一緒に流動する，iii）相対速度（滑り）は圧力と粘性力の釣り合いで決まる。

2相流の平均流速 $v$ と圧力 $p$ についての運動量保存則は，右辺第2項の2相間の滑り摩擦項を加え，Eq. 6のように書ける。

$$\rho(\partial \mathrm{v}/\partial t) + (\rho \mathrm{v} \cdot \nabla)\mathrm{v} = -\nabla p + \nabla \cdot \left(\rho c_d (1-c_d) \mathrm{v}_{slip} \mathrm{v}_{slip}\right) + \nabla \cdot \left(\eta\left(\nabla \mathrm{v} + (\nabla \mathrm{v})^t\right)\right) \qquad \text{(Eq. 6)}$$

ここで，$\rho$ は平均密度，$c_d$は分散相の質量分率，$v_{slip}$は2相の相対速度である。固体粒子分散系での滑り速度 $v_{slip}$は，Eq. 7のよう表せる。

$$\mathrm{v}_{slip} = -\left[(\rho - \rho_d) d_d{}^2/(18\rho\eta_c)\right]\nabla p \qquad \text{(Eq. 7)}$$

ここで $d_d$は粒子の直径，$\rho_d$は粒子の密度である。

混相流の粘度$\eta$は，分散相の体積分率（$\phi$）および（$\gamma$），に依存し，HbV分散液の粘度計測実験の結果からEq. 8のように表せる。

$$\eta(\phi, \gamma) = 0.9\gamma^{-(0.2542\phi + 0.25\phi^2)} e^{4.1278\phi + 4.2207\phi^2} \qquad \text{(Eq. 8)}$$

高濃度HbV分散液における相互拡散を解析するにあたり，Maxwell-Stefan移流・拡散方程式を用いた。

$$\partial \phi_i / \partial t + \nabla \cdot (\mathrm{j}_i + \phi_i \mathrm{v}) = 0 \qquad \text{(Eq. 9)}$$

ここで，$j_i$および$\phi_i$は成分$i$の それぞれ拡散流束，成分体積分率を示す。

拡散流束は，成分$i$の 濃度勾配や圧力によって表せる。従って，Eq. 9は，成分の拡散係数$Di$を用いることによって，次のように表せる。

$$\partial \phi_i / \partial t + \nabla \cdot \left( \phi_i \mathrm{v} - D_i \left( \nabla \phi_i + \phi_i \frac{\rho - \rho_i}{\rho} \frac{\nabla \rho}{\rho} \right) \right) = 0 \qquad \text{(Eq. 10)}$$

計算には，Comsol Multiphysics & Chemical Engineering Module（Comsol, Inc., Burlington, MA）を用いた。Table 2には，シミュレーションに用いた物理化学的パラメータをまとめた。

Table 2. Parameters of Hb solution and HbV suspension at［Hb］=10 g/dL for diffusion simulation

| | | |
|---|---|---|
| Hb | Diffusion coefficient[1] | $9\times10^{-11}$ m$^2$s$^{-1}$ |
| | Viscosity | 1.0 mPa s |
| | Density of the solution[2] | 1025 kg m$^{-3}$ |
| | ［Hb］ | 10 g/dL, 1.55 mM |
| HbV | Volume fraction | 0.4 |
| | Particle diameter | 250 nm |
| | Viscosity of the suspending medium | 0.9 mPa s |
| | Viscosity of the HbV suspension | Data in Table 1 |
| | Density of the suspending medium[2] | 1003.3 kg m$^{-3}$ |
| | Density of HbV particles[3] | 1067.05 kg m$^{-3}$ |

[1](55). [2]Measured by a Dynamic Capillary Rheometer（Anton Paar GmbH, Graz, Austria）. [3]Calculated from the density of the HbV suspension（1028.8 kg m$^{-3}$）, volume fraction（0.4）and the density of the suspending medium（1003.3 kg m$^{-3}$）as（1028.8 − (1.0 − 0.4) × 1003.3）/0.4 = 1067.05（kg m$^{-3}$）.

## 3．結果

### 1．$O_2$放出挙動

Hbを含有する全ての試料について，細管内を流動させると次第にスペクトルが変化し，$HbO_2$由来の2つの吸収ピーク（$\lambda_{max}$ 541，576 nm）の吸光度が低下し，deoxyHb由来のピーク（$\lambda_{max}$，555 nm）の増大が見られた（Fig. 3A）。特に$Poly_B$HbとSFHbでその変化が顕著であった。HbVとRBCでは，9 cm流動した時点でもまだ2つのピークが確認された。Fig. 4Aは，流動距離と酸素飽和度の相関をまとめたグラフである。9 cm流動した時点で，$Poly_B$HbとSFHbはそれぞれ，27±8%および43±6%にまで低下したが，HbVおよびRBCsはそれぞれ68±7%と76±4%までの低下に留まり，HbVとRBCsは同等であった。

### 2．CO結合挙動

DeoxyHb由来のピークは555 nmに存在するが，細管内流動してCOを結合するに従い，全てのHb含有溶液について，540 nmと569 nm付近に新たなピークが出現した（Fig. 3B）。9 cm流動時に，$Poly_B$HbとSFHbは94±3%および90±3%のCO化率にまで到達したが，HbVおよびRBCsはそれぞれ71±3%と66±4%であり，低い値に留まった（Fig. 4B）。

### 3．NO結合挙動

HbNOは，545 nmと575 nmに特徴的なピークを示す。$Poly_B$HbとSFHbはともに，9 cm流動の時点で特徴的な2つのピークの出現が認められた（Fig. 3C）。しかし，HbVとRBCについては，575 nm付近にShoulderが認められるが，明確なピークは出現しなかった。HbおよびPoly$_B$Hbは9 cm流動の時点で，NO結合率がそれぞれ70±5%，65±5%にまで到達したが（Fig. 4C），RBCsとHbVはそれぞれ36±3%，39±6%と，低い値に留まった。

### 4．細管内におけるHb，Hb小胞体の拡散挙動

本研究のシミュレーションでは，同一の物性を有する二種類の液体（HbV-1とHbV-2）を流動させ，これらがどのように混合されるかを明らかにすることを目的とした。Figure 5AはHbVの拡散挙動を示す。赤色はHbV-2が管壁近傍に流入したことを示し，これが流動と共に次第に黄色，緑，水色に変化しており，つまりHbV-2が拡散してHbV-1と混合していき，HbV-2の濃度が低下することを示す。しかし，流動距離が100 μmの時点でもまだ完全には均一になっていない。白線は，HbV-2の流動の軌跡を示し，半径11.5 μmのところに流入したHbV-2は，100 μm流動時では半径9 μmのところにまで拡散しうることを意味する。

他方，Hb溶液の拡散は非常に速く，赤色領域の変化は流動距離10 μmの時点で殆ど終了しており，急速に均一に撹拌されたことが解る（Fig. 5B）。半径11.5 μmのところに流入したHb-2は，100 μm流動時では半径 3 μmのところにまで拡散しうることを意味する。Hb-2は1 mm流動すると管中心にまで到達するが，HbV-2では25 mmの流動を要する。

## 4．考察

本研究で明らかになった重要な点は，NO結合，CO結合，酸素放出，どの反応においても，分子状のHb溶液で見られた速い反応が，Hbを小胞体に内包させること，或はHbが赤血球内に入っていることによって，遅延されたことである。このことは，非細胞型のHb溶液の投与で血管収縮が生起し，またHbVや赤血球では血管収縮が生起しないことと関連があるものと考えられる[23]。

溶血性疾患において[20]，またHBOCsの研究開発において[9,12,21,26,30,32,44,51]，血管内皮由来弛緩因子であるNOが捕捉されて血管収縮が生起し，血圧亢進，末梢循環障害，血管障害が誘導されることは良く知られている。COに関しては，COが肝微小循環系において弛緩因子として作動し[46]，これが分子状のHbに捕捉されると類洞血管が収縮する[8]。従って，本来Hbが赤血球中に存在することは，内因性のNOやCOの情報伝達物質としての機能を保持するために極めて重要であるといえる。他方，HBOCsによる酸素の促進輸送は，迅速に酸素を運搬するには有効であると考えられていたが[27]，最近では，酸素過多になるとこれを低減しようと自動調節機能が働いて血管収縮が生起する機序が提案されている[31]。

血漿層（RBC-free layer）は，赤血球と血管壁の間のガス拡散の障壁となることは良く知られている。非細胞型のHb溶液はこの血漿層に均一に分散するので，ガス反応を促進することに

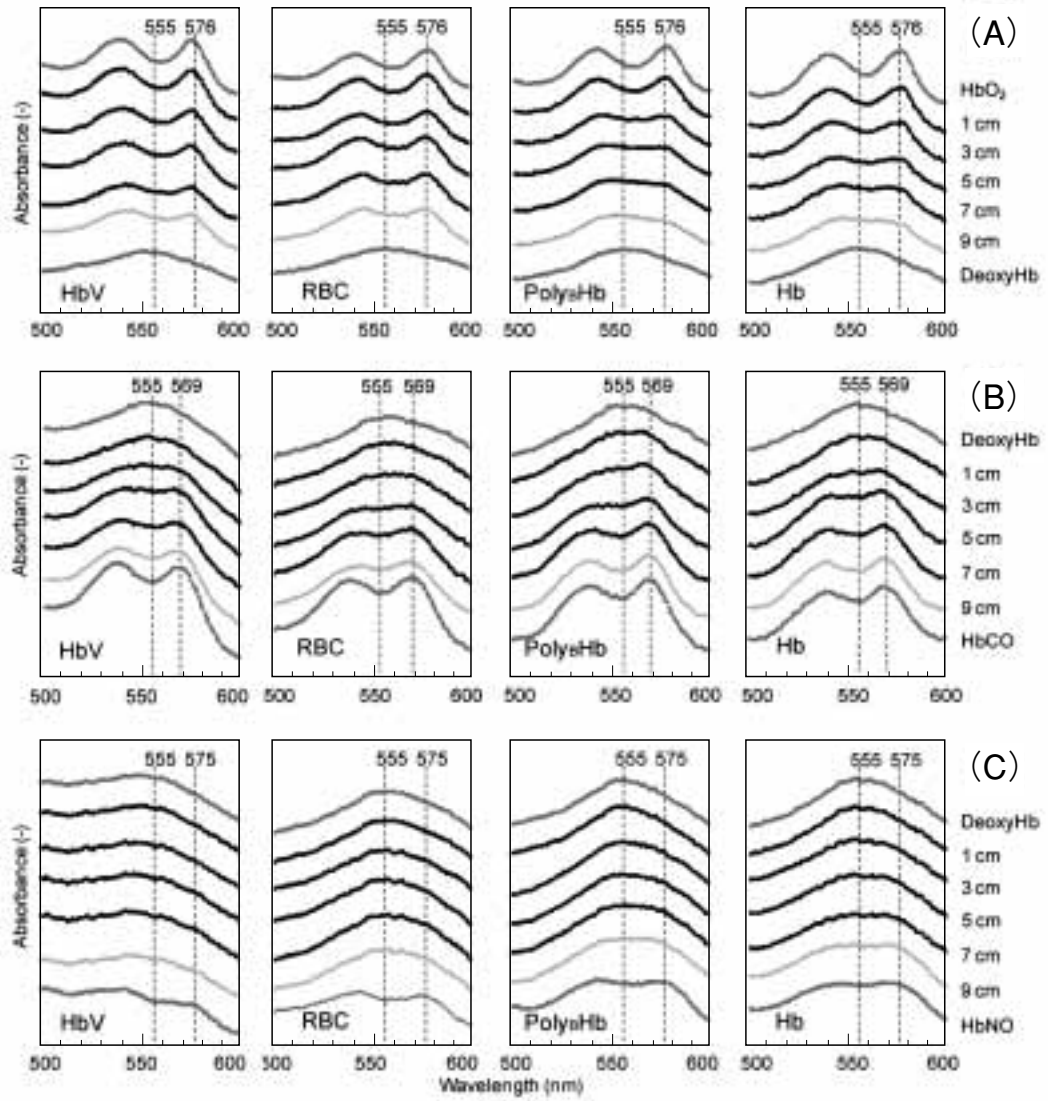



Fig. 3. Spectroscopic changes in *Q* bands of the Hb containing fluids by perfusing through the narrow tube at the traveling distances of 1−9 cm. The red plot lines represent the absorption spectroscopy of 0 % and 100% reactions. The green lines represent the spectroscopy at 9 cm traveling distance. (A) Measurement of $O_2$-releasing behavior by perfusing through the narrow tube immersed in an anaerobic condition. Two characteristic peaks ($\lambda_{max}$ = 541 and 576nm) attributed to oxyHb decreased with the traveling distance. A new peak (555nm) attributed to deoxyHb increased. (B) NO-binding perfused through the narrow tube. Two characteristic new peaks attributed to HbNO ($\lambda_{max}$ = 545 and 575 nm) increased with the traveling distance; deoxyHb (555 nm) decreased. (C) Spectroscopic changes in *Q* bands of the Hb containing fluids with CO-binding perfused through the narrow tube. Two new characteristic peaks attributed to HbCO ($\lambda_{max}$ = 540 and 569 nm) increased with the traveling distance; deoxyHb (555 nm) decreased.

なる[18,27]。

細胞型のHb小胞体（HbV）は，Hb分子に比較したら大きいが，赤血球に比較すると1/30と小さい。しかし，HbVの場合はガス反応が促進されることは無い。以前の論文で我々はHb溶液とHbVの違いは，チューブ内を流れる際の撹拌のされやすさの違いに起因するのではないかと推測した[39]。このことを明らかにするため，拡散のシミュレーションを行ったところ，HbとHbVでは顕著な違いが認められた。微小なHbではHbVに比較して側方拡散が速く流動中の撹拌効果も大きい。この違いが，ガス反応性に影響したと考えられる。

Table 1に示すように，HbVとRBCの反応速度定数：$k'_{on}{}^{(NO)}$，$k'_{on}{}^{(CO)}$，$k'_{off}{}^{(O2)}$ には大きな隔たりがあるが，微小細管内を流動させたときのガス反応速度は同等であった。反応速度定数は，Stopped-flow rapid scan 分光法で計測しているが，この場合はHb濃度を0.0024-0.032 g/dLにまで希釈する必要がある[34,42]。今回の実験では希釈せずに10 g/dLの実質的濃度での測定であり，その方がより生理的条件に近く，また粒子個々の反応速度よりも，粒子が分散する流体としてのガス反応に意味があると考えられる。HbVや赤血球は側方拡散が著しく遅くなる。赤血球は血漿層が拡散障壁になる。HbVの方がRBCよりも若干粘度が高い分，より側方拡散が低下しているのかもしれない。それによってHbVとRBCではガス反応速度に大きな差が無いものと考え

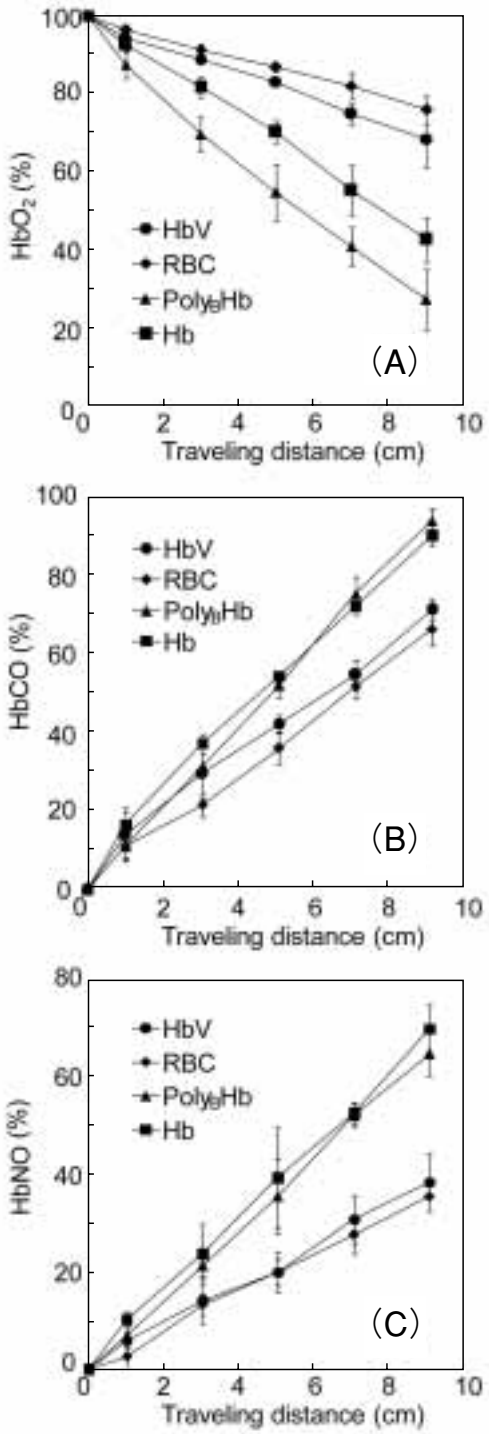



Fig. 4. The change of the level of ligand reactions of the Hb containing fluids, HbV (circle), $Poly_B$Hb solution (triangle), Hb solution (square), and RBC (rhombic) with traveling distance. (A) Levels of $O_2$ release. (B) Levels of CO-binding. (C) Levels of NO-binding. The levels of the reactions are calculated from the data in Fig. 3.

られる。興味深い事に，HbとHbVの$k'_{on}{}^{(CO)}$は殆ど同じであるが，細管内に濃厚溶液を流動させたときは，CO結合速度に明らかな違いがある。このこともまた，キュベット内の希薄な個々の粒子のガス反応速度よりも，粒子の濃厚な分散流体としての反応速度が重要であることを示唆する。CO，NO分子ともに，外部水槽から細管壁内を拡散して，管内に到達し，液面で直ちにHbに結合するものと考えられる。溶液の撹拌が促進されると常に新しい結合サイトが提供され，反応が促進されることになる。また，酸素放出に関しては酸素濃度勾配が最も大きい管壁近傍から酸素が消失していく。この場合も撹拌が促進されると常に濃度勾配も高くなり，酸素移動を促進させるものと考えられる。

$Poly_B$HbはHbよりも大きいので，酸素放出も遅くなることを予想したが，逆に速くなった。これは，両者の粘度が殆ど同じ（それぞれ1.48 cP，1.35 cP），また$Poly_B$Hbには37.2%ものモノマー（$_B$Hb）が存在していること，また$Poly_B$Hb酸素親和度が54 Torrと低く，$k'_{off}{}^{(O2)}$についてもHbより$Poly_B$Hbの方が大きいことが理由として考えられる。HbおよびPoly$_B$Hb について，もし粘度を増大させることが可能であれば，Stokes-Einstein式に従い粒子の拡散が抑制されるので，ガス反応速度を低下できるものと考えられる。また，粘度を増大させれば，血管壁における剪断応力が増大し，血管拡張因子の産生を増やし血管拡張に繋がる可能性もある。事実，非細胞型Hbに高粘度HESを混合したり，HbにPEG鎖を結合させることでガス反応を低減させ，微小循環を改善できることが報告されている[7,54]。

本実験系の限界として，i）管内あるいは管外へのガス移動量は，管の材質と外部のガス濃度に依存していること，ii）内径25 $\mu$m，チューブ長が12 cmに限定されること，iii）外部水槽のNO，CO濃度は生理条件からは著しく逸脱していること，などが挙げられる。しかしこれらは，微小細管内における定常流の状態でガス反応の変化を観察するためには必要な条件である。生体内において，微小血管（細動脈）の領域で相当量の酸素が血液から放出されることが知られている。その意味で25 $\mu$mは適当と言える。なぜならば，このサイズの細動脈は，抵抗血管として酸素濃度や，剪断応力，NO濃度などに敏感に反応して，末梢血流を調節しているからである。Pageらは，ガス透過性が極めて高いシリコンゴムを利用して 4 mmの流路を作製し，酸素放出を観察しているが[27]，この場合，流動時間は僅か 1 秒である。また彼らの論文にスペクトルは掲載されていない。Mc Carthyら[18]も同様なモデルを用いて酸素放出速度を観察しているが，この場合は酸素電極を使用しており，間接的な計測といえる。我々の方法は顕微分光法によりHbのスペクトルから直接的にガス反応を観察しており，また流動するHBOCsのNO，COの結合挙動を観察したことについては初めての報告である。

果たして，細胞型HbVと非細胞型Hb溶液のガス反応性の相違のみで，血管収縮の有無を説明できるか。血漿層における拡散性という観点のみならず，多孔性の血管内皮を透過して特定の微小空隙（肝微小循環の類洞近傍にあるDisse腔や，平滑筋と血管内皮の間隙など）に到達するかどうかという観点において，粒子径に閾値が存在するのではないかと考える。その微小空隙では，COまたはNOが血管弛緩因子として産生され，soluble guanylate cyclaseに結合し，guanosine triphosphate をcyclic guanosine monophosphateに変換する[8,17,22,32,49]。或はOlsonらが述べているように[26]，NO結合速度の遅延（NO親和性の低下）

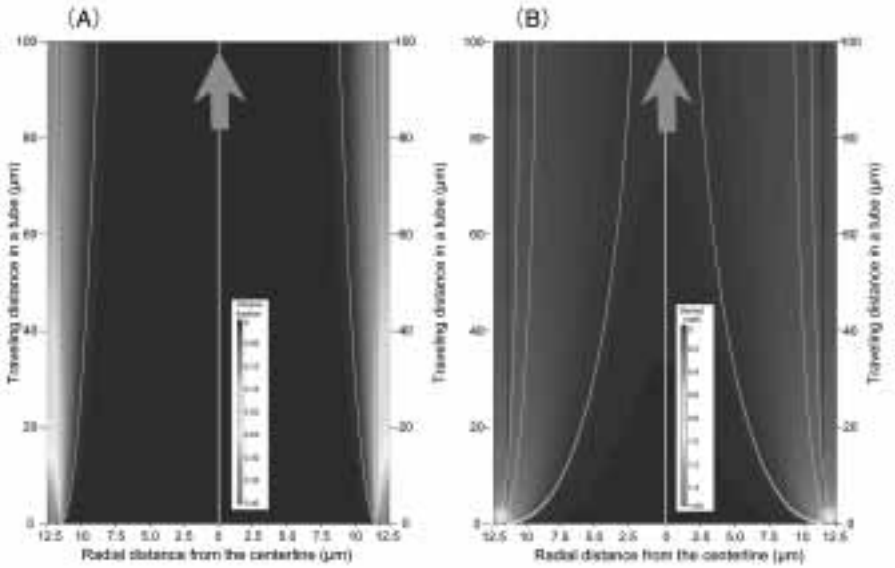



Fig. 5. Schematic representation of the simulated density distribution and track of Hb molecule in a narrow tube (< 100 μm traveling distance). We assumed that two different solutions with the same physicochemical properties enter and flow through the same tube. The radius of the tube was 12.5 μm: component-1 (blue color) enters the core of the tube (radial distance from the centerline, 0 − 11 μm), and component-2 (red color) enters near the wall (radial distance from the centerline, 11 − 12.5 μm). Finally, both components are mixed completely, but the rate is dependent on the physicochemical properties. (A) Diffusivity of HbV particles as component-2. The concentration of the particle (HbV) is expressed as volume fraction (volume fraction is 0.4 at [Hb] = 10g/dL). (B) Diffusivity of Hb molecules as component-2. The color gradation reflects the change of the component-2 concentration; the white lines represent tracking data of representative particles. The concentration of Hb is expressed as heme concentration ([heme] = 1.55 mM at [Hb] = 10 g/dL).

と[6]，粒子径が大きいことの両方のファクターが，HBOCsの血管収縮を抑制するために重要なのかもしれない。

結論として，本研究では純粋に物理化学的パラメータの相違（管内における拡散性の相違）が，ガス反応速度の相違を生じ，これが血管収縮の機序の一つとして提案することができた。このガス反応速度の相違は，血管外漏出のことも考慮すると更に拡大されるものと考えられる。勿論，血管収縮の機序については生化学的観点からアドレナリンレセプターやエンドセリン-1の増大など他にも提案されているので[9]，我々の結果をもって全てを説明する事は不可能である。しかし，少なくとも非細胞型のHBOCsがなぜ血管収縮を引き起こし，細胞型では血管収縮が無いのか説明するための一助になる。本実験では，赤血球が常に最もガス反応が遅いことが解った。赤血球は，毒性の側面のあるHbを包み込んで，ガス反応を遅延させるよう，進化の過程で設計されて来た細胞なのかもしれない。このことは，HBOCsを設計する上で極めて重要である。

## 謝辞

細管を用いる灌流実験系の確立のために，愛媛大学医学部の前田信治先生，鈴木洋司先生の協力を得た。本研究は，厚生労働科学研究費補助金（政策創薬総合研究事業），日本学術振興会科学研究費補助金（B19300164），および文部科学省 私学助成金（研究基盤形成事業）の補助を得た。

## 開示

著者のうち，H.S., S.T, E.Tは，ヘモグロビン小胞体に関する特許の発明者である。

## 引用文献

1. Baines AD, Adamson G, Wojciechowski P, Pliura D, Ho P, Kluger R. Effect of modifying $O_2$ diffusivity and delivery on glomerular and tubular function in hypoxic perfused kidney. Am J Physiol Renal Physiol 1998; 274: F744-F752.
2. Buehler PW, Boykins RA, Jia Y, Norris S, Freedberg DI, Alayash AI. Structural and functional characterization of glutaraldehyde-polymerized bovine hemoglobin and its isolated fractions. Anal Chem 2005; 77: 3466-3478.
3. Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Increased tissue $PO_2$ and decreased $O_2$ delivery and consumption after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: H2825-H2833.
4. Carlsen E, Comroe JH Jr. The rate of uptake of carbon monoxide and of nitric oxide by normal human erythrocytes and experimentally produced spherocytes. J Gen Physiol 42, 83-107, 1958.
5. Chang TM. Hemoglobin-based red blood cell substitutes. Artif Organs 2004; 28: 789-94.
6. Doherty DH, Doyle MP, Curry SR, Vali RJ, Fattor TJ,

Olson JS, Lemon DD. Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. Nat Biotechnol 1998; 16: 672-676.
7. Freitag M, Standl TG, Kleinhans H, Gottschalk A, Mann O, Rempf C, Bachmann K, Gocht A, Petri S, Izbicki JR, Strate T. Improvement of impaired microcirculation and tissue oxygenation by hemodilution with hydroxyethyl starch plus cell-free hemoglobin in acute porcine pancreatitis. Pancreatology 2006; 6: 232-239
8. Goda N, Suzuki K, Naito M, Takeoka S, Tsuchida E, Ishimura Y, Tamatani T, Suematsu M. Distribution of heme oxygenase isoforms in rat liver. Topographic basis for carbon monoxide-mediated microvascular relaxation. J Clin Invest 1998; 101: 604-612.
9. Gulati A, Barve A, Sen AP. Pharmacology of hemoglobin therapeutics. J Lab Clin Med 1999; 133: 112-119.
10. Harder DR, Narayaran J, Birks EK, Francois Liard J, Imig JD, Lombard JH, Lange AR, Roman RJ. Identification of a putative microvascular oxygen sensor. Circ Res 1996; 79: 54-61.
11. Hasinoff BB. Kinetics of carbon monoxide and oxygen binding to hemoglobin in human red blood cell suspensions studied by laser flash photolysis. Biophys Chem 1981; 13: 173-179.
12. Hess JR, MacDonald VW, Brinkley WW. Systemic and pulmonary hypertension after resuscitation with cell-free hemoglobin. J Appl Physiol 1993; 74: 1769-1778.
13. Intaglietta, M, Silverman NR, Tompkins WR. Capillary flow velocity measurements in vivo and in situ by television methods. Microvasc Res 1975; 10: 165-179.
14. Johnson PC. Autoregulation of blood flow. Circ Res 1986; 59: 483-495.
15. Kubota K, Tamura J, Shirakura T, Kimura M, Yamanaka K, Isozaki T, Nishio I. The behaviour of red cells in narrow tubes in vitro as a model of the microcirculation. Br J Haematol 1996; 94: 266-272.
16. Kunert MP, Liard JF, Abraham DJ. RSR-13, an allosteric effector of hemoglobin, increases systemic and iliac vascular resistance in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol 1996; 271: H602-H613.
17. Matheson B, Kwansa HE, Bucci E, Rebel A, Koehler RC. Vascular response to infusions of a nonextravasating hemoglobin polymer. J Appl Physiol 2002; 93: 1479-1486.
18. McCarthy MR, Vandegriff KD, Winslow RM. The role of facilitated diffusion in oxygen transport by cell-free hemoglobins: implications for the design of hemoglobin-based oxygen carriers. Biophys Chem 2001; 92: 103-117.
19. Messina EJ, Sun D, Koller A, Wolin MS, Kaley G. Increases in oxygen tension evoke arteriolar constriction by inhibiting endothelial prostaglandin synthesis. Microvasc Res 1994; 48: 151-60.
20. Minneci PC, Deans KJ, Zhi H, Yuen PS, Star RA, Banks SM, Schechter AN, Natanson C, Gladwin MT, Solomon SB. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin, J Clin Invest 2005; 115: 3409-3417.
21. Nakai K, Ohta T, Sakuma I, Akama K, Kobayashi Y, Tokuyama S, Kitabatake A, Nakazato Y, Takahashi TA, Sekiguchi S. Inhibition of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin in rabbit aortic strips: comparison between acellular hemoglobin derivatives and cellular hemoglobins. J Cardiovasc Pharmacol 1996; 28: 115-123.
22. Nakai K, Sakuma I, Ohta T, Ando J, Kitabatake A, Nakazato Y, Takahashi TA. Permeability characteristics of hemoglobin derivatives across cultured endothelial cell monolayers. J Lab Clin Med 1998; 132: 313-319.
23. 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. JAMA 2008; 299: 2304-2312.
24. Nishide H, Chen XS, Tsuchida E. Facilitated oxygen transport with modified and encapsulated hemoglobins across non-flowing solution membrane. Artif Cells Blood Substitutes Immobilization Biotechnol 1997; 25: 335-346.
25. Olson JS. Stopped flow, rapid mixing measurements of ligand binding to hemoglobin and red cells. Methods Enzymol 1981; 76: 631-51.
26. Olson JS, Foley EW, Rogge C, Tsai AL, Doyle MP, Lemon DD. No scavenging and the hypertensive effect of hemoglobin-based blood substitutes. Free Radic Biol Med 2004; 36: 685-97.
27. Page TC, Light WR, McKay CB, Hellums JD. Oxygen transport by erythrocyte/hemoglobin solution mixtures in an in vitro capillary as a model of hemoglobin-based oxygen carrier performance. Microvasc Res 1998; 55: 54-66.
28. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric-oxide release accounts for the biological- activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327: 524-526.
29. Phillips WT, Klipper RW, Awasthi VD, Rudolph AS, Cliff R, Kwasiborski V, Goins BA. Polyethylene glycol-modified liposome-encapsulated hemoglobin: a long circulating red cell substitute. J Pharmacol Exp Ther 1999; 288: 665-670.
30. Rochon G, Caron A, Toussaint-Hacquard M, Alayash AI, Gentils M, Labrude P, Stoltz JF, Menu P. Hemodilution with stroma-free hemoglobin at physiologically maintained viscosity delays the onset of vasoconstriction. Hypertension 2004; 43: 1110-1115.
31. Rohlfs RJ, Bruner E, Chiu A, Gonzales A, Gonzales ML, Magde D, Magde MD Jr, Vandegriff KD, Winslow RM.

Arterial blood pressure responses to cell-free hemoglobin solutions and the reaction with nitric oxide. J Biol Chem 1998; 273: 12128-12134.
32. Sakai H, Hara H, Yuasa M, Tsai AG, Takeoka S, Tsuchida E, M. Intaglietta M. Molecular dimensions of Hb-based $O_2$ carriers determine constriction of resistance arteries and hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000; 279: H908-H915.
33. Sakai H, Masada Y, Takeoka S, Tsuchida E. Characteristics of bovine hemoglobin as a potential source of hemoglobin-vesicles for an artificial oxygen carrier. J Biochem (Tokyo) 2002; 131: 611-617.
34. Sakai H, Sato A, Masuda K, Takeoka S, Tsuchida E. Encapsulation of concentrated hemoglobin solution in phospholipid vesicles retards the reaction with NO, but not CO, by intracellular diffusion barrier. J Biol Chem 2008; 283: 1508-1517.
35. Sakai H, Sato A, Okuda N, Takeoka S, Maeda N, Tsuchida E. Peculiar flow patterns of RBCs suspended in viscous fluids and perfused through narrow tubes (25 $\mu$m). Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009; 297: H583-H589.
36. Sakai H, Sato A, Sobolewski P, Takeoka S, Frangos JA, Kobayashi K, Intaglietta M, Tsuchida E. NO and CO binding profiles of hemoglobin vesicles as artificial oxygen carriers. Biochim Biophys Acta 2008; 1784: 1441-1447.
37. Sakai H, Sou K, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E. Haemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers: present situation and future visions. J Intern Med 2008; 263: 4-15.
38. Sakai H, Sou K, Tsuchida E. Hemoglobin-vesicles as an artificial oxygen carrier. Methods Enzymol. 2009; 465: 363-384.
39. Sakai H, Suzuki Y, Kinoshita M, Takeoka S, Maeda N, Tsuchida E. $O_2$ release from Hb vesicles evaluated using an artificial, narrow $O_2$-permeable tube: comparison with RBCs and acellular Hbs. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003; 285: H2543-H2551.
40. Sakai H, Takeoka S, Yokohama H, Seino Y, Nishide H, Tsuchida E. Purification of concentrated hemoglobin using organic solvent and heat treatment. Protein Expr Purif 1993; 4: 563-569.
41. Sakai H, Tomiyama K, Masada Y, Takeoka S, Horinouchi H, Kobayashi K, Tsuchida E. Pretreatment of serum containing hemoglobin vesicles (oxygen carriers) to prevent their interference in laboratory tests. Clin Chem Lab Med 2003; 41: 222-231.
42. Sakai H, Tsai AG, Rohlfs RJ, Hara H, Takeoka S, Tsuchida E, Intaglietta M. Microvascular responses to hemodilution with Hb vesicles as red blood cell substitutes: influence of $O_2$ affinity. Am J Physiol Heart Circ Physiol 1999; 276: H553-H562.
43. Sawicki CA, Morris RJ. Flash photolysis of hemoglobin. Methods Enzymol 1981; 76: 667-681.
44. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D, Cipolle M, Runge J, Mallory MN, Rodman G. Jr. Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock: a randomized controlled efficacy trial. JAMA 1999; 282: 1857-1864.
45. Sou K, Naito Y, Endo T, Takeoka S, Tsuchida E. Effective encapsulation of proteins into size-controlled phospholipid vesicles using freeze-thawing and extrusion. Biotechnol Prog 2003; 19: 1547-1552.
46. Suematsu M, Goda N, Sano T, Kashiwagi S, Egawa T, Shinoda Y, Ishimura Y. Carbon monoxide: an endogenous modulator of sinusoidal tone in the perfused rat liver. J Clin Invest 1995; 96: 2431-2437.
47. Takeoka S, Ohgushi T, Terase K, Ohmori T, Tsuchida E. Layer-controlled hemoglobin vesicles by interaction of hemoglobin with a phospholipid assembly. Langmuir 1996; 12: 1755-1759.
48. Tateishi N, Suzuki Y, Cicha I, Maeda N. $O_2$ release from erythrocytes flowing in a narrow $O_2$-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 281: H448-H456.
49. Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, Hussain P, Vecoli C, Paolocci N, Ambs S, Colton CA, Harris CC, Roberts DD, Wink DA. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. Free Radic Biol Med 2008; 45: 18-31.
50. Tsai AG, Cabrales P, Manjula BN, Acharya SA, Winslow RM, Intaglietta M. Dissociation of local nitric oxide concentration and vasoconstriction in the presence of cell-free hemoglobin oxygen carriers. Blood 2006; 108: 3603-3610.
51. Tsoukias NM, Popel AS. Erythrocyte consumption of nitric oxide in presence and absence of plasma-based hemoglobin. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 282: H2265-H2277.
52. Vandegriff KD, Olson JS. The kinetics of $O_2$ release by human red blood cells in the presence of external sodium dithionite. J Biol Chem 1984; 259: 12609-12618.
53. Wang L, Morizawa K, Tokuyama S, Satoh T, Tsuchida E. Modulation of oxygen-carrying capacity of artificial red cells. Polymers Adv Technol 1993; 4: 8-11.
54. Wettstein R, Tsai AG, Erni D, Winslow RM, Intaglietta M. Resuscitation with polyethylene glycol-modified human hemoglobin improves microcirculatory blood flow and tissue oxygenation after hemorrhagic shock in awake hamsters. Crit Care Med 2003; 31: 1824-1830.
55. Yu B, Raher MJ, Volpato GP, Bloch KD, Ichinose F, Zapol WM. Inhaled nitric oxide enables artificial blood transfusion without hypertension. Circulation 2008; 117: 1982-1990.

# 日本血液代替物学会　総会

1．日　時：
　平成23年10月27日（木）　13：15～

2．場　所：
　北海道大学医学部学友会館フラテ
　札幌市北区北15条西７丁目

3．議　題：① 第18回年次大会の報告
　② 会員動向
　③ 平成22年度事業報告
　④ 平成22年度会計報告
　⑤ 平成23年度事業計画

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）第18回日本血液代替物学会年次大会
2）平成23年10月27日（木）・28日（金）
3）札幌市北区北15条西７丁目
　北海道大学医学部学友会館フラテ
4）日本血液代替物学会会員、
　臨床医学・理工学研究者、
　国内の大学および医療機関臨床医、
　血液センター関係者の参加があった。

②会員状況は以下のとおり。

1）維持会員：４社
2）賛助会員：１社
3）正会員：117名
4）購読会員：12箇所

③平成22年度事業報告（平成22年４月１日～平成23年３月31日）が行われ各々承認された。

1）定期総会の開催
　平成22年10月18日（月）　熊本市国際交流会館大ホールにて開催。
2）第17回年次大会の開催（大会長 小田切優樹）
　平成22年10月18日（月）・19日（火）　熊本市国際交流会館大ホールにて行われた。
3）会誌「人工血液」の発行：第18巻１号～４号

④平成22年度収支決算報告が行われ承認された。

平成22年度 会計　収支決算表
（自　平成22年４月１日　至　平成23年３月31日）

| 収入 | | 支出 | |
|---|---|---|---|
| 摘要 | 金額 | 摘要 | 金額 |
| 前期繰越金 | 7,906,468 | 会誌出版費 | 2,379,930 |
| 正会員会費 | 450,000 | 集会・委員会費 | 1,531,333 |
| 入会金 | 15,000 | 年会補助金 | 2,000,420 |
| 維持会員会費 | 8,000,000 | ホームページ維持費 | 397,530 |
| 賛助会員会費 | 200,000 | 事務人件費 | 3,000,525 |
| 購読会員会費 | 30,000 | 事務費 | 256,404 |
| 学生会員会費 | 5,000 | 市民公開講座後援費用 | 560,853 |
| 雑収入 | 13,650 | 次期繰越金 | 6,501,583 |
| 利息 | 8,460 | | |
| 計 | 16,628,578 | 計 | 16,628,578 |

⑥平成23年度事業（実績報告）

1）定期総会の開催
　平成23年10月27日（木）　於 北海道大学医学部学友会館フラテ
2）第第18回年次大会の開催（大会長 米川元樹）
　平成23年10月27日（木）・28日（金）
　於 北海道大学医学部学友会館フラテ
3）会誌「人工血液」の発行：第19巻１号、２号発行　３号発行予定

現行役員は下記の通り。

## ●事務局たより

### 日本血液代替物学会 役員名簿

| | | |
|---|---|---|
| 顧　問 | 尾形利郎 | 東海大学医学部 名誉教授 |
| | 高久史麿 | 自治医科大学 学長 |
| | 堀　原一 | 筑波大学 名誉教授 |
| 会　長 | 小林紘一 | 慶應義塾大学 名誉教授 |
| 副会長 | 池田康夫 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| 理　事 | 東　　寛 | 旭川医科大学 教授 |
| | 小田切優樹 | 崇城大学薬学部 教授 |
| | 酒井宏水 | 早稲田大学重点領域研究機構 教授 |
| | 末松　誠 | 慶應義塾大学医学部 医学部長 |
| | 高折益彦 | 東宝塚さとう病院 名誉院長 |
| | 武岡真司 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| | 西　勝英 | 肥後医育振興会 理事 |
| | 半田　誠 | 慶應義塾大学医学部 教授 |
| | 平澤博之 | 千葉大学 名誉教授 |
| | 堀之内宏久 | 慶應義塾大学医学部 准教授 |
| | 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 |
| | 阿岸鉄三 | 東京女子医科大学 名誉教授 |
| （事務局） | 堀之内宏久 | 慶應義塾大学医学部 准教授 |
| （会誌担当） | 酒井宏水 | 早稲田大学理工学術院 准教授 |
| （HP担当） | 藤島清太郎 | 慶應義塾大学医学部 准教授 |

### 日本血液代替物学会 評議員名簿

| | |
|---|---|
| 青木　克憲 | 浜松医科大学 教授 |
| 阿岸　鉄三 | 東京女子医科大学 名誉教授 |
| 東　　寛 | 旭川医科大学 教授 |
| 阿部喜代司 | 筑波大学 名誉教授 |
| 池田　久實 | 北海道赤十字血液センター 名誉所長 |
| 池田　康夫 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| 池淵　研二 | 埼玉医科大学 教授 |
| 石原　弘規 | 弘前大学医学部 准教授 |
| 伊藤　俊之 | 京都赤十字血液センター |
| 稲田　英一 | 順天堂大学医学部 教授 |
| 大柳　治正 | 近畿大学医学部 教授 |
| 尾形　利郎 | 東海大学医学部 名誉教授 |
| 小田切優樹 | 崇城大学薬学部 教授 |
| 片岡　一則 | 東京大学大学院 教授 |
| 川村　明夫 | 社会医療法人北楡会 会長 |
| 木下　　学 | 防衛医科大学校 准教授 |
| 黒澤　良和 | 藤田保健衛生大学総合医科学研究所 教授 |
| 小林　紘一 | 慶應義塾大学 名誉教授 |
| 小松　晃之 | 中央大学理工学部 教授 |
| 斎藤　英彦 | 名古屋セントラル病院 院長 |
| 酒井　清孝 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| 酒井　宏水 | 早稲田大学理工学術院 准教授 |
| 佐久間一郎 | カレスサッポロ北光記念クリニック 所長 |
| 佐藤　　誠 | ニプロファーマ（株） 社長 |
| 清水　　勝 | 西城病院 理事 |
| 末松　　誠 | 慶應義塾大学医学部 医学部長 |
| 高折　益彦 | 東宝塚さとう病院 名誉院長 |
| 高久　史麿 | 自治医科大学 学長 |
| 高橋　　晃 | テルモ（株） 取締役 特別顧問 |
| 高橋　英嗣 | 佐賀大学大学院 教授 |
| 武岡　真司 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| 田所　憲治 | 日本赤十字社血液事業本部 中央血液研究所 所長 |
| 友田　燁夫 | 東京医科大学 教授 |
| 仲井　邦彦 | 東北大学医学系研究科 教授 |
| 長澤　俊郎 | 筑波大学臨床医学系 教授 |
| 中島　常隆 | （株）ベネシス 経営戦略部 担当部長 |
| 西　　勝英 | 熊本大学 名誉教授 |
| 西出　宏之 | 早稲田大学理工学術院 教授 |
| 西谷　孝子 | ナノキャリア株式会社 |
| 半田　　誠 | 慶應義塾大学医学部 教授 |
| 平澤　博之 | 千葉大学 名誉教授 |
| 福島　昭二 | 神戸学院大学薬学部製剤学 准教授 |
| 藤井　寿一 | 東京女子医科大学 教授 |
| 藤島清太郎 | 慶應義塾大学医学部　准教授 |
| 船津　昭信 | （財）化学及血清療法研究所 理事長 |
| 外　須美夫 | 九州大学大学院医学研究院 教授 |
| 堀　　進悟 | 慶應義塾大学医学部 教授 |
| 堀　　原一 | 筑波大学 名誉教授 |
| 堀之内宏久 | 慶應義塾大学医学部 准教授 |
| 宮尾　秀樹 | 埼玉医科大学総合医療センター 教授 |
| 村田　　満 | 慶應義塾大学医学部 教授 |
| 湯浅　晋治 | 順天堂大学 名誉教授 |
| 米川　元樹 | 社会医療法人北楡会 理事長 |

（ア順敬称略）

# 日本血液代替物学会 会則

第1章 総 則

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

第2条：（事務局）本会の事務局は当分の間，会長の所属機関内に置く．

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

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

第4条：（事業）本会は前条の目的達成のため，次の事業を行う．

1）総会，年次大会(一般演題も含める)，研究講演会，シンポジウムなど．

2）会誌“人工血液”の刊行．

3）その他本会の目的に沿った事業．

第2章 会 員

第5条：（種別）本会会員は次の分類とする．

1）正会員 本会の目的に賛同する個人で所定の手続きを行い，会費を納入した者とする．

2）賛助会員 本会の目的を賛助する団体または個人とする．

3）維持会員 本会の目的を賛助する団体または個人であり，本会の維持に格段の協力をする会員をいう．

第6条：（会費）会員は，つぎの種別に従って会費を納めなければならない．

1）正 会 員 年額 1万円

2）講読会員 年額 6千円

3）学生会員 年額 5千円

4）賛助会員 年額 1口以上（1口20万円）

5）維持会員 年額 10口以上（1口20万円）

2．既納の会費はいかなる理由があっても，これを返還しない．

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

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

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

第3章 役員，顧問，評議員および職員

第10条：（設置および定数）本会に次の役員を置く．

1）会 長 1名

2）副会長 1名以上5名以内

3）理 事 7名以上15名以内(会長，副会長を含む)

4）監 事 2名

5）顧 問 若干名

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

2．顧問は，会長が委嘱し，その任期は役員の任期に準ずる．

第12条：（任期）役員および監事の任期は2年とし，再任を妨げない．

第13条：（会長）会長は，各事業を司り本会を代表統括する．

第14条：（副会長）会長を補佐し会長に事故があるときはその代理となる．

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

第16条：（監事）監事は，資産の状況および理事の会務執行状況を監査する．

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

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

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

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

2．職員人事は会長が任命権者となり，有給とする．

第４章　年次大会長

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

第21条：（選任）大会長および副大会長は，評議員の中から，理事会の議決によって選任される．

２．理事会の議決によって，副大会長を次年度の大会長とすることができる．

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

第５章　会　議

第23条：（会議）本会の会議は，つぎの３種とする．

１）理事会
２）総　会
３）評議員会

第24条：（理事会）理事会は，理事をもって構成する．

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

第25条：（総会）総会は，通常総会，臨時総会の２種とし，会長が召集する．

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

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

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

２．出席会員の３分の２以上の同意があったときは，あらかじめ通知しなかった事項について審議し，議決することができる．

第28条：（審議事項）次の事項は，通常総会の承認を求めなければならない．

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

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

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

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

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

２．会長は評議員会の議長となる．

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

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

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

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

第６章 資産及び会計

第35条：（資産）本会の資産は次の通りとする．

１）会　費
２）寄付金
３）事業にともなう収入

4） 資産から生じる果実
5） その他の収入

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

第37条：（寄付の受領）寄付金品は，理事会の議決を経てこれを受領する．

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

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

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

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

第7章 会則の変更ならびに解散

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

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

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

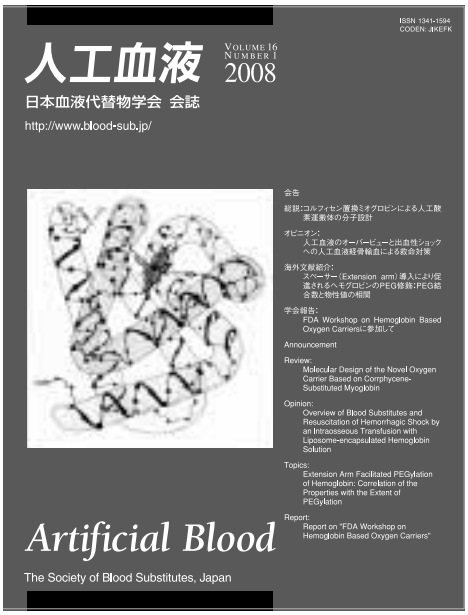
第8章 補 則

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

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

# Call for Papers

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




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

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

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

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

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

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

ii) Submission by post of four sets of hardcopies.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Examples:


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


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

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

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

16) Address for manuscripts to be sent:

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

# 投稿規定（平成20年9月30日改訂）

本誌は，血液を構成するあらゆる成分について，その代替物を開発する研究に貢献する論文，関連する情報，学会会員のための会報，学会諸規定等を掲載するが，形式にはこだわらず創意ある投稿を広く集める．本誌への投稿者は本学会会員であることが望ましいが，投稿を希望する者は誰でも投稿することが出来る．原稿掲載の採否は，査読結果に従って編集委員会が決定する．原著論文について，他誌に既発表あるいは投稿中の論文は掲載しない．

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

ワープロを用いて作製した原稿の投稿を原則とする．ただし，手書き原稿による投稿でも受け付ける．欧文による投稿を歓迎する．

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

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

ii）ハードコピー4部を郵送する．

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

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

4）原稿はA4版の大きさとし，第1頁には表題，英文表題，著者名，全著者所属，英文著者名，英文著者所属，続いて連絡の取れる著者（corresponding author）の住所，英文住所を記入する．手書き原稿の場合はB5版，1行20字，20行とする．

5）「原著論文」，「総説」，「トピックス」，「オピニオン」については，第2頁以降に和文抄録，Keywords（英文で6個程度）を付け，最終頁または別紙に英文抄録を付けること．

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

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

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

9）句読点はコンマ（,）ピリオド（.）とする．

10）文中の英語に使用するフォントは，Times, Helvetica, Courier, Symbolを原則とし，英文半角小文字とする．ただし，文頭および固有名詞は大文字で書きはじめること．

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

12）FigureとTable：引用順にそれぞれ番号を付けること．表題，説明，図表中文字は，全て英文とすることが好ましい．本文中に挿入箇所を明記すること．Figureは直接オフセット印刷とする．Tableは編集部にて入力し原図とする．

13）文献：本文に引用した順序に番号を付け，文中では[2], [3-5], [1, 4-6]などとする．文献の記載法はthe Vancouver styleに従う．全著者名．論文題名．誌名　西暦発行年；巻数：頁～頁．とし，誌名の省略は医学中央雑誌またはIndex Medicus に準拠する．単行本の場合は全著者名．題名．編集者名．書名．発行地：発行書店，年号；頁～頁．の順とする．電子文献の場合は，ホームページ名．改行してアドレス（引用した西暦年月）とする．

（例）

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

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

15）二次掲載について．本誌は，他の言語ですでに掲載された論文を和文で二次掲載することは二重投稿ではなく正当な掲載と認めるが，著者は以下の事項を遵守する．

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

これらの要件を満たしている場合は，その旨を明記して，総説または論文記事（二次掲載）として投稿する．

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

17）掲載料．掲載料は無料とし，論説，総説，原著，報告等については別刷り30部を贈呈する．それを越える分についての費用は著者の負担とする（およそ1部100円）．カラー写真掲載・アート紙希望などの場合は，著者の実費負担とする．

18）原稿の送付先

〒160-8582　東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
日本血液代替物学会　会誌「人工血液」編集部　宛
電話：03－5363－3493，FAX：03－5363－3499
E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp

# 人工血液
日本血液代替物学会会誌

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


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

日本血液代替物学会　会誌「人工血液」に投稿した論文

表題
Manuscript Title: _____

_____

_____

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

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

平成　　年　　月　　日

Date:

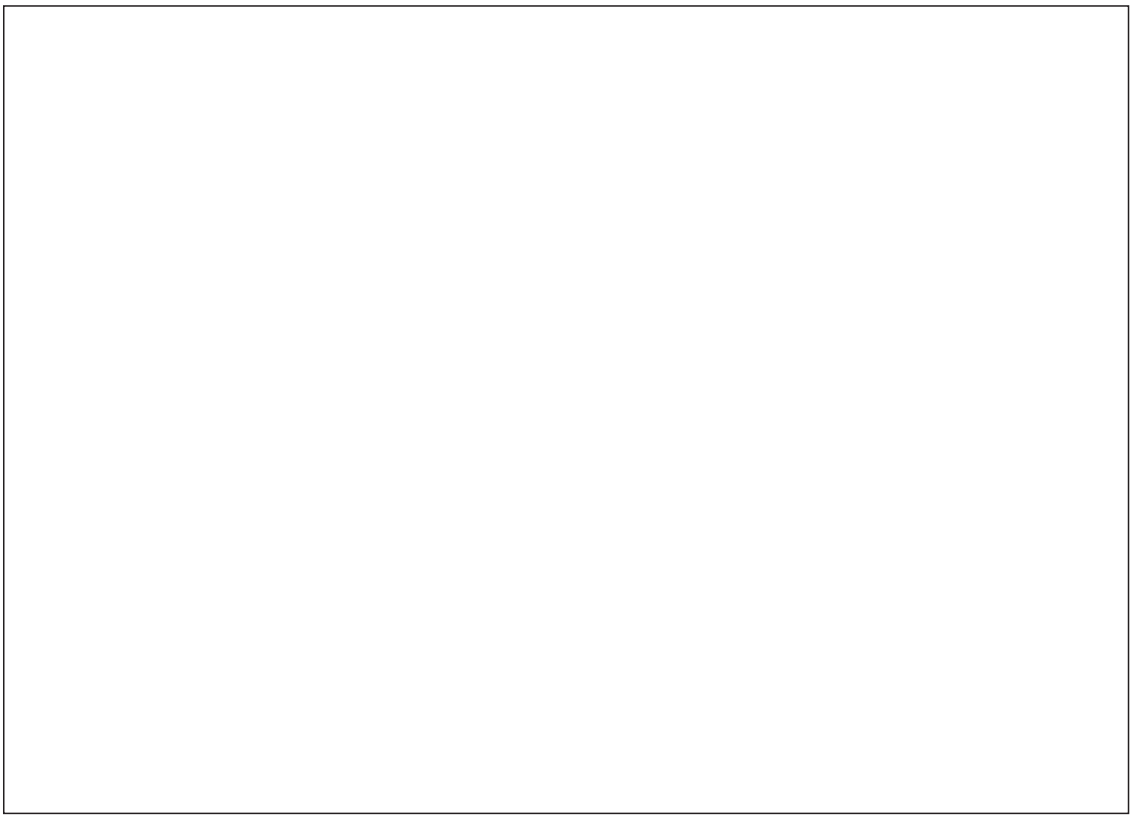
代表著者（署名）
Corresponding Author（Signature）_____

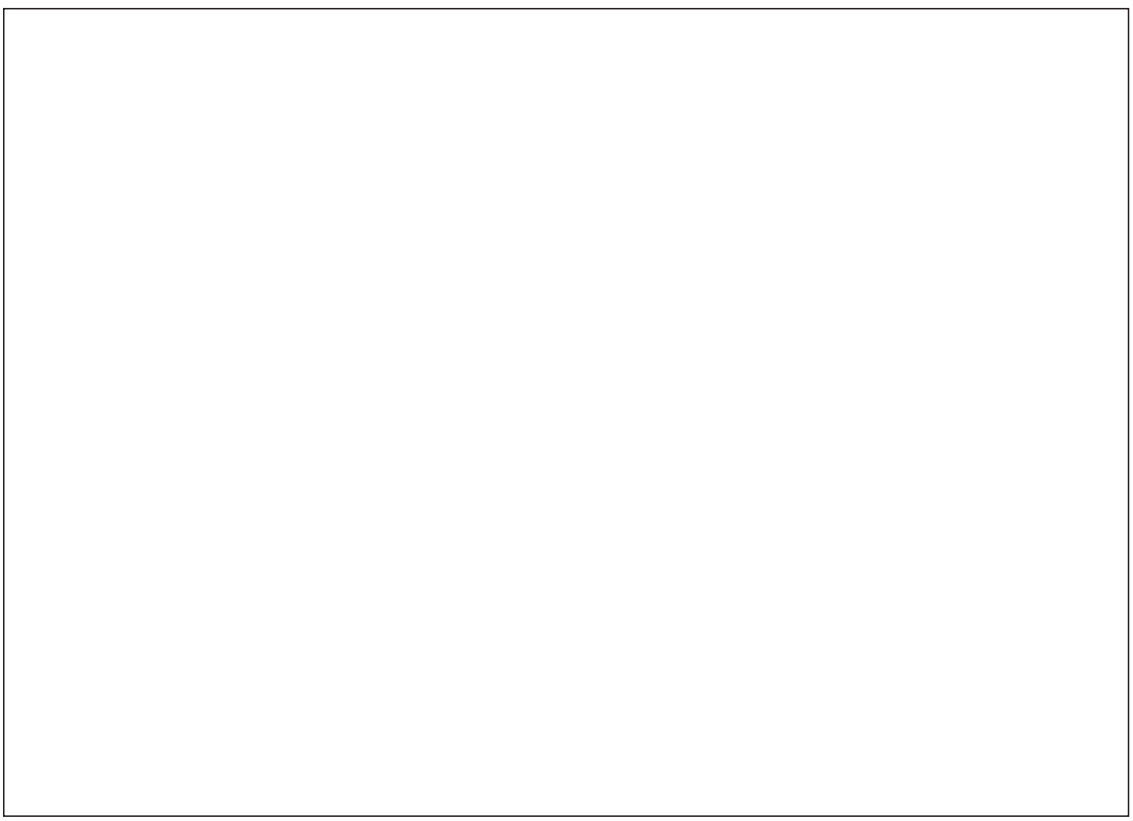
連絡先
Contact Address:

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


日本血液代替物学会　会誌「人工血液」編集部
〒160-8582　東京都新宿区信濃町35　慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
TEL：03－5363－3493　FAX：03－5363－3499　E-mail：amorjsbs@sc.itc.keio.ac.jp

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





●編集後記●

人工赤血球の歴史は，輸血の歴史の一駒である．その輸血の歴史が，それも黎明期の歴史が，本誌に掲載された松田先生・清水先生の論文によって変わることになる．輸血の教科書には1919年に日本で初めて輸血が実施されたと記載されているが，調査の結果，これよりもずっと前（1867-1910年）に，輸血が行なわれていたと考えられる記述があることが解ったのである．このような重要な論文を本誌に投稿してくださったことに対し，著者の皆様に心より感謝申し上げます．

江藤先生は昨年開催された第18回日本代替物学会年次大会（大会長：米川元樹先生）にて特別講演をして頂きました．血小板再生について御寄稿をお願いし，快諾頂きました．今をときめくiPSを用いた血球産生についての可能性をまとめて下さいました．

本誌は慢性的に投稿数が不足しておりますため今号も大幅に発行が遅れたことをおわび申し上げます．会員の皆様には，是非とも御寄稿・話題提供に御協力を頂きたく，よろしくお願い申し上げます．

**編集委員会**

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

**日本血液代替物学会　会誌**

**人工血液** vol.19（3）　2012年4月27日発行

■**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

〒160-8582　東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
TEL（03）5363-3493　FAX（03）5363-3499

〒160-8582　東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
TEL（03）5363-3493　FAX（03）5363-3499

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