ISSN 1341-1594
CODEN: JIKEFK

人工血液

VOLUME 20
NUMBER 1
2012

日本血液代替物学会 会誌

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

第19回年次大会プログラム

The 19th Annual Meeting Program

Artificial Blood

The Society of Blood Substitutes, Japan

人工血液

第 20 巻　第 1 号　2012 年 10 月

目　次

第19回年次大会プログラム
大会長挨拶 …… 3
お知らせとお願い …… 4
大会日程表 …… 6
交通案内図 …… 7
プログラム …… 8
抄録 …… 10

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 20 No. 1 October, 2012

Contents

The 19th Annual Meeting Program
Address from the President …… 3
Information …… 4
Schedule …… 6
Venue and Access …… 7
Program …… 8
Abstracts …… 10

第19回日本血液代替物学会年次大会

The 19th Annual Meeting of the Society of Blood Substitutes, Japan

「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目指して—

大会長：東　寛（旭川医科大学 小児科学講座　教授）

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（旭川市神楽3条7丁目）

ランチョンセミナー：平成24年10月26日（金）
12：10-12：50「虚血肢治療の現状と問題点」

年次大会事務局
〒078-8510　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
TEL：0166-68-2481
FAX：0166-68-2489
E-mail：ketsueki-daitai@asahikawa-med.ac.jp

大会長挨拶

第19回日本血液代替物学会年次大会を主催させていただくことになりました。欧米で開発が進んでいた非細胞型の人工酸素運搬体は、安全性への疑問が投げかけられ今後の展望を模索している状況です。一方、我が国で開発がつづけられている細胞型酸素運搬体は、ヒトヘモグロビン分子を脂質の2重膜（リポソーム）に包埋したもので、その酸素運搬体としての有効性や大量投与での安全性に関する基礎的なデータが長い時間をかけて着実に蓄積されてきました。その結果、実際にヒトへの投与を行う段階に来ています。

臨床の場では、緊急を要する大出血が起こることがあり、その時に人工血液代替物を即座に使用することができれば、救命できると思われる局面が実際にあります。こういった局面で人命を救助することを可能にするためにも、ヒトへの臨床治験を一日もはやく実現する必要があると思います。

一方で、組織へ酸素を運搬することが、単に低酸素状態の組織を保護するだけではなく、それを積極的に治療に応用しようという試みも現実味を帯びてまいりました。即ち、酸素治療薬としての臨床応用の可能性であります。

今回の年次大会のタイトルを「細胞型血液代替物のあらたな展開 ―酸素治療薬としての臨床応用を目指して―」とさせていただいたのも、このような背景があったからです。

どのような形にせよ、一日もはやく、日本で開発されてきた細胞型人工酸素運搬体のヒトへの投与を実現させ、これを世に送り出すことができるよう、この年次大会がその後押しとなることができるよう、皆様のご協力を心よりお願い申し上げます。

第19回日本血液代替物学会年次大会
会長　東　寛

お知らせとお願い

■会員・参加者の方へ

＜会場＞

旭川大雪クリスタルホール（旭川市神楽３条７丁目）

＜受付＞

平成24年10月25日（木）9：00から

平成24年10月26日（金）9：10から

＜参加登録＞

参加登録費は10,000円です．事前参加登録はおこないません．

ネームカードをお渡ししますので，所属・氏名を各自でご記入ください．会期中は会場内で必ず着用ください．

＜新入会受付＞

日本血液代替物学会に未入会の方は，受付で入会手続きをおとり下さい．

会費は，正会員10,000円，購読会員6,000円，学生会員5,000円です．

＜抄録集＞

抄録集は会員全員に事前送付しています．当日お忘れなくご持参ください．

また，当日，受け付けにて一部1,500円で販売しています．

＜呼び出し＞

場内での呼び出しは行いません．

＜懇親会＞

懇親会を開催いたします．参加費は2000円です．ふるってご参加ください．

日時：平成24年10月25日（木）18：00から

場所：大雪地ビール館 1階

（旭川市宮下通11丁目1604番地の１　TEL：0166-25-0400）

■演者の先生へ

●発表時間

1．一般演題　：15分（発表10分，質疑応答５分）

2．特別講演　：60分

3．トピックス：40分

※発表１分前に予告ランプ，終了時に赤ランプが点灯します．くれぐれも時間厳守にてお願いします

●受付場所，受付時間

1．PC受付，発表データの受付は1階ロビーで行います．

2．受付は，10月25日，26の両日9：00より開始します．

※演者の先生は発表の30分前までに，受付をお済ませ下さい．

・発表形式と使用機材

1．発表形式はパソコンによるプレゼンテーションのみとします．

2．PCはご自分で操作をお願いします．
演台上にモニター，キーボード，マウスを用意します．

3．会場で用意するPCのOSはWindows７です．

4．使用出来るアプリケーションは，Windows Power Point 2010，2007，2003です．
＊（Mac版PPT，Keynoteには対応しておりません．）
Macintoshで作成されたデータはPC本体をお持ち下さい．

・**データの作成について**

1．データの作成はMicrosoft Office Power Pointでお願いします．

2．フォントは下記でお願いします．
日本語：MSゴシック，MSPゴシック，MS明朝，MSP明朝
英語：Arial，Arial Black，Century，Century Gothic，Times New Roman

3．動画ファイルはWindows Media Playerで再生できるものでお願いします．事前に再生出来るかご確認下さい．

4．画面の解像度はXGA（1,024 ×768ピクセル）ですので画面の設定をXGAに合わせて下さい．

5．発表データにリンクファイル（静止画・動画・グラフ等）がある場合は発表分のPower Pointファイルとリンクファイルを１つのフォルダにまとめて保存して下さい．事前にデータを作成したPC以外でのチェックをお願いします．

6．発表データをCD-R等にコピーする時には，ファイナライズ（セッションのクローズ・使用したCDのセッションを閉じる）作業を必ず行って下さい．

・**受付方法**

1．メディア持参の発表者

＊ 発表用データをUSBフラッシュメモリまたはCD-Rに保存してご持参下さい．また，保存の際にはデータのファイル名を「(演題番号)（氏名)」として下さい．

＊ メディアの中には当日発表分のデータのみ入れて下さい．

＊ コピーさせていただいた発表データは学会終了後事務局が責任を持って消去いたします．

＊ 発表データ保存媒体はPCセンターでの受付終了時に返却いたします．

＊ データを**メディアで持参出来るのはWindowsのみ**です．

2．PC本体持参の発表者（**Macintosh使用の方など**）

＊ お持込みいただくPCはmini D-sub 15pinのモニター出力端子が必要です．この端子が無いPCをご使用の場合は別途変換コネクタを必ず持参下さい．

＊ Macを使用の発表者は必ず外付けのコネクタをご持参下さい．

＊ 電源アダプターを必ずお持ち下さい．

＊ スクリーンセーバー，ならびに省電力設定は予め解除して下さい．

＊ 万一に備えバックアップ用のデータ（USBメモリ，CD-R）をご持参下さい．

＊ PCセンターで受付と確認を済ませましたら，発表会場内のオペレーター席へPCをお持ち下さい．PCの返却も発表終了後，会場内のオペレーター席で行います．

■各種会議日程

理 事 会：平成24年10月25日（木）11：20～12：20　第一会議室
評議員会：平成24年10月25日（木）12：20～12：50　第二会議室
総　　会：平成24年10月25日（木）12：50～13：20　大会議室

■大会事務局

〒078-8510　旭川市緑が丘東２条一丁目１-１
旭川医科大学　小児科学講座
ＴＥＬ：0166-68-2481
ＦＡＸ：0166-68-2489
E-mail：ketsueki-daitai@asahikawa-med.ac.jp

学会のホームページにて，最新のお知らせ，注意事項，プログラム等を掲載してゆきます．合わせてご確認，ご利用ください．

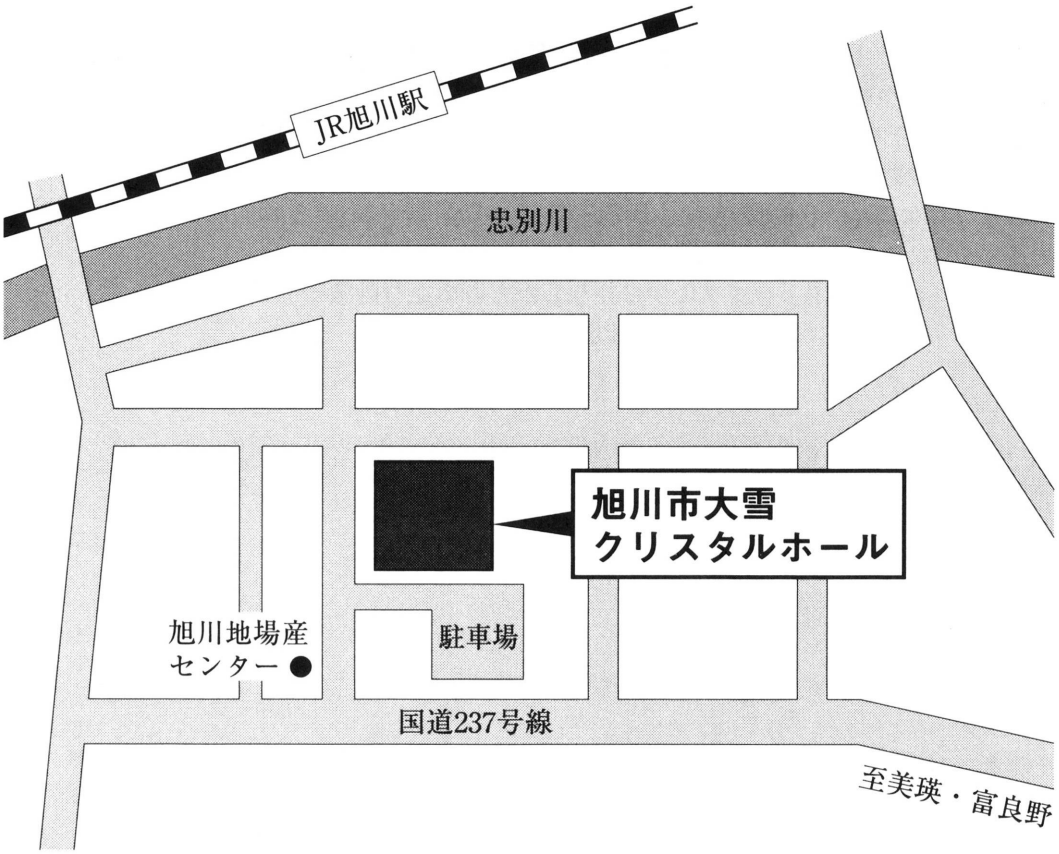
日本血液代替物学会ホームページ　http://www.blood-sub.jp/info/announce.html

大会日程表

	平成２４年１０月２５日（木）	平成２４年１０月２６日（金）
9:00	9:00 - 9:25 受付 9:25 開会の辞	9:10 - 9:40 受付
9:30	9:30 - 10:30 一般演題１ 司会：藤原満博（日本赤十字社北海道ブロック血液センター） 演者：大柿　滋（熊本大学） 南雲恒平（熊本大学） 藤原満博（日本赤十字社北海道ブロックセンター） 酒井宏水（早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所）	9:40 - 10:55 一般演題２ 司会：小田切優樹（崇城大学） 演者：太田英伸（国立精神・神経研究センター） 勢司泰久（慶應義塾大学） 酒井宏水（早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所） 百武　徹（横浜国立大学） 冨田大樹（中央大学）
10:00		
10:30	10:30 - 11:10 トピックス 「再生因子（HGF）の神経系における機能と神経再生医療への展開の可能性」 演者：船越　洋（旭川医科大学） 司会：東　　寛（旭川医科大学）	
11:00		11:00 - 12:00 特別講演II 「臓器保存から臓器蘇生への展開」 演者：小林英司（自治医科大学） 司会：堀之内宏久（さいたま市立病院）
11:30	11:20 - 12:20 理事会（第一会議室）	
12:00		12:00 - 12:50 ランチョンセミナー 「虚血肢治療の現状と問題点」 演者：東　信良（旭川医科大学） 司会：東　　寛（旭川医科大学）
12:30	12:20 - 12:50 評議員会（第二会議室） 12:50 - 13:10 休憩	
13:00	13:10 - 13:40 総会（大会議室）	13:00 - 15:10 シンポジウム２ 「人工血小板開発の現状」 司会：武岡真司（早稲田大学） 松野一彦（北海道大学） 演者：藤山敦史（早稲田大学） 丸山　徹（熊本大学） 土井麻美（早稲田大学） 萩沢康介（防衛医科大学校） 木下　学（防衛医科大学校）
13:30	13:40 - 15:40 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」 司会：小林紘一（慶應義塾大学） 高折益彦（東宝塚さとう病院） 演者：堀之内宏久（さいたま市立病院） 田口和明（熊本大学） 【招待講演】 演者：Dr. Plock（University Hospital Zurich） 「Hemoglobin Vesicles and Wound Healing」	
14:00		
14:30		
15:00		15:10 閉会の辞
15:30	15:40 - 15:50 休憩	
16:00	15:50 - 16:50 特別講演Ｉ 「新たな臓器保存液開発への挑戦 −ET-Kyoto液−」 演者：坂東　徹（京都大学） 司会：古川博之（旭川医科大学）	
16:30		
17:00		
17:30		
18:00		
18:30		

交 通 案 内

旭川市大雪クリスタルホール 案内図



年次大会会場

旭川大雪クリスタルホール
〒070-8003
北海道旭川市神楽３条７丁目
TEL：0166-69-2000

懇親会会場

大雪地ビール館　１階
〒070-0030
北海道旭川市宮下通11丁目1604番地の1
TEL：0166-25-0400

年次大会会場までのアクセス

■ＪＲ線

・「旭川駅」より、徒歩約30分
・「旭川駅」から、バス「１条通７丁目（！EXC前）より乗車、「神楽４条７丁目（大雪アリーナ前）」下車　徒歩３分
　⑫番乗り場
　・電気軌道バス　80番、81番
　⑪番乗り場
　・道北バス　14番、39番、43番他
・「旭川駅」から、タクシー 約５分

平成24年10月25日(木)

9:25　開会の辞

9:30〜10:30　一般演題1

司会：藤原満博（日本赤十字社北海道ブロック血液センター）

1.「出血性ショックモデルラットにおける一酸化炭素付加型赤血球の肝チトクロームP450保護効果」
　大柿　滋（熊本大学大学院薬学教育部）

2.「ESI-TOF/MSを用いたシステイン付加型ヒト血清アルブミンの検出と機能相関 －慢性肝疾患の影響－」
　南雲恒平（熊本大学大学院薬学教育部）

3.「空リポソームの投与によるex vivoでのラット脾臓T細胞の増殖抑制における細胞周期調節タンパクの関与」
　藤原満博（日本赤十字社北海道ブロックセンター）

4.「人工赤血球（ヘモグロビン小胞体）をブタに少量投与したときの血行動態に関する検討」
　酒井宏水（早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所）

10:30〜11:10　トピックス

「再生因子（HGF）の神経系における機能と神経再生医療への展開の可能性」
　船越　洋（旭川医科大学教育研究推進センター）

司会：東　　寛（旭川医科大学）

11:20〜12:20　理事会（第一会議室）

12:20〜12:50　評議員会（第二会議室）

12:50〜13:10　休憩

13:10〜13:40　総会（大会議室）

13:40〜15:40　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」

司会1：小林紘一（慶應義塾大学医学部）

司会2：高折益彦（東宝塚さとう病院）

1.「固形腫瘍組織の酸素加による治療効果の増強」
　堀之内宏久（さいたま市立病院呼吸器外科）

2.「細胞型人工酸素運搬体 ヘモグロビン小胞体のカニクイザルへの大量投与の結果からみた実効性」
　田口和明（熊本大学大学院薬学教育部）

3.【招待講演】「Hemoglobin Vesicles and Wound Healing」
　Dr. Plock（University Hospital Zurich, Switzerland）

15:40〜15:50　休憩

15:50〜16:50　特別講演Ⅰ

「新たな臓器保存液開発への挑戦 -ET-Kyoto液-」
　坂東　徹（京都大学大学院医学研究科 呼吸器外科学）

司会：古川博之（旭川医科大学第二外科）

平成24年10月26日(金)

9:40〜10:55　一般演題 2

司会：小田切優樹（崇城大学薬学部）

1.「ラット妊娠母体におけるヘモグロビン小胞体の胎盤通過性」
　太田英伸（国立精神・神経研究センター 精神保健研究所）

2.「メチレンブルー及びアスコルビン酸を配合した還元剤によるヘモグロビン小胞体の酸素運搬機能延長の試み」
　勢司泰久（慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター）

3.「メチレンブルーによるヘモグロビン小胞体の酸素運搬機能持続の機序に関する検討」
　酒井宏水（早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所）

4.「微小血管内における人工赤血球の酸素運搬モデルに関する研究」
　百武　徹（横浜国立大学大学院工学研究院）

5.「人工ヘム蛋白質（ヘモグロビン－アルブミン）クラスターの開発」
　冨田大樹（中央大学理工学部応用化学科）

11:00〜12:00　特別講演Ⅱ

「臓器保存から臓器蘇生への展開」
　小林英司（自治医科大学先端医療技術開発センター）

司会：堀之内宏久（さいたま市立病院呼吸器外科）

12:00〜12:50　ランチョンセミナー

「虚血肢治療の現状と問題点」
　東　信良（旭川医科大学第一外科）

司会：東　　寛（旭川医科大学）

13:00〜15:10　シンポジウム 2

「人工血小板開発の現状」

司会 1：武岡真司（早稲田大学大学院先進理工学研究科）

司会 2：松野一彦（北海道大学大学院保健科学研究院）

1.「血小板代替物 H12-(ADP) リポソームの物理化学的評価法の確立」
　藤山敦史（早稲田大学大学院先進理工学研究科）

2.「血小板代替物 H12 (ADP) リポソームの体内動態に及ぼす血小板減少症の影響」
　丸山　徹（熊本大学大学院薬学教育部）

3.「血小板減少病態時におけるH12-(ADP) liposomeの止血能に果たすH12ドデカペプチドの役割について（出血前投与による検討）」
　土井麻美（早稲田大学大学院先進理工学研究科）

4.「大量出血後輸血による血小板減少状態下で進行する肝外傷出血に対してH12 (ADP) リポソーム同時投与は血小板投与と同等の止血および救命効果を有する」
　萩沢康介（防衛医科大学校生理学）

5.「血小板代替物 H12 (ADP) リポソーム開発の必要性－大規模災害時への対策の 1 つとして－」
　木下　学（防衛医科大学校免疫微生物）

15:10　　閉会の辞

特別講演 I

新たな臓器保存液開発への挑戦 －ET-Kyoto 液－

板東　徹

京都大学大学院医学研究科 呼吸器外科学

低温・凍結，乾燥などの環境ストレス下で細胞膜保護効果を有する二糖類トレハロースを，臓器保存に利用するというコンセプトで，1994 年，我々は，ET-Kyoto 液を肺保存液として開発した．肺保存に最適の保存液を開発することを目指して，血管内皮細胞やラット，ラビット，イヌを用いた in vitro，ex vivo，in vivo の基礎研究を積み重ねた結果，この保存液が，既存の臓器保存液に比べて，優れた肺保存効果を有すること，トレハロースが他の糖類（グルコース，スクロース，マルトース，ラフィノース）に比べて優れていること，Na^+濃度＝100 mm/L，K^+濃度＝40 mmol/L 付近の陽イオン組成が肺保存に適していること，陰イオン成分としては，バッファー能を有する HPO_4^-よりも，グルコネートが重要であること，コロイドとして平均分子量の大きな HES が有用であることを突き止めた．さらに，細胞内メッセンジャーとして細胞内の cAMP，cGMP を維持する目的で，db-cAMP とニトログリセリンを添加した new ET-Kyoto 液が，従来の ET-Kyoto 液の肺保存効果をさらに向上させることが明らかにされた．2002 年より，この new ET-Kyoto 液を，実際に臨床肺移植に使用を開始し，これまで全国で約 80 例の肺移植で用いられている．京都大学での 2011 年末までに同液を用いた 45 例の肺移植での使用成績では，特に脳死移植において，平均 8 時間を超える長時間の虚血時間にもかかわらず，移植後の肺機能は良好に維持されており，また，長期成績も移植後の 5 年生存率が 82.5%と，国際統計での 5 年生存率 53%と比較して，十分に満足すべき結果であった．

肺以外の臓器・組織保存に関しても，他部門・他施設との共同研究として ET-Kyoto 液の効果を検討した結果，ラット臓器（腎，肝，心）保存，ラビット皮膚弁保存などの動物実験においても ET-Kyoto 液の有効性が示された．また，臨床腎移植，膵島移植，切断指保存でも優れた臓器・組織保存効果が認められた．さらに，こうした検討から，保存液の効果には臓器別に特異性があることも明らかになり，今後，各臓器・組織毎の至適な保存液組成や保存方法の確立に向けてさらなる検討を要すると思われる．

今後は，ET-Kyoto 液を用いた過冷却保存や持続灌流保存の可能性の検討，幹細胞保存などの再生医療分野における ET-Kyoto 液の有用性の検討など進めていきたいと考える．

特別講演Ⅱ

臓器保存から臓器蘇生への展開

小林英司

自治医科大学 先端医療技術開発センター

20 世紀の奇跡の医療と言われた臓器移植では、「脳死ドナー」から摘出された臓器を“鮮度”を落とすことを最低限にするため冷臓状態(4℃）で保存された。臓器移植の臨床的発展に伴って、1980 年－2000 年にかけて、摘出臓器を還流しながら冷保存する手法（還流冷保存）と単純に冷浸漬する手法（単純浸漬冷保存）が開発されたが、後者は簡便であり、それに適する優れた保存液が開発された。一方、世界的な臓器不足から 2000 年以降「心停止ドナー」を利用する試みが再度なされ始めた。心停止状態のドナーに直ちに送血チューブを挿入し、酸素化血液を流しながら臓器を摘出する手法（NECMO）や摘出臓器に酸素化血液を回路で送り移植に備える手法(ex vivo perfusion)を駆使するものである。いずれも、温度を過度に低下させることなく、血液を用いて臓器・組織間のガス交換を再開させることで、死に至る臓器を蘇生させようとするものである。今、本領域で血液に代わる酸素運搬体が注目を集めている。

先に我々は、臓器のバイアビリテーや酸素化の程度を可視化するシステムとして世界に先駆け全身にルシフェラーゼ遺伝子組み込んだトランスジェニック（Luc-Tg）ラットを作出した。従来の臓器保存液のスクリーニング(Negishi 2011)のみならず、移植臓器の回復度を評価できる (Iwai 2012)。さらに光合成を利用して呼吸不全に陥らせたラットとのガス交換や心停止後に摘出した膵臓の蘇生に成功した(Yamaoka 2012)。本講演では、これらの実験データを紹介し、本学会に関わる幅広い領域の人工酸素運搬体の研究者とともに将来の臓器蘇生について討議したい。

再生因子（HGF）の神経系における機能と神経再生医療への展開の可能性

船越　洋[1]，島田（大谷）若菜[1]，角山圭一[2]，加藤貴史[3]，北村和也[4]，中村雅也[4]，戸山芳昭[4]，岡野栄之[5]，青木正志[6]，中村敏一[3]

[1]旭川医科大学教育研究推進センター，[2]姫路獨協大学薬理学，[3]大阪大学先端科学イノベーションセンター，[4]慶應義塾大学整形外科，[5]慶應義塾大学生理学，[6]東北大学神経内科

２１世紀は脳科学の時代と言われ研究が精力的に進められているが，神経疾患の克服にはいたっていない．我々は，この課題に対して肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor: HGF）に注目し研究を行っている．

HGF は，長らく不明であった肝再生因子の本体として，1984 年に初代培養肝細胞の増殖活性を指標に血清より部分精製され，1989 年にヒト HGF 遺伝子がクローニングされた（Nakamura *et al.*, **BBRC**, 122:1450, 1984; Nakamura *et al.*, **Nature** 342:440, 1989）．生物活性として HGF は肝細胞増殖活性に加えて，発見当初の予測を遥かに凌ぐ多彩な機能（増殖・分化・遊走・抗アポトーシスなど）を持つことが明らかとなった．特にその旺盛な器官再生促進作用は多くの臓器で認められ，リコンビナント HGF 投与例では急性，慢性肝炎や肝硬変，急性，慢性腎不全，心虚血，拡張性心筋症，肺繊維症動物モデルで著しい治療効果を認めている．

本講演では，HGF のもつ神経系に於ける *in vitro*，*in vivo* における多彩な生理活性について紹介するとともに，筋萎縮性側索硬化症（ALS），脳梗塞，脊髄損傷等の神経難病のモデル動物に対する HGF の治療効果を紹介する．また，私達は神経変性疾患の１つのモデルで HGF が神経新生促進作用を示すことを明らかにした．このことから，一旦神経細胞数が減少した疾患に対する神経再生医療への適用への可能性が示唆されている．最後に現在私達が大阪大学，東北大学，慶應義塾大学とともに進めている HGF の神経再生医療への臨床適用に向けての取り組みについても紹介したい．

Reference: Funakoshi H. and Nakamura T., Hepatocyte Growth Factor (HGF): Neurotrophic Functions and Therapeutic Implications for Neuronal Injury/Diseases. *Current Signal Transduction Therapy,* 2011, *6,* 156-167

固形腫瘍組織の酸素加による治療効果の増強

堀之内宏久[1]，山本尚志[2]，勢司泰久[3]，山本　学[4]，泉　陽太郎[5]，酒井宏水[6]，小松晃之[7]，小林紘一[5]

[1]さいたま市立病院呼吸器外科，[2]ニプロ㈱医薬品研究所，[3]慶應義塾大学総合医科学研究センター，[4]足利赤十字病院呼吸器外科，[5]慶應義塾大学医学部呼吸器外科，[6]早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所，[7]中央大学理工学部

はじめに

悪性新生物による死亡は、1981 年以来国民の死亡原因の第 1 位であり、疾患の克服には治療の進歩が必要である。悪性腫瘍は未熟な腫瘍循環に支配されるため、腫瘍細胞は低酸素環境にあり、このために照射や化学療法に対して抵抗性である。

人工酸素運搬体は血漿相に分布し、生理的な赤血球のみの酸素運搬を上まわる酸素運搬が可能で、かつ、Plasma flow となっている未熟な血管にも循環するため、腫瘍組織の組織酸素分圧を上昇させ照射等の治療効果を増強すると考えられる。

放射線治療は局所治療の大きな柱であり、機器の発達に伴い、病巣に集中的に高線量の照射が可能となり、高い効果も報告されているが、根治に至らない症例も少なくない。

人工酸素運搬体による腫瘍の酸素加と照射の抗腫瘍効果増強について検討を行ってきたので、その成果を踏まえ、ヒトでの応用の可能性について報告する。

方法

人工酸素運搬体としてはアルブミンヘムおよびヘモグロビン小胞体について検討を行った。

1．まずアルブミンヘムの検討では Donryu ラットに発生した腹水肝癌である LY80 を用いた。LY80 を Donryu ラット右大腿鼠径部に移植し、腫瘍径が 10 ㎜となった時点で実験を開始した。照射は特注のプロテクターを用い、腫瘍領域のみに 20Gy が 1 回で照射されるように調節した。アルブミンヘムは腹部下大動脈よりの動注とし、100%酸素加した状態で投与した。照射は投与とほぼ同時に開始した。照射後の腫瘍の成長を毎日計測し、検討した。

2．ヘモグロビン小胞体では Lewis 肺癌株を用い、C57BL の足背に移植し、直径が 10 ㎜となった時点で HbV の静注直後に照射を行い腫瘍の成長速度を計測した。

結果

アルブミンヘムは動注後 8 分間にわたり腫瘍内酸素分圧を上昇させる事が明らかとなった。また照射と組み合わせることで照射単独群よりも腫瘍の成長を有意に抑制することができた。ヘモグロビン小胞体を用いた検討では、p50 の異なるヘモグロビン小胞体を準備し（通常型（p50=34mmHg）及び高酸素親和型（p50=5mmHg））を用いて検討を行った。高親和性のヘモグロビン小胞体は静脈内投与により腫瘍の酸素加は約 30 分間持続し、照射に対する抗腫瘍効果の増強も確認された。

考察

人工酸素運搬体による腫瘍の酸素加は動注では 8 分程度、静注でも 30 分程度得られることが明らかとなり、この酸素加が明らかな時期を治療のターゲットとすることで抗腫瘍効果が得られた。人工酸素運搬体の投与量はアルブミンヘムでは循環血液量の 17%、HbV では 20%であった。選択的動注により、腫瘍のみに薬剤を投与することにより投与量をコントロールして最大限の効果を期待することができると考えられ、臨床での応用が期待される。前厚生労働省科学研究班ではこの方針のもと企業と連携し PMDA の戦略薬事相談を行った。

細胞型人工酸素運搬体 ヘモグロビン小胞体のカニクイザルへの大量投与の結果からみた実効性

田口和明[1]，酒井宏水[2]，堀之内宏久[3]，小林紘一[3]，丸山　徹[1]，小田切優樹[1,4,5]

[1]熊本大学大学院薬学教育部，[2]早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所，[3]慶應義塾大学医学部呼吸器外科，[4]崇城大学薬学部，[5]崇城大学 DDS 研究所

医薬品を開発する過程の中で，前臨床段階として製剤化試験，薬理試験，薬物動態試験，さらには毒性試験など多くの段階を経て，その有効性と安全性を確立していく必要がある．細胞型人工酸素運搬体であるヘモグロビン小胞体 (HbV) は様々な *in vitro* 試験に加え，マウス，ラット，ウサギ，ビーグル犬，ミニブタなどを用いた *in vivo* 試験において物理化学的特性や有効性及び安全性が証明されており，今後の臨床試験への導入が期待される．HbV の臨床試験への移行を想定した場合，齧歯類や中型動物における前臨床評価に加え，ヒトと同じ霊長類であるサルを用いた評価も重要であると考えられる．その主な理由として，サルにおける試験結果は，(i)ヒトに医薬品を投与した後の生体反応性を予測する上で有用である，(ii) 臨床試験のプロトコール作成を行う際に有益な情報になる，ことが挙げられる．そのため，霊長類，特にカニクイザルやアカゲザル，における各種評価は前臨床試験の重要評価事項の一端を担っており，多くの医薬品開発段階で評価が行われている．しかしながら，これまでに HbV を霊長類に投与し生体反応性を評価した報告はほとんどない．我々は 4 匹の雄性カニクイザルに HbV を 1400 mg Hb/kg で単回投与し，HbV 投与 14 日後までの生体反応性 (血行動態，生化学パラメータの変動)，血中滞留性について観察を行った．本シンポジウムでは，これまでに我々が明らかにしてきた健常・病態モデルマウス，ラットに加え，カニクイザルに HbV を単回大量投与した後の生体反応性及び血中動態の結果から示唆される HbV の安全性，有効性について報告する．また，種差の違いからみた HbV のヒトにおける実効性についても考察した．

【参考文献】

Taguchi K *et al.* Drug Metab Rev. (2011) 43(3):362-73.
Taguchi K *et al.* J Drug Metab Toxicol. *in press*

Hemoglobin Vesicles and Wound Healing

Jan A. Plock, Nassim Rafatmehr, Eishun Tsuchida, Hiromi Sakai, Dominique Erni

Division of Plastic and Hand Surgery, University Hospital Zurich, Switzerland
Department of Clinical Research, University of Bern, Switzerland
Advanced Research Institute for Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

Oxygen plays a crucial role in the healing of traumatic and surgical wounds. Oxygen is defined by the product of volumetric blood flow and oxygen content in the arterial inflow of a certain tissue compartment. If blood perfusion is reduced, as due to injury or occlusion of the feeding vessel, critical ischemia may occur. This is leading to impaired healing of surgical or traumatic wounds and results in considerable morbidity.

The rationale of developing artificial oxygen carriers, such as perfluorocarbons and hemoglobin-based compounds, was to replace the need of blood transfusions required after excessive blood loss in order to avoid their drawbacks including immunologic reactions, blood-borne transmitted infections, limited availability and restricted storage time. Whereas the artificial oxygen carriers were initially supposed to increase oxygen carrying capacity, a new perception of their action has emerged, which consists in targeted oxygen release to the tissues in need. In this concept, the artificial oxygen carrier serves as an oxygen therapeutic rather than as a red blood cell substitute.

Wound healing complications may occur in tissues that are rendered ischemic and hypoxic due to interruption of their axial blood supply due to surgery, trauma or arterial occlusive disease. Initially developed to replace blood transfusions, artificial oxygen carriers have emerged as an option to treat hypoxia in such conditions. The aim of this study was to target primary wound healing and wound margin survival in critically ischemic skin by systemic application of liposomal hemoglobin vesicles (HbVs). Two cranially based skin flaps measuring 30 x 15 mm were raised on the back of anesthetized mice and sutured back to their original position. The animals were treated with HbV solutions with physiological (P50 = 25 mmHg, HbV25) or increased (P50 = 9 mmHg, HbV9) oxygen affinity immediately and 1 day after surgery. HbV9 improved tissue survival from 33% (untreated animals) to 57% of the total flap surface, and the length of the healed suture line between the ischemic flaps was increased from 6.6 mm to 12.7 mm (both $p < 0.05$). No such benefit was observed in animals receiving HbV25 or 0.9% NaCl.

We conclude that left-shifted HbVs may ameliorate wound margin survival and primary wound healing in critically ischemic skin.

血小板代替物 H12-(ADP) リポソームの物理化学的評価法の確立

藤山敦史，池田康夫，武岡真司

早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻

【緒言】

フィブリノーゲン由来ドデカペプチド(HHLGGAKQAGDV; H12)をポリエチレングリコール(PEG)鎖末端に担持させ，かつ，リポソーム内に血小板凝集惹起物質である ADP を内包させたリポソーム(H12-(ADP)リポソーム)は，止血能を有し，血小板減少症モデル動物の出血時間を短縮することが報告されている [1]．H12-(ADP)リポソームは，H12 を介して活性化血小板間を架橋し，ADP 放出による血小板の更なる活性化を通して止血能の向上が期待されている．

本研究では，H12-(ADP)リポソームの仕様や物性評価に関して，精緻な解析を行うためにリポソームの構成脂質の混合比の解析方法および H12 担持量の定量方法を検討した．

1) Okamura, Y. *et al.J. Thromb. Haemost.* **7**, 470-477 (2009).

【実験】

H12-(ADP)リポソームの構成脂質である DPPC，cholesterol，DHSG，PEG-DSPE，H12-PEG-Glu2C_{18} およびそれらの混合脂質(DPPC/cholesterol/DHSG/PEG-DSPE/H12-PEG-Glu2C_{18}=5/5/1/0.033/0.033)の核磁気共鳴(NMR)スペクトルを測定した．膜組成解析に利用するために，各試料の NMR スペクトルから各脂質に固有のピークを対象とした．

また，アミノ基蛍光標識試薬であるフルオレスカミンと DPPC，cholesterol，DHSG，PEG-DSPE，H12-PEG-Glu2C_{18} をそれぞれ反応させ，蛍光強度を測定した．フルオレスカミンと各脂質との反応性を測定し，H12 担持量の定量への応用可能性を調べた．

【結果と考察】

各脂質の NMR スペクトルを解析したところ，DPPC，cholesterol，DHSG，PEG は，それぞれ 3.36 ppm，5.35 ppm，4.56 ppm，3.6 ppm において，他の脂質とは共有しないピークの存在が認められ，NMR によるリポソーム膜の組成解析が可能となった．また，フルオレスカミンは H12-PEG-Glu2C_{18} にのみ蛍光を標識できることから，これを用いた H12 担持量の蛍光定量が可能となった．

以上の膜組成の解析方法および H12 担持量の定量方法の確立により，H12-(ADP)リポソームの仕様に関してより精緻な評価が可能となった．

Establishment of methodology for physical and chemical properties of H12-(ADP)liposomes as platelet substitutes.

Atsushi Fujiyama, Yasuo Ikeda, Shinji Takeoka

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

Tel: +81-3-5369-7324, E-mail: wisteria-mail@toki.waseda.jp

血小板代替物 H12 (ADP) リポソームの体内動態に及ぼす血小板減少症の影響

丸山　徹[1,2]，田口和明[1]，氏平隼人[1]，渡邊博志[1,2]，新井愛美[3]，池田康夫[3]，武岡真司[3]，半田　誠[4]，小田切優樹[5,6]

[1]熊本大・院・薬，[2]熊本大学薬学部付属育薬フロンティアセンター，[3]早稲田大学理工学術院，[4]慶應義塾大学医学部，[5]崇城大・薬，[6]崇城大・DDS 研究所

【目的】 血小板減少時には濃縮ヒト血小板による輸血治療が施行されているが，ウイルス感染の危険性が否定できない上，保存期間が短いなど，解決すべき課題が残されている．H12 (ADP) リポソームは，リン脂質二重膜表面にフィブリノーゲンγ鎖 C 末端 (H12) を担持し，内部に ADP を内包した製剤であるが，血小板減少モデル動物を用いた *in vivo* 検討において，ヒト血小板に匹敵する止血効果を発揮することから，血小板代替物としての臨床応用が期待されている．しかしながら，前臨床試験段階において必須項目である体内動態に関する検討はほとんど行われていない．本研究では，健常動物（マウス，ラット，ラビット）における H12 (ADP) リポソームの薬物速度論的解析結果を基盤として，体内動態パラメータに及ぼす血小板減少症の影響について検討し，本製剤の有効性及び安全性を薬物動態学的観点から評価した．

【方法】 リポソームの脂質膜を構成するコレステロールと内包された ADP を，それぞれ ^{3}H 及び ^{14}C で標識した ^{3}H・^{14}C-H12 (ADP) リポソームを，マウス，ラット，ラビットに投与し(10 mg lipid/kg)，経時的に，血漿，尿中，糞中及び臓器中の放射活性を測定した．また，得られた結果をモーメント解析し，各種体内動態パラメータを算出した．ブスルファンをマウスの腹腔内に投与して，血小板減少症モデル動物を作製し，^{3}H・^{14}C-H12 (ADP) リポソームの体内動態を評価した．

【結果及び考察】 マウス及びラットを用いて H12 (ADP) リポソームの体内動態を解析した結果，本製剤は二相性の血中濃度推移を示し，主に肝臓及び脾臓に分布した後，脂質成分は主に糞中へ，他方，ADP はげっ歯類における最終代謝産物であるアラントインに代謝され，主に尿中へ排泄されることが判明した．投与後 7 日後には，各臓器中の放射活性が消失したことから，H12 (ADP) リポソームの臓器蓄積性は低いものと推察された．マウス，ラット，ラビットにおける体内動態解析結果から，アニマルスケールアップを行い，ヒトにおける H12 (ADP) リポソームの血中平均滞留時間（MRT）を外挿したところ，約 141 時間と予測された．また，血小板減少症モデルラットにおける体内動態解析から，血小板減少状態では，肝臓への分布の増大と体外排泄の促進により，H12 (ADP) リポソームの血中滞留性は若干低下するものの，代謝・排泄経路や臓器蓄積性は大きく影響されないことが判明した．

以上，本研究から得られた知見により，血小板代替物としての H12 (ADP) リポソームの有効性及び安全性を，動態学的観点から支持することができた．

血小板減少病態時におけるH12-(ADP)liposomeの止血能に果たすH12ドデカペプチドの役割について(出血前投与による検討)

○土井麻実[1]，木下　学[2]，西川可穂子[3]，萩沢康介[4]，柳川錬平[5]，半田　誠[6]，池田康夫[1]，武岡真司[1]

[1]早稲田大学大学院先進理工学研究科，[2]防衛医科大学校免疫微生物学，[3]防衛医科大学校救急部，[4]防衛医科大学校生理学，[5]防衛医科大学校防衛医学講座，[6]慶應義塾大学医学部

【諸言】フィブリノーゲンγ鎖ドデカペプチド(H12 ドデカペプチド)を表面に結合させ血小板凝集惹起物質のadenosine5'-diphosphatate(ADP)を内包したリポソーム(H12-(ADP)リポソーム)は，出血部位付近の活性化血小板同士を架橋し血小板凝集を促進させることで，血小板減少時の致死的な臓器出血を制御出来ることをこれまで出血前の投与の *in vivo* 試験にて明らかにしてきた．しかし，臓器出血の際には臓器自身からも大量のADPが放出されることが予想されるため，本研究では *in vivo* におけるH12-(ADP)リポソームの止血能に大きく関わっている因子を特定するために血小板減少病態モデルウサギを用いてADP未内包のH12-(PBS)リポソームを投与した際の止血能と生存率の検討を行った．

【実験】NZWウサギの大腿静脈にカニュレーションを行い，1回25mLの動脈血を脱血するとともに洗浄赤血球を輸血することを繰り返し行い，血小板数を50x10^3/μLまで低下させて血小板減少病態モデルウサギを作製した．本モデルにおいて，肝臓の外傷性臓器出血作製の10分前にH12-(PBS)リポソームを投与し，これが肝臓の臓器出血制御に及ぼす影響を，血小板を多く含むplatelet-rich plasma(PRP)とH12-(ADP)リポソームを陽性対照群，凝固因子は含むが血小板をほとんど含まないplatelet-poor plasma(PPP)やH12を表面に担持していない(ADP)リポソームの投与を陰性対照群として，比較した．

【結果と考察】血小板減少病態モデルウサギを用いた止血能評価実験において陽性対照群であるH12-(ADP)リポソームが最も止血能を示し，次いでADP未内包のH12-(PBS)リポソームが陰性対照群である(ADP)リポソームよりも優位に高い生存率を示した．このことより，H12-(ADP)リポソームは出血部位においてH12ドデカペプチドが最初に活性化血小板同士を架橋することが止血能に大きく関わっていることが示唆された．

Study of the role of H12 dodecapeptide for the hemostatic ability of H12-(ADP) liposome in the thrombocytopenia model.

Mami Doi[1], Manabu Kinoshita[2], Kahoko Nishikawa[3], Kosuke Hagisawa[4], Rimpei Yanagawa[5], Makoto Handa[6], Yasuo Ikeda[1], Shinji Takeoka[1]

[1]Department of Life Science and Medical Bioscience, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, [2]National Defense Medical College Immunology and Microbiology, [3]National Defense Medical College, Traumatology and Critical Care Medicine, [4]National Defense Medical College, Physiology, National Defense Medical College, Medicine defense, [6]School of Medicine, Keio University　Tel: +81-3-5369-7324, E-mail: mami.d927@gmail.com

大量出血後輸液による血小板減少状態下で進行する肝外傷出血に対してH12(ＡＤＰ)リポソーム同時投与は血小板投与と同等の止血および救命効果を有する

萩沢康介[1]，木下　学[2]，西川可穂子[3]，柳川錬平[4]，土井麻美[5]，武岡真司[5]，斎藤大蔵[6]，関　修司[2]，西田育弘[1]

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

【背景】外傷性大量出血に対しては出血量に応じて，細胞外液輸液そして濃厚赤血球輸血を行うのが一般的である．我々はそのような大量輸液による希釈性の凝固異常を生じ，なおかつ止血のコントロールがつかない重篤な状況をウサギ低血小板肝臓出血モデルとして確立している．今回，肝臓出血が進行する状況下でのH12(ＡＤＰ)リポソームの同時投与が止血治療ならびに救命効果を発揮するか検討した．

【方法】家兎の大腿動静脈より脱血および洗浄赤血球輸血を繰り返し(平均 250mL)，急性血小板減少状態を生起した．その後，肝臓に直径５mmの欠損孔を作成し oozing 出血を持続させた．出血後，圧迫止血を行いながら，ただちにH12(ＡＤＰ)リポソームを投与するもの，自己の血小板（platelet rich plasma:ＰＲＰ）を投与するもの，血漿(platelet poor plasma:ＰＰＰ)のみ投与するもので，24 時間の生命予後と臓器出血量について比較した．

【結果】脱血･輸血により血小板の低下($<5\times10^4/\mu L$)し，肝損傷部からの出血はＰＰＰ群では止血不能で全例が数時間で出血死したが，ＰＲＰとH12(ＡＤＰ)リポソーム群は平均 25 分で止血され，約半数例を救命できた．

【結語】低血小板状態で進行する出血に対して，H12(ＡＤＰ)リポソーム投与が血小板輸血と同等の止血ならびに救命効果を発揮し，血小板代替物として機能することを確認した．

シンポジウム2-5

血小板代替物 H12 (ADP) リポソーム開発の必要性―大規模災害時への対策の１つとして―

木下　学[1]，萩沢康介[2]，西川可穂子[3]，柳川錬平[4]，西山靖将[4]，半田　誠[5]，関　修司[1]

[1]防衛医科大学校免疫微生物，[2]同 生理学，[3]同 救急部，[4]同 防衛医学，[5]慶應義塾大学医学部輸血細胞療法部

東日本大震災では広範な地域が被災したため交通網の寸断は深刻なものとなり，医療用機材や医薬品の供給に多大な支障を来した．一方，このような大規模震災では救助を求める傷病者が同時大量発生することも現実のものとなり，かつ傷病者の救助は寸断され麻痺した交通網の中で一刻を争うものであった．自衛隊が有する機動力が大いに活用される場面も多々あった．さらに人口集中地帯における首都直下地震や東海地震は，発生の有無を問うのではなく今や発生時期が問題となっている段階で（if ではなく when），その対策は急務である．阪神淡路大震災で遭遇したような建物倒壊や事故などによる外傷患者のより深刻な大量発生が懸念される．中でも外傷性の大量出血を来たした患者には迅速な輸血が必要となってくるが，保存血輸血のみでは血小板がないため出血は制御出来ず，止血救命には外科処置と共に血小板輸血が必要となってくる．しかし，輸血用血小板は保存期限が 1 週間程度と短く大量保存が不可能なため，大震災時には輸血用血小板の極端な不足が懸念される．血小板代替物 H12 (ADP) リポソームは生体由来の材料を全く用いず作製出来るため，血液型をあわせる必要がなく，さらにエイズや肝炎など血液感染症の危険もなく，また本来の血小板のように振とうしながら厳重な温度管理をして保存する必要もなく静置だけで血小板のほぼ 25 倍の 6 カ月間は保存出来，大量生産も可能である．H12 (ADP) リポソームは，出血部位に付着した活性化血小板に結合し，そこで血中にわずかに残った血小板を集めて血栓を効率よく形成し止血するため，出血部位以外では血栓を作らず，血栓症の副作用はないと考えられる．大量出血と大量の赤血球輸血で血小板が減少したウサギの肝臓に臓器損傷を作製するとほとんどが出血死したが，H12 (ADP) リポソームの前投与で血小板輸血と同様に全例の止血救命に成功した(J. Thromb. Haemost., *in press*). このような顕著な止血効果を持つ血小板代替物 H12 (ADP) リポソームは大震災などの際に大量に発生であろう大出血を来たした患者に対する止血救命治療に大いに役立つと期待され，国民の安心・安全のために寄与出来るものと考えている．

一般演題1-1

出血性ショックモデルラットにおける一酸化炭素付加型赤血球の肝チトクローム P450 保護効果

大柿　滋[1], 田口和明[1], 渡邊博志[1,2], 丸山　徹[1,2], 小田切優樹[3,4]

[1]熊本大・院・薬, [2]熊本大・薬・育薬フロンティアセンター, [3]崇城大・薬, [4]崇城大・DDS 研究所

【緒言】我々は，出血性ショックに伴う赤血球 (RBC) 輸血時には，チトクローム P450 (CYP) の肝発現量が低下すること，対照的に一酸化炭素 (CO) を RBC に付加した CO-RBC 輸血は，肝 CYP に対して保護的に作用することを見出した．本検討では，CO-RBC 輸血時に観察される肝 CYP 機能に対する保護効果の詳細と機序解明を目的として，CO-RBC による肝 CYP 保護過程におけるクッパー細胞の関与について評価した．

【方法】血液量の 40%を脱血することで出血性ショックモデルラットを作成した．等容量の RBC または CO-RBC により蘇生し，蘇生 1 及び 24 時間後における肝 CYP (CYP1A2, 2C11, 2E1, 3A2) 発現量を Western blotting 法により検討した. 加えて, CYP 分子種 (CYP1A2, 2C11，2E1 及び 3A2) 特異的基質薬物 (カフェイン，トルブタミド，クロロゾキサゾン及びミダゾラム) を混合した CYP カクテルを尾静脈内投与 (2.5 mg/kg) 後の体内動態について検討した．また，クッパー細胞不活剤であるガドリニウム塩化物 ($GdCl_3$) (10 mg/ kg, i.p.) または抗酸化剤である Trolox (2.5 mg/ kg, i.v.)で前処置後，同様の検討を行った．

【結果及び考察】健常群と比較して，RBC 蘇生群では，蘇生後 1 時間における肝 CYP 発現量の有意な低下と，それに伴う CYP 基質薬物の血漿中濃度の上昇が認められた．一方，CO-RBC 蘇生群では，CYP 発現量が維持されていたため，健常群と類似した血漿中薬物濃度推移を示した．そこで，CO-RBC による CYP 保護メカニズムを解明するために，虚血再灌流時に活性化される肝クッパー細胞及び産生が亢進する活性酸素に及ぼす CO-RBC 蘇生の影響を検討した．クッパー不活化剤である $GdCl_3$, または抗酸化剤である Trolox による前処置後，出血性ショックモデルラットに RBC 蘇生を行ったところ，蘇生後 1 時間における肝 CYP 発現量の低下はいずれの処理群においても観察されなかった．これらの結果より，大量出血に伴う RBC 輸血では，クッパー細胞の活性化や酸化ストレスの亢進に伴い肝 CYP 発現量が低下するものの，CO-RBC 輸血では，肝 CYP 発現量は維持されることが判明した．また，この機序として，CO によるクッパー細胞活性化の阻害や抗酸化作用が重要な役割を果たしているものと推察された．以上の知見から，CO-RBC は CYP 保護の観点から，大量出血時における蘇生剤として有用な可能性を見出すことができた．

一般演題1-2

ESI-TOF/MSを用いたシステイン付加型ヒト血清アルブミンの検出と機能相関　-慢性肝疾患の影響-

○南雲恒平[1]，杉森剛志[1]，山田尚之[2]，窪田和幸[2]，渡邊博志[1,3]，巽島　優[1,3]，田中元彦[4]，佐々木　裕[4]，丸山　徹[1,3]，小田切優樹[5,6]

[1]熊本大・院・薬，[2]（株）味の素イノベーション研究所，[3]熊本大・薬・育薬フロンティアセンター，[4]熊本大・院・医，[5]崇城大・薬，[6]崇城大・DDS研究所

【目的】ヒト血清アルブミン（HSA）は，血中に最も豊富に存在する血清タンパク質であり，リガンド輸送能，抗酸化能など様々な機能を併せ持つタンパク質であり，34番目に唯一遊離状態で存在するシステイン残基（Cys34）を有している．ところで，肝疾患のような酸化ストレス関連疾患では，HSAの翻訳後修飾が亢進しその機能が変化する可能性が考えられる．このことは，慢性肝疾患時におけるCys34のレドックス状態の解析が，HSA機能の低下，ひいては病態の進展を予測する上でのバイオマーカーになり得る可能性を示唆している．そのため本研究では，ESI-TOF/MSを駆使し，慢性肝疾患時におけるCys34の酸化修飾を分子レベルで解析する新たな測定法を確立するとともに，得られた結果とHSAの機能や病態との関連性について検討した．

【方法】健常人及び慢性肝硬変患者(Child Pugh A, B,C)から採取したHSAをESI-TOF/MSで測定した．その際，MSスペクトルをMaxEnt法によりデコンボリューション処理した．また，血漿中の酸化ストレスはdROMs testにより解析した．健常人及び慢性肝疾患患者よりHSAを単離・精製し，その機能解析（抗酸化活性，リガンド結合能）を行った．抗酸化活性は，DPPHに対するラジカル消去能により評価した．リガンド結合実験では，サイトI及びサイトIIマーカーとして，それぞれビリルビン及びL-トリプトファンを用い，これらの結合性を健常人と肝疾患患者で比較した．

【結果】健常人及び慢性肝疾患患者由来のHSAをESI-TOF/MSで測定し解析した結果，慢性肝疾患患者の場合，Cys34の修飾体の大半はHSA-Cysであった．興味深いことに，HSA-Cysの程度は肝疾患の重症度に依存していた．これらサンプルの酸化ストレスをdROMsテストにより測定したところ，病態の進展に伴う血中酸化ストレスの亢進が判明した．また，HSA-Cysの割合と血中酸化ストレスマーカーとの間に有意な正の相関関係が認められた．このことから，HSA-Cysの含有率は，血中の酸化ストレスを反映したものであることが確かめられた．次に，単離・精製したHSAを用いて，そのラジカル消去能及びリガンド結合能を評価した．その結果，健常人に比べて，肝疾患患者群では抗酸化活性やリガンド結合能の有意な低下が観察された．興味深いことに，これらHSAの機能変化はHSA-Cysの割合と相関していた．また，肝硬変治療の標準薬である分岐鎖アミノ酸製剤を投与した患者群では，HSA-Cysの有意な低下とHSA機能の回復が認められた．従って，ESI-TOF/MSによるHSA-Cysのモニタリングは，慢性肝疾患における病態進行の予測や薬物療法の治療効果を判定する上での有用なバイオマーカーとなりうる可能性が示された．

空リポソームの投与による ex vivo でのラット脾臓 T 細胞の増殖抑制における細胞周期調節タンパクの関与

藤原満博[1]，東　寛[2]，池田久實[3]，酒井宏水[4]，堀之内宏久[5]，髙本　滋[1]

[1]日本赤十字社北海道ブロック血液センター，[2]旭川医科大学小児科学講座，[3]日本赤十字社北海道赤十字血液センター，
[4]早稲田大学総合研究機構バイオサイエンス連携研究所，[5]慶應義塾大学医学部呼吸器外科

【目的】

これまでラットの免疫系へのヘモグロビン小胞体(HbV)の影響を，摘出脾細胞の ex vivo での培養系において非特異的マイトジェン Concanavalin A (ConA) や特異抗原 Keyhole limpet hemocyanin に対する反応性で評価をおこなってきた．その結果，Hb を含まない空リポソームの投与のみで，一過性にこれらの刺激に対する反応性が低下すること，そしてこの低下に Nitric oxide (NO) が関与することを見出している．NO を介した T 細胞の増殖抑制の誘導はさまざまな系において報告され，増殖シグナルの一つである転写因子 STAT5 のリン酸化の抑制が重要とされる場合や，細胞周期を正に制御する cyclin D2，D3 の発現低下および細胞周期を負に制御する p27 kip1 の発現増強が重要とされる場合等が知られている．そこで，今回はこれらのタンパクの挙動に着目し，空リポソーム投与の影響について検討を試みた．

【方法】

雄性 WKAH ラット（8-12 週齢，体重約 220-300 g）を用い，循環血液量の 20% (v/v)に相当する空リポソームまたは対照の生食を輸注した．空リポソームまたは生食を輸注後およそ 16 時間後に脾臓を摘出し，脾細胞を調製した．Con A 刺激に対するラット脾 T 細胞の増殖反応は，蛍光色素 CFSE(Carboxyfluorescence diacetate succinimidyl ester)で標識した細胞の分裂に伴う蛍光強度の低下を，培養 72 時間後に細胞を回収し，フローサイトメトリーにて解析した．また，常法に従って細胞抽出液を調製し，SDS/PAGE 後，イムノブロッティングを行った．NO の関与の検討においては，NO 合成酵素 (NOS) 阻害薬，L-NMMA (N^G-monomethyl-L-arginine ; Alexis Corp.) をラット脾 T 細胞の培養液に添加した．リン酸化 STAT5，STAT5，cyclin D2，cyclinD3，p27 kip1 に対する一次抗体は Cell Signaling Technology 社より購入した．脾細胞の培養上清中の NO 濃度は，Griess Assay Kit により測定した．

【結果】

(1) 空リポソームの投与によって ex vivo での脾臓 T 細胞の増殖が抑制され，この抑制には NO が関与していることを，CFSE 法で再確認した．(2) ConA 刺激による STAT5 のリン酸化が，空リポソームの投与によって減少し，NOS 阻害薬で回復する傾向がみられたがいずれも有意ではなかった．(3) ConA 刺激による cyclin D2，D3 の発現は，空リポソームの投与によって有意に減少し，NOS 阻害薬で回復した．(4) p27kip1 の発現は，空リポソーム投与によって増強することはなく，むしろ減少した．

【考察】

空リポソームの投与による ex vivo での脾臓 T 細胞の NO 依存的な増殖抑制には，細胞周期を正に制御する，cyclinD2 および D3 の発現抑制が関与していると考えられた．

一般演題1-4

人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)をブタに少量投与したときの血行動態に関する検討

酒井宏水[1,2]，鈴木勇司[3]，宗　慶太郎[4]，狩野真由美[3]

[1]早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所，[2]早稲田大学重点領域研究機構，[3]日本バイオリサーチセンター，
[4]早稲田大学先端生命医科学センター

【緒言】ごく少量のリポソーム製剤をブタに投与した際に，補体活性による疑似アレルギー反応により肺動脈圧の上昇，心拍出量の低下，血管抵抗の上昇，血球数の変動など重篤な反応が見られることが Szebeni らによって報告されている．ヘモグロビン小胞体(hemoglobin- vesicles, HbV)もリポソーム製剤の一つであるが，ブタに投与した場合についてはこれまで報告が無かった．本研究では，HbV をブタに少量投与したときの血行動態の変動について確認することを目的とした．

【方法】麻酔下 NIBS ブタ(♂, 33.6±1.0 kg b.w.)にスワンガンツカテーテルを導入した．ヘモグロビン小胞体(HbV), Hb を含有しない空の小胞体(Empty vesicles, EV)，また，比較として補体活性を引き越す事が知られている DPPG を含有する空の小胞体(Conventional Liposome, CL)について，ブタに二回投与した(3 匹 x3 投与群)．一回目は 0.05 mL/kg し，70 分後に 10 倍の 0.5mL/kg を投与した．投与後の血行動態，血球数，トロンボキサン B2 (TXB2)の変動を観察した．また犠牲死の後，肺の電子顕微鏡観察を行なった．

【結果および考察】CL 投与群では，体動脈圧，肺動脈圧の上昇，心拍数の低下，心拍出量の低下，全身血管抵抗，肺血管抵抗が一回目の投与，二回目の投与で繰り返し見られた．一方，HbV 投与群および EV 投与群では，一回目の投与で肺動脈圧の上昇が見られたが，体動脈圧の上昇は軽微であった．また，二回目の投与では顕著な変動は見られなかった．CL 群のみ補体活性のため，血小板数と白血球数の減少が見られ，また血中 TXB2 が上昇した．HbV 群，EV 群では変動は軽微であった．電子顕微鏡観察の結果，肺血管内マクロファージ(pulmonary intravascular macrophage, PIM)が HbV を貪食しており，1 回目の投与による反応は補体活性のほか PIM による非特異的な貪食が関与している可能性が考えられた．HbV は CL とは違った脂質組成をしており，これが生体適合性(疑似アレルギー反応の低減)に寄与していると考えられた．

一般演題2-1

ラット妊娠母体におけるヘモグロビン小胞体の胎盤通過性

太田英伸[1]，李コウ[1]，加賀麻衣子[2]，田口和明[3]，大柿　滋[3]，泉　仁美[1]，稲垣真澄[1]，土屋　滋[4]，岡村州博[2]，小田切優樹[5]，酒井宏水[6]，八重樫伸生[2]

[1]国立精神・神経研究センター 精神保健研究所 知的障害研究部，[2]東北大学病院 周産母子センター，[3]熊本大学大学院 薬学教育部，[4]東北大学病院 小児科，[5]崇城大学 薬学部，[6]早稲田大学 バイオサイエンスシンガポール研究所

【背景】輸血の代用として開発されてきたヘモグロビン小胞体（人工赤血球）は，期限切れのヒト赤血球からヘモグロビンを精製濃縮し，リン脂質小胞体に内包した小球粒子（直径 250nm）である．これまでの研究から，齧歯類モデルにて慢性投与された人工赤血球が細網内皮系で適切に代謝され副作用を伴わないことが確認された．
【目的】妊娠ラット・モデルにて人工赤血球の胎盤移行性と妊娠母体・胎児に与える生理学的影響を評価する．**【方法】**妊娠 Wistar rat に妊娠 16-22 日の 7 日間，人工赤血球(Hb10mg/ml)を 2 ml/kg/day 連日投与した（積算投与量は Hb1400 mg/kg/7 days，全血液量の 25%）．
【結果】ヒト Hb 抗体を用いた免疫染色, 125I にて標識した人工赤血球の投与実験により人工赤血球の胎盤透過性は認められなかった．ヒト Hb 抗体で染色した免疫染色により，人工赤血球は母体側胎盤 labyrinth に留まり，胎児側に移行しないこと，人工赤血球は妊娠母体の脾臓・肝臓・腎臓に存在することを確認した．また胎児肝臓には 125I にて標識した人工赤血球を認めなかった．人工赤血球を連日投与後した妊娠母体・胎児において，体重増加，血算・凝固・生化学的所見において生理食塩水を連日投与した対照群と比較し，有意差を認めなかった．
【結語】人工赤血球は妊娠母体・胎児発育に有害作用を認めず，慢性胎児低酸素症に対する有効な治療に応用できる可能性を示唆した．

一般演題2-2

メチレンブルー及びアスコルビン酸を配合した還元剤によるヘモグロビン小胞体の酸素運搬機能延長の試み

勢司泰久[1]，堀之内宏久[2]，酒井宏水[3]，小林紘一[2]

[1]慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター，[2]慶應義塾大学医学部呼吸器外科，[3]早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所

【目的】生体内に適用されたヘモグロビン（Hb）由来の人工酸素運搬体は次第にメトヘモグロビン（MetHb）へ変化し，酸素運搬機能が低減することが知られている．そこで，劣化したHb小胞体と還元剤を生体内で反応させることによって，酸素運搬機能を回復させる方法について検討した．

【方法】ラットを用いて2種類の検討を行った．還元剤の適用経路を検討する為に，高MetHb含有Hb小胞体を28mL/kg投与して高MetHb血症モデルを作製し，経口（PO），静脈内（IV），皮下（SC）及び腹腔内（IP）の経路からメチレンブルー及びアスコルビン酸混合（MA）液を15mL/kg投与して24hrまで経時的に採血した．続いて，還元剤の効果を検討する為に，自己血ヘマトクリットが約1.5%の高度血液交換モデルを作製して還元剤を経口投与した．群構成は，Hb小胞体交換及びMA液投与（HbV+MA）群，Hb小胞体交換及び生理食塩液投与（HbV+Sal）群，洗浄赤血球交換及びMA液投与（wRBC+MA）群とし，投与量は15mL/kgとした．血液交換終了後48hrまで観察し，経時的に採血した．採取した血液は血液ガス分析装置にて分析した．

【結果】投与経路による還元効果の比較では，各経路ともMetHb比の低下を示したが，PO群が投与24hrまで比較的緩やかな低下を示したのに対し，IV群は急速に，SC及びIP群は更に急激に低下し，24hrで再上昇に転じた．高度血液交換モデルに対する還元剤投与では，HbV+Sal群の全例が48hr以内に死亡したが，HbV+MA群は66.7%，wRBC+MA群は全例とも交換終了後48hr以上生存した．24hrでのMetHb比及び血中乳酸値は，HbV+MA群が18.0±2.4%及び1.3±0.7mmol/L，HbV+Sal群が48.8±0.8%及び6.3±1.4mmol/L，wRBC+MA群が2.6±0.0%及び0.8±0.3mmol/Lであった．更に48hrではHbV+MA群が14.1±4.7%及び2.3±1.0mmol/L，wRBC+MA群が2.6±0.0%及び0.9±0.2mmol/Lであった．

【考察】MA液は，効果発現時間に違いが有るものの，多様な投与経路でのMetHb還元が可能であり，状況に応じた適用方法の選択が可能であった．また還元剤の経口投与では，致死的な高度血液交換条件でも生存性が向上するなど，還元されたHb小胞体が充分に機能していることが示された．

尚，本研究は平成23年度厚生労働省科学研究費補助金を用いて行われた．

一般演題2-3

メチレンブルーによるヘモグロビン小胞体の酸素運搬機能持続の機序に関する検討

酒井宏水[1,2]，林伟莉[3]，李 冰[1]

[1]早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所，[2]早稲田大学重点領域研究機構，[3]Temasek Polytechnic

【緒言】人工赤血球(ヘモグロビン小胞体，HbV)は，メトヘモグロビン還元酵素系を含有しないため，投与後メトヘモグロビン(metHb)含量が次第に増大する．これまでに様々な方法によりその抑制あるいは遅延を検討してきた．学術的に興味深い反応系も見つかったものの，効果が不十分であったり，また HbV の製造法を変更することが必要となっていた．メチレンブルー(MB)はメトヘモグロビン血症に対して有効な治療法として知られているが，最近，勢司らは，MB の併用が HbV の酸素運搬機能の持続に有効である事を動物投与試験から明らかにした．そこで，本研究では MB の作用機序について検討した．

【方法】Isoflurane 麻酔下 Wistar 系ラットにメト化率が約 0%または 50%程度の HbV を投与 (10, 20 mL/kg)，次いでメチレンブルー(MB)水溶液を投与し，メト化率の推移を 5 時間観察した．また *in vitro* の実験として，ラット新鮮血，洗浄赤血球，血漿に対して HbV および MB を添加し，metHb レベルの推移を計測した．アスコルビン酸(AsA)の添加効果についても検討した．

【結果および考察】MB の投与によって，HbV のメト化率は 50%から 10%程度に急激に低下し，約 5 時間低い値を推移した．またその効果は，MB の投与量に依存していた．metHb 含量が 0%の HbV を投与した直後に MB を投与した場合も，metHb の増大を若干遅延させる効果が得られた．In vitro の実験として，新鮮ラット血液をメト化率約 50%の HbV と各種混合比にて好気的条件で混合し，そこに MB を添加したところ，メト化率は瞬時に低下し，約 10%程度にまで還元され，in vivo の還元効果が in vitro で再現された．洗浄赤血球との混合でも同等の効果が得られたが，血漿との混合では還元は見られなかったことから，赤血球の膜蛋白質に含まれる還元酵素系が MB を還元型(MBH)に変換し，この MBH が HbV の脂質膜を透過し，metHb(Fe^{3+})に電子供与して還元型(Fe^{2+})に変換したものと考えられた．赤血球の混合比が低い条件(血液交換率が高い状態)にすると，還元効果は低減した．赤血球の無い状態では，アスコルビン酸(AsA)の添加によって MB が MBH に容易に還元され，HbV 内の metHb が還元された．

以上のことより，HbV の投与量が比較的少ない場合には，MB の単独投与によって MB は体内の赤血球に還元され MBH となりこれが HbV 内の metHb を還元することができる．他方，HbV の投与量が多く(循環血液量の 50%超えるような場合)，輸血治療まで長時間に及ぶ場合には，MB と AsA の併用が有効であることが考えられた．HbV の体内機能寿命の延長のために有効な手段と考えられた．

一般演題2-4

微小血管内における人工赤血球の酸素運搬モデルに関する研究

百武　徹

横浜国立大学大学院工学研究院

【緒言】急速な少子高齢化の到来に伴う輸血用血液製剤不足の解消，また現行の血液製剤に対する様々なリスクの軽減を目指し，現在，赤血球製剤の代替物として，ヘモグロビンをリポソームに封入したカプセル型人工赤血球の開発が進められている．カプセル型人工赤血球の特徴として，その直径が約 200-250nm とヒトの赤血球の 1/30 程度のナノ粒子であり，微小循環系での人工赤血球の利用を考えた場合，血管内のおけるナノ粒子としての人工赤血球の流体力学的挙動，そして，人工赤血球から放出される酸素拡散に対する理解が非常に重要となってくる．特に，微小血管内では，赤血球の存在が重要となるため，赤血球も含めた酸素運搬過程を調べる必要がある．一方で，赤血球は微小血管内において変形しながら流れていくため，その挙動に関しては複雑となり，実験的アプローチのみでは詳細なことは分からない．このようなことから，微小循環系における人工赤血球，および酸素拡散を詳細に解明するためには，数値シミュレーションによる酸素運搬モデルによる解析が有効であると考えられる．

【方法】本研究では，流体力学的観点から血球を含む微小血管内を固液混相流と捉え，微小血管内における変形流動する赤血球の挙動解析に加えて，人工赤血球の拡散およびヘモグロビンの酸素解離を考慮した解析を行った．解析手法としては混相流に有力な手法である格子ボルツマン法（Lattice Boltzmann Method : LBM）という流体解析手法を適用した．また，赤血球に関しては、Immersed boundary method を用いて赤血球の変形を計算した．人工赤血球および酸素とヘモグロビンの解離結合反応に関しては，流体解析に加えて反応拡散方程式を解くことによって，その挙動を調べた．

【結果及び考察】解析の結果，赤血球の存在下での人工赤血球の酸素運搬モデルの構築に成功した．赤血球に関しては，微小血管内をパラシュート型に変形流動する赤血球，および変形に伴う軸集中と血漿層の形成が再現できた．また，反応拡散方程式を解析することにより，さまざまなタイプの人工赤血球に対して酸素分圧の違いにおける組織への酸素拡散の影響を明らかにすることができた．

人工ヘム蛋白質(ヘモグロビン－アルブミン)クラスターの開発

冨田大樹，木村拓矢，小松晃之

中央大学理工学部応用化学科

【緒言】 大規模災害時に予想される輸血液の大量需要への懸念から，臨床利用可能な人工酸素運搬体に対する期待が益々高まっている．我々は，これまでヒト血清アルブミン(HSA, Mw: 66,500)に合成ヘムを包接させたアルブミン－ヘム複合体や，アルブミン変異体にプロトヘムを結合させた遺伝子組換えアルブミン－ヘム錯体が，生理条件下で酸素を可逆的に吸脱着できる人工ヘム蛋白質として機能することを明らかにしてきた．HSA は血漿蛋白質の約 60%を占める単純蛋白質であり，膠質浸透圧維持や薬物運搬などの役割を担っている．また，HSA の分子表面は負に強く帯電しているため，腎臓から排泄されにくい特徴を持つ．本報では，生体内でより効率高く酸素輸送のできる新しい人工酸素運搬体の開発を目的として，ヘモグロビン(Hb, Mw: 64,500)に HSA を共有結合した(ヘモグロビン－アルブミン)クラスター($Hb\text{-}HSA_m$) (Fig. 1)を合成し，その構造，物性，酸素結合能を明らかにしたので報告する．

【実験】 高純度 Hb の PBS 溶液([Hb]=0.1 mM)に，架橋剤 α-succinimidyl-ε-maleimide を添加し，攪拌後，ゲル濾過クロマトグラフィーにより未反応の架橋剤を除去した．その Hb 溶液と HSA の PBS 溶液([HSA]=0.5 mM)を混合し([HSA]/[Hb]=10 (mol/mol))，室温・遮光下で反応させ，$Hb\text{-}HSA_m$ クラスターを合成した．得られた混合物をサイズ排除クロマトグラフィーにより分画精製し，単離した各クラスター成分の蛋白質定量，ヘム定量，CD スペクトル測定を行った．酸素親和性(P_{50})，Hill 係数(n)は Hemox Analyzer を用いて，酸素結合解離速度定数(k_{on}, k_{off})はレーザーフラッシュフォトリシス法を用いて決定した．また，酸素錯体安定度を自動酸化速度定数(k_{ox})より評価した．

【結果と考察】 単離したクラスターの HSA/Hb 比から，各主要成分はそれぞれ Hb に HSA が 1～3 個結合した構造($Hb\text{-}HSA_m$ (m=1～3))であることを明らかにした．$Hb\text{-}HSA_3$ クラスターの AFM 像には，Hb に HSA が 3 分子結合した星型構造が明確に観測された．クラスターの分子径は約 12 nm であり，等電点は HSA と同等の値(pI=4.8)を示した．酸素親和性は調製条件を制御することにより調節可能で，P_{50} は 8～28 Torr (37℃)，n 値は 1.1～2.2 となった．k_{on} は Hb の R 状態，k_{off} は T 状態に近い値であったことから，クラスター内の Hb は R, T 状態の中間構造にあるものと推定される．また，一般に修飾 Hb 製剤の k_{ox} は Hb に比べ高いが，$Hb\text{-}HSA_m$ の k_{ox} は Hb と同等の値に留まった．

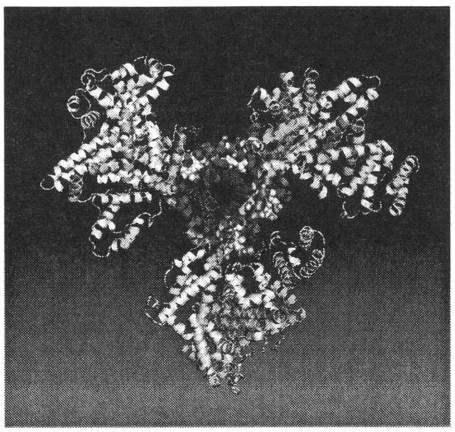
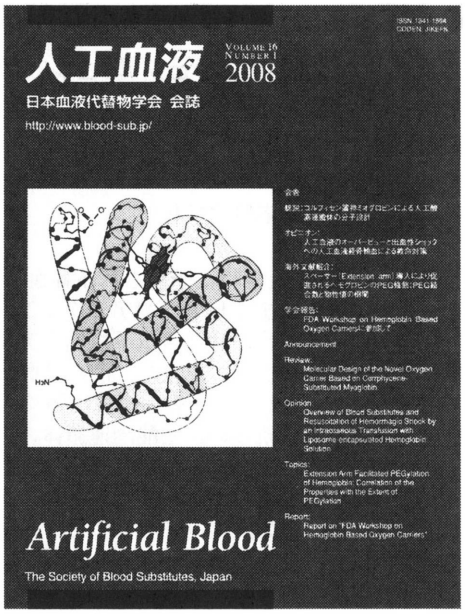


Fig. 1 Molecular model of $Hb\text{-}HSA_3$ cluster.

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
E-mail : amorcito@a5.keio.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
E-mail：amorcito@a5.keio.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:

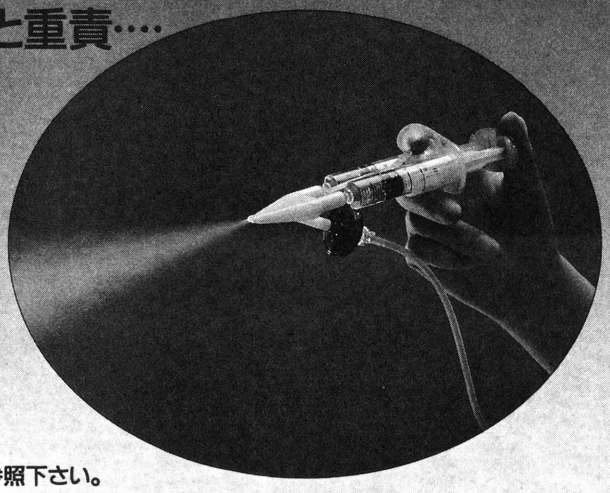
（本用紙はコピーしたものを使用されても結構です.）
This form may be photocopied for use.

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
E-mail：amorcito@a5.keio.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
E-mail：amorcito@a5.keio.jp

Bolster & Heal

献血であることの誇りと重責….



献血由来 生体組織接着剤

ボルヒール®

BOLHEAL® 指 ■健保適用

●ご使用に際しましては製品添付文書をご参照下さい。

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

製造元・販売 化血研
熊本市大窪1-6-11 〒860-8568

資料請求先：帝人㈱医薬事業本部第2学術部
化学及血清療法研究所営業部

BO11T9810 作成年月1998年10月

B52

にっぽんの血液製剤です。

献血であることの誇りと重責……

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

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

冷蔵保存から室温保存になりました。

指定医薬品

血漿分画製剤

献血由来 静注用人免疫グロブリン製剤

献血ベニロン®-I

〈乾燥スルホ化人免疫グロブリン〉

生物学的製剤基準

薬価基準収載

Kenketsu Venilon®-I

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

総発売元・販売 TEIJIN 帝人株式会社
医薬医療事業本部 〒100-8585 東京都千代田区内幸町2-1-1
資料請求先：帝人㈱医薬医療事業本部学術情報部

製造元・販売 化血研 財団法人 化学及血清療法研究所
熊本市大窪一丁目6番1号 〒860-8568
Phone096-344-1211/Fax096-345-1345
資料請求先：(財)化学及血清療法研究所営業管理部

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

VE16-9908 作成年月1999年11月

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.20（1）　2012年10月1日発行

■**発行**　日本血液代替物学会　〒160-8582　東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
TEL (03) 5363-3493　FAX (03) 5363-3499

■**編集・制作**「人工血液」編集委員会　〒160-8582　東京都新宿区信濃町35
慶應義塾大学医学部呼吸器外科内
TEL (03) 5363-3493　FAX (03) 5363-3499

■**印刷**　株式会社　研恒社　〒102-0073　東京都千代田区九段北1-1-7
TEL (03) 3265-8961　FAX (03) 3264-1995

MEMO

日本血液代替物学会
http:www.blood-sub.jp/