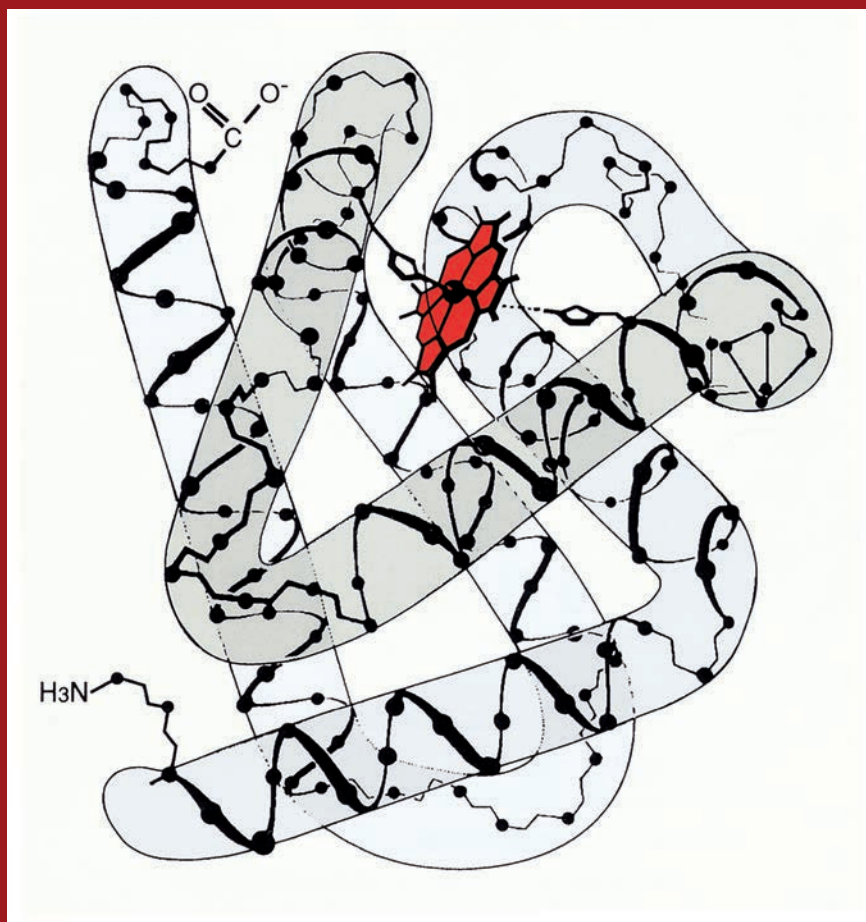


人工血液

VOLUME 28
NUMBER 1
2020

日本血液代替物学会 会誌

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



第27回年次大会プログラム

総説:外傷性大量出血に対する人工血液と輸血治療
の最前線

総説:NADHとヘモグロビンの共存による抗酸化的な
擬似酵素活性と人工赤血球への応用

コラム:内容と名称

報告:第17回国際血液代替物学会
(The 17th-ISBS-2019)を開催して

事務局より

The 27th Annual Meeting Program

Review:
The Cutting Edge of Transfusion for
Applying Blood Substitutes

Review:
Antioxidative Pseudoenzymatic Activity of
NADH coexisting with Hemoglobin and Its
Application to Artificial Red Cells

Column:
Contents vs. Naming

Report: Looking back on The 17th-ISBS-2019

Artificial Blood

The Society of Blood Substitutes, Japan

ひたむきな命の頑張りに、
未来を届ける薬があります。

JB

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

善意と医療のかけ橋



JBキャラクター
ジェイバード (JBird) です。

一般社団法人

日本血液製剤機構
Japan Blood Products Organization



人工血液

第 28 巻 第 1 号 2020 年 11 月

目 次

第 27 回年次大会プログラム

大会長挨拶	3
大会日程表	6
プログラム	7
抄録	10

総説：外傷性大量出血に対する人工血液と輸血治療の最前線…… 萩沢 康介 他 40

総説：NADH とヘモグロビンの共存による抗酸化的な擬似酵素活性と人工赤血球への応用…… 山田 孫平 他 49

コラム：内容と名称…… 高折 益彦 57

報告：第 17 回国際血液代替物学会（The 17th-ISBS-2019）を開催して…… 酒井 宏水 59

事務局たより

ARTIFICIAL BLOOD

Vol. 28 No. 1 November, 2020

Contents

The 27th Annual Meeting Program

<i>Address from the President</i>	3
<i>Schedule</i>	6
<i>Program</i>	7
<i>Abstracts</i>	10

Review: The Cutting Edge of Transfusion for Applying Blood Substitutes
…… Kohsuke Hagsawa, et al. 40

Review: Antioxidative Pseudoenzymatic Activity of NADH coexisting with Hemoglobin and Its Application to Artificial Red Cells
…… Magohei Yamada, et al. 49

Column: Contents vs. Naming…… Masuhiko Takaori 57

Report: Looking back on The 17th-ISBS-2019 …… Hiromi Sakai 59

第27回日本血液代替物学会年次大会

The 27th Annual Meeting of the Society of Blood Substitutes, Japan

『現在そして未来の重大危機に対し、備蓄可能な血液代替物の実用化を！』

大会長：河野 光智（東海大学）

会 期：2020 年 12 月 3 日（木）・4 日（金）

【年次大会事務局】

東海大学医学部外科学系呼吸器外科学内
〒 259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143
TEL：0463-93-1121

大会長挨拶

第27回日本血液代替物学会年次大会をオンライン開催させて頂くことになりました。

2019年末に中国で新型コロナウイルス（COVID-19）感染症が報告されて以来、感染は現在も世界中に広まり続けています。治療法や予防法の確立には時間がかかることが予見され、その完全終息に到るまでの道筋は未だはっきりとしない状況です。日本国内でも多くの国民が感染し、死者も多数出ています。感染を抑制し、医療崩壊の危機を回避するため、4月7日に外出自粛が強く求められる緊急事態宣言も発出されました。このため、献血の機会が減り、献血協力者が減少して輸血用の血液が不足するおそれが生じ、日本赤十字社は献血への協力を呼びかけました。コロナ感染が増加しても輸血による治療が減るわけではなく、血液の需要は変わらず高いことは明白です。献血が足りなくなる事態は、地震などの大規模災害、今後の少子高齢化社会などで生じることは分かっていますが、このような感染症の流行でも血液の不足が生じ、そのために医療が成り立たなくなる危機が足元まで来ていることを、我々は強く認識しました。輸血用血液の確保で難しいのは、使用期限が赤血球は21日、血小板で4日と短い点です。直面している、また未来に予想される重大危機のために、備蓄可能な血液代替物の臨床応用を一刻も早く実現させようではありませんか。

第27回日本血液代替物学会年次大会

大会長 河野 光智

（東海大学）

お知らせとお願い

■会員・参加者の皆様へ

○参加方法

本年次大会の参加にはオンライン参加登録が必須となります。本年次大会の HP より、参加登録をお願いいたします。

○参加受付

2020 年 11 月 10 日（火）正午から

2020 年 12 月 21 日（月）17：00 まで

○参加登録

〈参加登録費〉一般：10,000 円、学生：3,000 円

※オンライン登録によるクレジットカード決済のみとなります。

クレジットカード決済が難しい場合は、運営事務局（sbsj27@c-linkage.co.jp）までお問い合わせください。

※参加登録完了後、領収書、年次大会参加用の ID とパスワードを発行いたします。

○入会受付

入会をご希望の方は、日本血液代替物学会ホームページ（<https://www.blood-sub.jp/nyuukainituite.php>）の入会お申込みフォームより、オンラインにてお申込み下さい。

※入会が承認されましたら、事務局より書類を送付しますので、入会金 5,000 円と共に所定の年会費をお支払い願います。

〈会費〉正会員：10,000 円、学生会員：5,000 円

○年次大会予稿集

年次大会予稿集は、会員全員及び発表者（非会員）に事前配布しています。

※追加購入を希望される場合は、1 部 1,500 円で販売いたしますので、運営事務局（sbsj27@c-linkage.co.jp）までお問い合わせください。

■座長・演者へのお願い

1. セッション参加方法

- ・任意の場所より、ご自身の PC で Zoom（WEB 会議システム）を使用してセッションにご参加いただきます。
- ・ご参加いただくセッションの Zoom の URL は、個別にメールでご案内しますので、当日はそちらからご準備ください。
- ・インターネットにつながる通信環境がよい場所でご準備ください。
- ・極力静かな場所で雑音が入らないようお願いいたします。
- ・お持ちの PC にカメラ、スピーカー、マイクが付属されているかご確認ください。可能な限り、マイク付きイヤホンやヘッドセットマイクなどをご使用ください。
- ・ご自身の PC 上では、セッション中に不要なアプリケーションは全て閉じてください。

2. LIVE 配信の基本的な流れ

①座長よりセッション開始の挨拶 Live 配信

②座長より演者紹介 Live 配信

③演者の挨拶（一般演題除く） Live 配信

④講演

・事前に演者にご提出いただいた 音声付きスライド動画放映

※ランチョンセミナーのみ Live 配信

④質疑応答（一般演題除く） Live 配信

※以後、②～④の繰り返し

⑤総合討論（シンポジウムのみ） Live 配信

3. 質疑応答について

○Live 配信中（一般演題除く）

- ・Live 配信中は、視聴画面上で参加者からのチャット機能を使って質問が可能です。
※質問は、講演終了までにチャット機能に投稿をお願いいたします。
※座長は、チャット機能で投稿された質問を質疑応答や総合討論の際にご活用ください。

○オンデマンド配信（ランチョンセミナー除く）

- ・オンデマンド配信期間中の質問は、予稿集または配信中サイトに掲載しているメールアドレスへ直接ご質問をお願いいたします。
※必ずしもすべての質問に回答出来るわけではございませんので、予めご了承ください。
※演者は、質問が届きましたら、質問者へ直接回答をお願いいたします。

4. 推奨環境

○デバイス

- ・デスクトップまたはノートパソコンのご利用を推奨いたします。
※スマートフォン等のモバイルデバイスは、文字化け等が起こる可能性があります。
※ iPad 等のタブレットは、最新の OS でないと上手く動作しない可能性がありますのでご利用の際は Google Chrome もしくは Safari でご視聴ください。

○ブラウザ

推 奨：最新版 Google Chrome

使 用 可：Mozilla Firefox 27 以降

Google Chrome 30 以降

Apple Safari 7 以降

Microsoft Edge (Chromium version) 12 以降 

サポート外：Microsoft Edge Legacy 

5. Live 配信動画の事後配信

- ・会期終了後、Live 配信した動画をオンデマンド配信いたします（ランチョンセミナー除く）。
※配信期間は、決定次第、参加者にメールにてご案内いたします。

■講演発表時間

大会長挨拶	5 分
特別講演	50 分（質疑応答含む）
特別セッション	18 分（質疑応答含む）
シンポジウム	発表 10 分、質疑応答 5 分
一般演題	10 分（質疑応答無し）

※演題数の関係で、若干時間配分が変更になることもございます。

■各種会議日程

総会：2020 年 12 月 3 日（木）12：20～12：30 ※ Zoom にて開催

■年次大会事務局

東海大学医学部外科学系呼吸器外科学内
〒 259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143
TEL：0463-93-1121

■運営事務局

株式会社コンベンションリンクージ内
〒 102-0075 東京都千代田区三番町 2
TEL：03-3263-8688
E-mail：sbsj27@c-linkage.co.jp

最新のお知らせ、注意事項、プログラムについては、学会のホームページに掲載いたします。

合わせてご確認、ご利用ください。

学会のホームページ <https://www.blood-sub.jp/kaikoku.php>

大会日程表

2020 年 12 月 3 日 (木)		2020 年 12 月 4 日 (金)
8:00	8:00 開場	
8:30		8:30 開場
9:00	8:55 開会の辞 9:00~10:30 シンポジウム 1 「人工赤血球製剤の実用化と拡がる可能性」 座 長：酒井 宏水(奈良県立医科大学) 東 寛(旭川医科大学) 演者 1：久禮 智子(奈良県立医科大学) 演者 2：石橋 弘樹(防衛医科大学校) 演者 3：大岩 加奈(東海大学) 演者 4：東 寛(旭川医科大学) 演者 5：高瀬 凡平(防衛医科大学校)	9:30~10:30 シンポジウム 2 「人工血小板製剤の臨床応用に向けて」 座 長：武岡 真司(早稲田大学理工学術院) 木下 学(防衛医科大学校) 演者 1：三柴 智英(東京女子医科大学・早稲田大学) 演者 2：萩沢 康介(防衛医科大学校) 演者 3：石田 治(防衛医科大学校)
9:30		
10:00		
10:30		
11:00	11:00~11:50 特別講演 1 「救急医療と血液製剤—救急医療は病院から現場へ—」 座長：増田 良太(東海大学) 演者：守田 誠司(東海大学)	11:00~11:50 特別講演 3 「輸血医療の現状と動向」 座長：岩崎 正之(東海大学) 演者：豊崎 誠子(東海大学)
11:30		
12:00		
12:30	12:20~12:30 総 会	12:20~13:10 ランチョンセミナー 「肺癌治療における副作用マネジメント ～血液毒性を中心に～」 座長：堀之内宏久(さいたま市立病院) 演者：中原 善朗(神奈川県立がんセンター) 共催：中外製薬株式会社
13:00	13:00~13:50 特別講演 2 「生命維持治療の不同意への対応をどう考えるか」 座長：河野 光智(東海大学) 演者：竹下 啓(東海大学)	
13:30		13:40~14:30 特別講演 4 「新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)感染症(COVID-19)」 座長：小林 紘一(慶應義塾大学) 演者：福永 興吉(慶應義塾大学)
14:00		
14:30	14:20~15:51 特別セッション 「修飾ヘモグロビン・組換えヘモグロビンを用いた人工酸素運搬体製剤の新展開」 座 長：小松 晃之(中央大学) 演者 1：小松 晃之(中央大学) 演者 2：岡本 航(中央大学) 演者 3：鎧谷 武雄(宮の森記念病院／北海道大学) 演者 4：森田 能次(中央大学) 演者 5：松平 崇(奈良県立医科大学)	15:00~15:50 一般演題 2 座 長：河野 光智(東海大学) 演者 1：北岸 宏亮(同志社大学) 演者 2：毛 斉悦(同志社大学) 演者 3：樋渡 佑樹(中央大学) 演者 4：長谷川 舞(中央大学) 演者 5：山田 孫平(奈良県立医科大学)
15:00		
15:30		
16:00		15:50 閉会の辞
16:30	16:20~17:20 一般演題 1 座 長：田口 和明(崇城大学／慶應義塾大学) 演者 1：野口 勇夢(熊本大学) 演者 2：永崎 太清(熊本大学) 演者 3：田口 和明(崇城大学／慶應義塾大学) 演者 4：奥田 千愛(奈良県立医科大学) 演者 5：橋本 諒(東海大学) 演者 6：小野沢博登(東海大学)	
17:00		
17:30		

第1日目 2020年12月3日(木)

8:55~9:00 開会の辞

9:00~10:30 シンポジウム1「人工赤血球製剤の実用化と拡がる可能性」

座長：酒井 宏水（奈良県立医科大学医学部化学教室）

東 寛（旭川医科大学小児科学教室）

SY1-1.「混錬法による人工赤血球（Hb-V）製剤の調製と Hb カプセル化効率の向上」

久禮 智子（奈良県立医科大学医学部化学教室）

SY1-2.「産科危機的出血に対する人工赤血球の蘇生効果についての検証」

石橋 弘樹（防衛医科大学校病院産科婦人科学講座）

SY1-3.「イヌ肺切除周術期 30%出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与による酸素運搬能の変化」

大岩 加奈（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

SY1-4.「HbV を構成しているリポソームの細網内皮系細胞への取り込み機序の検討」

東 寛（旭川医科大学小児科学教室）

SY1-5.「人工酸素運搬体（HbV）の出血性ショック時致死性不整脈発生予防効果と心拍変動指標に及ぼす影響」

高瀬 凡平（防衛医科大学校集中治療部）

11:00~11:50 特別講演1

「救急医療と血液製剤—救急医療は病院から現場へ—」

座長：増田 良太（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

演者：守田 誠司（東海大学医学部総合診療学系救命救急医学）

12:20~12:30 総 会

13:00~13:50 特別講演2

「生命維持治療の不同意への対応をどう考えるか」

座長：河野 光智（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

演者：竹下 啓（東海大学医学部医療倫理学領域）

14:20~15:51 特別セッション

「修飾ヘモグロビン・組換えヘモグロビンを用いた人工酸素運搬体制剤の新展開」

座長：小松 晃之（中央大学理工学部）

SS-1.「修飾ヘモグロビンおよび組換えヘモグロビンを用いた人工酸素運搬体制剤の開発」

小松 晃之（中央大学理工学部）

SS-2.「出血性ショックラットを用いた HemoAct™ の有効性評価」

岡本 航（中央大学理工学部）

SS-3.「脳梗塞治療薬としての HemoAct™ の有効性」

鎧谷 武雄（宮の森記念病院／北海道大学脳神経外科）

SS-4.「アロステリック効果を有する組換えヘモグロビン-アルブミントリマーの合成」

森田 能次（中央大学理工学部）

SS-5.「超分子開環重合を応用した PEG 連結ヘモグロビンポリマー（人工酸素運搬体）の合成」

松平 崇（奈良県立医科大学医学部化学教室）

16:20~17:20 一般演題 1

座長：田口 和明（崇城大学薬学部／慶應義塾大学薬学部）

O1-1. 「サルコペニアに対する一酸化炭素搭載細胞療法の有用性評価」

野口 勇夢（熊本大学薬学部薬剤学分野）

O1-2. 「一酸化炭素付加機能性赤血球は包括的に急性腎障害の病態を改善する」

永崎 太清（熊本大学薬学部薬剤学分野）

O1-3. 「保存赤血球輸血が肝 cytochromeP450 に与える影響」

田口 和明（崇城大学薬学部／慶應義塾大学薬学部）

O1-4. 「ヘモグロビン小胞体を用いた一酸化炭素投与の脳神経系への影響」

奥田 千愛（奈良県立医科大学化学教室）

O1-5. 「ヘモグロビン小胞体投与がマウスの皮膚創傷治癒へ及ぼす影響」

橋本 諒（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

O1-6. 「マウス気管移植モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与後の上皮血管再灌流の検証」

小野沢博登（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

第2日目 2020年12月4日(金)

9:30~10:30 シンポジウム2

「人工血小板製剤の臨床応用に向けて」

座長：武岡 真司（早稲田大学理工学術院）

木下 学（防衛医科大学校免疫微生物学講座）

SY2-1. 「COVID-19 感染拡大下での血小板製剤の献血および輸血の実態に関する研究」

三柴 智英（東京女子医科大学・早稲田大学共同先端生命医科学専攻）

SY2-2. 「腸間膜動脈出血に対する H12-(ADP)-リボソームを用いた Damage control surgery」

萩沢 康介（防衛医科大学校生理学講座）

SY2-3. 「人工血小板 H12-(ADP)-リボソーム臨床試験の実現にむけて」

石田 治（防衛医科大学校外科2）

11:00~11:50 特別講演3

「輸血医療の現状と動向」

座長：岩崎 正之（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

演者：豊崎 誠子（東海大学医学部付属病院中央診療部輸血室）

12:20~13:10 ランチョンセミナー

「肺癌治療における副作用マネジメント ～血液毒性を中心に～」

座長：堀之内宏久（さいたま市立病院）

演者：中原 善朗（神奈川県立がんセンター呼吸器内科）

共催：中外製薬株式会社

13:40~14:30 特別講演4

「新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）」

座長：小林 紘一（慶應義塾大学医学部）

演者：福永 興壱（慶應義塾大学医学部内科学教室（呼吸器））

15:00~15:50 一般演題2

座長：河野 光智（東海大学医学部外科学系呼吸器外科学）

O2-1. 「人工ヘムタンパク質モデル錯体による生体内一酸化炭素の微量高感度検出法」

北岸 宏亮（同志社大学理工学部）

O2-2. 「臓器内一酸化炭素の高感度検出により示された血中ヘモグロビンによる一酸化炭素中毒の保護作用」

毛 齊悦（同志社大学理工学部）

O2-3. 「ポリオキサゾリン修飾ヘモグロビン（Hemoxa™）の合成と有効性評価」

樋渡 侑樹（中央大学理工学部）

O2-4. 「ヘモグロビンナノ粒子（HbNP）の合成と有効性評価」

長谷川 舞（中央大学理工学部）

O2-5. 「ヘモグロビンと NADH との相互作用解析による、メト化抑制効果の機序解明」

山田 孫平（奈良県立医科大学医学部化学教室）

15:50 閉会の辞

S1 救急医療と血液製剤—救急医療は病院から現場へ—

守田誠司

東海大学医学部総合診療学系救命救急医学

ermorita@msn.com

日本の救急医療の歴史は昭和 22 年の消防組織法で消防業務を警察から自治体に移管されたことに始まり、昭和 38 年に救急業務は消防が行うことを規定されたことによる。以降、各自治体は救急業務を強化、平成 3 年には救命士法が成立し、救命士の育成を開始、現場での救命処置や特定の医療行為が可能となった。これにより、救急隊員は患者搬送だけではなく、早期に処置・医療介入を行うことで救命率の向上を目指している。

一方で、各病院も救急患者受入れの体制を強化、昭和 52 年の救急医療対策事業法実施要項では、夜間休日でも救急患者を収容できる病院を整備し、患者の重症度や緊急度に合わせた病院の層別化、つまり現在でも使用されている一次救急から三次救急病院を規定した。三次救急病院を救命救急センターと呼び、100 万人に 1 施設を目標に整備してきたが、現在では 289 施設が運用を行っている。各救命救急センターでは、緊急度や重症度の高い患者に対応すべく、様々な医療機器や機能を整備しているが、当院では外傷や出血性疾患による出血性ショックは緊急度が非常に高く、迅速な手術や内視鏡などによる止血が可能となるシステムを構築している。加えて、迅速な血液製剤使用のために O 型 RBC、AB 型 FFP、クリオプレシピテートなどを初療室に常備し対応を行っている。このように、救急医療における血液製剤の重要度は非常に高い。

救急医療は更なる救命率向上を目指して、医師・看護師が現場に出動することで早期に高度な医療介入を行う方向で整備が進んでいる。ドクターヘリは 1999 年の試行的事業から、現在では日本中に配備し運航され現場に医師・看護師を出動させることで早期の医療介入を行っている。また、ドクターカーやワークステーションなど救急車で現場に出動したり、自衛隊や海上保安庁などと協力し航海中の船員救命のために現場に出動したり、救急医療は病院内治療だけでなく現場での早期治療へシフトをしている。このため、現場で携帯型超音波装置・12 誘導心電図などにより早期診断、各種薬剤や血液製剤などによる早期治療を行い、収容病院と情報を共有し根本治療に向けて受入れ体制を準備している。実際には血液製剤の現場への持ち出しは管理上困難な点も多く、一般的にはなっていない。

血液代替物の実用化は救急医療にとって現場や病院内で大きな変化を起こし、救命率向上に寄与する可能性が高いと考える。我々、救急医にとって血液代替物は非常に期待するところが大きく、実用化に向けて協力をしていきたい。

S2 生命維持治療の不同意への対応をどう考えるか

竹下 啓

東海大学医学部医療倫理学領域

takeshita.kei.k@tokai.ac.jp

医学的に輸血が必要であり、医師が患者に輸血への同意を求めるにもかかわらず、宗教的理由によって輸血に同意(informed consent)を与えないことは、「輸血拒否」といわれています。2008年に、日本麻酔科学会や日本外科学会等が宗教的輸血拒否に関する合同委員会報告として作成した「宗教的輸血拒否に関するガイドライン」(2008年2月28日)にも「輸血拒否」という言葉が使用されています。

意思決定能力がある患者に医療を行おうとする場合、通常、医学的適応と本人の意思に基づいて判断されます。医学的に必要な医療であっても、患者本人から同意を得られなければ実施することはできません。また、どんなに患者が希望したとしても、医学的適応がない場合には医師が医療を提供する義務はありませんし、有害と考えられる場合には実施することは許されません。

このように整理するととても単純なことのようには思われますが、実際に目の前の患者が救命や生命の維持に必須の治療に同意を与えない場合、私たちは大きな倫理的葛藤を感じます。その葛藤が、患者の「不同意」を「拒否」という強い言葉で表現することにつながるのかもしれません。

さて、2019年3月に、東京都の病院において維持血液透析を中止して亡くなった女性の事案が報道され、大きな社会問題になりました。そのさい、患者・家族と医療・ケアチームが十分な話し合いのプロセスを経ていたのか(このような話し合いのプロセスはshared decision makingといわれます)、患者の意向の変化に慎重に対応できていたのか、それらの経過が適切に記録されていたのかが問題とされました。この事案を受けて日本透析医学会は、2014年に公表した「維持血液透析の開始と継続に関する意思決定プロセスについての提言」を改訂し、2020年4月に「透析の開始と継続に関する意思決定プロセスについての提言」として公表しました。この提言では、shared decision makingを重視することが明記されています。

「宗教的輸血拒否に関するガイドライン」は、患者の年齢や意思決定能力に応じてどのような方針を取りうるかについて明快に記載されており、特に未成年の患者への対応については具体的かつ詳細に解説されています。一方、無輸血治療が難しいと医療提供側が判断した場合には、「当事者に早めに転院を勧告する」ことを認めており、特定機能病院の多くにおいても自施設のウェブサイトで絶対的無輸血は行わない方針を掲示している現実があることには注意が必要です。

本講演では、輸血と透析を対比しながら、生命維持治療の不同意における倫理的問題について考察します。

S3 輸血医療の現状と動向

豊崎誠子

東海大学医学部附属病院 中央診療部 輸血室
4ammd007@is.icc.u-tokai.ac.jp

日本の輸血医療を取り巻く環境は、この10年で大きく変化している。輸血管理料を始めとする国の施策や日本輸血・細胞治療学会の認定制度による管理体制の整備、各製剤における「科学的根拠に基づいた使用ガイドライン」や「大量出血例に対する血液製剤の適正な使用ガイドライン」が整備されたことにより、各製剤の適正使用が徐々に進んできていると考えられる。

血液製剤使用実態調査は2008年より国の事業として10年以上にわたって行われており、そのデータは、国の血液事業報告書、学会、各都道府県の合同輸血療法委員会で報告され、安全で適正な輸血医療の実践のために使用されている。本公演ではここ数年の当院の血液製剤の使用状況、血液製剤使用実態調査結果をもとにした、当院の位置する神奈川県での血液製剤使用状況と全国での使用状況を概説する。

また、近年大量出血例への輸血の考え方が大きく変化してきており、止血を重視したフィブリノゲン製剤やクリオプレシピテート製剤の使用が大量出血現場で行われるようになってきている。当院ではクリオプレシピテート製剤を救急救命室に配置し使用しているが、当院の使用状況についてと全国の状況についても説明する。

最後に当院そして全国の輸血用血液製剤使用実態と献血事業実態から今後の輸血医療の動向について考察したい。

特別講演 4

S4 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染症 (COVID-19)

福永興壹

慶應義塾大学医学部内科学教室（呼吸器）

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染症 (COVID-19) は未曾有の感染症として全世界に蔓延し、医療の枠を超えその脅威が我々の生活を一変させた。2019 年暮れ中国武漢で原因不明の肺炎の拡大が報じられ、年が明けて 2020 年 1 月には国内最初の SARS-CoV-2 患者が確認された。そして 2 月横浜に停留したダイヤモンド・プリンセス号隔離措置、同月 WHO がコロナウイルス感染を「COVID-19」と命名すると、3 月には世界各国で“ロックダウン”が始まった。日本においても 4 月には 7 都道府県を対象とした非常事態宣言が発令され、毎日の報道がこの新興感染症一色になったといっても過言ではない。このような 1 年前には誰もが想像し得なかった事態がこの半年間のうちに起きている。しかし一方で当初は先にも述べたように“原因不明”のウイルスとして多くの不安や恐怖に煽られたが、いまだわからないことは多くあるものの世界中の研究者達はその解明に努め、その姿が明らかになりつつある。一方で急性呼吸器感染症にとどまらず罹患時あるいはその後に合併症が出現することが海外を中心に相次いで報告されており新たな不安の一因にもなっている。本講演では今回のこの新興感染症「COVID-19」についてこれまでの報告されてきた知見ならびに我々の施設が行った臨床研究などを中心に概説したいと考えている。

SY1-1 混錬法による人工赤血球 (Hb-V) 製剤の調製と Hb カプセル化効率の向上

○久禮智子, 酒井宏水

奈良県立医科大学医学部化学教室

kure@naramed-u.ac.jp

【緒言】人工赤血球(ヘモグロビンベシクル, Hb-V)は, 高濃度ヘモグロビン(Hb)溶液をリン脂質小胞体(リポソーム)に内包した人工酸素運搬体であり, 輸血代替のみならずその他の酸素治療薬として利用されることが期待されている^{1),2)}。機能性リポソームの調製法には種々の方法が知られているが³⁾, 特にHb-V調製には従来, 押出法(エクストルージョン法)が用いられてきた⁴⁾。押出法は, リポソームの粒子径制御が容易である等の利点を有する一方で, 高濃度Hb溶液と大量の脂質粉末との混合物を扱うHb-Vの調製では, フィルター交換の煩雑さや, 処理液の粘度の観点から混合できる脂質の量に上限があり, カプセル化効率を上げられない等の欠点があった。そこで, 化粧品や調剤, 金属ペーストの均質化等に使用される混錬法を, 新しいHb-V調製法として導入し, 使用条件を最適化することを目的とした。

【実験】高濃度Hb溶液(約40 g/dL)と混合脂質粉末(DPPC/Cholesterol/DHSG/PEG-DSPE)をテフロン製の専用容器に入れ, 自転-公転ミキサー(Thinky社製)を用いて1,000回転で10分間混錬した。得られたペーストを生理食塩水で分散し, 超遠心分離により未内包のHbを除去しHb-V液とした。この一連の調製操作において(1)混合脂質の成分, (2)Hb溶液の濃度, (3)混錬時間について最適化を行った。得られたHb-V分散液について, それぞれHb濃度(g/dL), 脂質濃度(g/dL), Hb/Lipid比, Hbカプセル化効率(%), 粒度分布(nm)の測定を行い比較した。

【結果と考察】(1)混錬法を用いることによりHb溶液と混合する脂質粉末量を大幅に増量できた(約5倍)。またその成分は, 混合比=5/4/0.9/0.03のときにHbカプセル化効率が高くなる傾向が見られた。58.4%であった。(2)Hb溶液の濃度が高くなるほどHb/Lipid比とHbカプセル化効率(%)が高くなる傾向が見られた。混錬法では, 回転する容器の内容物の粘度が高くなるほど内容物にかかる剪断応力が大きくなり, より効率よく混錬できたためと考えられる。(3)混錬時間が長いほど粒子径は小さくなる傾向が見られた。一方で, 混錬時間が10分までは時間が長くなるにつれHb/Lipid比とHbカプセル化効率(%)が高くなる傾向が見られたが, 10分以上ではほぼ一定であった。これは, 10分以下ではリポソーム形成の効果が大きく, それ以降ではリポソームサイズの微小化の効果が大きく現れたためと考えられる。

【結論】Hb-Vの新しい調製法として混錬法を用いることで, 高濃度Hb溶液に大量の脂質粉末を加えた高粘度ペーストを攪拌でき, 脂質を効率よく分散させることが可能となった。その結果, 従来法よりはるかに高いHbカプセル化効率を得た。

【文献】

- 1) Sakai H, *J. Funct. Biomater.* **2017**, 8, 10.
- 2) Kure T and Sakai H, *Langmuir*. **2017**, 33, 1533-1540.
- 3) Sakai H, Sou K, Tsuchida E. *Methods Enzymol.* **2009**, 465, 363-384.
- 4) Sakai H, Hamada K, Takeoka S, Nishide H, Tsuchida E, *Biotechnol. Prog.* **1996**, 12, 119-125.

SY1-2 産科危機的出血に対する人工赤血球の蘇生効果についての検証

○石橋弘樹¹, 萩沢康介², 木下 学³, 結城由香子⁴, 宮本守員¹, 酒井宏水⁵, 斉藤大蔵⁶, 照井克生⁴, 高野政志¹

¹ 防衛医科大学校病院 産科婦人科学講座, ² 防衛医科大学校医学部 生理学講座, ³ 防衛医科大学校医学部 免疫微生物学講座,
⁴ 埼玉医科大学総合医療センター 麻酔科, ⁵ 奈良県立医科大学医学部 化学教室, ⁶ 防衛医科大学校病院 防衛医学研究センター
ishibashi19840528@gmail.com

【緒言】

産科危機的出血は輸血の投与が遅れた場合に致死になる恐れのある疾患である。我々は以前に人工赤血球の一つである Hemoglobin vesicles (HbVs) が出血性ショックに有効であることを示したが、産科危機的出血に対する有効性は過去に報告されていない。そこで我々は妊娠ウサギの産科危機的出血モデルを作成し、HbV の有効性の検証を行った。

【実験・方法】

妊娠ウサギの帝王切開を施行後、子宮動脈を切離することで産科危機的出血の状態とする。

出血開始後は初期治療として全例輸液(6% hydroxyethlen starch (HES))を行い、産科危機的出血に至った時点で HES 投与群(6% HES, n=7), HbV 投与群(HbVs with 25% human serum albumin (vol/vol=4:1), n=10), 輸血投与群(RBCs with platelet-poor plasma (RBC/PPP) (vol/vol=1:1), n=8)の3群に分類する。それぞれ出血量と同量の輸液または輸血を行い、出血開始から 60 分または全出血量が 200ml に達した時点で止血処置を行い、各群の生存時間や血行動態等を比較検討した。

【結果】

出血開始後 30 分で、全例 Hb が 6g/dL 以下と産科危機的出血の状態に達していた。生存時間に関しては HES 群では止血後 6 時間で全例死亡したが、輸血投与群は全例生存していた。HbV 投与群は平均動脈圧が 45mmHg 以上、Hb も 6g/dL となっており、6 時間後の時点では 8 例(80%)が生存できた。全生存期間については輸血投与群よりは予後不良であったが($p<0.01$), HbV 群は HES 群よりも有意に予後良好であった($p=0.01$)。

【結論】

致死性出血性ショックに至る産科危機的出血の初期治療に、HbV は代替血液として有効な手段となり得る。

SY1-3 イヌ肺切除周術期 30%出血モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与による酸素運搬能の変化

○大岩加奈¹, 河野光智¹, 小野沢博登¹, 橋本 諒¹, 増田良太¹, 渡辺真純², 堀之内宏久³, 酒井宏水⁴, 小林紘一², 岩崎正之¹

¹ 東海大学医学部外科学系呼吸器外科学, ² 慶應義塾大学医学部外科, ³ さいたま市立病院呼吸器外科,

⁴ 奈良県立医科大学医学部化学教室

ohiwakana@gmail.com

【緒言】 肺切除術は肺癌などの肺病変に対して広く安全に行われているが、病変が肺血管に及んでいると損傷が生じ易く、出血量が数分で数リットルに達することがある。輸血体制が整っている病院であっても心停止や低酸素脳症の後遺症のリスクがある。ヘモグロビン小胞体(HbV)は、赤血球からヘモグロビンを抽出精製し、リボソームに内包、膜表面を PEG 修飾して粒径を 250nm に調製した粒子である。出血性ショックに対する蘇生液としての臨床応用が期待されているが、輸血頻度の高い外科手術時の大量出血に対する使用も想定される。血液型がなく、ウィルスなどの感染源を排除され、室温で2年以上の備蓄が可能であるため、手術室に常備でき、いつでも遅滞なく投与が可能になると考えられる。これまでのマウスやラットの肺切除周術期出血モデルでの研究で、ヘモグロビン小胞体の投与が呼吸循環動態を安定させることが明らかになっている。手術侵襲からの回復にも明らかな有害事象を認めず、赤血球と同等の効果を示した。イヌに肺切除術を行い、同時に脱血する周術期出血モデルを作成し、ヘモグロビン小胞体投与の有効性を検討した。

【実験】 イヌ(ビーグル犬、体重約 10kg)に対して全身麻酔、人工呼吸器管理下に手術を行った。右大腿静脈よりスワンガンツカテーテルの挿入と右大腿動脈ラインの確保を行い、血行動態のモニタリングと血液ガス分析で血液の酸素化を評価した。左肺全摘後に循環血液量の 30% (約 250ml) を 50mL/min の速さで脱血し、5%アルブミンにヘモグロビン小胞体を分散させた溶液(ヘモグロビン濃度 8.6g/dl)を同量投与した。またコントロールとして 5%アルブミン溶液を投与した。肺切除前後と脱血後、各輸液後に血圧、心拍出量等の循環動態の指標の測定、血液ガス分析を行った。全身麻酔を維持したまま、1時間ごとに5時間までデータ採取を行った。

【結果】 脱血後、動脈血圧は有意に低下してショックとなったが、ヘモグロビン小胞体溶液の投与により、血圧はベースラインレベルに戻り安定した。5%アルブミンの投与だけではベースラインまで回復しなかった。ヘモグロビン小胞体投与群の動脈血酸素含有量と酸素運搬量は、5%アルブミン投与群よりも有意に高かった。ヘモグロビン小胞体投与群の心拍出量は脱血前と同等であったが、5%アルブミン投与群では有意に増加した。

【結論】 左肺全摘後の肺機能が低下した状態でも、5%アルブミンに分散したヘモグロビン小胞体溶液の投与は 30%脱血を代償して血液や組織の酸素化に寄与し、循環動態を安定させたと考えられた。外科手術時の大量出血に対して、ヘモグロビン小胞体の投与が有効である可能性が示唆された。

SY1-4 HbV を構成しているリボソームの細網内皮系細胞への取り込み機序の検討

○東 寛¹, 長森恒久¹, 吉田陽一郎¹, 石羽澤映美¹, 酒井宏水²

¹ 旭川医科大学小児科学教室, ² 奈良県立医科大学化学教室
azuma5p@asahikawa-med.ac.jp

【緒言】 HbV はヒト赤血球由来 Hb 分子を脂質二重膜のリボソームに内包したもので、生体に投与後に細網内皮系に取り込まれる (endocytosis される) 事が確認されている。Endocytosis は大きく phagocytosis, macropinocytosis, pinocytosis に 3 つに分類されている。HbV に使用されているリボソームが、細網内皮系の細胞に取り込まれることは示されているが、その際に、3 つうちのどの機序が主たる取り込み経路なのかについての詳細な検討はされていない。

【実験】 HbV を構成しているものと同一の組成と構造を持つリボソーム懸濁液に DiI 溶液を加えて一晩静置してラベリングした。翌日、Raw264.7 細胞浮遊液に endocytosis の阻害剤を加えて 30 分間インキュベーションした後、ラベリングしたリボソームを Raw 細胞浮遊液に添加し、さらに 1 時間 37℃ にてインキュベーションした。その後、ラベリングしたリボソームを捕捉した細胞を、flow cytometry により検出した。用いた Endocytosis の阻害剤は、Cytochalasin D (CytD), Ethylisopropyl amiloride (EIPA) そして Chlorpromazine である。リボソーム粒子の他に FITC 標識 Zymosan 粒子あるいは Alexa Fluor 647 標識 高分子デキストランを endocytosis の抑制効果を評価するためのコントロールとして使用した。

【結果と考察】 Chlorpromazine による抑制は認められなかった。しかし CytD 及び EIPA により 50% 以上の取り込み抑制が認められた。Chlorpromazine は主として pinocytosis を抑制することから、リボソームの取り込みには、この機序の関与は少ないと思われる。CytD は actin の作用を阻害するので、phagocytosis と macropinocytosis の両方を抑制するといわれている。一方、EIPA は、macropinocytosis を特異的に抑制すると言われている。今回の実験では、本リボソームの取り込みが CytD と EIPA の両方で抑制されたことから、macropinocytosis が取り込みの主たる機序であると考えられる。

【結論】 HbV に使われているリボソーム粒子が細網内皮系に取り込まれる機序の主体は、macropinocytosis である。macropinocytosis を抑制する薬物を使う事により HbV の生体内停滞時間をより延長することができる可能性がある。

シンポジウム 1

SY1-5 人工酸素運搬体 (HbV) の出血性ショック時致死性不整脈発生予防効果と心拍変動指標に及ぼす影響

○高瀬凡平¹, 東村悠子¹, 東谷卓美¹, 眞崎暢之¹, 酒井宏水²

¹ 防衛医科大学 集中治療部, ² 奈良県立医科大学 化学教室

【目的】 人工酸素運搬体(HbV)は有効な血液代替物である。HbV の出血性ショック(HS)モデルにおける抗不整脈効果と心拍変動指標(HRV)に及ぼす影響を検討した。

【方法】 HS を惹起する骨髄輸血法による 85% 血液交換ラットモデルにおいて, 5% albumin (5%ALB群, n=10), 洗浄赤血球(wRBC 群, n=10)及び HbV 群(n=10)の生存率を検討し, optical mapping 解析(OMP)と致死性不整脈誘発法(brust 刺激)で HbV の抗不整脈効果, 蘇生効果及び周波数解析心拍変動指標(HRV)を解析し, HbV の効果を検討した。

【結果】 5%ALB 群では, HS で全例死亡したが, wRBC 群, HbV 群では 80%以上の生存率が認められた。OMP 解析では, 5%ALB 群の action potential duration dispersion (APDd)は5%ALB群で高値(5%ALB群[29 ± 9]vs. wRBC群[12 ± 1], HbV群[12 ± 2]ms, $P < 0.05$)を認めた。brust 刺激で 5%ALB 群では全例致死性不整脈が誘発されたが, wRBC 群・HbV 群では誘発されなかった。5%ALB 群において, wRBC 群・HbV 群に比較して LF/HF は大きかった(1.5 ± 1.1 vs. 0.3 ± 0.5 , 0.3 ± 0.2 , $P < 0.05$)。

【結語】 APDd 延長状態を惹起する HS において, HbV は抗不整脈効果と心臓自律神経調整効果を示すことが示唆された。

シンポジウム 2

SY2-1 COVID-19 感染拡大下での血小板製剤の献血および輸血の実態に関する研究

○三柴智英, 武岡真司

東京女子医科大学・早稲田大学 共同先端生命医科学専攻

tomo348@akane.waseda.jp

【緒言】

COVID-19 の感染拡大に伴い、献血イベントは中止を余儀なくされ、2 月下旬より献血者数は大きく減少しており、献血不足が危惧されている(1)。COVID-19 感染拡大下での各病院の血小板製剤の輸血需要、およびその需要を受けた日本赤十字社での血小板製剤の献血供給の実態について調査することで、COVID-19 感染拡大下で血小板製剤の輸血が関係する医療にどのような影響があったかを評価する。

【実験】

2020 年 1 月からの日本赤十字社のホームページ上に掲載されている献血者数、および血液製剤の供給量をもとに、COVID-19 感染拡大下での献血の現状を調査した(2)。

【結果と考察】

血小板献血者数、および日本赤十字社から各病院への血小板製剤の供給本数は、緊急事態宣言が発令された 2020 年 4 月以降、いずれの月も、前年の同月と比較して減少していた。今後は、日本赤十字社から各病院への血小板製剤の供給本数の減少が、実際の医療現場にどのような影響を与えていたか調査し、考察する。

【結論】

現時点で得られている結論はない。

【文献】

- 1) 新型コロナウイルス感染拡大に伴う血液製剤供給不足に対する緊急提言 令和 2 年 4 月 17 日
- 2) 日本赤十字社 <http://www.jrc.or.jp/activity/blood/data/> 2020 年 9 月 4 日時点

シンポジウム 2

SY2-2 腸間膜動脈出血に対する H12-(ADP)-リボソームを用いた Damage control surgery

○萩沢康介¹, 石田 治², 木下 学³, 武岡真司⁴

¹ 防衛医科大学校生理学講座, ² 同外科学講座, ³ 同免疫微生物学講座, ⁴ 早稲田大学先進理工学研究科
hagisawa@ndmc.ac.jp

【緒言】 大量出血を伴う外傷に対する手術は、全身状態を改善してから行うのではなく、critical な状態から引き上げるために、限られた時間で遂行する。このような外傷に対する外科的アプローチを Damage control surgery と呼び、(1)出血と汚染の“コントロール”のための初回手術、(2)生理学的異常の補正、(3)根本治療のための予定再手術の3相により構成されている¹⁾。今回、腸間膜動静脈損傷による凝固障害と致死的な出血性ショックを合併した動物モデルに対して、H12-(ADP)-リボソームを用いて早期の止血を行い、赤血球輸血によりショック状態を補正する Damage control surgery の有効性について検討した。

【実験】 家兎の循環血液量の1.5倍に相当する計150mL/kgを脱血し、血小板を遠心分離して洗浄赤血球を返血し、大量出血・大量輸血による希釈性凝固障害を作成。その後、開腹し腸間膜動静脈を切断し、5分間自由出血させ、血小板数が $5 \times 10^4/\mu\text{L}$ 以下かつHb 6g/dl以下で平均動脈圧が30mmHgを下回る出血性ショック病態を作成した。

【結果と考察】

H12-(ADP)-リボソームのボラス投与(20mg/kg)に引き続いて、5分毎に出血量と等量の赤血球と血漿の1:1輸血を行うことにより、外科的な止血操作を行うことなく全例止血に成功し(平均止血時間は18分)、24時間後の生存率は70%であった。これは陽性対照群である赤血球と血小板と血漿の1:1:1輸血群の平均止血時間24分と24時間後生存率70%と同等であった。いっぽう陰性対照群である赤血球と血漿の1:1輸血は止血成功率が70%であり、24時間後の生存率は40%であった。

【結論】 腸間膜動脈損傷の自由出血モデルにおいて、H12-(ADP)-リボソームのボラス投与は血小板輸血と同等の止血効果が得られた。出血のコントロールが難しい外傷病態の Damage control surgery における有用性が示唆される。

【文献】

- 1) Philip C. Spinella. Damage Control Resuscitation Identification and Treatment of Life-Threatening Hemorrhage 2020 Springer International Publishing 978-3-030-20819-6.

SY2-3 人工血小板 H12-(ADP)-リボソーム臨床試験の実現にむけて

○石田 治¹, 萩沢康介², 木下 学³, 武岡真司⁴

¹ 防衛医科大学校外科 2, ² 同生理学, ³ 同免疫微生物学, ⁴ 早稲田大学先進理工学研究科
oishida2000@gmail.com

【緒言】 人工血小板 H12-(ADP)-リボソームは、これまで薬剤誘導性血小板減少モデルや肝損傷出血性ショックモデル等においてその有用性が示されてきた。臨床応用の実現を考慮すると、より安定して投与計画を立てられる臨床系において前臨床試験を行う必要が生じる。心臓血管外科手術後においては人工心肺後凝固障害を背景として、術後大量出血がしばしば経験され血小板輸血を要することも少なくない。人工心肺動物モデルにおいて H12-(ADP)-リボソーム投与の有用性、安全性を評価した。

【実験】 NZW 家兎 (3kg) を用いて人工心肺後凝固障害モデルを作成した。人工心肺手術終了後、① Platelet poor plasma 単独投与 (PPP 群)、② Platelet rich plasma 単独投与 (PRP 群)、③ PPP + H12-(ADP)-リボソーム (PPP + H12 群)、④ PRP + H12-(ADP)-リボソーム (PRP+H12 群) の 4 群に分け術後投与を行い、血液凝固止血能を含めた評価を行った。

【結果と考察】 PPP 群と PPP+H12 群においては血液凝固止血能の改善が認められず、H12-(ADP)-リボソーム投与の効果出現には新規の (不活化していない) 血小板投与が必要と示唆された。PRP 群と PRP+H12 群では血小板数、血液凝固能検査、血小板機能検査では同等の改善がみられたが、出血時間検査においては PRP + H12 群が PRP 群を有意に上回る改善を示した (PRP+H12 群: 263 ± 111 vs PRP 群: 441 ± 108 sec, $p < 0.001$)。さらに H12-(ADP)-リボソーム投与後の止血部位を精査し、電子顕微鏡で血小板凝集塊内に取り込まれたリボソーム像が認められた。また肝臓、脾臓、肺では血管内に血小板とは独立して存在するリボソーム像が認められた。これらの結果から、H12-(ADP)-リボソームが組織損傷部位において血小板凝集を促進し止血血栓形成時間を短縮するべく作用し、懸念された血管内での多発血栓形成は起こさないことが示された。

【結論】 今回の前臨床段階実験において、H12-(ADP)-リボソーム投与の有用性、安全性が示された。この結果に基づき、人工心肺を用いた心臓血管外科手術後における人工血小板 H12-(ADP)-リボソーム投与の臨床試験実現にむけた検討を行っている。

SS-1 修飾ヘモグロビンおよび組換えヘモグロビンを用いた人工酸素運搬体製剤の開発

小松晃之

中央大学理工学部

komatsu@kc.chuo-u.ac.jp

赤血球代替物(人工酸素運搬体)としての修飾ヘモグロビンおよび組換えヘモグロビンの歴史は古く、これまでに様々な製剤が開発されてきている。なかでもウシヘモグロビンの重合体である Hemopure[®] は2002年に南アフリカで認可され臨床利用された唯一の人工酸素運搬体である。非細胞型と呼ばれるこの種の製剤は、赤血球の分散液とは本質的に異なり、いわゆるタンパク質(ヘモグロビン誘導体)の水溶液であるが、容易な製造法、低コスト、単純な組成など、魅力は数多い。実際に現在研究が進んでいる人工酸素運搬体のほとんどが未だに修飾ヘモグロビン製剤である。細胞型と非細胞型の人工酸素運搬体はそれぞれの利点を生かし、各適応において使い分けができると考えられる。演者らはこれまで、ヒト血清アルブミンを人工酸素運搬体に活用するという理念から、様々な化合物を開発してきた。2013年、ヘモグロビンに3分子のヒト血清アルブミンを結合した新しい人工酸素運搬体 HemoAct[™] を合成し¹⁾、安全性試験、有効性試験を継続している²⁻⁴⁾。最近、虚血性脳血管障害の治療薬として有効であることも明らかにした^{5,6)}。ヘモグロビンの周囲に結合するアルブミンを組換えイヌ血清アルブミン、組換えネコ血清アルブミンに変換すると、犬・猫用の HemoAct[™] にもなる^{7,8)}。2019年、遺伝子組換えヘモグロビンとアルブミンの組み合わせで、原料血液を一切必要としない完全合成型の HemoAct[™] を開発した⁹⁾。変異導入の位置、アルブミンの結合位置を厳選することで、酸素結合の協同性(アロステリック効果)を保持し、赤血球と同じ酸素親和性を有する HemoAct[™] を調製することもできる¹⁰⁾。

HemoAct[™] の粒径は15nm と小さいため、肝臓の類洞内皮細胞小孔を通過する可能性が否定できない。そこで、ヘモグロビンを重合した球状ナノ粒子をつくり、その表面をヒト血清アルブミンで被覆したコア-シェル型のヘモグロビンナノ粒子(HbNP、粒径約90nm)を合成した。内部に酵素を共存させることで、さらなる機能も付与できる。一方、ポリエチレングリコール(PEG)修飾ヘモグロビンは、依然として人工酸素運搬体開発の中核にある。しかし近年、抗PEG抗体の産生が危惧されるようになってきた。そこで演者らはPEGの代替物としてポリオキサゾリン(POx)に注目した。PEG同様、免疫学的ステルス性を示す上、合成の容易さ、化学修飾のしやすさはPEGよりも優れる。ごく最近、ヘモグロビンをPOx(Mw: 5kDa)で被覆した製剤 Hemoxa[™] を開発した。ヒトヘモグロビンを用いた Hemoxa[™] はヒト用人工酸素運搬体として、またブタヘモグロビンを用いた Hemoxa[™] は犬・猫用の人工酸素運搬体としての利用が期待できる。

以上、我々が開発している修飾ヘモグロビンおよび組換えヘモグロビンを用いた人工酸素運搬体製剤の最新動向について概説する。

【文献】 T. Komatsu et al.

- 1) *Biomacromolecules* **2013**, 14, 1816.
- 2) *ACS Omega* **2019**, 4, 3228.
- 3) *Sci. Rep.* **2015**, 5, 12778.
- 4) *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* **2018**, 46, S621.
- 5) *Stroke* **2018**, 49, 1960.
- 6) *Brain Res.* **2020**, 1746, 147012.
- 7) *Sci. Rep.* **2016**, 6, 36782.
- 8) *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 2417.
- 9) *J. Mater. Chem. B* **2020**, 8, 1139.
- 10) *RSC Chem. Biol.* **2020**, 1, 128.

SS-2 出血性ショックラットを用いた HemoAct™ の有効性評価

○岡本 航¹, 鹿島知周¹, 濱野辰彦¹, 橋本 諒², 小野沢博登², 河野光智², 岩崎正之², 小松晃之¹

¹ 中央大学理工学部, ² 東海大学医学部

komatsu@kc.chuo-u.ac.jp

【緒言】 HemoAct™ はヒトヘモグロビン (HbA) またはウシヘモグロビン (HbBv) に平均 3 分子のヒト血清アルブミン (HSA) を結合した人工酸素運搬体である (HemoAct-H, HemoAct-B, Fig. 1)¹. これまで, 血液適合性試験, 血中滞留性試験, 安全性試験を行い, 本製剤が人工酸素運搬体として十分な物性を兼ね備えていることを明らかにしてきた^{2,3}. 本報では 50% 出血性ショックラットに HemoAct-H または HemoAct-B を投与し, 循環動態観察, 血液ガス分析, 血液生化学検査から, 人工酸素運搬体としての有効性を評価したので報告する.

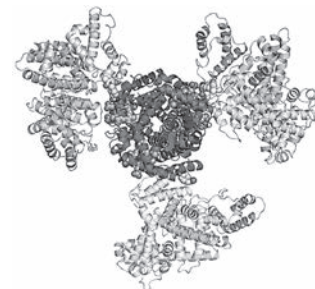


Fig. 1 Structure of HemoAct™

【実験】 Wister 系雄性ラット (約 230g) にセボフルラン吸入麻酔下でカテーテルを右頸動静脈に導入した. 動脈カテーテルより全血液量の 50% を脱血することで出血性ショック状態とし, 15 分後に静脈カテーテルより同体積の HemoAct-H, HemoAct-B 溶液 ([Hb]=5g/dL) を投与することで蘇生した. 試料投与 6 時間後まで, 循環動態観察, 血球数測定, 血液ガス分析を含む経過観察を行った. さらに動脈血 5mL を採血し, 血液生化学検査を行った. 参照群は, 自己血 (SAB) 群, 乳酸リンゲル液群, および手術のみの Sham 群とした.

【結果と考察】 乳酸リンゲル液群ではすべてのラットが 4 時間以内に死亡したのに対し, HemoAct-H, HemoAct-B, SAB, および Sham 群ではすべてのラットが 6 時間後まで生存した. 50% 脱血による低血圧 (平均動脈血圧: 26mmHg) は HemoAct-H, HemoAct-B の投与により SAB 群と同等値まで回復し, 乳酸リンゲル液群よりも有意に高い値を推移した. 出血性ショックに伴い, 動脈血酸素分圧は増加し, 動脈血二酸化炭素分圧は減少したものの, HemoAct-H, HemoAct-B の投与によりそれぞれ初期値まで回復した. また, アシドーシスと乳酸値の上昇も HemoAct-H, HemoAct-B 投与により改善された. 血液生化学的試験では肝臓へのわずかな負担が懸念されたが, 腎機能等に異常は見られなかった.

【結論】 人工酸素運搬体 HemoAct-H, HemoAct-B が出血性ショック状態の蘇生液として有効であることが明らかとなった.

【文献】

- 1) T. Komatsu, *et al.*, *ACS Omega* **2019**, 4, 3228.
- 2) T. Komatsu, *et al.*, *Sci. Rep.* **2015**, 5, 12778.
- 3) T. Komatsu, *et al.*, *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* **2018**, 46, S621.

SS-3 脳梗塞治療薬としての HemoAct™ の有効性

○ 鑑谷武雄^{1,2}, 月花正幸², 伊藤康裕², 小松晃之³

¹ 宮の森記念病院, ² 北海道大学脳神経外科, ³ 中央大学理工学部
abumiya@miyanomori.or.jp

ヘモグロビンを利用した人工酸素運搬体(Hemoglobin-based oxygen carrier: HBOC)はその粒径が一般的に赤血球より小さいことより、微小循環で有効に酸素供給をし得ると考えられ、脳梗塞治療薬としての可能性が検討されてきた。HemoAct™はヘモグロビン1分子にアルブミン3分子が架橋結合した構造(直径15nm; 赤血球の1/500のサイズ)を持つ非細胞型のHBOCであり、微小循環障害が病態の本体である虚血再灌流傷害での治療効果が期待される。また、アルブミンは膠質浸透圧を維持して循環血漿量を高めること、また抗酸化作用を併せ持つ分子であることより、その意味でも脳梗塞治療に有効である可能性がある。

我々はラットの脳虚血再灌流傷害モデルを用いて、HemoAct™の治療効果を検討してきた。中大脳動脈を2時間閉塞後、再開通時に再開通動脈よりHemoAct™を投与し、24時間後に神経障害度、脳梗塞体積を検討すると、HemoAct™投与により、神経障害度が改善、脳梗塞体積が縮小した。虚血再灌流後の数時間に微小血管の狭小化が起きて、灌流障害が生じることが知られている。我々のモデルにおいて脳血流量および脳組織酸素分圧の変化を検討してみると、未治療では再灌流6時間後にいずれも低下してしまうが、HemoAct™投与はこれらの低下を有意に改善した。また、脳組織内の微小血管での灌流状態を検討すると、未治療では赤血球の灌流血管数は減少し、血管径は狭小化したが、HemoAct™投与ではHemoAct™の灌流血管数は維持され、血管径の狭小化も抑えられていた。また培養脳微小血管内皮細胞を用いた検討では、低酸素再酸素化によって生じる活性酸素の産生亢進はHemoAct™投与で抑制され、これはアルブミンによる抗酸化作用による可能性が考えられた¹⁾。

我々は同じ脳虚血再灌流傷害モデルで冷却した生理食塩水を経動脈的に投与する局所冷却灌流が脳保護効果を示すことを報告してきた²⁾。次なる実験系で、局所冷却灌流とHemoAct™の併用、すなわち、HemoAct™を10℃に冷却して経動脈的に投与すると、それぞれ単独で行った治療(10℃生食投与、37℃ HemoAct™投与)より併用治療(10℃ HemoAct™投与)の方が相加的な効果を認め、この治療法では虚血時間を5時間に延長しても脳保護効果を示すことが分かった³⁾。

今回の発表ではこれらの研究成果を基にHemoAct™の脳梗塞治療薬としての有効性について紹介し、さらに今後の治療研究の展望についても言及したい。

【文献】

- 1) Gekka M, Abumiya T, Komatsu T, et al. *Stroke*. 2018, 49, 1960-1968
- 2) Kurisu K, Abumiya T, Nakamura H, et al. *Neurosurgery*. 2016, 79, 125-34
- 3) Ito Y, Abumiya T, Komatsu T, et al. *Brain Res*. 2020, 1746, doi:10.1016/j.brainres.2020. 147012.

SS-4 アロステリック効果を有する組換えヘモグロビン-アルブミニントリマーの合成

○森田能次, 高田諒也, 齊藤飛鳥, 小松晃之

中央大学理工学部

komatsu@kc.chuo-u.ac.jp

【緒言】 赤血球代替物となる人工酸素運搬体として、数多くの修飾ヘモグロビン(Hb)製剤が合成されてきた。しかし、いずれもHbの表面LysやCys- β 93の化学修飾により四次構造変化が抑制され、酸素輸送に重要なアロステリック効果が低下してしまう欠点があった¹⁾。そのような背景のもと、我々はアロステリック効果を有する人工酸素運搬体の合成に取り組んでいる^{2,3)}。本報では、まずHbの四次構造変化に関与しないLys- β 120をCysに置換したrHb(β K120C)に2つのヒト血清アルブミン(HSA)を結合した組換えヘモグロビン-アルブミニントリマー[rHb(β K120C)-HSA₂]を調製した。さらに、化学修飾または変異導入により、赤血球と同じ酸素輸送能を有する人工酸素運搬体を合成することに成功したので報告する。

【実験】 *Pichia* 酵母を宿主としてrHb(β K120C)を産生し、イオン交換クロマトグラフィーにより精製した。ビスマレイミド架橋剤[1,6-bis(maleimido)hexane]を用いて調製したマレイミド活性化HSA(MA-HSA)をrHb(β K120C)と連結し、rHb(β K120C)-HSA₂を合成した。蛋白質/Hb定量からHSA結合数を決定し、等電点電気泳動からpI値を測定した。また、HemoXAnalyzerを用いて酸素結合解離曲線を作成し(37℃)、酸素親和性の指標である P_{50} および協同性を示すHill係数(n)を決定した。次に、酸素親和性を適度に下げするため、化学修飾または変異導入を行った。3,5-dibromoaspirinを用いてHbのLys- α 99を選択的にアセチル化し、acetyl-rHb(β K120C)-HSA₂を調製した。また、Lys- β 66をThrに置換した変異体を原料にrHb(β K66T/ β K120C)-HSA₂を合成した。得られた2種類の人工酸素運搬体についても P_{50} およびHill係数を決定した。

【結果と考察】 rHb(β K120C)のHPLC曲線、Native-PAGE、SDS-PAGE、CDスペクトルは、天然のHbと一致した。rHb(β K120C)-HSA₂はHb1分子に2分子のHSAが結合した構造であり、そのpI値はHSAの値と同等であった。酸素結合解離曲線から、rHb(β K120C)-HSA₂は天然Hbと同じ協同性、酸素親和性を示すことがわかった(P_{50} : 12 Torr, n : 2.4)。さらに、アロステリック因子である2,3-diphosphoglycerate(DPG)を添加すると酸素親和性が低下し、天然Hbと同様のBohr効果も示した。化学修飾したacetyl-rHb(β K120C)-HSA₂や変異導入したrHb(β K66T/ β K120C)-HSA₂の酸素解離曲線は、天然Hbよりも右側にシフトし、協同性を維持しながら赤血球と同等の酸素親和性を示すことがわかった。

【結論】 高純度のrHb(β K120C)を産生し、その物性と構造を明らかにした。rHb(β K120C)-HSA₂は天然Hbと同等のアロステリック効果、酸素結合能を有し、さらに化学修飾または変異導入したrHbを用いることにより、酸素親和性は適度に低下した。得られた人工酸素運搬体の肺-末梢組織間における酸素輸送効率が赤血球に匹敵することがわかった。

【文献】

- 1) Y. Morita, T. Yamada, M. Kureishi, K. Kihira, T. Komatsu, *J. Phys. Chem. B*, **2018**, 122, 12031.
- 2) Y. Morita, K. Igarashi, R. Funaki, T. Komatsu, *ChemBioChem* **2019**, 20, 1684.
- 3) Y. Morita, A. Saito, J. Yamaguchi, T. Komatsu, *RSC Chem. Biol.* **2020**, 1, 128.

SS-5 超分子開環重合を応用した PEG 連結ヘモグロビンポリマー(人工酸素運搬体)の合成

○松平 崇, 酒井宏水

奈良県立医科大学医学部 化学教室

mattu@naramed-u.ac.jp

【緒言】ヘモグロビン(Hb)をグルタルアルデヒドなどの低分子架橋剤でランダム重合して得られる Hb ポリマーを人工酸素運搬体として利用する研究が欧米を中心に行われているが、臨床試験の結果、Hb ポリマーは血管収縮や心筋毒性などの重篤な副作用を発生させることが明らかになった。これらの副作用は、低重合度の成分が内因性の NO を捕捉することが原因の一つと考えられており^[1]、Hb を高効率に重合する方法が実現すれば、副作用の低減が期待できる。本研究では、Hb が安定な $\alpha_2\beta_2$ 四量体構造を形成することに着目し、ループ状に PEG 修飾された Hb を単量体とみなして開環重合させることで、Hb の $\alpha\beta$ サブユニット間に働く非共有結合性相互作用を介した超分子ポリマーを構築した。続いて、部位選択的な低分子架橋剤(DBBF)を用いて β サブユニット間を架橋することで、超分子ポリマーの Hb ユニットの共有結合で固定し、効率的に高分子量の Hb ポリマーを合成する方法を確立した^[2]。

【実験】ヒト赤血球から単離された Hb に両末端にマレイミド基を持つ PEG(分子量 2, 5, 10, 20 kDa)を反応させ、 $\alpha_2\beta_2$ 四量体構造のうち 2 箇所の Cys-93(β)がループ状に PEG 化された 4 種類の環状 Hb モノマーを合成した。環サイズの異なるこれらの環状 Hb モノマーを様々な濃度(0.32~35 g/dL)に調整し、Lys-82(β)同士を選択的に分子内架橋する試薬 bis-(3,5-dibromosalicyl) fumarate (DBBF)を反応させ、生成物をサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)により定量した。

【結果と考察】環状 Hb モノマーの合成確認は SEC と電気泳動法(SDS-PAGE)により行った。合成された環状 Hb モノマーは、動的光散乱測定において粒子径が濃度と共に増加する傾向が見られ、膠質浸透圧測定において第三ビリアル係数が無視できない大きな値を示した。これらの結果より、環状 Hb モノマーは PEG の両末端に配置された $\alpha\beta$ サブユニット間で働く強い相互作用を、モノマー濃度に応じて分子内と分子間とで可逆的に切り替えており、高濃度では Hb が PEG で連結された構造を持つ超分子ポリマーを形成していることが示唆された。環状 Hb モノマーをそれぞれ異なるモノマー濃度で DBBF と反応させて Hb ユニットの固定し、SEC を用いて生成物を定量したところ、低濃度で DBBF と反応させると架橋された環状 Hb モノマーが選択的に得られたのに対し、高濃度では高分子量化した Hb ポリマーが優先的に生成し、架橋直前の状態において、環状 Hb モノマーは超分子ポリマーとの平衡状態にあることが確認された。定量された環状 Hb モノマーの存在比から、重合開始の閾値である臨界モノマー濃度(C_m)を算出したところ、環サイズが大きいはど C_m は低下し、開環重合が進行しやすいことが確認された。発表では、合成された Hb ポリマーの人工酸素運搬体としての性質や、超分子重合を応用した人工酸素運搬体の展望についても述べる。

【謝辞】本研究は科研費(基盤 C, 17K01367)の補助を受けて進められた。

文献

[1] Williams, A. T. et al. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, 3 (5), 2976-2985.

[2] Matsuhira, T., Yamamoto, K., and Sakai, H., *Biomacromolecules* **2019**, 20 (4), 1592-1602.

一般演題 1

O1-1 サルコペニアに対する一酸化炭素搭載細胞療法の有用性評価

○野口勇夢¹, 前田仁志¹, 小林一樹¹, 田口和明², 柳澤洋輝¹, 酒井宏水³, 渡邊博志¹, 小田切優樹⁴, 丸山 徹¹

¹ 熊本大学薬学部薬剤学分野, ² 慶応義塾大学薬学部薬学科薬効解析学講座, ³ 奈良県立医科大学医学部化学教室, ⁴ 崇城大学薬学部
162p1042@st.kumamoto-u.ac.jp

【緒言】

骨格筋の筋力と筋量の低下を特徴とするサルコペニアの罹患者数は増加の一途を辿る一方で、本疾患に対する抜本的な治療法は確立されていない。近年明らかになりつつあるサルコペニア病態の発症進展メカニズムから、筋分解因子(ミオスタチン)の抑制、ミトコンドリア新生、筋タンパク合成の促進の3点が治療標的として注目されている。一酸化炭素(CO)はミトコンドリア呼吸鎖に結合し、AMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)、p38 mitogen 活性化プロテインキナーゼ(p38MAPK)を介して、ミトコンドリア新生促進因子(PGC-1 α)発現を上昇させるだけでなく、タンパク合成因子(Akt)も活性化する。そこで本研究では、臨床応用可能なCO搭載型細胞療法として、赤血球(RBC)中のヘモグロビンにCOをほぼ100%付加したCO付加型赤血球(CO-RBC)を作製し、2種類の筋萎縮モデルマウスに対する有用性を評価した。

【実験】

COの分子特性は、マウス筋芽細胞株C2C12にCO供与体であるCORM2(50 μ M)を添加し、ウエスタンブロット(AMPK, p38MAPK)、フローサイトメトリー(ミトコンドリア膜電位)またはRT-qPCR(PGC-1 α)により評価した。筋萎縮モデルマウスとして、坐骨神経を切除した除神経モデル、後肢を吊り上げた後肢懸垂モデルを作成した。マウス由来精製RBCにCOガスをバブリングし調製したCO-RBC(1400mg/kg)を週2回、2週に渡り尾静脈内投与した。

【結果と考察】

C2C12に対するCORM2処理は、AMPK、p38MAPKを活性化させ、PGC-1 α 発現及びミトコンドリア膜電位を上昇させた。また、Aktの活性化も認めたことから、COは筋細胞に対してミトコンドリア新生・タンパク合成を促進することが示された。CO-RBCによる骨格筋組織へのCO送達能を評価したところ、CO-RBCを投与したマウスでは骨格筋中のCO濃度が有意に増加した。除神経モデルにおいても、CO-RBCの投与はAMPK・p38MAPK/PGC-1 α 経路やAktを誘導するだけでなく、ミオスタチンの発現を抑制し、除神経により低下した筋重量を回復させた。これまでの臨床試験から、ミオスタチン阻害剤による筋肥大と運動能力は相関しないことが明らかとなっている。そこでCO-RBCによる運動能力の変化をトレッドミル試験で評価したところ、後肢懸垂モデルで有意に低下した走行距離は、CO-RBC投与により健常レベルまで回復した。運動能力は骨格筋細胞中のミトコンドリアに依存することから、COにより亢進したミトコンドリア新生が、運動能力の回復に寄与したものと推察される。

【結論】

COが有する多才な分子特性を基盤としたCO-RBCは、筋力・筋量を包括的に向上させることから、サルコペニアへの画期的かつ有望な細胞療法となることが期待される。

O1-2 一酸化炭素付加機能性赤血球は包括的に急性腎障害の病態を改善する

○永崎太清¹, 田口和明², 柳澤洋輝¹, 西田健人¹, 前田仁志¹, 酒井宏水³, 渡邊博志¹, 深川雅史⁴, 小田切優樹⁵, 丸山 徹¹

¹ 熊本大学薬学部薬剤学分野, ² 慶應義塾大学薬学部薬学科薬効解析学講座, ³ 奈良県立医科大学医学部化学教室,

⁴ 東海大学医学部腎内分泌代謝内科, ⁵ 崇城大学薬学部

191y3003@st.kumamoto-u.ac.jp

【緒言】

慢性腎臓病 (CKD) は間質線維化を特徴とする, 末期腎不全のハイリスク疾患である。また, 急性腎障害 (AKI) 発症後には高率で CKD へと進展することから, “AKI to CKD transition” という新たな CKD への進展機序が提唱された。従って, AKI 並びに AKI to CKD transition を包括的に制御可能な新規治療戦略が希求されている。一酸化炭素 (CO) は, 低酸素誘導因子 (HIF-1 α) をはじめ, AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) や抗酸化ストレス酵素転写因子 (Nrf2) の誘導を介して, 腎病態で悪化する低酸素・エネルギー代謝・酸化ストレス環境を是正し, 腎保護的に働く。そこで本研究では, 赤血球 (RBC) 中のヘモグロビンにほぼ 100% CO を付加することで作成した CO 付加型赤血球 (CO-RBC) が, AKI 及び AKI to CKD transition に対して病態発症・進展を抑制するか否かを検討した。

【実験】

腎組織中 CO 量はガスクロマトグラフィーにて測定した。既報に従い, 両腎虚血再灌流 (IRI) の 1 日又は 14 日後を AKI 及び AKI to CKD モデルマウスとした。CO-RBC はマウス由来の精製 RBC に CO ガスをバブリングすることで作成し, IRI の 90 分前又は 1, 3, 5 日後に CO-RBC (1,400mg Hb/kg) を投与した。ヒト近位尿細管細胞 (HK-2) に対する CORM-2 (100 μ M) の処置に加え, 腎病態を模倣し低酸素条件 (アネロバック; 終濃度 0.1% O₂) における各分子の発現を評価した。

【結果と考察】

健常マウスへの CO-RBC の投与は, 腎組織中 CO 量を有意に増加させた。AKI モデルに対し, CO-RBC は病態群で上昇した腎障害マーカー (BUN, SCr) 及び腎病理所見を改善した。その一方で, RBC では腎保護効果を認めないことから, RBC に結合した CO が腎組織へ移行し, AKI で悪化した低酸素・エネルギー代謝・酸化ストレスの是正を介して腎病態を改善する可能性を見出した。AKI to CKD に対しても, CO-RBC は腎組織中 ATP 量の増加や酸化ストレスの減弱を介して, 病態群で認められる腎線維化を顕著に抑制した。CO による腎保護効果をより詳細に調べるため, HK-2 に CORM-2 を処置したところ, HIF-1 α , リン酸化 AMPK, Nrf2 発現が増加した。腎病態を模倣した低酸素条件においても, CORM-2 はこれら分子の発現上昇を介して低酸素により減少した細胞内 ATP 量を回復させるだけでなく, 増加した細胞内活性酸素種を抑制することで, 細胞生存率を上昇させた。

【結論】

CO-RBC により腎臓へ供給された CO は, HIF-1 α , リン酸化 AMPK, Nrf2 発現を誘導し, 低酸素・エネルギー代謝・酸化ストレス環境を是正する結果, AKI 及び AKI to CKD transition の発症・進展を抑制した。

一般演題 1

O1-3 保存赤血球輸血が肝 cytochromeP450 に与える影響

○田口和明^{1,2}, 得能正裕¹, 山崎啓之¹, 小田切優樹¹

¹ 崇城大学薬学部, ² 慶應義塾大学薬学部

taguchi-kz@pha.keio.ac.jp

【緒言】 赤血球製剤は保存期間中に劣化が進行する。このような保存赤血球を輸血することで様々な生体反応を引き起こすことが報告されているが、保存赤血球輸血が薬物動態関連因子に与える影響についての報告はない。大量出血患者においては、赤血球輸血による蘇生と同時にあるいは蘇生後に、麻酔薬を始めとした種々の薬物治療の実施が想定される。そのため、保存赤血球輸血が併用薬物の代謝などの体内動態に新鮮赤血球輸血と異なる影響を及ぼす場合、赤血球輸血製剤間で併用薬の薬効発現が変化する可能性が考えられる。そこで本研究では、肝臓における主要薬物代謝酵素である cytochrome P450 (CYP) に着目し、出血性ショックモデルラットに対する保存赤血球が CYP 代謝型薬物の体内動態に与える影響を新鮮赤血球輸血と比較検討した。

【実験】 ラット全血より単離した赤血球を7日間、冷蔵保存することで保存赤血球を作製した。50%出血性ショックモデルラットに新鮮および保存赤血球のいずれかを脱血量と等量輸血した。輸血24時間後に、肝臓中 CYP3 分子種 (CYP1A2, 2C11, 3A2) の mRNA 発現量、タンパク質発現量及び代謝活性を RT-PCR, Western blotting, *in vitro* 基質代謝試験にてそれぞれ評価した。また、上記 CYP3 分子種の基質薬物の薬物動態の変化についても評価した。

【結果と考察】 出血性ショックモデルラットを新鮮および保存赤血球で輸血を施し、蘇生24時間後の肝 CYP mRNA 量を評価したところ、sham 群と比較して、両輸血群で顕著な発現量の低下が確認された。興味深いことに、保存赤血球輸血群では新鮮赤血球輸血群より有意に発現量の低下が確認された。また、肝 CYP 分子種別タンパク質発現量と代謝活性を評価した結果、sham 群と比較して両輸血群で CYP タンパク質の発現量と活性の低下が観察されたものの、新鮮および保存赤血球輸血群間で差はなかった。CYP タンパク質発現及び活性の低下に伴い、蘇生24時間後の出血性ショックモデルラットにおける CYP 基質の血中滞留性は sham 群と比較して両赤血球輸血群で遷延した。

【結論】 大量出血時に対する保存赤血球輸血が肝 CYP プロファイルに与える影響は新鮮赤血球輸血とほとんど変わらない。

一般演題 1

O1-4 ヘモグロビン小胞体を用いた一酸化炭素投与の脳神経系への影響

○奥田千愛, 酒井宏水

奈良県立医科大学化学教室

chie.ok.0707@gmail.com

【緒言】一酸化炭素(CO)は無色無臭の有毒ガスであり、組織低酸素症や、さまざまなメカニズムによる免疫学的または炎症性の細胞損傷を引き起こす。CO中毒には急性中毒と遷延性中毒があり、遷延性中毒は急性期症状が回復した数日～数週間後に生じる神経障害である。一方で、COは抗炎症作用や抗酸化作用を有しており肺や肝臓での虚血再灌流障害に有用との報告がある。COの投与方法にはいくつかあるが、その1つがヘモグロビン小胞体(HbV)を用いる方法である。COが結合したHbV(CO-HbV)は安定して存在し、COを6時間放出し続けることが出来る。これまでに、CO-HbV投与による様々な効能が動物実験で確認されてきた¹⁾が、COガスの毒性によって脳障害が生じる可能性については十分な検討がなされてこなかった。そこで本研究ではCO-HbV投与による脳神経系への影響を評価することを目的とした。

【実験】7-10週齢のラットをイソフルランによる全身麻酔下に固定し、大腿動脈にカテーテルを留置した。CO中毒モデル群は、全身麻酔下で3000ppmのCOに60分間曝露し、曝露後0,7,14,21日に脳組織標本を作成し海馬損傷の程度を評価した。CO-HbV投与群は、全身麻酔下に循環血液量の50%に相当する量のCO-HbVを投与し、投与後14日に脳組織標本を作成し海馬損傷の程度を評価した。

【結果と考察】CO中毒モデル群ではCO曝露後14日に作成した脳組織標本における海馬損傷の程度が最も大きかった。CO-HbV投与群ではCO中毒による海馬損傷はみられなかった。この原因として2つ考えられる。1つ目はCOの投与量の違いである。CO中毒モデル群ではCO曝露後のカルボキシヘモグロビン(HbCO)は60-70%であったが、CO-HbV投与群におけるCO-HbV投与後のHbCOは約30%であった。2つ目はCOの投与方法の違いである。経気道的に投与されたCOは経静脈的に投与されたCOと比較して毒性が強いとの報告がある²⁾。

【結論】HbVを用いたCO投与は経気道的な投与と比較して、海馬損傷を生じる可能性が低く安全である。

【文献】

- 1) Taguchi K, Yamasaki K, Sakai H, Maruyama T, et al., *J Pharm Sci.* **2017**, 106, 2392-2400.
- 2) Goldbaum L.R, Ramirez R.G, et al., *Space Environ Med.* **1975**, 1289-91.

一般演題 1

O1-5 ヘモグロビン小胞体投与がマウスの皮膚創傷治癒へ及ぼす影響

○橋本 諒¹, 河野光智¹, 小野沢博登¹, 大岩加奈¹, 増田良太¹, 渡辺真純², 堀之内宏久³, 酒井宏水⁴, 小林絃一², 岩崎正之¹

¹ 東海大学医学部外科学系呼吸器外科学, ² 慶應義塾大学医学部外科, ³ さいたま市立病院呼吸器外科,

⁴ 奈良県立医科大学医学部化学教室

hryo@tokai.ac.jp

【緒言】 周術期出血は外科手術の主要な合併症の1つであり、ショックや死に至るまでの大量出血が起こりうる。出血が生じた場合、失われた血液を補う輸液と止血は、臓器の機能不全が始まる前に行われなければならない。しかし輸血体制が整っている病院であっても、輸血が数分遅れることによって心停止や低酸素性脳症のリスクがある。したがって、緊急時に手術室で遅滞なく使用できる人工赤血球の臨床応用が望まれる。濃縮されたヘモグロビンを内包したリポソームであるヘモグロビン小胞体(Hemoglobin vesicle, HbV, 直径, 250nm; P50, 28 Torr)は長期保存が可能であり、血液型はなく、感染のリスクもない。手術室に常備することが可能であり、手術中の突然の大量出血に即座に使用できるという理想的な特性を有している。これまでのマウスやラットの肺切除周術期出血モデルでの研究で、HbVの投与が呼吸循環動態を安定させることが明らかになっている。手術侵襲からの回復にも明らかな有害事象を認めず、赤血球と同等の効果を示した。

【実験】 創傷治癒に対するHbV投与の影響を評価する実験を行った。マウスに麻酔をかけ、40%の交換輸血を行った後、各動物の背部の皮膚を剃毛して消毒し、皮膚生検用パンチで直径8mmの全層切除創を作成した。皮膚欠損部は被覆せず、マウスを別々のケージに戻した。傷口を写真撮影し、MicroAnalyzer(Nihon Poradigital Co.)を使用して非上皮化部の面積を毎日測定した。非上皮化部の面積は切除直後の面積に対する値を算出して解析した。5%組換えヒト血清アルブミン(rHSA)に懸濁したHbVを投与する群(HbV/rHSA)、rHSAに懸濁したマウス赤血球RBCを投与する群(sRBC/rHSA)、5%組換えヒト血清アルブミン投与群(rHSA)、または乳酸加リンゲル液投与群とで比較した。

【結果】 40%血液交換し、皮膚切除した後、すべての群でマウスは全例が10日間以上生存した。非上皮化部の面積は4グループで日毎に減少したが、乳酸リンゲル液を投与したグループでは、他の3グループと比較して創傷閉鎖が遅れる傾向があった。対照群と他の3群の創傷面積の差は5日目に最大となったが、統計学的には有意差を認めなかった。sRBC/rHSA群およびHbV/rHSA群のすべての創傷は9日目までに完全に上皮化され、rHSA群および乳酸リンゲル液群のすべての創傷は10日目までに完全に上皮化された。

【結論】 皮膚の創傷治癒は、HbVの投与によって血液が希釈されても影響を受けなかった。皮膚以外の臓器の創傷治癒が影響を受けるか否かに関しては、将来検証せねばならない。

一般演題 1

O1-6 マウス気管移植モデルにおけるヘモグロビン小胞体投与後の上皮血管再灌流の検証

○小野沢博登¹, 橋本 諒¹, 大岩加奈¹, 中川知己¹, 河野光智¹, 増田良太¹, 渡辺真純², 堀之内宏久³, 酒井宏水⁴, 小林紘一², 岩崎正之¹

¹ 東海大学 医学部外科学系呼吸器外科学, ² 慶應義塾大学 医学部外科, ³ さいたま市立病院 呼吸器外科,

⁴ 奈良県立医科大学 医学部化学教室

h-onozawa@kcch.jp

【緒言】

輸血代替として開発されたヘモグロビン小胞体(hemoglobin vesicle; HbV)は、期限切れ輸血用ヒト赤血球からヘモグロビンを抽出精製し、リボソームに内包、膜表面を PEG 修飾した径 250nm の微粒子である。血液中での酸素運搬体としての機能や、出血性ショックの蘇生における有効性、安全性が様々な動物モデルで確認された。血液型に関係なく使用でき、感染のおそれがなく、室温で2年以上の備蓄が可能であり、救急医療や大規模災害時、或いは離島やへき地で赤血球輸血の代替としての使用が見込まれ、AMED の支援を受け臨床試験の準備が進んでいる。外科手術中の大量出血に対しても遅滞なく投与出来ると考えられ、我々は肺切除動物モデルで、HbV の投与が急性期では呼吸循環動態を安定させ、長期的には術後回復に重篤な影響を及ぼさないことを確認した。一方、赤血球より粒径が小さい HbV は虚血に陥った組織の微小血管をいち早く灌流して微小循環を改善させる効果を有し、虚血性疾患に対する有効性も示唆されている。また、 P_{50} を 9 Torr に低下させた高酸素親和型 HbV や、強力な抗酸化、抗炎症作用を発揮する一酸化炭素結合型 HbV (CO-HbV) も作成出来る。このような HbV は微小循環不全に陥った移植組織の酸素化に有効である上、付加的な効果も得られる可能性がある。

【実験】

マウス気管並走移植モデルで HbV を投与し、上皮下毛細血管(subepithelial capillaries(SEC))の血流を観察した。マウスは C57BL6J, 7週齢のものを用意した。まず全身麻酔下にドナーの輪状軟骨下から分岐部までの気管を摘出し、生食に浸透して4℃で冷保存する。その後、同系レシピエントの気管に2カ所で端側吻合を行う。移植後に尾静脈から HbV 液(Hb 濃度 10g/dL)0.3ml を投与し覚醒させる。所定の period で犠牲死させ、気管を摘出し病理組織学的に評価を行う。本実験では投与後 3.6.12.24 時間での評価を行なった。

【結果と考察】

摘出献体は切り出し HE 染色で観察された。術後 6 時間後で SEC に赤血球及び粒子集塊が観察され、再灌流が確認された。この粒子を電子顕微鏡で観察すると形態上 HbV であることが確認された。3 時間の時点では RBC に先んじて HbV が再還流していることが確認された。

現在他の period でも電子顕微鏡で SEC の観察を進めており、詳細な再還流の時期を確認中である。

一般演題 2

O2-1 人工ヘムタンパク質モデル錯体による生体内一酸化炭素の微量高感度検出法

○北岸宏亮, 毛 齊悦

同志社大学理工学部

hkitagis@mail.doshisha.ac.jp

【緒言】 有毒ガスである一酸化炭素(CO)は、吸入すると血中ヘモグロビン(Hb)と強く結合するとともに、各臓器へと分散して生体毒性を示す。血中におけるCO量の検出および定量方法は、吸光度を基本とするオキシメーターで確立されている一方、臓器や組織中におけるCO分布については、簡便な定量方法が乏しいために知見が少ない。ガスクロマトグラフィー(GC)による定量が行われてきたが、GC装置が必要である点と、GCの場合は臓器から遊離したCOを定量するため、実際のCO量よりも少なく見積もる傾向があり、問題がある。本研究では、以前に我々の研究室で合成し報告した人工ヘムタンパク質モデル化合物 hemoCD^{1,2)}をCO定量試薬として用いて、臓器内に含まれる微量COを定量するアッセイを確立したので、報告する。

【実験】 hemoCDの構成成分である鉄(III)ポルフィリンとシクロデキストリンダイマーは、我々の研究室で合成した。これらを等モル比で混合した水溶液(met-hemoCD1)と還元剤($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)をラットの臓器サンプル(5-20mg)に加え、超音波破碎後、遠心分離およびろ過処理により透明な溶液を得た。この溶液における422nmおよび434nmの吸光度をそれぞれ測定し、それらの値を用いることで臓器に含まれるCOを検出および定量した。

【結果と考察】 hemoCD1はHbのR状態よりもCO親和性が高いため、CO-HbからhemoCD1へと定量的にCOがトランスファーすることを確認した。これまで知られている生体内ヘムタンパク質の中でHb-RはCO親和性が最も高い部類に入ることから、hemoCD1は臓器および組織に含まれるCOを残さず捕捉可能であると考えられる。臓器内COの定量結果について、(1)検出限界、(2)臓器内残存血液が与える影響、(3)既存の方法(GC)での結果との比較、(4)外来性COを吸引した際の臓器内CO分布の4点に着目してデータを収集し、検討した。その結果、(1)200pmol程度まで検出可能、(2)生理食塩水フラッシングによる血液除去により臓器内COの定量が可能、(3)GCよりも多くのCOが検出された、(4)外来性COは臓器内COに非常に速く分布することが明らかとなった。

【結論】 我々が確立したhemoCDアッセイは、特殊な装置を必要とせず分光器のみで臓器内COをpmolオーダーで正確に感度良く定量することが可能であった。この手法では外来性COの臓器分布を明らかにすることができるため、CO中毒のメカニズム解明に役立つことができるだろう³⁾。

【文献】

- 1) H. Kitagishi, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 5417–5425; **2017**, 139, 5984–5991.
- 2) 北岸宏亮, *人工血液*, **2019**, 27, 44–52.
- 3) 毛齊悦ら, 第27回日本血液代替物学会年次大会, 講演要旨集(2020).

一般演題 2

O2-2 臓器内一酸化炭素の高感度検出により示された血中ヘモグロビンによる一酸化炭素中毒の保護作用

○毛 齊悦¹, 川口 章², 北岸宏亮¹

¹ 同志社大学理工学部, ² 東海大学医学部

hkitagis@mail.doshisha.ac.jp

【緒言】一酸化炭素(CO)は有毒ガスとして知られており, 血中ヘモグロビン(Hb)と強く結合し, CO中毒の際には血中CO-Hbレベルに基づいて中毒が診断される。しかし, 組織内のCO蓄積が致死の直接的な原因であるという可能性¹⁾が無視されている。我々はこれまでに生体内でCOを選択的に除去できる化合物hemoCDを用いて内因性COの生理機能について報告してきた²⁾。今回, hemoCDを用いて簡単な分光法により定常状態およびCOガス吸引後においてラットの各臓器のCO量を定量し, HbによるCO中毒の保護的な役割を見出したので, 報告する。

【実験】ラットの各臓器(大脳, 小脳, 肺, 肝臓, 心臓, および筋肉)において内因性CO分布をhemoCDを用いて調べた。次に, 400ppmのCOガスをラットに5, 10, 20, および80分間経口吸引し, 各時間における血中CO-Hb%を血液ガス分析装置(ABL825)を用いて計測した。ラットの各臓器内のCO量変化はhemoCDを用いたアッセイにより追跡した。

【結果と考察】400ppmのCOガスを吸入して5分後, 各臓器のCO量はCOを吸入する前と比較して著しく増加した。しかしながら, 10, 20, および80分と継続して吸入させても, 血中CO-Hb%は直線的に増加するが, 各臓器のCO量は5分吸入後の結果と比較して有意な増加が観測されなかった。これはCOガスが速やかに各臓器へと分散し蓄積されるが, その後はCO親和性の高い血中のHbと結合することにより, 体外へと排出される。すなわち, 血中Hbは臓器内での過剰なCOの蓄積を防止する働きがあることが考えられる。

【結論】hemoCDを用いた生体内CO量の定量により, 血中Hbの循環によりCO吸入における組織へのCOの分布と蓄積が抑制され, CO中毒時における血中Hbの保護的な役割が明らかとなった。

【文献】

- 1) J. J. Rose, L. Wang, Q. Xu, C. F. McTiernan, S. Shiva, J. Tejero, M. T. Gladwin, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2017**, 195, 596–606.
- 2) S. Minegishi, I. Sagami, S. Negi, K. Kano, H. Kitagishi, *Sci. Rep.* **2018**, 8, 11996.

一般演題 2

O2-3 ポリオキサゾリン修飾ヘモグロビン (Hemoxa™) の合成と有効性評価

○樋渡侑樹¹, 岡本 航¹, 橋本 諒², 小野沢博登², 河野光智², 岩崎正之², 森田能次¹, 小松晃之¹

¹ 中央大学理工学部, ² 東海大学医学部

komatsu@kc.chuo-u.ac.jp

【緒言】ヘモグロビン(Hb)に生体適合性の高い合成高分子であるポリエチレングリコール(PEG)を結合したPEG修飾Hbが、人工酸素運搬体として数多く報告されている¹⁾。PEGは非毒性かつ免疫学的ステルス性を示し、血中滞留時間の延長に効果がある。しかし近年、PEGは体内に蓄積し、抗PEG抗体を産生することがわかってきた²⁾。抗PEG抗体はPEG医薬品の治療非経験者でも保有する場合があります、危惧されている。一方、ポリオキサゾリン(POx)はPEGと同様に毒性がなく、PEGよりも優れた免疫学的ステルス性を示すため、PEGの代替物として注目を集めている³⁾。本研究では、Hbの分子表面にPOxを結合したポリオキサゾリン修飾ヘモグロビン(製剤名“Hemoxa™”)を合成し、ラット出血性ショックモデルによる有効性評価を行ったので報告する。

【実験】Hbに二官能性架橋剤のN-succinimidyl 3-maleimidopropionateを反応させ、分子表面にマレイミド基を導入した後、末端にメルカプト基をもつPOx(POx-SH)を反応させることにより、Hemoxa™を合成した。また、Wister系雄性ラット(約230g)の出血性ショックモデルにHemoxa™溶液([Hb]=5g/dL)を投与し、蘇生を行った。投与6時間後まで循環動態観察および血液ガス分析を行った。

【結果と考察】Hemoxa™のサイズ排除クロマトグラムがHbに比べ高分子量側にピークを示したことからHbにPOxが導入されていることを確認した。Hemoxa™の乾燥重量から求めたPOxの平均結合数は6~7本/Hbであった。酸素親和性の指標である P_{50} は8Torr、協同性の指標であるHill係数(n)は1.4となり(37℃, pH 7.4)、ヒト血液(25Torr, 2.5)に比べ高い酸素親和性を示した。Hbの表面Lys残基とCys-β93が化学修飾され、四次構造変化が抑制されているためと考えられる。ラット出血性ショックモデルにおいて、乳酸リンゲル液投与群ではすべてのラットが4時間以内に死亡したのに対し、Hemoxa™群のラットは全例が投与6時間後まで生存した。50%脱血による低血圧(平均動脈血圧: 約30mmHg)はHemoxa™の投与により回復した。脱血により上昇した動脈血酸素分圧もHemoxa™投与により回復した。

【結論】

人工酸素運搬体Hemoxa™が出血性ショック状態の蘇生液として有効であることが明らかとなった。

【文献】

- 1) R. M. Winslow *et al.*, *Transfusion*, **2003**, 43, 509.
- 2) M. J. Vicent *et al.*, *Polym. Chem.*, **2011**, 2, 1900.
- 3) T. X. Viegas *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, **2011**, 22, 976.

一般演題 2

O2-4 ヘモグロビンナノ粒子(HbNP)の合成と有効性評価

○長谷川舞¹, 岡本 航¹, 橋本 諒², 小野沢博登², 河野光智², 岩崎正之², 小松晃之¹

¹ 中央大学理工学部, ² 東海大学医学部

komatsu@kc.chuo-u.ac.jp

【緒言】 肝臓の微小血管にある類洞内皮細胞小孔(直径約 90 nm)を通過する人工酸素運搬体は, 類洞外に拡散すると血管弛緩因子である CO を捕捉し, 類洞血管の収縮に伴う肝機能障害を起こす懸念がある。もし, ヘモグロビン(Hb)を主成分とする粒径 100 nm 程度の球状粒子を量産することができれば, 新しい人工酸素運搬体となるものと期待される。本研究では, Hb の微粒子をヒト血清アルブミン(HSA)で被覆したヘモグロビンナノ粒子(HbNP, Fig. 1)を合成し, その構造と O₂ 結合能を明らかにしたので報告する。さらに, 50%脱血によるラット出血性ショックモデルを用いた HbNP の有効性評価も行ったので併せて報告する。

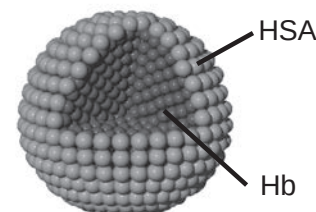


Fig. 1 structure of HbNP.

【実験】 ヒトヘモグロビン(HbA)溶液に *N*-succinimidyl 3-maleimidopropionate を加え, 分子表面にマレイミド基を構築した後, Dithiothreitol と反応させることにより HbA を重合し, HbA の微粒子を得た。微粒子の表面に残ったマレイミド基に HSA を結合することでコア-シェル型の HbNP を合成した。Wistar 系雄性ラット(体重: 約 220 g)の出血性ショックモデル(循環血液量の 50%を脱血)に HbNP 溶液([Hb]=5 g/dL, in 5% HSA)を投与し, 蘇生を行った。投与 6 時間後まで循環動態観察および血液ガス分析を行った。

【結果と考察】 動的光散乱法による粒径測定から, HbNP の粒径が約 90 nmであることを明らかにした。また, 走査型電子顕微鏡観察から HbNP の球状構造を確認した。酸素親和性の指標である P_{50} は 8 Torr (PBS, 37°C), 協同性の指標である Hill 係数(n)は 1.4 であり, ヒト血液(25 Torr, 2.5)に比べ高い酸素親和性を示した。出血性ショック状態における低酸素組織への酸素輸送などに優れた効果を発揮すると思われる。

ラット出血性ショックモデルにおいて, 乳酸リンゲル液投与群ではすべてのラットが 4 時間以内に死亡したのに対し, HbNP 群では全例が 6 時間後まで生存した。平均動脈血圧は, 50%脱血により約 30 mmHg まで低下したが, HbNP の投与により脱血前と同程度まで回復し, その後も安定した推移を示した。脱血後に上昇した動脈血酸素分圧は, HbNP 投与により脱血前と同程度まで回復し, 返血群と同様の推移を示した。以上の結果から HbNP が出血性ショックラットの蘇生に有効であることが明らかとなった。

【結論】 HbNP を合成し, その構造と O₂ 結合能を明らかにした。また, ラット出血性ショックモデルにおける循環動態観察および血液ガス分析から, HbNP の赤血球代替物としての有効性を明らかにした。

一般演題 2

O2-5 ヘモグロビンと NADH との相互作用解析による、メト化抑制効果の機序解明

○山田孫平, 松平 崇, 山本恵三, 酒井宏水

奈良県立医科大学医学部化学教室

m-yamada@naramed-u.ac.jp

【緒言】 HbO₂ のメト化を抑制する物質のスクリーニングを行った結果、高濃度の NADH に極めて高いメト化抑制効果があり、HbO₂ と共存すると擬似スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)および擬似カタラーゼ(CAT)活性が見られることが明らかになった¹⁾。本発表では、阻害剤を用いた酵素学的解析(Lineweaver-Burk プロット)、自動酸化の中間体の HPLC 分析、NADH の ³¹P NMR 測定、および HbO₂ と NADH のドッキングシミュレーションにより明らかになった、NADH による HbO₂ のメト化抑制効果のメカニズムを報告する²⁾。

【実験】 NADH と HbO₂ の混合溶媒に対し、R 状態の HbO₂ にも弱く結合することが知られる inositol hexa-phosphate(IHP) または 2,3-diphosphoglycerate(DPG)を阻害剤として加え、擬似 SOD、擬似 CAT 活性についてそれぞれ Lineweaver-Burk プロットを作成した。HPLC にて自動酸化を追跡し、HbO₂ の α または β 鎖のみが酸化した中間体を定量した。NADH に対する HbO₂ の添加量を変化させて ³¹P NMR 測定を行い、NADH に含まれるリン(³¹P)のシグナルのケミカルシフトと積分値の変化を調べた。HbO₂ と NADH の結晶構造を基に、ソフトウェア(MF myPresto)を用いてドッキングシミュレーション(DS)を行った。

【結果と考察】 Lineweaver-Burk プロットから得られた K_m 値が mM オーダーの大きな値を示し、IHP と DPG の添加により拮抗阻害を示したことから、NADH と HbO₂ の相互作用は一般的な酵素と基質に比べてかなり弱い結合であり、NADH は IHP や DPG と同じ結合部位に結合していることが推定された。また、HPLC により HbO₂ の自動酸化の中間体を追跡したところ、NADH を加えない場合では α 鎖のヘムは β 鎖のヘムより酸化されやすいのに対し、NADH 存在下では、 α 鎖のヘムの酸化が優先的に妨げられていることが明らかになった。さらに、NADH に対し HbO₂ の添加量を変化させて ³¹P NMR 測定を行ったところ、HbO₂ に結合した NADH は結合していない NADH に比べ、リン原子のシグナルが低磁場シフトして観測された。その積分強度比を HbO₂ 濃度に対しプロットした結果、NADH は HbO₂ に化学量論的に結合していることがわかった。最後に、DS を行った結果、NADH が HbO₂ の 2 つの α 鎖に挟まれたポケットに結合した構造が最も安定であった。この結合部位は阻害剤(IHP, DPG)の結合部位と同一であり、酵素学的解析の結果と良く合致していた。以上の実験結果より、NADH がメト化を抑制する機構は、NADH が HbO₂ の α 鎖に挟まれたポケットに 1:1 で結合することで、NADH から α 鎖のヘムへの電子移動が起こり、メト化を抑制すると考えられる。

【結論】 酵素学的解析、HPLC 分析、³¹P NMR、DS の結果、NADH は HbO₂ の α 鎖に挟まれたポケットに結合し、近傍の α 鎖のヘムの酸化を抑制するメカニズムが明らかになった。

【文献】

- 1) Yamada M, Sakai H, *ACS Chem.Biol.* **2017**, 12, 1820-1829.
- 2) Yamada M, Matsuhira T, Yamamoto K, Sakai H, *Biochemistry* **2019**, 58, 1400-1410.

M E M O

[illegible]

第 27 回日本血液代替物学会年次大会の開催につきましては、多くの企業、団体・関連施設よりご支援、ご協力をいただいております。ここに企業名、団体・関連施設名を記して謝意を表します。

The 27th Annual Meeting of the SBSJ is partially supported by the following companies and foundation.

〈企業〉

旭化成ファーマ株式会社

アステラス製薬株式会社

アストラゼネカ株式会社

エア・ウォーター・メディカル株式会社

協和キリン株式会社

グラクソ・スミスクライン株式会社

ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社

武田薬品工業株式会社

中外製薬株式会社

帝人ヘルスケア株式会社

テルモ株式会社

東海教育産業株式会社

一般社団法人 日本血液製剤機構

日本イーライリリー株式会社

富士システムズ株式会社

〈団体・関連施設〉

医療法人社団松和会 池上総合病院

静岡市立清水病院

星医会（東海大学医学部医学科同窓会）

一般社団法人 芙蓉協会聖隷沼津病院

東海大学外科同窓会・刀鷗会

学校法人東海大学 総合研究機構

（五十音順・2020 年 10 月 26 日現在）

外傷性大量出血に対する人工血液と輸血治療の最前線

The Cutting Edge of Transfusion for Applying Blood Substitutes

萩沢 康介*, 木下 学

Kohsuke Hagiwara, Manabu Kinoshita

和文抄録

輸血の歴史は新鮮全血輸血から始まり、血液保存法の開発と血液供給体制の拡充に伴い成分輸血へと発展してきた。しかしながら海外では外傷による大量出血への緊急輸血に関しては、救命効果の点からも再び全血輸血へと回帰しつつある。我々の家兎による検討では、赤血球や血小板に対する血液代替物の開発により、これらの迅速な投与でプレホスピタルにおいても全血輸血に匹敵する救命効果が得られつつある。可能な限り全ての血液成分を補うという成分輸血の理想が実現できる日も近いと期待する。副作用合併症を極力抑えた上で、補給管理の制約が少なく、universal に使用可能な人工血液は輸血学の到達すべきゴールとも言えるのではないだろうか。

Abstract

Everyone who is interested in artificial blood must pursue the progress of blood transfusion to examine safety and the effectiveness of the blood substitute. The history of blood transfusion seems like a pilot who always shows direction of research and development for the blood substitute. To achieve sufficient oxygen supply and coagulation ability without immune reaction and logistical limitation, artificial blood infusion might be suitable for prehospital resuscitative fluid instead of component balanced transfusion and whole blood transfusion

Keywords

Component transfusion, Whole blood transfusion, Prehospital transfusion, Hemoglobin vesicle, H12-(ADP)-liposome, Damage control surgery

はじめに

本誌の読者は血液代替物の開発や応用に従事している研究者をはじめとして、血液代替物に科学的関心を寄せている方々であり、輸血や輸液というものにも通暁されている方が多いと考える。著者らを含め血液代替物の臨床応用を目標としている研究者は、実際に血液代替物が使用される局面を想定して血液代替物の安全性や有効性を検討しており、輸血学の歩んできた道のりは血液代替物の研究にとって、研究開発の方向性を指し示してくれる水先案内人のような存在と言える。このような観点から、輸血や輸液の進歩の歴史を振り返りながら、血液代替物の今後の役割について論じることは意義深いと考える。

19世紀から20世紀：成分輸血と輸液の確立

輸血の歴史とは大量出血への対応の歴史と言い換えることができる。1829年にLancet誌においてBlundelらが輸血（全血輸血）の成功例を最初に報告¹⁾したのは産後の大量出血症例であり、これは供血者からベッドサイドで直接新鮮全血を輸血したものであった（図1）。輸液の始まりもちょうど同時期であり、1832年にやはりLancet誌にLattaらが当時世界的なパンデミックになっていたコレラ患者に食塩水を投与して脱水から回復させたこと²⁾を端緒としている。

輸血学が多大な進展を見せたのは、1900年にLandsteinerらにより血液型が発見されたことによるところが大きい。1907年

防衛医科大学校 生理学講座

〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2 Department of Physiology, National Defense Medical College, Namiki 3-2, Tokorozawa city, Saitama, Japan 3598513

* E-mail: hagiwara@ndmc.ac.jp

防衛医科大学校 免疫微生物学講座

〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2 Department of Immunology and Microbiology, National Defense Medical College, Namiki 3-2, Tokorozawa city, Saitama, Japan 3598513

論文受付 2020年7月27日 論文受理 2020年8月8日

THE LANCET.

Vol. II.] LONDON, SATURDAY, JUNE 13. [1828-9.

OBSERVATIONS

ON

TRANSFUSION OF BLOOD.

By Dr. BLUNDELL.

*With a Description of his Gravitator.**

STATES of the body really requiring the infusion of blood into the veins are probably rare; yet we sometimes meet with cases in which the patient must die unless such operation can be performed; and still more frequently with cases which seem to require a supply of blood, in order to prevent the ill health which usually arises from large losses of the vital fluid, even when they do not prove fatal.

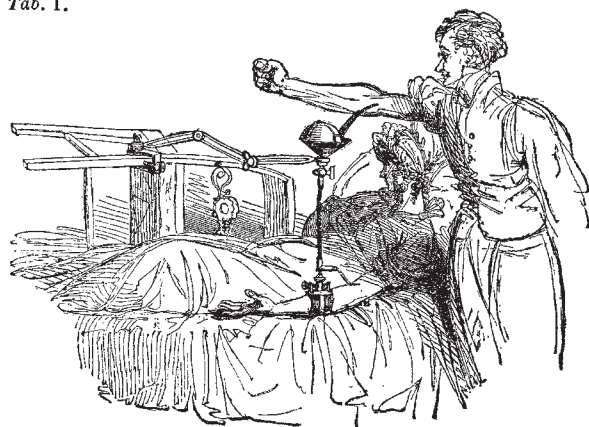
* The instrument is manufactured by Messrs. Maw, 55, Aldermanbury.

In the present state of our knowledge respecting the operation, although it has not been clearly shown to have proved fatal in any one instance, yet not to mention possible, though unknown risks, inflammation of the arm has certainly been produced by it on one or two occasions; and therefore it seems right, as the operation now stands, to confine transfusion to the first class of cases only, namely, those in which there seems to be no hope for the patient, unless blood can be thrown into the veins.

The object of the Gravitator is, to give help in this last extremity, by transmitting the blood in a regulated stream from one individual to another, with as little exposure as may be to air, cold, and inanimate surface; ordinary venesection being the only operation performed on the person who emits the blood; and the insertion of a small tube into the vein usually laid open in bleeding, being all the operation which it is necessary to execute on the person who receives it.

The following plate represents the whole apparatus connected for use and in action:—

Tab. 1.



No. 302.

Y

図1. 最初の全血輸血成功例（新鮮全血）の報告（Lancet 1829; 2: 321-324）

にはクロスマッチテストが実施されるようになり、O型血液が universal donor として認識されるようになった³⁾。1915年には抗凝固剤としてクエン酸が発見され、血液を安定した状態で保存できるようになった。当時は第一次大戦の最中であり、戦場で受傷者の血圧を測定しながら、冷蔵保存したO型の全血を輸血することが広く行われるようになった。大戦後の1937年に米国シカゴのCook County病院を嚆矢として、院内に血液銀行を設立する動きが進み、血液の供給体制も整備されていった。

次の変換点は第二次世界大戦である。1940年、米国ハーバード大学のCohnらが血漿からアルブミン、ガンマグロブリン、フィブリノーゲンを分離する技術を開発した⁴⁾。Cohnらが確立したアルブミン製剤は、早くも1941年の真珠湾攻撃での受傷者に使用され、出血性ショック患者への有用性が認められた³⁾。欧州では1943年に、翌年のノルマンディー上陸作戦の計画を策定する際に輸血用全血の不足が明らかになり、チャーチル首相の決定により、全血輸血の代替として血漿製剤の使用が開始さ

れた³⁾。当時は、全血も血漿も得られない緊急の場合に晶質液投与が行われることもあったが、1942年には血漿製剤の代替を目的として、膠質液であるデキストランが開発された⁵⁾。このように血液製剤とともに輸液製剤の開発が急速に進んだのもこの頃であった。

戦後になり、いくつかの問題が顕在化してきた。一つは血漿製剤の使用による肝炎感染の蔓延であり、もう一つはデキストラン製剤使用による希釈性凝固障害（凝固低下）の発生である³⁾。これらの課題を一つ一つ解決していく中で、献血制度が拡充されていった。その後、赤血球・血漿・血小板を分離保存し、必要に応じて使用する成分輸血 component transfusion ができた。成分輸血として赤血球等を選択的に輸血することで、全血輸血に比べ輸血量が少なく済むようになり、これによって輸血される患者の心臓にかかる負担の軽減と副作用を防ぐといった利点ももたらされた。成分輸血は輸血の需要と供給のバランスを保つことにも役立った。

いっぽう、成分輸血の制約として、大量出血に対して緊急に輸血が必要となる場合では、新鮮凍結血漿は解凍時間が必要であり、どうしても冷蔵保存している赤血球投与が先行することが多くなってしまふ点が挙げられる。また、血小板は保存可能期間が短いため、必ずしも迅速に投与できるとは限らない。これらを考慮したうえで、輸血のガイドラインでは細胞外液（晶質液）の投与を行って血行動態を維持しながら、不足する血液成分を赤血球・血漿・血小板の順で逐次補うことが推奨されている⁶⁾。

21世紀：バランス輸血そして全血輸血の再興

今世紀に入って、外傷による出血に対して晶質液や赤血球の輸液輸血を先行した場合に希釈性凝固障害の頻度が増加してしまふことが明らかになってきた。これを解消するため、赤血球・血漿・血小板を輸血早期から米国の輸血単位比として、1:1:1で使用する balanced transfusion（バランス輸血）の考え方が提唱された⁷⁾。さらに Damage control surgery の概念が浸透し、病院到着前から輸血を開始する Prehospital transfusion が提唱され、受傷者の救命率向上に寄与するとともに、総輸血量を軽減できることが報告された^{8,9)}。

しかしながら、先述のように赤血球と血漿（新鮮凍結血漿）や血小板は保存方法の違いから先行して準備をするのに必要な時間が大きく異なり、同時投与を行うには輸血部門の負担が大きい。しかも、保存液の容積が無視できない存在になり、結果として各血球成分は希釈されてしまふ。実際に赤血球・血漿・血小板を米国の輸血単位比 1:1:1 で使用した場合、ヘマトクリット 29%、血小板数は 90,000/μL になり、凝固因子濃度も全血の 62% 程度になってしまう。こうした補給の制約及び希釈を防止する観点から、2004年頃より、緊急輸血の現場では全血輸血が再び利用されるようになってきた。（全血は多くの場合、ヘマトクリット 35-38%、血小板数は 150,000-200,000/μL であり、凝固因子濃度も供血前の 85% 程度を維持している）

2020年に初めて、全血輸血と成分輸血 component transfusion

の効果を比較検証するメタアナリシスが報告された¹⁰⁾。それによれば24時間と30日間の生存率に有意差はなく、輸血法による優劣は示されなかった。しかし、この報告には様々なLimitationがある。一つには、メタアナリシスの対象となった12本の報告¹¹⁻²²⁾は1本¹¹⁾を除いて後ろ向き研究である点や、対象者の多くが軍人つまりは若年男性であり偏りがある点、また全血の内容として、新鮮血を使用した報告と保存全血を使用した報告が混在している点が挙げられる。しかしながら、筆者の視点でもっとも大きな制約と感じられたのは、成分輸血 component transfusion と概括されている中に balanced transfusion (バランス輸血) を行っているものや、そうではない報告も含まれている点である。具体的には6つの報告¹¹⁻¹⁶⁾では単位比として1:1:0.5から10:5:1まで投与量にバラつきがあり、残りの6つの報告¹⁷⁻²²⁾では赤血球と血漿の投与に限られているなど、場合によっては輸血内容が不詳である報告も見られた。つまるところ、赤血球・血漿・血小板を1:1:1で使用する balanced transfusion (バランス輸血) は、未だ本格的に実施されているとは言いがたいのが実情である。

また、読者の多くがお気づきのように、全血輸血であろうが成分輸血であろうが、輸血関連急性肺障害 (TRALI) や輸血関連循環過負荷 (TACO) などの輸血に起因する副作用や合併症の防止にはつながらない点にも留意しなければならない。

人工血液の特徴と期待される役割

これまで述べた輸血法の進歩の歴史を鑑みると、副作用や合併症を極力抑えた上で、補給管理の制約が少なく、血液型にも関係なく正に universal に使用が可能である血液代替物の開発こそ輸血学の到達すべきゴールとも言えるのではないだろうか。

酒井らが開発を進めている人工酸素運搬体 Hemoglobin vesicle (HbV) (図2左) は、リポソーム内にヒト由来のヘモグロビンを内包した平均径250nmのナノ粒子である。HbVは、Hb値として10g/dlに相当する酸素運搬能を有している^{22,23)}。

同様に血小板の代替物として H12-(ADP)-liposome (図2右) (平均径170nm) が、半田、武岡、池田らによって開発された。血小板の凝集は、活性化した血小板膜上の GPIIb/IIIa 複合体 (受容体) への結合を介して血漿中のフィブリノーゲンが血小板同士の架橋となって引き起こされる²⁴⁾。フィブリノーゲン分子の GPIIb/IIIa 複合体との結合部位は3カ所あり、そのうち2カ所はフィブリノーゲンの α 鎖に、あとの1カ所は γ 鎖のカルボキシ末端を構成する12個のアミノ酸 (400 HHLGGAKQAGDV411: H12) に限定される。H12-(ADP)-liposome は後者の H12 をリポソーム膜の表面に組み込むとともに、リポソーム内部に血小板活性化作用があるアデノシン5'-二リン酸 (ADP) を内包している²⁴⁾。H12-(ADP)-liposome は出血部位に集積し、そこで血小板血栓の形成を促進する、いわば血小板補助剤である。これまでの検討で HbV、H12-(ADP)-liposome 共にリポソーム溶液として4℃の冷蔵庫内に静置した場合、少なくとも1年間は、酸素運搬能や止血機能が維持されることを確認している²⁵⁾。

いずれの場合も、血液型等を考慮する必要がなく、また血液中のサイトカイン上昇による TRALI や TACO などの副作用や合併症の危険性もないと考えられる。日本赤十字社の佐竹博士の論文²⁶⁾においても、「とりあえず人工赤血球で血圧を維持し、その間に患者を中枢医療機関に移送するか、適切な同種血液製剤を当該医療機関に供給すればよいことになる。これらの点において、人工赤血球の血液事業への導入は、血液センターにとっても大きなメリットとなるものである。」と指摘されている。

以上より、我々は受傷現場におけるプレホスピタルの応急処置開始の時点から HbV および H12-(ADP)-liposome を投与することが、究極の輸液救命療法になり得るのではないかと考え、以下に述べる動物モデルでの検討を行った。なお、以下の実験は防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を受け実施した。

人工酸素運搬体 (HbV) の経骨髄投与による出血性ショックの救命効果

出血量が循環血液の50%を超えて平均動脈圧が20mmHg前後まで低下した重度の出血性ショックでは、末梢血管が虚脱し血管確保が至難となる。このような場合には虚脱することのない骨髄からの輸液・輸血を実施することが推奨されている。HbVは粒子径が250nmと小さく、粘性も低くて経骨髄投与に好適と考えられる。我々は家兎を用いて、血管が虚脱する状況の出血性ショックに対して HbV による経骨髄投与の救命効果を検討した。

家兎の大腿動脈より25mL/kgの急速脱血を行い12.5mL/kgを生理食塩水で補液すると、Hb濃度は5g/dL前後、平均動脈圧は20mmHg前後まで急速に低下する。直ちに脛骨頭部に小児の骨髄輸液用穿刺キットであるEZ-IO PD 15mm (Teleflex Medical社)を用いて骨髄投与ルートを確認した。脱血完了から10分以内に以下の骨髄投与を行った。① HbV 7.5mL/kgに引き続き5%アルブミン5mL/kgを投与した群、② 5%アルブミン12.5mL/kg投与群、③ L-乳酸ナトリウムリンゲル液 (ラクテック) 37.5mL/kg投与群、④ 全血 (脱血血液を返血) 12.5mL/



図2. HbV と H12-(ADP)-liposome

実験プロトコール

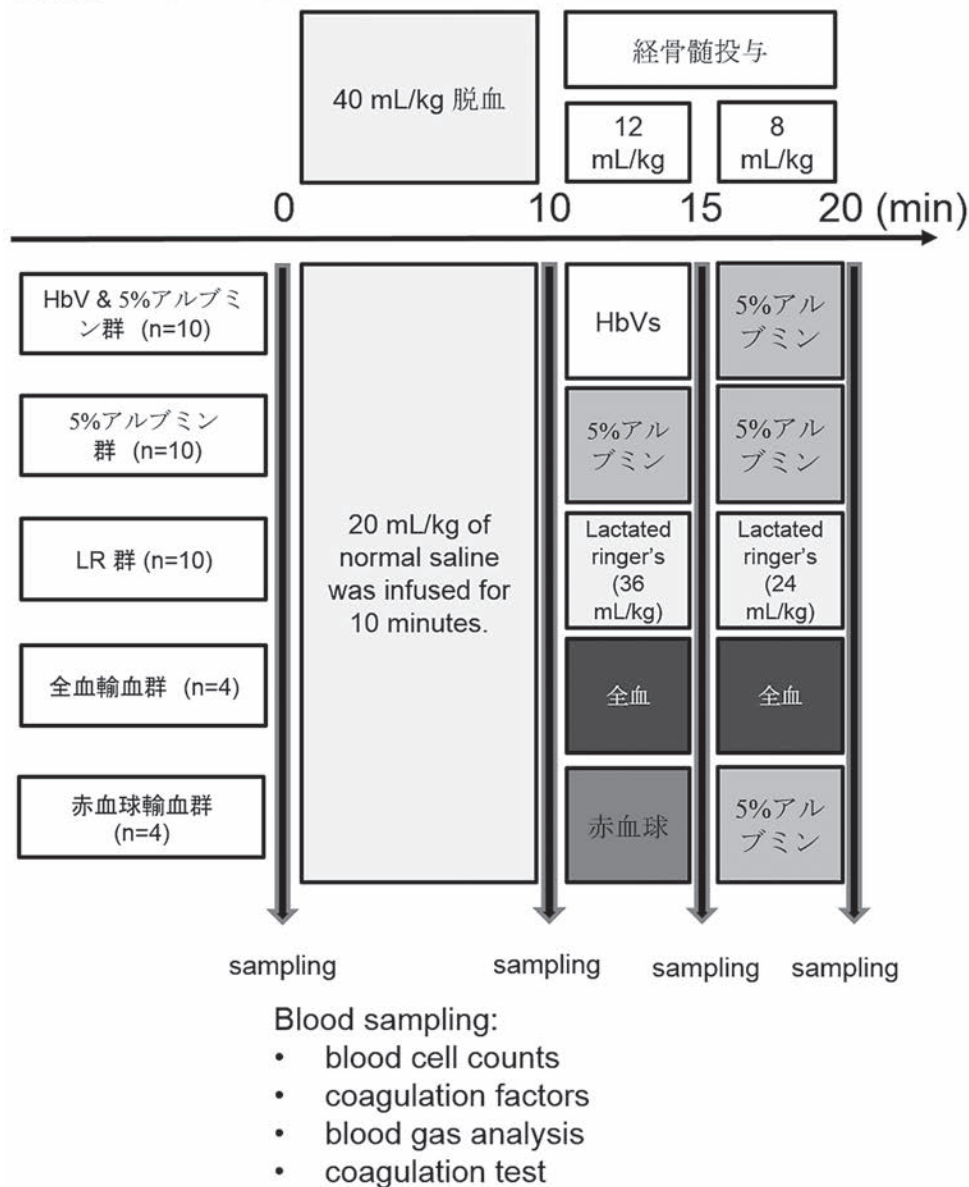


図3. 実験プロトコール (文献27より改変し引用)

kg 投与群, ⑤赤血球 (ドナー家兎よりあらかじめ作成した洗浄赤血球) 7.5mL/kg に引き続き 5%アルブミン 5mL/kg を投与した群を作成した (図3)。

HbV の経骨髄投与により Hb 濃度は 7.1 g/dL に, 平均動脈圧は 47mmHg まで回復し, 18 時間後の生存率は 90% であった。5%アルブミン群の Hb 濃度, 平均動脈圧は, 3.4 g/dL, 33mmHg, L-乳酸ナトリウムリンゲル液群では 4.0 g/dL, 33mmHg であり, ショックからの回復が遅延し, 12 時間以内に半数が死亡した。全血や赤血球投与群の Hb 濃度と平均動脈圧はそれぞれ 9.1 g/dL と 68mmHg, 8.0 g/dL と 62mmHg であり, 全例が 18 時間後

も生存していた (図4)。また, 輸血後の血液凝固能について Sonoclot[®] を用いて評価したところ, 5%アルブミン群と L-乳酸ナトリウムリンゲル液群では活性化凝固時間 (ACT) が 400 秒に延長するなど中等度以上の希釈性凝固障害を呈したが, HbV 投与は ACT が 200 秒程度で全血や赤血球投与の場合と同様に凝固障害は軽微であった²⁷⁾。

このように, HbV の経骨髄投与はプレホスピタルの受傷現場での応急処置開始に最適の輸液 (輸血代替治療) 法であると考えられた。

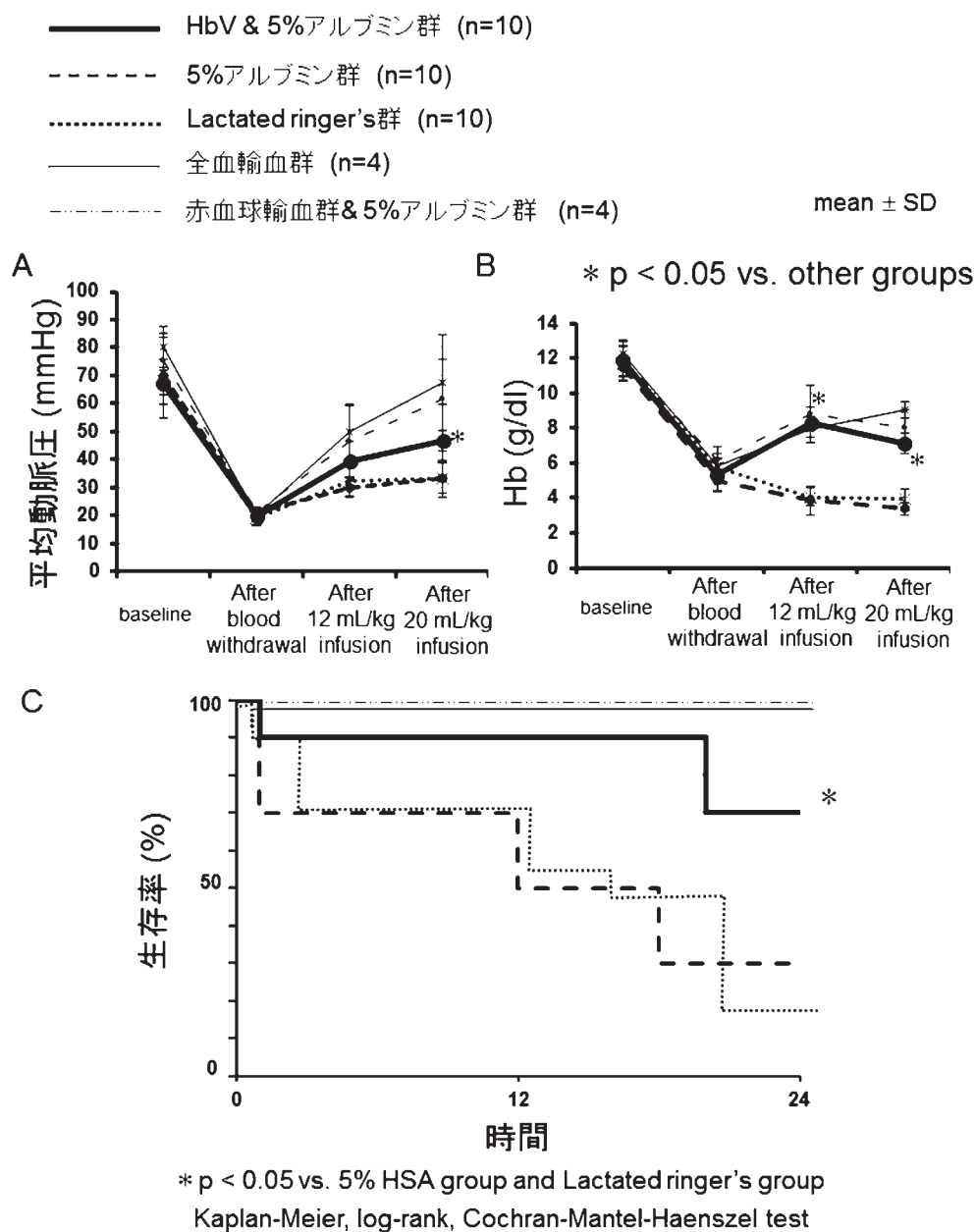


図4. 平均動脈圧とヘモグロビン濃度の推移, 生存率 (文献 27 より改変し引用)

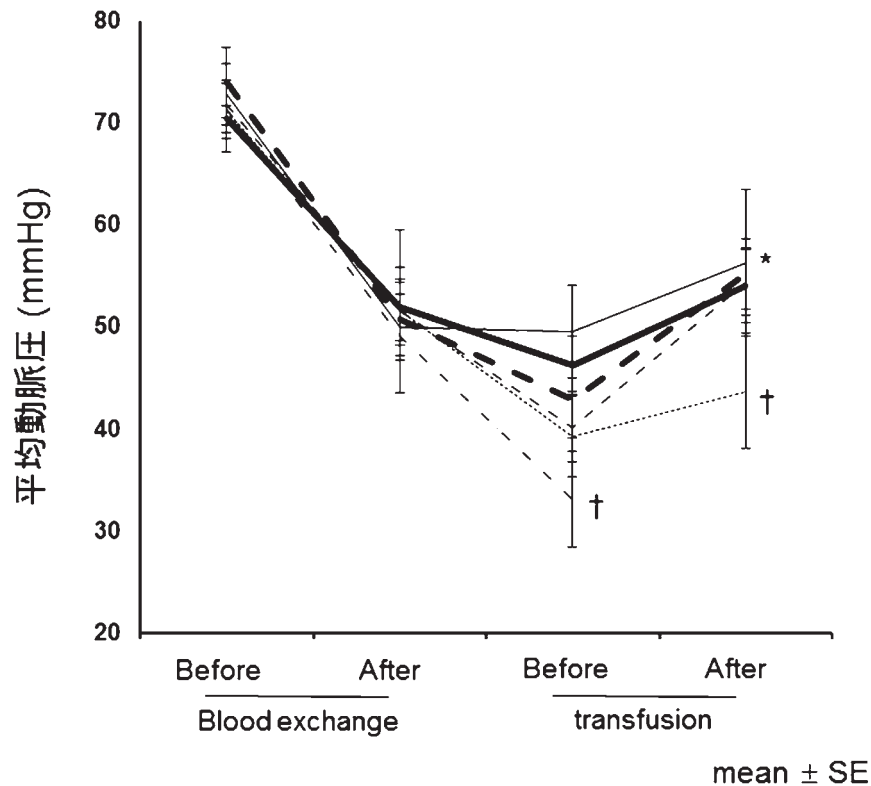
人工酸素運搬体 (HbV) と血小板代替物 (H12-(ADP)-liposome) を用いた出血性ショックの治療

出血性ショックに凝固障害 (凝固低下) を合併すると, 予後が極めて不良なものになる。そこで, 酸素運搬能を有する HbV と止血能を有する H12-(ADP)-liposome を併用することで, 凝固障害 (凝固低下) も制御可能なプレホスピタルにおける蘇生輸液 (輸血代替) を確立するための検討を行った。

家兎から循環血液量の2倍に相当する計 200 mL/kg を脱血し, 血小板並びに血漿成分を遠心分離した後に赤血球成分のみを返血することで, 大量出血後の大量輸血による希釈性凝固障害を生起させた。その後, 肝臓に直径 5 mm の円柱状の穿孔性組織損傷を作製した。肝臓穿孔部位に対し小児用尿道バルーンを用い

て圧迫止血を行いながら, ①血小板 (Platelet Rich Plasma: PRP 15 mL/kg : 力価として米国の濃厚血小板液 6 単位に相当), ② H12-(ADP)-liposome (脂質量として 20 mg/kg, 容液量としては 1 mL/kg) と血漿 (Platelet Poor Plasma: PPP 15 mL/kg) の混合液, または③血漿 (PPP 15 mL/kg) のみを静脈内投与した。5 分後にバルーンを除去し, 止血が達成されるまで経過観察した。止血が達成された家兎に対して, 平均動脈圧を 50 mmHg 以上にすることを目標に, HbV またはドナー家兎からの赤血球を 10~20 mL 輸血した。その後, 急性期の生命予後を比較した。

血液交換によって家兎の血小板数は 40,000/μL 以下になり, 血中フィブリンノーゲン濃度やアンチトロンビン活性等の凝固指標も測定限界以下となった。Hb 濃度も 6 g/dl 前後でヘマトク



* $p < 0.05$ Final transfusion period vs. 25minutes after liver injury period (Group 3 and 4)

† $p < 0.05$ vs. other groups

- Group 1: H12-ADP-liposome/PPP + HbV (n=10)
- - - Group 2: H12-ADP-liposome/PPP + 赤血球液 (n=10)
- · · Group 3: PRP + HbV (n=10)
- - - - Group 4: PRP + 赤血球液 (n=10)
- · · · · Group 5: PRP + 5%アルブミン (n=6)
- · · · · Group 6: PPP (n=5)

図5. 平均動脈圧の推移 (文献29より改変し引用)

リットも20%前後となった。ヘマトクリットの減少から算出される出血量は循環血液量の25%以上となり、米国外科学会が策定したAdvanced trauma life supportでの出血性ショックのクラス分類²⁸⁾でclass IIに相当するに至った。PRPやH12-(ADP)-liposomeの投与により穿孔部位の止血が完了するまでに、さらに15mL/kg出血し、平均動脈圧が40mmHg以下で出血量も循環血液量の40%以上となりショックclass IVの状態に陥った。H12-(ADP)-liposome /PPPを投与した群では、PRPを投与した群と同様に全例で止血に成功した。いっぽう、PPPのみを投与した群では止血ができず、全例失血死した。さらに、止血できた家兎に対して、ドナー家兎よりあらかじめ作成しておいた洗浄赤血球を輸血(力価として米国の濃厚赤血球液5単位に相

当)、またはHbVを投与することで、平均動脈圧は55mmHg前後まで回復しショックから離脱でき(図5)、24時間後の生存率は60-70%に達した。これに対して、止血後に5%アルブミンを投与した家兎では平均動脈圧が40mmHgを下回り、ショックから離脱できず全例死亡した²⁹⁾。(図6)

このように、H12-(ADP)-liposomeを出血早期に投与することで、血小板投与と同等の止血効果が得られ、さらに引き続きHbVを投与することによってショックから離脱できた。止血能や酸素運搬能を有した人工血液の投与は、外傷による出血性ショックと希釈性凝固障害を合併した治療困難な病態の救命率向上につながるものと考えられた。

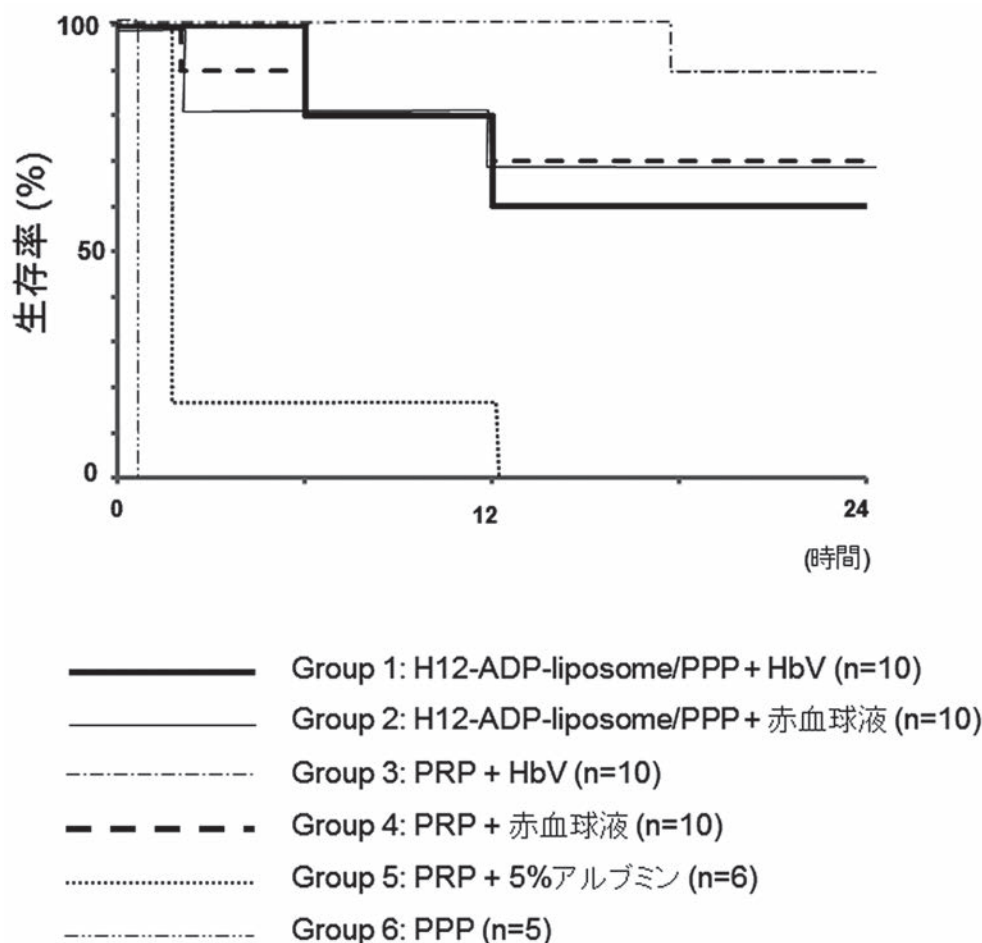


図6. 生存率 (文献 29 より改変し引用)

おわりに

重症外傷に対する救命の根幹は、Damage control surgery, permissive hypotension, 凝固線溶系の管理であり、換言すれば、何よりも確実な止血と血行動態を維持することにある。これらをプレホスピタルの段階で迅速に行うことが救命率向上に直結する。人工血液はその実現に相応しく、実用化は急務であると考ええる。

HbV は、突発的な大量出血に対して、血液型に関わらず、いつでもどこでも必要時に投与して救命ができる人工酸素運搬体として期待される。HbV を投与した後の血中半減期は数日であり、赤血球の寿命と比較すると短い、病院に到着して通常の輸血治療ができるまでの数時間ないし半日を橋渡しできれば、必要最低限の要求は満たすことになるのではないだろうか。プレホスピタルでの通常の輸血治療は補給の観点からも実現困難であるが、HbV 投与はそれを代替し、外傷に起因する出血性ショックの新しい止血救命戦略につながると期待する。

H12-(ADP)-liposome の利点としては、保存期間が長く温度管理等が容易であることが挙げられるが、ボラス投与が可能

であり、通常の血小板輸血に比べて投与ボリュームを抑え、速やかに血小板機能を補助できる点でも優れている。HbV と同様に血液汚染の危険性が皆無であることも注目される。先述の動物実験の結果から、1 mL/kg の H12-(ADP)-liposome は力価として米国の濃厚血小板液 6 単位の輸血 (本邦の濃厚血小板 15 単位: 250 mL に相当) とほぼ同等の血液凝固機能を有することが示されており²⁹⁾、臨床での使用時にはボリューム管理が容易になることも期待できる。また、H12-(ADP)-liposome が出血部位以外の臓器において血栓症等の副作用を生じることがないことも確認している。さらに、血小板減少がない状況で H12-(ADP)-liposome を投与しても、過凝固状態を生じることにはなかった³⁰⁾。これはとくに患者の病態の全てを把握することが難しいプレホスピタルでの使用において重要な知見と考える。

HbV と H12-(ADP)-liposome の導入により、プレホスピタルにおいても全血輸血に匹敵する救命効果が得られ、可能な限り全ての血液成分を補うという成分輸血の理想が実現できるならば、輸血と輸液の概念が大きく変わるものと期待しながら本稿をしめくりたい。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部に対して、JSPS 科研費 25462843, 16K11435 ならびに日本医療研究開発機構 (AMED) 研究費、革新的医療シーズ実用化研究事業「備蓄・緊急投与が可能な人工赤血球製剤の臨床への橋渡し研究」の助成を受けました。

【文献】

- 1) Blundell J. Observations on transfusion of blood by Dr. Blundell with a description of his Gravitator. *Lancet* 1829; 2: 321-324
- 2) Latta T. Malignant cholera. Documents communicated by the Central Board of Health, London, relative to the treatment of cholera by the copious injection of aqueous and saline fluids into the veins. *Lancet* 1832; 18: 274-7.
- 3) Philip C. Spinella. *Damage Control Resuscitation Identification and Treatment of Life-Threatening Hemorrhage* 2020 Springer International Publishing 978-3-030-20819-6
- 4) AABB. Highlights of transfusion medicine history. Available from: <http://www.aabb.org/tm/Pages/highlights.aspx>
- 5) GRÖNWALL, A., INGELMAN, B. Dextran as a Substitute for Plasma. *Nature* 155, 45 (1945). <https://doi.org/10.1038/155045a0>
- 6) 「輸血療法の実施に関する指針」(令和2年3月改正) 厚生労働省 https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_10704.html.
- 7) Holcomb JB, Tilley BC, Baraniuk S, Fox EE, Wade CE, Podbielski JM, del Junco DJ, Brasel KJ, Bulger EM, Callcut RA, Cohen MJ, Cotton BA, Fabian TC, Inaba K, Kerby JD, Muskat P, O'Keeffe T, Rizoli S, Robinson BR, Scalea TM, Schreiber MA, Stein DM, Weinberg JA, Callum JL, Hess JR, Matijevic N, Miller CN, Pittet JF, Hoyt DB, Pearson GD, Leroux B, van Belle G; PROPPR Study Group. Transfusion of plasma, platelets, and red blood cells in a 1:1:1 vs a 1:1:2 ratio and mortality in patients with severe trauma: the PROPPR randomized clinical trial. *JAMA*. 2015; 313: 471-482. doi:10.1001/jama.2015.12.
- 8) Williams J, Merutka N, Meyer D, Bai Y, Prater S, Cabrera R, Holcomb JB, Wade CE, Love JD, Cotton BA. Safety profile and impact of low-titer group O whole blood for emergency use in trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 2020; 88: 87-93.
- 9) Jackson B, Murphy C, Fontaine MJ. Current state of whole blood transfusion for civilian trauma resuscitation. *Transfusion*. 2020; 60: S45-S52. doi:10.1111/trf.15703.
- 10) Crowe E, DeSantis SM, Bonnette A, Jansen JO, Yamal JM, Holcomb JB, Pedroza C, Harvin JA, Marques MB, Avritscher EBC, Wang HE. Whole blood transfusion versus component therapy in trauma resuscitation: A systematic review and meta-analysis. *JACEP Open*. 2020; 1-9. <https://doi.org/10.1002/emp2.12089>
- 11) Cotton BA, Podbielski J, Camp E, Welch T, del Junco D, Bai Y, Hobbs R, Scroggins J, Hartwell B, Kozar RA, Wade CE, Holcomb JB. A randomized controlled pilot trial of modified whole blood versus component therapy in severely injured patients requiring large volume transfusions [published correction appears in *Ann Surg*. 2014; 260: 178]. *Ann Surg*. 2013; 258: 527-533. doi:10.1097/SLA.0b013e3182a4ffa0
- 12) Yazer MH, Jackson B, Sperry JL, Alarcon L, Triulzi DJ, Murdock AD. Initial safety and feasibility of cold-stored uncrossmatched whole blood transfusion in civilian trauma patients. *J Trauma Acute Care Surg*. 2016; 81: 21-26.
- 13) Auten JD, Lunceford NL, Horton JL, Galarneau MR, Galindo RM, Shepps CD, Zieber TJ, Dewing CB. The safety of early fresh, whole blood transfusion among severely battle injured at US Marine Corps forward surgical care facilities in Afghanistan. *J Trauma Acute Care Surg*. 2015; 79: 790-796.
- 14) Nessen SC, Eastridge BJ, Cronk D, Craig RM, Berséus O, Ellison R, Remick K, Seery J, Shah A, Spinella PC. Fresh whole blood use by forward surgical teams in Afghanistan is associated with improved survival compared to component therapy without platelets. *Transfusion*. 2013; 53 (Suppl 1): 107S-113S.
- 15) Perkins JG, Cap AP, Spinella PC, Shorr AF, Beekley AC, Grathwohl KW, Rentas FJ, Wade CE, Holcomb JB; 31st Combat Support Hospital Research Group. Comparison of platelet transfusion as fresh whole blood versus apheresis platelets for massively transfused combat trauma patients (CME). *Transfusion*. 2011; 51: 242-252.
- 16) Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW, Beekley AC, Holcomb JB. Warm fresh whole blood is independently associated with improved survival for patients with combat-related traumatic injuries. *J Trauma*. 2009; 66: S69-S76.
- 17) Seheult JN, Anto V, Alarcon LH, Sperry JL, Triulzi DJ, Yazer MH. Clinical outcomes among low-titer group O whole blood recipients compared to recipients of conventional components in civilian trauma resuscitation. *Transfusion*. 2018; 58: 1838-1845.
- 18) Zhu CS, Pokorny DM, Eastridge BJ, Nicholson SE, Epley E, Forcum J, Long T, Miramontes D, Schaefer R, Shiels M, Stewart RM, Stringfellow M, Summers R, Winckler CJ, Jenkins DH. Give the trauma patient what they bleed, when and where they need it: establishing a comprehensive regional system of resuscitation based on patient need utilizing cold stored, low-titer O+ whole blood. *Transfusion*. 2019; 59: 1429-1438.
- 19) Ho KM, Leonard AD. Lack of effect of unrefrigerated young whole blood transfusion on patient outcomes after massive transfusion in a civilian setting. *Transfusion*. 2011; 51: 1669-1675.
- 20) Jones AR, Frazier SK. Increased mortality in adult patients

- with trauma transfused with blood components compared with whole blood. *J Trauma Nurs.* 2014; 21: 22-29.
- 21) Keneally RJ, Parsons AM, Willett PB. Warm fresh whole blood and thoracic Trauma in Iraq and Afghanistan. *J Emerg Trauma Shock.* 2015; 8: 21-25.
- 22) 酒井宏水. 人工赤血球 (ヘモグロビンベシクル) 製剤の新しい利用法: 日本輸血細胞治療学会誌 2018; 64: 589-596.
- 23) Sakai H. Overview of potential clinical applications of hemoglobin vesicles (HbV) as artificial red cells, evidenced by preclinical studies of the academic research consortium. *J Funct Biomater.* 8: 10, 2017.
- 24) Okamura Y, Takeoka S, Eto K, Maekawa I, Fujie T, Maruyama H, Ikeda Y, Handa M. Development of fibrinogen g-chain peptide-coated, adenosine diphosphate-encapsulated liposomes as a synthetic platelet substitute. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 470-477.
- 25) 平成 26 (2014) 年度 厚生労働科学研究費補助金 厚生科学基盤研究分野【補助金】創薬基盤推進研究「人工血小板／H12 (ADP) リボソーム: 臨床研究への移行を目指した品質管理と薬物試験」総合研究報告書 平成 27 (2015) 年 3 月 <https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201407017B>
- 26) 佐竹正博. 未来の血液製剤: 日本輸血細胞治療学会誌 2019; 65: 847-850.
- 27) Haggisawa K, Kinoshita M, Saitoh D, Morimoto Y, Sakai H. Intraosseous transfusion of hemoglobin vesicles in the treatment of hemorrhagic shock with collapsed vessels in a rabbit model. *Transfusion.* 2020; 60: 1400-1409. doi:10.1111/trf.15915.
- 28) American College of Surgeons, Advanced Trauma Life Support (ATLS) Student Course Manual. 10th ed, Chicago, IL: American College of Surgeons 2018; 52.
- 29) Haggisawa K, Kinoshita M, Takikawa M, Takeoka S, Saitoh D, Seki S, Sakai H. Combination therapy using fibrinogen γ -chain peptide-coated, ADP-encapsulated liposomes and hemoglobin vesicles for trauma-induced massive hemorrhage in thrombocytopenic rabbits. *Transfusion* 2019; 59: 3186-3196.
- 30) Haggisawa K, Kinoshita M, Miyawaki H, Sato S, Miyazaki H, Takeoka S, Suzuki H, Iwaya K, Seki S, Shono S, Saitoh D, Nishida Y, Handa M. Fibrinogen γ -Chain Peptide-Coated Adenosine 5' Diphosphate-Encapsulated Liposomes Rescue Mice from Lethal Blast Lung Injury via Adenosine Signaling. *Crit Care Med* 2016; 44: e827-837.

NADH とヘモグロビンの共存による抗酸化的な擬似酵素活性と人工赤血球への応用

Antioxidative Pseudoenzymatic Activity of NADH coexisting with Hemoglobin and Its Application to Artificial Red Cells

山田 孫平, 松平 崇, 山本 恵三, 酒井 宏水

Magohei Yamada, Takashi Matsuhira, Keizo Yamamoto, Hiromi Sakai

和文抄録

オキシヘモグロビン (HbO₂) が自動酸化によりメト化し、次第に酸素結合機能が低下することは、ヘモグロビン (Hb) を用いる人工酸素運搬体の開発において共通の課題である。著者らは、Hb 溶液に等モル濃度以上の還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) を添加した場合にメト化が大幅に抑制されることを見出した。また、NADH は Hb の自動酸化速度を低下させるだけでなく、メト化を進行させる酸化剤 (H₂O₂, NO, NaNO₂) の添加に対しても同様にメト化を抑制することも判明した。これらの現象は、NADH と Hb が共存したときに極めて高い擬似カタラーゼ活性と擬似スーパーオキシドディスムターゼ活性を示すことに起因することがわかった。NADH を内包した人工赤血球を調製したところ、著しいメト化抑制の効果がみられた。本稿では、NADH がメト化を抑制するメカニズムについて、Lineweaver-Burk プロット、自動酸化の中間体の HPLC 分析、³¹P NMR、Hb と NADH のドッキングシミュレーションにより検討し、Hb の α サブユニットと NADH の相互作用がメト化抑制に寄与していることを解明したので紹介する。

Abstract

Oxyhemoglobin (HbO₂) gradually autoxidizes to form metHb and loses its oxygen binding capacity. This is the common issue for the development of Hb-based oxygen carriers. To solve this problem, we studied combination of reduced nicotinamide adenine dinucleotides (NADH) and HbO₂ which demonstrated the highest anti-oxidative performance not only for autoxidation but also for the oxidative reactions by addition of oxidants (H₂O₂, NO, NaNO₂). We clarified that the antioxidative behavior of NADH coexisting HbO₂ is caused by pseudo-CAT and pseudo-SOD activities. Hb-V containing NADH showed the significant inhibitions of metHb formation not only in vitro but also in vivo situations. In this review, we summarized the mechanism of antioxidative function of NADH coexisting HbO₂, which is evaluated by Lineweaver-Burk plot, HPLC, ³¹P NMR, and docking simulation. The interaction between α subunits of Hb and NADH is the key for suppressing metHb formation. This finding will contribute to prolonging the functional lifespan of Hb-V in a practical use.

Keywords

methemoglobin, NADH, catalase, superoxide dismutase, liposome, hemoglobin-vesicles, antioxidants

1. 緒 言

赤血球の主要タンパク質であるヘモグロビン (Hb) は酸素を可逆的に結合し、末梢組織への酸素輸送に極めて重要な働きを担っている。しかし、酸素を結合した鉄 2 価 (ferrous, Fe²⁺) のオキシヘモグロビン (HbO₂) は、次第に自動酸化によって酸素を結合しない鉄 3 価 (ferric, Fe³⁺) のメトヘモグロビン (metHb)

に変化する¹⁾。このときスーパーオキシドアニオン (O₂^{•-}) を放出し (HbO₂ → metHb + O₂^{•-})、さらに O₂^{•-} は不均化反応によって過酸化水素 (H₂O₂) になり、HbO₂ の酸化を促進する。また、生体内では、白血球、マクロファージ、血管内皮等から産生される活性酸素種 (Reactive oxygen species, ROS)、あるいは L-アルギニンを酵素で分解して生成される一酸化窒素 (NO) など

奈良県立医科大学 医学部化学教室

〒 634-8521 奈良県橿原市四条町 840 Department of Chemistry, Nara Medical University, 840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521, Japan

論文受付 2020 年 7 月 4 日 論文受理 2020 年 7 月 9 日

の活性窒素種 (Reactive nitrogen species, RNS) が存在し、これらも Hb をメト化させる要因になる。医薬品のニトログリセリンやシルデナフィルなどの服用により NO が放出され、また、新生児の NO 吸入療法においても、Hb をメト化する副作用がある²⁾。亜硝酸イオン (NO_2^-) も Hb の酸化を促進する³⁻⁵⁾。亜硝酸ナトリウム (NaNO_2) はハムやソーセージなど食肉の発色剤として用いられており⁶⁾、また、硝酸イオン (NO_3^-) を摂取した場合にも口腔内の微生物により還元されて NO_2^- が生成することが報告されている⁷⁾。

赤血球内では metHb の含量を低く保つために、metHb を還元する仕組みや、ROS を除去する仕組みが存在する⁸⁾。赤血球内で metHb を還元する仕組みは、大別すると 2 種類存在している。まず一つ目は、アスコルビン酸やグルタチオンなどの還元剤が直接反応して metHb を還元する機構である^{9,10)}。このとき、酸化により生成したデヒドロアスコルビン酸や酸化型グルタチオンは酵素によって還元体に戻されて再利用される。二つ目は、酵素による還元である。NADH を基質とし、cytochrome b_5 が電子媒体として働く NADH-cytochrome b_5 reductase や¹¹⁾、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドフォスフェート (NADPH) を基質とし、flavin が電子媒体として働く NADPH-flavin reductase が報告されている¹²⁾。一方、ROS を除去する仕組みとして、 O_2^- を H_2O_2 に変換するスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) や、 H_2O_2 を水に変換するカタラーゼ (CAT) が赤血球内に存在している。

これまでに、赤血球のカプセル構造を模倣し、精製濃縮した Hb 溶液をリン脂質小胞体 (リポソーム) に内包させて人工赤血球 (Hb-vesicles, HbV) とすることで、Hb の毒性を遮蔽できることが明らかにされてきた^{13,14)}。人工赤血球の利点は、血液型がなく、感染源を含まず、長期間保存が可能なことである。現在、HbV の臨床段階の応用に向けた計画を進めており、実用化されれば現在の医療に著しい技術革新をもたらす、健康福祉の増進につながると期待される¹⁵⁻¹⁷⁾。人工赤血球に用いる Hb はヒト献血液から精製しており、特定生物由来製剤であるため、加熱処理 (60℃) によるウィルスの不活化とナノフィルトレーションによるウィルス除去工程を導入している。この工程によって極めて安全性の高い人工赤血球を製造することができるが、赤血球内に存在する酵素類は全て排除される¹⁸⁾。酵素の一部は赤血球内ではメト化率を 0.5% 以下に抑制する役割を担っているため、酵素が除去された Hb を原料に用いた Hb-V を投与した場合に、自動酸化により徐々にメト化し、酸素運搬機能が低下してしまうことが課題であった。

Hb-V の臨床応用の研究¹⁹⁻²²⁾と並行し、課題である投与後のメト化率漸増を克服する方法についての研究が多角的に進められてきた。Hb-V 投与後に、電子メディエーターであるメチレンブルー (MB) を投与し、赤血球内の電子供与系を活用して metHb を繰り返し HbO_2 に還元できることが見出された²³⁾。MB のみならず、他の Phenothiazine 系色素で同等以上の還元効果があることが明らかにされた^{24,25)}。

この電子メディエーターを使う方法とは別に、最近、NADH

を HbO_2 と共存させるだけでメト化が抑制される現象が確認された²⁶⁾。NADH は HbO_2 と複合体を形成することで、擬似的に SOD や CAT と同じ様に働く (擬似酵素活性)、メト化を抑制していることがわかった。本総説では、Lineweaver-Burk プロット、HPLC、 ^{31}P NMR やドッキングシミュレーションによる解析によって明らかにされた、NADH が示す HbO_2 のメト化抑制効果の作用機序²⁷⁾を概説する。また、NADH を内包した Hb-V をラットに投与したときのメト化抑制効果や、将来展望として、原料血液確保の観点からウシ由来の HbO_2 について検討した結果にも言及する。なお本稿の内容は、ACS Chemical Biology (2018)²⁶⁾ および Biochemistry (2019)²⁷⁾に掲載された内容に基づいている。

2. 酵素の非存在下でも働くメト化抑制物質の探索

2-1. 抗酸化剤のスクリーニング²⁶⁾

生体成分の多くは ROS との反応性を示すため²⁸⁻³¹⁾、潜在的に ROS 消去能を持ち、 HbO_2 のメト化を抑制することが期待される。本項ではアミノ酸、生体適合性高分子、血液中に元々存在する化合物など、血管内投与時に安全性が高いと考えられる化合物について、 HbO_2 のメト化を抑制する機能があるかスクリーニングを行った。メト化抑制物質の候補として、9 種類のアミノ酸、5 種類の生体適合性高分子、10 種類の抗酸化剤を、1g/dL の濃度で HbO_2 溶液 (10g/dL) にそれぞれ添加し、37℃、24 時間インキュベート後のメト化率を比較した (表 1)。何も添加しない場合、自動酸化によりメト化率は 53% にまで上昇するのに対し、アミノ酸は 32~43%、高分子は 32~43%、抗酸化剤は 17~49% に抑えられた。NADH を添加した場合にメト化率は 17% と最も低く、優れたメト化抑制機能を示したが、酸化還元部位に同一の化学構造を持ち、酸化還元電位も同じ値 ($E'_0 = -0.32\text{V}$) を示す NADPH では、自動酸化によるメト化を抑制する効果が低い (37%) という興味深い現象が見られた。この違いの原因については 2-3 で述べる。

表 1. 抗酸化剤 (1g/dL) を添加した HbO_2 溶液 (10g/dL) の 37℃、24 時間後のメト化率。

Antioxidant	metHb (%)	Antioxidant	metHb (%)
none	53	PEG200	39
L-tyrosine	38	hydroxyethyl starch	37
L-arginine	38	quercetine	42
L-glutamine	43	astaxanthin,	39
L-tryptophan	38	sodium gluconate	49
L-lysine	34	sodium L-ascorbate	37
L-histidine	32	D-glucose	36
L-asparagine	40	glycerol	38
L-cysteine	34	nicotinamide	34
L-methionine	41	ATP	44
Human albumin	32	NADPH	37
PEG2000	42	NADH	17
PEG400	43	-	-

出典: Yamada et al., ACS Chemical Biology 2017; 12: 1820-1829

2-2. 酸化剤による HbO₂ の速い酸化反応において

NAD(P)H が示すメト化抑制効果^{26, 27)}

酸化剤として H₂O₂, NaNO₂, および NO を添加して HbO₂ の速い酸化反応を行った場合にも, NADH または NADPH (NAD(P)H) がメト化抑制効果を示すか検討した. NAD(P)H を添加しない場合には, 40 分後には全量が metHb に酸化された (図 1). これに対し, HbO₂ 溶液 (0.1 g/dL, 15.5 μM) に対して NAD(P)H を等モル添加すると, メト化率は約 50% 程度にまで低下した. この結果より, 酸化剤を用いた HbO₂ の速い酸化においては, NADPH も NADH と同様にメト化抑制能を有することが明らかとなった.

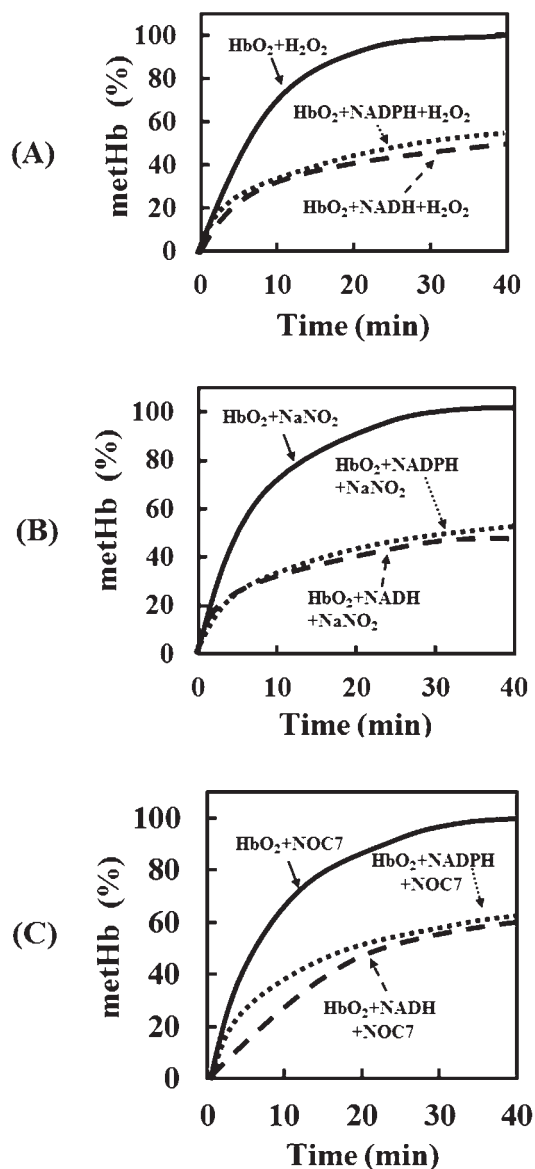


図 1. NAD(P)H 非存在下と存在下において HbO₂ に (A) H₂O₂, (B) NaNO₂, (C) NOC7(NO) の各酸化剤添加後のメト化率 (metHb%) 推移. NOC7 (1-hydroxy-2-oxo-3-(N-methyl-3-aminopropyl)-3-methyl-1-triazene) は水溶液中で分解し, NO を発生して HbO₂ を酸化する. NAD(P)H の添加により, メト化率は 50% 程度に抑えられる.

出典: Yamada et al., Biochemistry 2019; 58: 1400-1410

2-3. NAD(P)H の化学的安定性²⁶⁾

NADH と NADPH のメト化抑制機能は, 酸化剤による速い酸化では同様に高いが, 遅い自動酸化では NADH に比べ NADPH のメト化抑制効果が低かったが, その原因は化学的安定性の違いによるものであることが次の結果から判明した. PBS (pH 7.4) 中で NADPH と NADH を 37°C でインキュベーションし, ニコチンアミド部分の酸化反応を追跡した結果, 還元型構造の残存率が 80% および 20% に達する時間 ($t_{0.8}$, $t_{0.2}$) を比較すると, NADH では $t_{0.8}$ が 16 日, $t_{0.2}$ が 116 日であるのに対し, NADPH では $t_{0.8}$ が 0.2 日, $t_{0.2}$ が 1.2 日と非常に短く, 化学的に不安定であることが明らかになった. 従って, 長時間の自動酸化において NADPH がメト化抑制機能を発揮できなかったのは, 分解による還元型 NADPH の濃度低下が原因であると考えられる.

3. NAD(P)H と HbO₂ のメト化抑制の機序解明

3-1. NAD(P)H と HbO₂ の擬似酵素活性^{26, 27)}

前項までに示した NAD(P)H による HbO₂ のメト化抑制は, 酸化剤として働く ROS や RNS を消去することにより発現していると考えられる. NAD(P)H と HbO₂ の存在下で添加した H₂O₂ 濃度の変化を追跡したところ, H₂O₂ が分解されていることが明らかになり, 擬似的にカタラーゼ (CAT) と同じ働きをしていると考えられた. NAD(P)H 濃度を変えて同様の実験を行い, H₂O₂ の分解速度から擬似 CAT 活性を定量化した結果を表 2 に示す. 擬似 CAT 活性は NAD(P)H の濃度増大に伴い高くなり (No.1-5), Hb と等量以上の NAD(P)H を加えた場合には, ストロマフリーの溶血液 (No.11) に残る CAT よりも高い活性を示した. HbO₂ 単体では擬似 CAT 活性を持たず (No.10), NAD(P)H のみでは低い活性値しか示さないことから (No.6-9), H₂O₂ を消去する機能は, NAD(P)H と HbO₂ が共存して相互作用することにより発現していることがわかる.

同様の ROS 消去機能はスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$) に対しても働くことが確認された. 表 2 に示した擬似 SOD 活性は, 擬似 CAT 活性と同様の傾向を示し, NAD(P)H の濃度増大に伴い高い活性を示した.

3-2. 活性阻害²⁷⁾

表 2 の擬似酵素活性値から Lineweaver-Burk プロットを作成した (図 2). x 軸との交点から求められる K_m は, 擬似 CAT が (NADH: 1.8 mM, NADPH: 1.4 mM), 擬似 SOD が (NADH: 2.3 mM, NADPH: 2.1 mM) と, いずれも mM オーダーという大きな値を示し, HbO₂ 溶液 (10 g/dL, 1.55 mM) に ROS 消去機能を付与するためには, HbO₂ と同じ mM オーダーの NAD(P)H が必要であることが明確となった. NADH は血液中では, K_m 値が 1.6 μM と報告されている metHb 還元系酵素 cytochrome *b*₅ reductase の補酵素として働いていることが知られている³²⁾. HbO₂ と共存して擬似酵素活性を示すためには, 血液中に比べ非常に高濃度の NADH が求められる結果となった.

HbO₂ と強く結合することが知られる inositol hexaphosphos-

表 2. NAD(P)H 共存下の HbO₂ 溶液の擬似酵素 (CAT, SOD) 活性値.^a

No.	State of Hb	Hb (mM)	NAD(P)H (mM)	Pseudo-CAT ($\times 10^4$ IU/gHb)	Pseudo-SOD ($\times 10^2$ U/gHb)
1	HbO ₂	1.5	NADH (0.5) NADPH (0.5)	5.2 $\pm$ 1.1 (6.2 $\pm$ 1.7)	1.5 $\pm$ 1.4 (2.1 $\pm$ 1.7)
2	HbO ₂	1.5	NADH (1.0) NADPH (1.0)	17.6 $\pm$ 2.1 (19.2 $\pm$ 1.4)	6.7 $\pm$ 2.1 (7.6 $\pm$ 1.5)
3	HbO ₂	1.5	NADH (1.5) NADPH (1.5)	23.6 $\pm$ 1.6 (34.3 $\pm$ 1.2)	12.6 $\pm$ 1.0 (15.6 $\pm$ 0.9)
4	HbO ₂	1.5	NADH (3.0) NADPH (3.0)	26.8 $\pm$ 0.8 (35.2 $\pm$ 1.0)	14.8 $\pm$ 1.8 (16.0 $\pm$ 1.2)
5	HbO ₂	1.5	NADH (15) NADPH (15)	36.0 $\pm$ 2.1 (46.8 $\pm$ 1.2)	16.3 $\pm$ 0.8 (20.4 $\pm$ 1.4)
6	-	-	NADH (1.5) NADPH (1.5)	3.4 $\pm$ 0.6 ^b (3.6 $\pm$ 0.4) ^b	1.1 $\pm$ 0.7 ^b (1.1 $\pm$ 0.7) ^b
7	-	-	NADH (3.0) NADPH (3.0)	3.9 $\pm$ 0.7 ^b (4.1 $\pm$ 0.8) ^b	1.2 $\pm$ 0.7 ^b (1.3 $\pm$ 1.6) ^b
8	-	-	NADH (30) NADPH (30)	20.2 $\pm$ 0.9 ^b (19.2 $\pm$ 0.6) ^b	1.0 $\pm$ 0.6 ^b (0.6 $\pm$ 0.6) ^b
9	-	-	NADH (45) NADPH (45)	20.6 $\pm$ 0.6 ^b (19.9 $\pm$ 0.8) ^b	1.7 $\pm$ 0.7 ^b (1.6 $\pm$ 0.5) ^b
10	HbO ₂	1.5	0	N.D.	N.D.
11	SFHL (HbO ₂) ^c	1.5	-	20.1 $\pm$ 1.4	21.6 $\pm$ 1.7

N.D.: 検出限界未満. 平均値 $\pm$ SD (n=3). ^a 擬似活性測定は 1000 倍希釈で測定した. ^b Hb 濃度を 1.5mM と仮定して計算した. ^c SFHL; ストローマフリーの溶血液. 残存する CAT と SOD の活性値を示している.

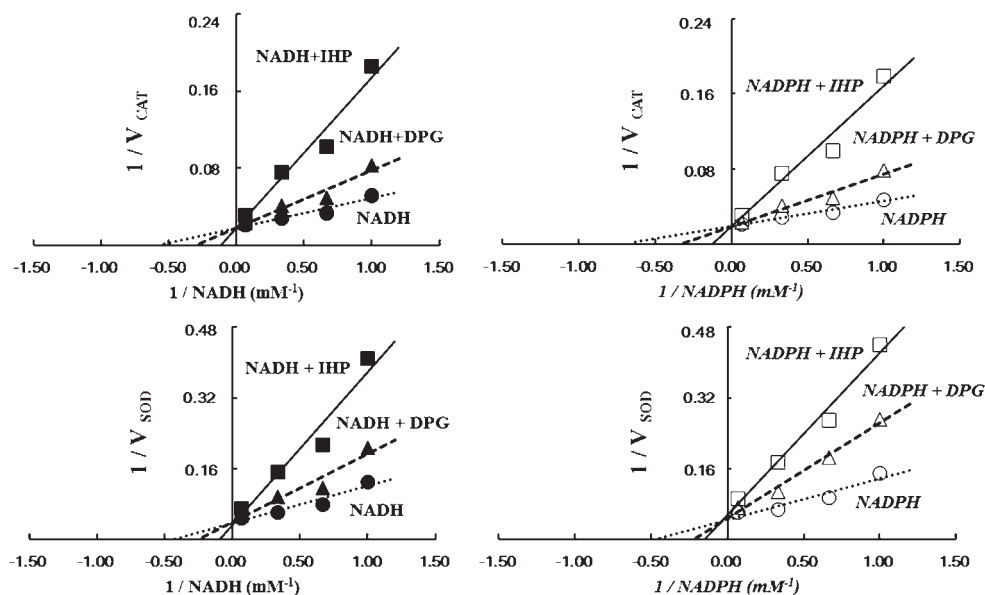


図 2. 阻害剤として IHP と DPG を添加した場合と添加しなかった場合の, NAD(P)H 共存下における HbO₂ の擬似酵素 (CAT 及び SOD) 活性の Lineweaver-Burk プロット. V_{CAT} : Pseudo-CAT, $\times 10^4$ IU/g Hb. V_{SOD} : Pseudo-SOD, $\times 10^2$ U/g Hb.

出典: Yamada et al., Biochemistry 2019; 58: 1400-1410

phate(IHP)または 2,3-diphosphoglycerate(DPG)を NAD(P)H と同濃度で添加し, 同様に Lineweaver-Burk プロットを作成した. その結果, いずれも阻害剤添加により K_m 値は上昇したが, V_{max} の値は阻害剤に影響せずほぼ同じ値を示し, 各直線が y 軸で交差する典型的な拮抗阻害様式を示した (図 2). 阻害定数

(K_i) は, IHP が 1.7~3.2mM と, DPG の 5.8~9.9mM より低い値となり, IHP は HbO₂ により強く結合して NAD(P)H の擬似酵素活性を低下させている. IHP, DPG は Tense 状態の deoxyHb の β 鎖間に結合することがよく知られているが³³⁻³⁵⁾, Relax 状態の HbO₂ の α 鎖間に結合することも報告されている^{30, 36, 37)}.

従って、NAD(P)Hはこれら阻害剤の結合部位と同じ箇所(HbO₂の α 鎖間)に、競合するように結合していると推定される。

なお、阻害剤の代わりにアロステリック因子である pyridoxal phosphate (PLP) や酸化型の NAD⁺, NADP⁺ を添加したところ、 $V_{\max}$ および K_m はほぼ変化せず、阻害作用を示さなかった。PLP は α 鎖と β 鎖の N 末端に結合することが知られており³⁷⁾、結合サイトが NADH とは異なるために阻害作用を示さなかったと考えられる。

3-3. NAD(P)H と HbO₂ の結合様式の確認²⁷⁾

NADH はニコチンアミドとアデニンの間に2つのリン原子を有しており、³¹P-NMR ではフリーの NADH と HbO₂ に結合した NADH は異なるシグナルとして観測される。NADH に対して HbO₂ の量を変化させ、シグナルの積分強度比から HbO₂ と結合した NADH の割合を算出したところ、NADH は HbO₂ の $\alpha_2\beta_2$ 四量体と 1:1 の化学量論的な結合を形成していることが明らかになった。

また、HbO₂ の自動酸化反応を HPLC により追跡し、部分的に酸化された中間体の追跡を行った。その結果、 α 鎖のみが酸化された $\alpha_2^+\beta_2$ の、 β 鎖のみが酸化された $\alpha_2\beta_2^+$ に対する相対ピーク強度比 ($\alpha_2^+\beta_2/\alpha_2\beta_2^+$) は、NADH を添加しなかった場合には測定全体を通して 1.2 と一貫して高く、 α 鎖のヘムは β 鎖のヘムより酸化されやすいのに対し、NADH 存在下では 0.9 以下に抑えられ、NADH が α 鎖のヘムの酸化を優先的に妨げることが明らかになった。

これらの結果より、NADH が HbO₂ の α 鎖のヘムの近傍に 1:1 のモル比で化学量論的に結合し、HbO₂ の酸化を抑制していることが示唆される。

3-4. NADH と HbO₂ のドッキングシミュレーション²⁷⁾

NAD(P)H が具体的に HbO₂ 上のどの位置に結合しているかを実験的に明らかにするのは困難である。そこで、HbO₂ と NADH の結晶構造を基に、ソフトウェア (MF myPresto, (株) フィアラックス) を用いてドッキングシミュレーションを行った (図 3)。その結果、NADH は HbO₂ の 2 つの α 鎖の Lys99 と Arg141 に挟まれたサイトに、1.85~3.40 Å という近い距離で結合した構造が最安定であった。この結合サイトは、IHP、又は DPG が結合する部位と合致している³³⁾。HbO₂ と NADH のドッキングシミュレーションにおいて、酸化還元に関与するニコチンアミドの炭素とヘム骨格の炭素との原子間距離は、10.08 Å と電子移動可能な距離³⁸⁻⁴¹⁾に存在しており、NADH からヘムへの電子供与によりメト化を抑制している可能性が示唆された (図 3)。NADH の代わりに NADPH を用いて同様のシミュレーションを行ったところ、NADH と同じ結合サイトに結合し、ニコチンアミドとヘムの距離も 10 Å 以下であった。

このように、NAD(P)H と HbO₂ が結合してヘムの近傍に NAD(P)H が配置されることにより、鉄原子に ROS が接近した場合に Hb に結合した NADH が代わりに酸化されることで ROS を消去し (擬似 SOD, 擬似 CAT 活性を示し)、HbO₂ のメト化

を抑制する働きをしていると考えられる。HbO₂ の α 鎖間に結合した NAD(P)H が、遠い距離に存在する β 鎖のヘムの酸化を抑制することは困難であると考えられる。酸化剤を添加した速いメト化反応においては、NAD(P)H の添加によって半分程度までしか抑制されず (図 1)、また HbO₂ に対し大過剰の NAD(P)H を添加したとしても自動酸化を完全に抑制することはできないという実験事実は、 β 鎖のヘムの酸化が抑制されづらいことに起因すると推察される。

一方、deoxyHb と NADH のドッキングシミュレーションを行ったところ、 α 鎖ではなく β 鎖の Lys82 と His143 に結合したが、ニコチンアミドとヘム骨格の距離は、 β_2 -heme: 19.84 Å, β_1 -heme: 18.32 Å と、電子移動が可能な距離ではなかった。いずれにせよドッキングシミュレーションの結果と HPLC の酸化中

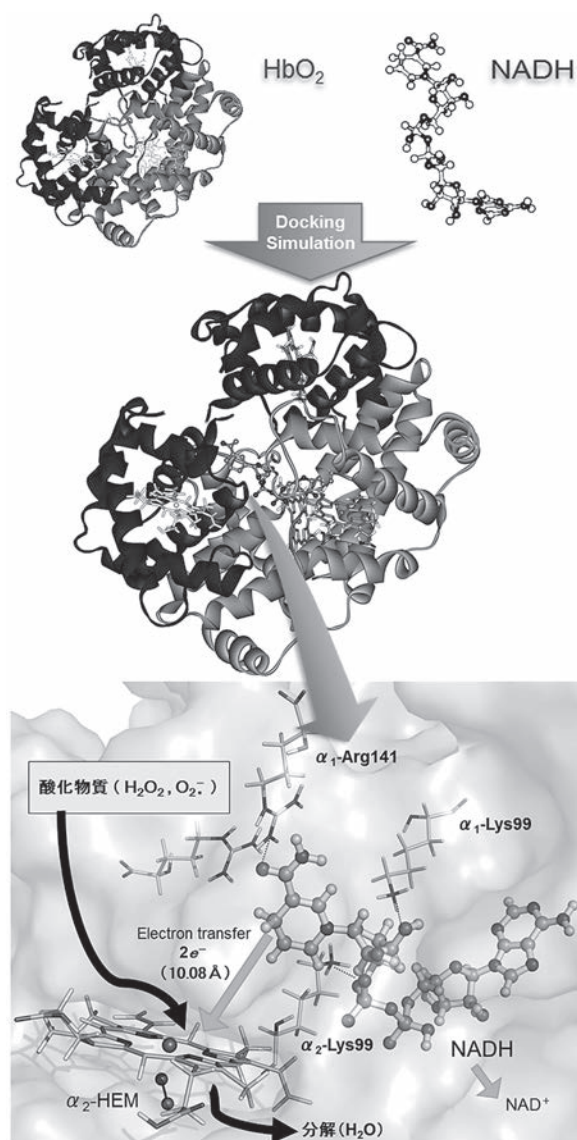


図 3. MF myPresto を用いた HbO₂ と NADH のドッキングシミュレーションの結果と、結合サイトの拡大図。HbO₂ と NADH が相互作用により複合体を形成することで擬似酵素 (SOD, CAT) 活性を示し、酸化物質を分解してメト化が抑制されると考えられる。

出典: Yamada et al., Biochemistry 2019; 58: 1400-1410

間体の生成から、NADH は主に HbO_2 の α 鎖の酸化抑制の働きによりメト化を抑制しているものと考えられる。

4. Hb-V への応用と今後の展開

4-1. NADH 包接 Hb-V の調製とメト化抑制効果²⁶⁾

精製濃縮 HbO_2 溶液 (40 g/dL, 6.2 mM) に対し、NADH を 0, 3.1, 6.2, 12.5, または 25 mM (0, 0.5, 1, 2, 4 当量) 添加した溶液を内包させた人工赤血球 (Hb-V) を調製した。Hb-V を 37°C でインキュベーションしたときのメト化率 (metHb%) を追跡したところ、NADH の濃度増加に伴いメト化率の増大が抑えられた (図 4 (A))。また、NADH 濃度と 24 時間後のメト化率の関係をプロットすると、メト化率は NADH 濃度増大に伴い減少し、Hb に対して等モル以上の NADH を添加したときにはほぼ一定の値 (約 10%) を示すことが明らかになった (図 4 (B))。

次に、 $[\text{NADH}] = [\text{Hb}] = 6.2 \text{ mM}$ で調製した Hb-V に対して、酸化剤として H_2O_2 、 NaNO_2 、および NOC7 を添加したときに NADH が示すメト化抑制効果を検討した。NADH を含有しない Hb-V の場合には酸化剤の添加によってメト化が進行し、40 分後にはほぼ全て metHb に変換された。これに対し、NADH を内包させた Hb-V の 40 分後のメト化率は、いずれもほぼ 30% 前後まで抑制された。また、NADH を添加した Hb-V の擬似酵素活性 (CAT, SOD) を測定したところ、 $\text{NADH}/\text{Hb} = 1$ のとき酵素活性は (CAT: $17.10 \times 10^4 \text{ IU/g Hb}$, SOD: $12.44 \times 10^2 \text{ U/g Hb}$)、

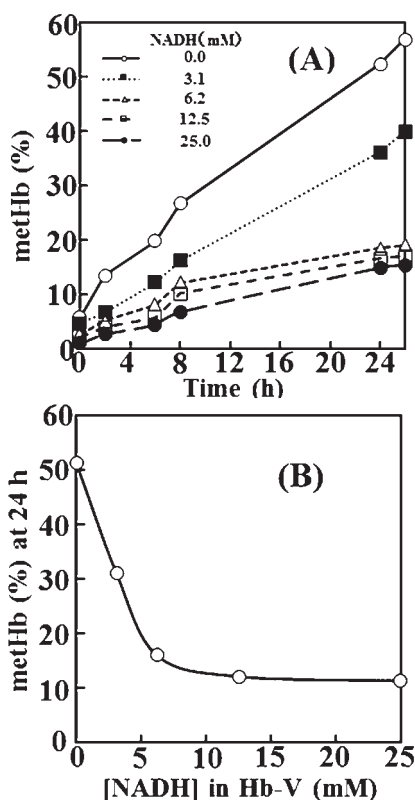


図 4. (A) 異なる濃度の NADH を含有する Hb-V の、37°C, pH 7.4 におけるメト化率 (metHb%) の経時変化。 (B) NADH の濃度と 24 時間後の metHb% の関係。

出典 : Yamada et al., ACS Chemical Biology 2017; 12: 1820-1829

Hb), $\text{NADH}/\text{Hb} = 2$ のとき酵素活性は (CAT: $17.90 \times 10^4 \text{ IU/g Hb}$, SOD: $12.80 \times 10^2 \text{ U/g Hb}$), $\text{NADH}/\text{Hb} = 4$ のとき (CAT: $21.50 \times 10^4 \text{ IU/g Hb}$, SOD: $16.82 \times 10^2 \text{ U/g Hb}$) であり、ベシクルに封入しても Hb 溶液と同等の高い擬似酵素活性を示した。

以上より、Hb-V においても NADH を HbO_2 と等量以上で内包させることにより、酸化されやすい Hb に抗酸化機能を付与し、メト化を抑制できることが示された。

4-2. NADH 包接 Hb-V のラットへの投与²⁶⁾

Hb に対し 0, 1, 2 当量の NADH を含有させた Hb-V を、濃度 $[\text{Hb}] = 10 \text{ g/dL}$ に調製し、ラットの静脈に投与した (10 mL/kg 1 mL/min)。経時的に採血し、Hb-V 投与後のメト化率 (metHb%) を追跡したところ、NADH を含有しない Hb-V はメト化率が漸増して 7 時間後には約 40% に達したのに対し、NADH 含有 Hb-V ではメト化率がほぼ半分程度に抑制された (図 5)。NADH の含有量が 1 当量と 2 当量とではメト化率に大きな差は見られず、NADH の抗酸化効果は 1 当量で最大に到達していると考えられる。この動物投与試験により Hb-V において問題であった投与後のメト化率の漸増が、NADH を共に内包させることにより著しく改善されることが明らかになった。

4-3. ウシ Hb の利用

人工酸素運搬体の原料となる Hb にヒト献血液 (赤血球) 由来以外の Hb を利用できれば、より安定的な原料の確保が可能となる。事実、ウシ由来の Hb はヒト Hb と性質が近く、人工酸素運搬体の原料として用いられてきた。そこで、 NAD(P)H がウシ Hb に対してもメト化抑制効果を示すか検討した。ウシ HbO_2 (10 g/dL) を 37°C, pH 7.4 で 24 時間インキュベーションしたところ、メト化率は 33% となり、ヒト Hb の場合 (53%) に比べて自動酸化によるメト化反応の速度は遅い傾向が見られた。ウシ HbO_2 に等モルの NADH を添加して同様の実験を行ったところ、メト化率は 23% まで低下し、ヒト Hb と同様に NADH 添加が自動酸化を抑制することが確認された。また、 NAD(P)H

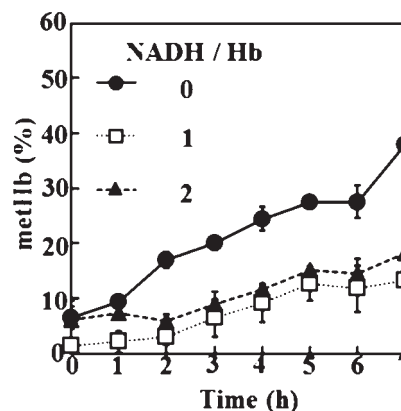


図 5. ラットへの NADH 含有 Hb-V ($[\text{NADH}]/[\text{Hb}] = 0, 1$, および 2 当量) 投与後のメト化率 (metHb%) の経時変化 ($n = 3$)。

出典 : Yamada et al., ACS Chemical Biology 2017; 12: 1820-1829

とウシHbの共存系における酸化剤 (H_2O_2 , NaNO_2 , および NO を発生する NOC7) との反応においても, ヒト Hb の場合と同様に約 50% 程度までメト化が抑制された。

NAD(P)H とウシ Hb の共存系 ($[\text{NAD(P)H}] = [\text{Hb}] = 1.5\text{mM}$) において, 擬似 CAT 活性は NADH が 30.8 (NADPH が 34.9) $\times 10^4 \text{IU/gHb}$, 擬似 SOD 活性は NADH が 14.4 (NADPH が 13.8) $\times 10^2 \text{U/gHb}$ と, ヒト Hb の場合とほぼ同レベルの活性値を示した。ウシ Hb を使用した場合でも NAD(P)H が示す抗酸化作用はヒト Hb の場合と遜色無く, ヒト Hb の代用的な供給源として十分に期待できると考えられる。

5. 結 語

酵素を用いずにメト化を抑制した人工赤血球を実現する手段として, 抗酸化剤と複合化させることで酸化しやすい Hb 自身に抗酸化機能を付与する最新の試みを紹介した。スクリーニングにより見出された NAD(P)H は HbO_2 の 2 つの α 鎖で挟まれた結合サイトに結合し, 近傍に位置する α 鎖のヘム鉄への電子供与によって ROS を消去するという, 補酵素的な役割を果たすことが明らかにされた。NADH を内包させて調製した Hb-V では, in vitro だけでなく in vivo でも従来の Hb-V に比べ metHb の増加率を半分以下に抑えることができ, 酸素運搬体として機能する時間が大幅に延長される。また, この ROS 消去能はウシ Hb と NADH との組み合わせによっても発現したことから, ウシ Hb を原料とした人工酸素運搬体においても, NADH がメト化抑制剤として機能すると考えられる。

血中に存在する metHb 還元酵素の利用や, SOD, CAT の添加により人工酸素運搬体のメト化を抑制する試みは広く行われているが, これら血中の酵素を一切使用せずに Hb 自身に ROS 消去能 (擬似 SOD 活性, 擬似 CAT 活性) を持たせる研究は, この総説で紹介した例が初めてである。創薬研究におけるタンパク質受容体のバーチャルスクリーニングのように, ドッキングシミュレーションの手法を用いて HbO_2 の β 鎖のヘムの近傍にも結合する抗酸化剤が設計できれば, α 鎖だけでなく β 鎖も酸化ストレスから保護し, さらに高い抗酸化機能を持つ人工赤血球を実現できると考えられる。今後の研究の進展に期待したい。

謝 辞

本研究は科学研究費補助金 (基盤 B 25282136, 基盤 B 17H 02087) を受けて推進された。また, 本研究にあたりご協力とご助言を頂きました三重大学生物資源学部の田中晶善名誉教授と三宅英雄准教授, 奈良県立医科大学化学教室の久禮智子非常勤講師と学部生の梅敷大輝氏に心より感謝申し上げます。

引用文献

1. Tsuruga M, Matsuoka A, Hachimori A, and Shikama K. The molecular mechanism of autoxidation for human oxyhemoglobin. *J Biol Chem* 1998; 273: 8607-8615.
2. Hamon I, Gauthier-Moulinier H, Grelet-Dessieux E, Storme

L, Fresson J, and Hascoet JM. Methaemoglobinemia risk factors with inhaled nitric oxide therapy in newborn infants. *Acta Paediatr* 2010; 99: 1467-1473.

3. Keszler A, Piknova B, Schechter AN, and Hogg N. The reaction between nitrite and oxyhemoglobin: a mechanistic study. *J Biol Chem* 2008; 283: 9615-9622.
4. Basu S, Grubina R, Huang J, Conradie J, Huang Z, Jeffers A, Jiang A, He X, Azarov I, Seibert R, Mehta A, Patel R, King SB, Hogg N, Ghosh A, Gladwin T, and Kim-Shapiro DB. Catalytic generation of N_2O_3 by the concerted nitrite reductase and anhydrase activity of hemoglobin. *Nat Chem Biol* 2007; 3: 785-794.
5. Gladwin MT, Grubina R, and Doyle MP. The new chemical biology of nitrite reactions with hemoglobin: R-state catalysis, oxidative denitrosylation, and nitrite reductase / anhydrase. *Acc Chem Res* 2009; 42: 157-167.
6. Inai K, Aoki Y, and Tokuoka S. Chronic toxicity of sodium nitrite in mice, with reference to its tumorigenicity. *Gan* 1979; 70: 203-208.
7. Eisenbrand G, Spiegelhalter B, and Preussmann R. Nitrate and nitrite in saliva. *Oncology* 1980; 37: 222-231.
8. Kinoshita A, Nakayama Y, Kitayama T, and Tomita M. Simulation study of methemoglobin reduction in erythrocytes. Differential contribution of two pathways to tolerance to oxidative stress. *FEBS J* 2007; 274: 1449-1458.
9. Gibon QH. The reduction of methaemoglobin by ascorbic acid. *Biochem J* 1943; 37: 615-618.
10. Morrison DB and Williams Jr EF. Methemoglobin reduction by glutathione or cysteine. *Science* 1938; 7: 15-16.
11. Kuma F. Properties of methemoglobin reductase and kinetic study of methemoglobin reduction. *J Biol Chem* 1981; 256: 5518-5523.
12. Yubisui T, Takeshita M, and Yoneyama Y. Reduction of methemoglobin through flavin at the physiological concentration by NADPH-Flavin reductase of human erythrocytes. *J Biochem* 1980; 87: 1715-1720.
13. Sakai H. Present situation of the development of cellular-type hemoglobin-based oxygen carrier (hemoglobin-vesicles). *Curr Drug Discov Technol* 2012; 9: 188-193.
14. Sakai H, Sato A, Masuda K, Takeoka S, and 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.
15. Alayash AI. Blood substitutes: why haven't we been more successful? *Trends Biotechnol* 2014; 32: 177-185.
16. Chang TM. Hemoglobin-based red blood cell substitutes. See comment in PubMed Commons below *Artif Organs* 2004; 28: 789-794.

17. Winslow RM. Red cell substitutes. *Semin Hematol* 2007; 44: 51-59.
18. Sakai H, Ng K, Li B, and Sugimura N. Swine hemoglobin as a potential source of artificial oxygen carriers, hemoglobin-vesicles. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2013; 41: 37-41.
19. Tokuno M, Taguchi K, Yamasaki K, Sakai H, and Otagiri M. Long-term stored hemoglobin-vesicles, a cellular type of hemoglobin-based oxygen carrier, has resuscitative effects comparable to that for fresh red blood cells in rat model with massive hemorrhage without post-transfusion lung injury. *PLoS One* 2016; 11: e0165557.
20. Araki J, Sakai H, Takeuchi D, Kagaya Y, Naito M, Mihara M, Narushima M, Iida T, and Koshima I. Normothermic preservation of the rat hind limb with artificial oxygen-carrying hemoglobin vesicles. *Transplantation* 2015; 99: 687-692.
21. Sakai H, Masada Y, Onuma H, Takeoka S, and Tsuchida E. Reduction of methemoglobin via electron transfer from photoreduced flavin: restoration of O₂-binding of concentrated hemoglobin solution coencapsulated in phospholipid vesicles. *Bioconjugate Chem* 2004; 15: 1037-1045.
22. 酒井宏水, 堀之内宏久, 東寛, 小田切優樹, 小林紘一. 輸血代替としての人工赤血球 (ヘモグロビン小胞体) 製剤の安全性試験. *人工血液* 2013; 21: 36-48.
23. Sakai H, Li B, Lim W, and Iga Y. Red blood cells donate electrons to methylene blue mediated chemical reduction of methemoglobin compartmentalized in liposome in blood. *Bioconjugate Chem* 2014; 25: 1301-1310.
24. Kettisen K, Bülow L, and Sakai H. Potential electron mediators to extract electron energies of RBC glycolysis for prolonged in vivo functional lifetime of hemoglobin-vesicles. *Bioconjugate Chem* 2015; 26: 746-754.
25. Ghirmai S, Bülow L, Sakai H. In vivo evaluation of electron mediators for the reduction of methemoglobin encapsulated in liposomes using electron energies produced by red cell glycolysis. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018; 46: 1364-1372.
26. Yamada M and Sakai H. Hidden antioxidative functions of reduced nicotinate adenine dinucleotide coexisting with hemoglobin. *ACS Chem Biol* 2017; 12: 1820-1829.
27. Yamada M, Matsuhira T, Yamamoto K, and Sakai H. Antioxidative pseudoenzymatic mechanism of NAD(P)H coexisting with oxyhemoglobin for suppressed methemoglobin formation. *Biochemistry* 2019; 58: 1400-1410.
28. Anbar M and Neta P. A compilation of specific bimolecular rate constants for the reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals with inorganic and organic compounds in aqueous solution. *Int J Appl Radiat Isotope* 1967; 18: 493-523.
29. Miller JS and Cornwell DG. The role of cryoprotective agents as hydroxyl radical scavengers. *Cryobiology* 1978; 15: 585-588.
30. Sagone AL Jr, Greenwald J, Kraut EH, Bianchine J, and Singh D. Glucose: a role as a free radical scavenger in biological systems. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 97-104.
31. Arroume AA, Castellao A, and Guillochon D. Stabilizing effect of water/alcohol solvents towards autoxidation of glutaraldehyde-modified haemoglobin. *Biotechnol Appl Biochem* 1995; 21: 173-183.
32. Passon PG, and Hultquist DE. Soluble cytochrome b₅ reductase from human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1972; 275: 62-73.
33. Laberge M, Kövesi I, Yonetani T, and Fidy J. R-state hemoglobin bound to heterotropic effectors: models of the DPG, IHP and RSR13 binding sites. *FEBS Lett* 2005; 579: 627-632.
34. Luisi B, Liddington B, Fermi G, and Shibayama N. Structure of deoxy-quaternary haemoglobin with ligated beta subunits. *J Mol Biol* 1990; 214: 7-14.
35. Bonaventura J, Bonaventura C, Sullivan B, and Godette G. Hemoglobin Deer Lodge (β_2 His $\rightarrow$ Arg) consequences of altering the 2,3-diphosphoglycerate binding site. *J Biol Chem* 1975; 250: 9250-9255.
36. Song XJ, Simplaceanu V, Ho NT, and Ho C. Effector-induced structural fluctuation regulates the ligand affinity of an allosteric protein: binding of inositol hexaphosphates has distinct dynamic consequences for the T and R states of hemoglobin. *Biochemistry* 2008; 47: 4907-4915.
37. Schnackerz KD, Benesch RE, Kwong S, Benesch R, and Helmreich EJM. Specific receptor sites for pyridoxal 5'-phosphate and pyridoxal 5'-deoxymethylenephosphonate at the α and β NH₂-terminal regions of hemoglobin. *J Biol Chem* 1983; 258: 872-875.
38. Masuoka N, Kodama H, Abe T, Wang DH, and Nakano T. Characterization of hydrogen peroxide removal reaction by hemoglobin in the presence of reduced pyridine nucleotides. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2003; 1637: 46-54.
39. Moser CC, Keske JM, Warncke K, Farid RS, and Dutton PL. Nature of biological electron transfer. *Nature* 1992; 355: 796-802.
40. Onuchic JN, Beratan DN, Winkler JR, and Gray HB. Pathway analysis of protein electron-transfer reactions. *Ann Rev Biophys Biomol Struct* 1992; 21: 349-377.
41. Moser CC, Page CC, Chen X, and Dutton PL. Electron transfer in natural proteins theory and design. *Subcell Biochem* 2000; 35: 1-28.

内容と名称

Contents vs. Naming

高折 益彦

Masuhiko Takaori

和文抄録

かつて我々は心臓手術の麻酔の循環動態の安定をうるために麻酔導入直前に5~8ml/kg程度の輸血負荷を行った。そしてこれを“プラス輸血”と称して多くの心臓手術の症例に適用していた。また American Association of Blood Banks (AABB) の Technical Manual の一部、自己血輸血に関する項の翻訳を依頼された時には原著での preservation technique, isovolemic hemodilution, salvaging system をそれぞれ貯血式自己血輸血、希釈式自己血輸血、そして回収式自己血輸血と“自己血輸血”を付して翻訳した。さらにまた輸血に伴う合併症、TACO (transfusion associated circulatory overloading) は transfusion induced hypervolemic complication (TIHC), あるいは adverse hypervolemia by transfusion (AHBT) とそれらが合併症であることを明確に示す名称にすべきではないかと提案した。すなわち医療分野での物事、操作の名称でもそのものの形状、操作などもそのもののあるべき状態のみならず、そのものの作用、使用法、利用価値、目的など利用者が理解し易く、適切に表現するように名付けられるべきと考える。

Abstract

We used a term of “plus transfusion” which was transfused 5~8ml/kg of blood into patients who would be anesthetized and operated for their cardiac diseases in order to prevent considerable hypotension following induction of anesthesia. This procedure was actually an overloading for the patient's circulation, nevertheless it was very effective to maintain their circulatory dynamics stationary. One of the autologous blood transfusions, “isovolemic hemodilution”, described in AABB technical manual issued 1985 was named as “hemodilutional autologous transfusion” in the Japanese edition by the author. This naming was not exactly proper for the original name, but it was an actual procedure in transfusion practice and also easily understood for all clinicians in our country. Recently circulatory overloading associated with transfusion, namely TACO has been used in field of transfusion medicine. However, it is clearly understood which is one of the complications associated with transfusion and not therapeutic procedure, such as “plus transfusion” as described above. Therefore, it seems to me named likely as transfusion induced hypervolemic complication. Every things and every procedures in medicine should be named as expressed their figure, utility and value as possible as clearly understandable for all of doctors in clinical practice.

かつて著者が心臓手術の麻酔を担当していた1968年ころ、サイオペンタールで麻酔導入を行うと患者の血圧が低下して、時には収縮期血圧で90mmHg以下となることがあった。そのためフェニルエフリンを投与して血圧を回復させることが多かった。この血圧低下の原因は、心疾患者は既存の循環不全を交感神経系の緊張による血管系の収縮により静脈還流を維持している状態であるが、これに対して麻酔を導入することによりこの

血管収縮-静脈還流維持が抑制されるためと考えた。そこで脈管系の血液量を一時的に増加させ静脈還流量の減少を防げばこの血圧低下を防げるのではないかと考え、麻酔導入前に5~8ml/kg程度の輸血負荷を行った。

その操作により予想通り上記の血圧低下を防ぐことが出来た。この輸血は生体にとって過剰な血液量負荷であり、本来ならば

川崎医科大学 名誉教授 Professor Emeritus, Kawasaki Medical University
兵庫県芦屋市松浜町9番地21号
E-mail: mtakaori@azaq.jp
論文受理：2020年4月20日

好ましい操作とは云い難いものである。しかしそれによって麻酔導入後の循環動態は安定し昇圧薬の使用を抑えることが出来た。そのためこの輸血、循環系血液量負荷は患者の循環動態維に有益なもの、プラスするものとして“プラス輸血”と称して多くの心臓手術の症例に適応していた¹⁾。むろん麻酔覚醒時には手術に伴う出血によって患者本来の血液量に復元し、また麻酔覚醒に伴う脈管系機能の回復にともない循環系も安定していた。そのため我々が用いた“プラス輸血”なる名称は循環動態安定にプラスするので適切な名称であったと信じている。

その後1985年に著者はAmerican Association of Blood Banks (AABB) の依頼により同社が出版している Technical Manual の一部、自己血輸血に関する項の翻訳を依頼された。その際、原著では各自己血輸血法を preservation technique, isovolemic hemodilution, salvaging system と称して autologous transfusion と云う名称が付いていなかった。それはこれらが記載されていた項目が autotransfusion と云う項目であったので、AABB としては autotransfusion あるいは autologous transfusion を付記する必要性がないと認識していたと思われる。しかしこれらそれぞれが明確に自己血輸血であることを示すように日本語版では翻訳する方が好ましいと考えて、それらに貯血式自己血輸血、希釈式自己血輸血、そして回収式自己血輸血と“自己血輸血”を付した²⁾。特に isovolemic hemodilution に関してはそれが対象者への人為的な、治療的な血液希釈と思われ、それが自己血輸血法の一つとは認識し難い事もあるので適切な翻訳であったと信じている。たしかに常時これらいずれかの方法が臨床の場において多用されている場合にはとりわけ“自己血輸血”を付記しなくても誤解を生じないがその操作を稀にしか使用しない場合には臨床医、また輸血それ自身を医療で取り扱わない医師にとってそれが輸血法であることが分るような用語にすべきではないかと考えた。まして論文等に記述する際には自己血輸血と付記することが必須であると考えた。

最近、輸血医療の場で TACO (transfusion associated circulatory overloading) という合併症の報告が見られる。この合併症は出血に対して輸血を施行した時に実際の出血量よりも多い量の輸血を行い、そのため鬱血性心不全様の血圧上昇、頻脈、あるいは肺水腫などの症状を呈する合併症である。この名称の中に“overloading”と云う表現があるので少なくともそれが適量、適切であるとは思われず、少なくともそれ自身が生体に好ましくからざる状態を示している。しかしその状態を明確に生体に好ましくからざる状態であるとした名称ではない。少なくとも上記の“プラス輸血”のように治療上有益であると云った表現ではないので、この場合には“合併症”なる表現、名称を付した方が明確、適切でないかと思える。例えば輸血性血液過剰合併症 transfusion induced hypervolemic complication (TIHC)、あるいは adverse hypervolemia by transfusion (AHBT) などとすべきではないかと思える。すべて一般社会の物事、操作の名称でもそのものの形状、操作などはそのもののあるべき状態、そのものの作用、利用価値、目的など利用者が理解し易く、適切に表現するようにつけられるべきと考える。

現在、人工血液、とりわけ人工酸素運搬体の開発が進められている。いまだ商品化される状態にはなっていないが近い将来は新薬として医療現場に登場すると思われる。その際にそのものが名付けられるものとしては既に登録されたものが多くあるが著者は候補としてオキトランス 新ヘモ球, HLC (hemoglobin liposome cell) などが思い浮かぶ。製品は新薬であって我々が日常生活で使用する品物、食品などとは異なるがその名称が新薬の臨床使用率に影響することは考慮すべきであろう。いずれにしてもその名称は使い易く、それがなにより人工酸素運搬体であることを明確に示したものであることが望まれる。

引用論文

- 1) 曲直部寿夫, 高折益彦, 藤本 淳. 心臓手術の麻酔管理とプラス輸血について. 日本臨床 1968; 8: 2237-2241.
- 2) 自己輸血 Technical Manual 日本語版 (第8版) 訳. 近代出版 1985. (Am. Assoc. Blood Banks 1985; 319-326).

第 17 回国際血液代替物学会 (The 17th-ISBS-2019) を開催して

酒井 宏水

第 17 回血液代替物国際会議 (17th-ISBS) を、2019 年 11 月 21 日 (木) ~ 23 日 (土) に奈良にて開催し、無事に終了した。参加者の皆様、ならびにご支援くださいました財団、学会、企業の皆様に対し、心より御礼申し上げます。

紅葉真っ盛りの奈良公園、奈良春日野国際フォーラム、能楽ホールにて、Opening では本学細井裕司学長にもご挨拶をいただき、合計 17 か国 + 2 地域 (日本、中国、タイ、シンガポール、インド、米国、カナダ、英国、フランス、スウェーデン、デンマーク、ドイツ、イタリア、ハンガリー、オーストリア、ロシア、ルーマニア、香港、台湾) より、合計 138 件の演題発表、参加者数 250 余名を集めた。Honorary President カナダ McGill Univ. の Prof. Thomas Chang の基調講演から始まり、筆者の Presidential Lecture のほか、米国 FDA の Dr. Felice D'Agnillo、UCLA 麻酔科の Prof. Jonathan Jahr、中国輸血研究所元所長の Prof. Chengmin Yang (Co-president)、京都大学 iPS 研の江藤浩之先生、日本赤十字社中央研究所の佐竹正博先生の Plenary Lecture など、マラリア研究の権威である国立国

際医療研究センターの狩野繁之先生、さらに本学からは、第Ⅶ因子代替物について嶋緑倫先生にご講演いただいた。また個人的には、Biopure 社を創設した Dr. Rausch、臓器灌流液を開発し臨床応用を始めたフランスの Dr. Zal、輸血のパラドックスを指摘した UCSD の Prof. Intaglietta、いつも変わらず本会を盛り上げてくれる Dr. Hsia、Adipose stem cells から血小板を誘導した慶大の松原先生のご講演などは非常に印象に残るものであった。日本側からも Hb-based oxygen carriers (HBOCs)、人工赤血球のみならず早大・武岡先生ほかの人工血小板、また様々な応用技術について多くの発表があり、ここ暫く ISBS で存在感が薄れていた日本の研究の活発な状況をアピールできたと思う。第一世代の HBOCs の臨床試験の結果が良く無いことが 2008 年に JAMA に報告され、企業の研究開発が下火になっていたが、今回は欧米の企業から多くの発表があり、息を吹き返したように思えた。Closing Ceremony では、Young Excellent Abstract Award の 12 名の授賞式を行い、大いに盛り上がった。2 年半をかけて準備してきた大イベントを成功裏に終えることができた。



写真 1. Banquet での鏡開き。左から、Prof. Yang, Prof. Chang, 小林先生, Prof. Intaglietta, 筆者



写真 2. Young Excellent Abstract Award 受賞者との記念写真

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

ISBS はこれまでほぼ2年おきに、北米—アジア—欧州の順で開催されてきた(表1)。過去二回、1997年(7th-ISBS, 大会長: 土田英俊 先生)と2003年(9th-ISBS, 大会長: 小林紘一 先生)に東京で開催されたことがあるので、今回は16年ぶり、3回目の日本での開催となった。筆者の恩師二名が過去に開催したISBSを、私が開催できたことに感慨を覚える。また、西出宏之先生(早大名誉教授)に私の講演の座長を引き受けて頂いたことも大変ありがたく思う。17th-ISBSは日中共同開催となり、Prof. Chengmin Yang(楊成民, 中国医学科学院 輸血研究所 元所長)と私がCo-Presidentsとなったわけであるが、なぜそのようになったのか、少しだけ経緯に触れたいと思う。実は2016年9月に日本と中国が開催地としてそれぞれが立候補した。アジアから中国が直近の二回連続して開催しているので、日本側としては、次は日本で行うのが順当、と主張したが、中国系が多いCommittee membersによる投票の結果、僅差(1票違い)で中国が過半数を獲得した。その後、紆余曲折を経て、最後はProf. Chengmin YangおよびProf. Jiaxin Liu(中国医学科学院 輸血研究所 所長)のご厚意により、日中共同の主宰で、開催地を日本にすることが決定された。2017年に正式発表され、以来2年半の時間をかけ準備をしてきた。その間、打合わせのため、筆者が成都に4回ほど、またProf. Yangも一度奈良に来ていただいた。小林先生にも一度、成都にご同行いただき、プログラム編成にご尽力いただいた。日中共同の開催ということで、Local Organizing Committee, Local Programming Committeeは、日本側と中国側の委員から構成され、日本側は主催学会である日本血液代替物学会の理事/評議員から主に構成された。中国側からは血液代替物の研究者のみならず輸血学の研究者・臨床医も多く参加し、血液代替物への関心が非常に高いことが窺え、今後、日中共同研究への進展も期待される。

次回第18回はドイツ・ベルリンでの開催が既に決定されており、Closing Ceremonyでは次回大会長Prof. Hans Bäumler(Charité-Universitätsmedizin Berlin, Institute of Transfusion Medicine, Germany)より会期・会場についての報告があった。血液代替物実現の意義と意欲は、本17th-ISBSの参加者の間でも再認識され、ベルリンにてまた熱い議論が展開されるものと期待される。

新型コロナウイルス感染症と思われる肺炎患者が最初に武漢で報告されたのが2019年12月のことであった。それから瞬く間に世界がパンデミックの状態になり、各国で渡航が制限され、国際学会のみならず国内学会の多くが開催中止、延期を余儀なくされた。今思うと、直前の11月末に海外から多くの参加者を得てISBSを奈良で無事に開催できたことは、奇跡のようである。このパンデミックが早期に収束することを願い、次回2022年春にベルリンで、何事もなかったような平穏な雰囲気の中、皆様と再会できることを楽しみにしたい。

(追記)

当初17th-ISBSのPlenary lecturerとして来日を予定していたEmeritus Professor Dr. A. Gerson Greenburg(Brown Univ.)は、体調不良のため来日をキャンセルしていたが、彼の訃報が2020年3月末にDr. Jahrより届いた。Dr. GreenburgはHemolinkの開発を主導し、2005年にはProvidenceでの10th-ISBSを主催した。過去に何回か来日され、武岡先生の運転する車と一緒に乗って、千葉の温泉に出かけた思い出がある。奈良でお目にかかれなかったのはとても残念であった。心よりご冥福をお祈りいたします。



写真3. 奈良春日野国際フォーラム 能楽ホールでの全体写真

表1. International Symposium on Blood Substitutes (ISBS) 沿革

回	開催年	開催地	主催者
3	1987	Montreal, Canada	<i>Chairman:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
4	1991	Montreal, Canada	<i>Chairman:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.) <i>Co-chairman:</i> Robert P. Geyer (Harvard School of Public Health)
5	1993	San Diego, USA	<i>Chairmen:</i> Robert Winslow (UC San Diego) Jean G. Riess (UC San Diego) Robert M. Winslow (UC San Diego)
6	1996	Montreal, Canada	<i>Chairman:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.) <i>Co-chairman:</i> A. Gerson Greenburg (Brown Univ.)
7	1997	Tokyo, Japan	<i>Chairman:</i> Eishun Tsuchida (Waseda Univ.) <i>Co-chairmen:</i> Sadayoshi Sekiguchi (Hokkaido Red Cross Blood Center) Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
8	2000	San Diego, USA	<i>President:</i> Robert Winslow (UC San Diego) <i>Co-chairs:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.) Marcos Intaglietta (UC San Diego) Eishun Tsuchida (Waseda Univ.)
9	2003	Tokyo, Japan	<i>Chairman:</i> Koichi Kobayashi (Keio Univ.) <i>Co-chairman:</i> Eishun Tsuchida (Waseda Univ.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
10	2005	Providence, USA	<i>President:</i> A. Gerson Greenberg (Brown Univ.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
11	2007	Beijing, China	<i>President & Executive President:</i> Qian Liu (Chin. Acad. Med. Sci.) Ruijuan Xiu (Peking Union Med. College) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
12	2009	Parma, Italy	<i>President:</i> Andrea Mozzarelli (Parma Univ.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
13	2011	Boston, USA	<i>President:</i> Warren Zapol (MGH, Harvard Univ.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
14	2013	Chengdu, China	<i>President:</i> Qimin Zhan (Chin. Acad. Med. Sci.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
15	2015	Lund, Sweden	<i>President:</i> Leif Bülow (Lund Univ.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
16	2017	Montreal, Canada	<i>President:</i> Thomas Chang (McGill Univ.)
17	2019	Nara, Japan	<i>Co-Presidents:</i> Hiromi Sakai (Nara Med. Univ.) Chengmin Yang (Chin. Acad. Med. Sci.) <i>Honorary President:</i> Thomas M.S. Chang (McGill Univ.)
18	2022 開催予定	Berlin, Germany	<i>President:</i> Hans Bäumler (Charité-Universitätsmedizin Berlin)

日本血液代替物学会 総会

- | | |
|--|---|
| <p>1. 日 時：
令和1年11月21日（木）13：40～</p> <p>2. 場 所：
奈良春日野国際フォーラム 薨
奈良県奈良市春日野町101</p> | <p>3. 議 題：</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 第26回年次大会の報告 ② 会員動向 ③ 平成30年度事業報告 ④ 平成30年度会計報告 ⑤ 平成31年度（令和1年度）事業計画（経過報告） |
|--|---|

以下審議内容を略記します。

① 年次大会の開催状況として下記事項が報告された。

- 1) 事業名 第26回日本血液代替物学会年次大会
(大会長 酒井 宏水)
(第17回血液代替物国際会議 (17th-ISBS-2019) との同時開催)
- 2) 開催年月日 令和1年11月21日（木）～23日（土）
- 3) 開催場所 奈良春日野国際フォーラム 薨
- 4) 参加範囲 日本血液代替物学会会員、臨床医学・理工学研究、国内の大学および医療機関臨床医、血液センター関係者、製薬企業等

② 会員状況は以下の通り

- 1) 施設会員：2 社
- 2) 正会員：79名
- 3) 購読会員：3 箇所

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

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

④ 平成30年度収支決算報告が行なわれ承認された。

平成30年度会計報告 収支決算表

（自 平成30年4月1日 至 平成31年3月31日）

（単位：円）

収 入		支 出	
摘 要	金 額	摘 要	金 額
前期繰越金	5,009,306	会誌出版費	463,540
正会員会費	410,000	集会・委員会費	88,265
施設会員会費	400,000	年会補助金	800,000
購読会員会費	6,000	ホームページ維持費	324,000
学生会員会費	0	謝 金	208,800
雑収入*	254,025	事務費(消耗費)	34,362
利 息	931	事務費(通信費)	13,811
		雑 役 務 費	13,747
		次期繰越金	4,133,737
計	6,080,262	計	6,080,262

*年会補助金の残金（251,433 円）と、会誌の許諾抄録利用料金（2,592 円）

⑤ 平成31年度（令和1年度）事業計画（経過報告）（平成31年4月1日～令和2年3月31日）

- 1) 定期総会の開催
令和1年11月21日（木）13：40～
於 奈良春日野国際フォーラム 薨
- 2) 第26回年次大会の開催（大会長：酒井 宏水）
(第17回血液代替物国際会議 (17th-ISBS-2019) との同時開催)
令和1年11月21日（木）～23日（土）
於 奈良春日野国際フォーラム 薨
- 3) 会誌「人工血液」の発行：第27巻1号

日本血液代替物学会 会則

第1章 総則

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

第2条：(事務局) 本会の事務局は当分の間、会長の所属機関内に置く。

2. 事務局は会長の統括のもと本会の事業および会計に関する一般事務を司る。

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

第4条：(事業) 本会は前条の目的達成のため、次の事業を行う。

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

第2章 会員

第5条：(種別) 本会会員は次の分類とする。

- 1) 正会員 本会の目的に賛同する個人で所定の手続きを行い、会費を納入した者とする。
- 2) 購読会員 本会の会誌を購読する団体または個人とする。
- 3) 学生会員 本会の目的に賛同する学生で所定の手続きを行い、会費を納入した者とする。
- 4) 施設会員 本会の目的に賛同する施設とする。

第6条：(会費) 会員は、つぎの種別に従って会費を納めなければならない。

- 1) 年会費 (年額)
 - 1) 正会員 1万円
 - 2) 購読会員 3千円
 - 3) 学生会員 3千円
 - 4) 施設会員 1口以上 (1口5万円)
- 2) 既納の会費はいかなる理由があっても、これを返還しない。

第7条：(入会) 本会に入会希望者は、所定の入会申込書を事務局宛に提出し、入会審査を経なければならない。

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

第9条：(未納者) 年会費未納の会員には、年度末に催促する。2年間未納の場合には会誌の送付を停止する。入金確認後会誌の送付を再開する。

第10条：(除名) 本会の目的に反する行為あるいは本会の名誉を損なう行為のあった会員は、評議員会の議決によってこれを除名することができる。

第3章 役員、顧問、評議員および職員

第11条：(設置および定数) 本会に次の役員を置く。

- 1) 会長 1名
- 2) 副会長 1名以上5名以内
- 3) 理事 5名以上15名以内 (会長、副会長を含む)
- 4) 監事 2名
- 5) 顧問 若干名

第12条：(役員の選任) 役員は、正会員の内から評議員会で選出し、監事は正会員の中から総会で選出する。

2. 顧問は、会長が委嘱し、その任期は役員の任期に準ずる。

第13条：(任期) 役員および監事の任期は2年とし、再任を妨げない。

第14条：(会長) 会長は、各事業を司り本会を代表統括する。

第15条：(副会長) 会長を補佐し会長に事故があるときはその代理となる。

第16条：(理事) 理事は理事会を組織して、この会則に定められた事項のほか、評議員会および総会の権限に属する事項以外の事項を評議し、施行する。

第17条：(監事) 監事は、資産の状況および理事の会務執行状況を監査する。

第18条：(顧問) 顧問は、理事会および評議員会に出席して、意見を述べることができる。

第19条：(評議員) 評議員は正会員、施設会員の中から総会で選出し、任期は2年とする。ただし再任を妨げない。

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

第20条：(事務局および職員) 本会の事務を処理するため、事務局および職員を置く。

2. 職員人事は会長が任命権者となり、有給とする。

第4章・年次大会長

第21条：(大会長と職務) 本会に年次大会を主宰する大会長1名をおく。また、大会長を補佐し、大会長に事故があったとき、または欠けたときには、その職務を代行する副大会長1名をおくことができる。

第22条：(選任) 大会長および副大会長は、評議員の中から、理事会の議決によって選任される。

2. 理事会の議決によって、副大会長を次年度の大会長とすることができる。

第23条：(任期) 大会長および副大会長の任期は、選任された日に始まり、学会年次大会が終了した日に終わる。

第5章 会議

第24条：(会議) 本会の会議は、つぎの3種とする。

- 1) 理事会
- 2) 総会
- 3) 評議員会

第25条：(理事会) 理事会は、理事をもって構成する。

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

5. 監事は、理事会に出席して、本会の運営について意見を述べることができる。

第26条：(総会) 総会は、通常総会、臨時総会の2種とし、会長が召集する。

2. 総会は、正会員をもって構成する。

3. 通常総会は、年一回開く。

4. 臨時総会は、次の場合に召集する。

- 1) 理事会で必要と認めた場合
- 2) 監事、または会員50名以上から会議の目的を示して請求があった場合

第27条：(総会議長) 通常総会の議長は会長とし、臨時総会の議長は、会議の都度会員の互選で定める。

第28条：(総会の通知) 総会の召集は、その開会期日1週間前までに、総会に付すべき事項、日時および場所を記録した書面

または会誌で、会員に通知しなければならない。

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

第29条：(審議事項) 次の事項は、通常総会の承認を求めなければならない。

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

第30条：(総会の定足数) 総会は、正会員現在数の5分の1以上出席しなければ、議事を開き、議決することができない。ただし、当該議事について、あらかじめ書面をもって意志を表示したものは出席者と見なす。

2. 総会に出席できない正会員は、出席正会員を代理人として、その権限を委任することができる。

3. 総会の議決は、出席会員の過半数をもって決し、可否同数のときは議長の決するところによる。

第31条：(総会議事録の通知) 総会の議事の要領および議決した事項は、会誌および学会ホームページに掲載する。

第32条：(評議員会) 評議員会は、評議員で組織し、必要がある場合に会長が召集する。

2. 会長は評議員会の議長となる。

第33条：(審議事項) 評議員会は、この会則に定めるもののほか、理事会で必要と認めた事項を審議する。

第34条：(評議員会の定足数) 評議員会は、評議員現在数の2分の1以上の出席がなければ、議事を開き、議決することができない。ただし、当該議事について、あらかじめ書面をもって意志を表示したものは出席者と見なす。

2. 評議員会の議事は、出席評議員の過半数をもって決し、可否同数のときは、議長の決するところによる。評議員会に出席できない評議員は、出席評議員を代理人として、その権限を委任することができる。

3. 会長は、書面で評議員の意見を求め、評議員会の召集および前項の議決にかえることができる。

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

第6章 資産及び会計

第36条：(資産) 本会の資産は次の通りとする。

- 1) 会費
- 2) 寄付金

- 3) 事業にともなう収入
- 4) 資産から生じる果実
- 5) その他の収入

第37条：(資産の管理) 本会の資産は、会長が管理し、現金は理事会の議決によって、確実な有価証券を購入するか、または定期郵便貯金とするか、もしくは確実な信託銀行に信託するか、あるいは定期預金として会長が保管する。

第38条：(寄付の受領) 寄付金品は、理事会の議決を経てこれを受領する。

第39条：(経費) 本会の経費は、会費、刊行物に対する購読料、寄付金、資産から生じる果実などの運用資産をもって支弁する。

第40条：(事業計画および収支予算) 本会の事業計画およびこれにともなう収支予算は、毎年会計年度開始前に会長が編成し、理事会、評議員会の議決を経て、総会の承認を受けなければならない。

第41条：(収支決算) 会計報告は会長が毎年一回、会計報告書を作成し、監事の監査を経て、評議員会および総会の承認を得る。

第42条：(会計年度) 本会の会計年度は4月1日より翌年3月31日までとする。

第7章 会則の変更ならびに解散

第43条：(会則の変更) 本会の会則の変更には理事会の発議と総会の議決を要する。

第44条：(解散) 本会の解散は、理事会、評議員会および総会の各々において出席会員の4分の3以上の同意を得なければならない。

第45条：本会の解散にともなう残余財産は、理事会、評議員会および総会の各々において出席会員の4分の3以上の議決を経て、本会の目的と同種または類似の公益事業に寄付するものとする。

第8章 補則

第46条：この会則を施行するために必要とされる細則は、理事会および評議員会の議決を経て、別に定める。

第47条：(専門委員会の設置と委員の選任) 学会運営に伴う専門委員会の設置ならびに委員の選任は理事会の承認を経て行うことができる。
委員には会員の他に非会員の学識経験者もなることができる。

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

平成16年10月15日改定
平成26年12月8日改定

令和2年度 日本血液代替物学会役員名簿

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

歴代会長：

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

日本血液代替物学会 評議員名簿

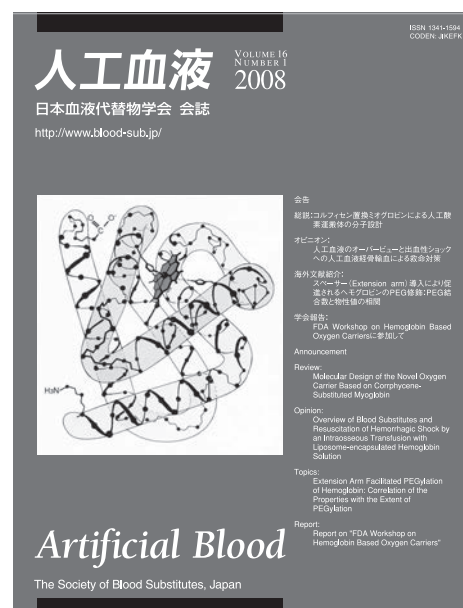
(五十音順)

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

Call for Papers

Artificial Blood, the official bilingual journal of The Society of Blood Substitutes, Japan, welcomes papers and other articles contributing to the research and development of blood substitutes.

If you wish to submit an article for publication, please email it to the following address after first confirming the instructions for authors.



Instructions for Authors (last revised Nov. 20, 2013)

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

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

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

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

either of the following methods with a covering letter (of any format):

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

ii) Submission by post of four sets of hardcopies.

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

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

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

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

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

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

8) Abbreviations should be spelled out on their first appearance. The names of drugs, medical drugs, laboratory equipment, and so on should be given. The type, distributor (manufacturer) and the address should also be indicated.

Example: Rhodamine B (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) Polygraph system (LEG-1000; Nihon Kohden Corporation, Tokyo).

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

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

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

12) References should be cited numerically in order of appearance in the text using superscript letters as follows: ²⁾, ³⁻⁵⁾, ^{1, 4-6)}, etc. References should be listed using the Vancouver style as follows: Names of all authors. Title of paper. Title of journal. Year of publication; volume number: inclusive page numbers. Abbreviations of journal names should be in accordance with *Index Medicus*. References to books should be given as follows: Names of all authors. Title of paper. Name of editor(s). Book title. Place of publication: Publisher, year; inclusive page numbers.

References to electronic sources should be given as follows:

Name of website.

Address on new line (month and year of last access).

Examples:

1. Wong NS, Chang TM. Polyhemoglobin-fibrinogen: a novel oxygen carrier with platelet-like properties in a hemodiluted setting. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2007; 35: 481-489.
2. Natanson C, Kern SJ, Lurie P, Banks SM, Wolfe SM. Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. *J Am Med Assoc* 2008; 299: 2304-2312.
3. Sakai H, Sou K, Takeoka S, Kobayashi K, Tsuchida E. Hemoglobin vesicles as a Molecular Assembly. Characteristics of Preparation Process and Performances of Artificial Oxygen Carriers. In: Winslow RM, ed. *Blood Substitutes*. London: Academic Press (Elsevier), 2006; 514-522.
4. Department of Chemistry, Nara Medical University, Japan. http://www.naramed-u.ac.jp/~chem/ENGLISH_PAGE/e_invest_blood.html (last accessed Nov. 2013)

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

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

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

16) Address for manuscripts to be sent:

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

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

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

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

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

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

ii) ハードコピー4部を郵送する。

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

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

4) 原稿はA4版の大きさとし、第1頁には表題、英文表題、著

者名、全著者所属、英文著者名、英文著者所属、続いて連絡の取れる著者（corresponding author）の住所、英文住所を記入する。手書き原稿の場合はB5版、1行20字、20行とする。

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

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

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

8) 論文中の略語は初出の際に省略しないこと。薬品、医薬品、測定装置等は、外国語名の場合は言語のまま用い、日本語化しているものはカタカナとする。型式、販売（製造）元とその所在地も記入すること。

（例）Rhodamine B (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), ポリグラフシステム (LEG-1000; 日本光電工業, 東京)

9) 句読点はコンマ（,）ピリオド（.）とする。

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

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

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

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

(例)

1. 高折益彦. 人工酸素運搬体:その将来への期待. 人工血液 2007;15:90-98.
2. 橋本正晴. 単回投与毒性試験. 野村 護, 堀井郁夫, 吉田武美 編. 非臨床試験マニュアル. 東京: エルアイシー, 2001;37-48.
3. Wong NS, Chang TM. Polyhemoglobin-fibrinogen: a novel oxygen carrier with platelet-like properties in a hemodiluted setting. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 2007; 35: 481-489.
4. Natanson C, Kern SJ, Lurie P, Banks SM, Wolfe SM. Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. J Am Med Assoc 2008; 299: 2304-2312.
4. Sakai H, Sou K, Takeoka S, Kobayashi K, Tsuchida E. Hemoglobin vesicles as a Molecular Assembly. Characteristics of Preparation Process and Performances or Artificial Oxygen Carriers. In: Winslow RM, ed. Blood Substitutes. London: Academic Press (Elsevier), 2006; 514-522.
5. Department of Chemistry, Nara Medical University, Japan. http://www.naramed-u.ac.jp/~chem/ENGLISH_PAGE/e_invest_blood.html (last accessed Nov. 2013)

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

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

- a) すでに掲載された論文であること.
- b) 著者は両方の雑誌の編集者より許可を得ていること. 二

次掲載する編集者に最初に掲載されたもののコピー, 別刷, もしくは原稿のいずれかを添付すること.

- c) 論旨を変えないこと. 執筆者は同一(順不同)であること.
- d) 二次掲載版のタイトル・ページに掲載される脚注には, その論文の全体もしくは一部分がすでに掲載されている旨を明記し, 更に初出文献も示すこと. 適切な脚注の例を以下に示す. 「This article is based on a study first reported in the [...]雑誌タイトル(完全な典拠情報を添えたもの) [...]」(訳: この論文記事は, [...] に最初に報告された研究に基づくものである)」.

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

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

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

18) 原稿の送付先

〒634-8521

奈良県橿原市四条町840

奈良県立医科大学化学教室内

「人工血液」編集委員長 酒井宏水 宛

E-mail: artificial-blood@naramed-u.ac.jp

人工血液

日本血液代替物学会会誌

Artificial Blood

The Official Journal of The Society of Blood Substitutes, Japan

日本血液代替物学会

会長 酒井 宏水 殿

To: Dr. Hiromi Sakai

President

The Society of Blood Substitutes, Japan

日本血液代替物学会 会誌「人工血液」に投稿した論文

表題

Manuscript Title:

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

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

令和 年 月 日

Date:

代表著者（署名）

Corresponding Author (Signature)

連絡先

Contact Address:

（本用紙はコピーしたものを使用されても結構です。）

This form may be photocopied for use.

日本血液代替物学会 会誌「人工血液」編集部

〒634-8521 奈良県橿原市四条町840 奈良県立医科大学医学部化学教室

E-mail: artificial-blood@naramed-u.ac.jp

Artificial Blood Editorial Office

The Society of Blood Substitutes, Japan

Department of Chemistry, Nara Medical University

840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8521, Japan

E-mail: artificial-blood@naramed-u.ac.jp

Creating for Tomorrow

昨日まで世界になかったものを。

私たち旭化成グループの使命。

それは、いつの時代でも世界の人びとが“いのち”を育み、

より豊かな“くらし”を実現できるよう、最善を尽くすこと。

創業以来変わらぬ人類貢献への想いを胸に、次の時代へ大胆に挑戦していくために一。

私たちは、“昨日まで世界になかったものを”創造し続けます。

AsahiKASEI

旭化成ファーマ株式会社

まだないくすりを
創るしごと。

世界には、まだ治せない病気があります。

世界には、まだ治せない病気とたたかう人たちがいます。

明日を変える一錠を創る。

アステラスの、しごとです。

明日は変えられる。



www.astellas.com/jp/

アステラス製薬株式会社

AstraZeneca 



抗悪性腫瘍剤/ヒト型抗ヒトPD-L1モノクローナル抗体

薬価基準収載

イミフィンジ®点滴静注 120mg・500mg

IMFINZI® Injection 120mg・500mg デュルバルマブ(遺伝子組換え)製剤
生物由来製品/創薬/処方箋医薬品(注意—医師等の処方箋により使用すること)

「効能・効果」、「用法・用量」、「警告・禁忌を含む使用上の注意」、「効能・効果に関連する使用上の注意」、「用法・用量に関連する使用上の注意」等については製品添付文書をご参照ください。

製造販売元[文献請求先]

アストラゼネカ株式会社

大阪市北区大深町3番1号

TEL 0120-189-115

(問い合わせ先フリーダイヤル メディカルインフォメーションセンター)

2019年8月作成

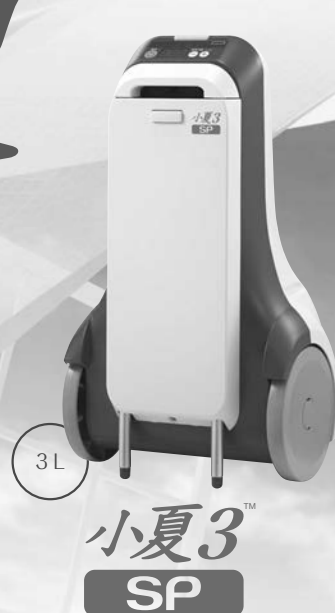
酸素濃縮装置

 **エアウォーター・メディカル株式会社**

小夏

より快適に、
もっとアクティブに

- 安心のバッテリー標準搭載
- 家計にやさしい省電力設計
- 静かな運転音
- 火災防止機能



火災防止機能



バッテリー搭載

販売：エア・ウォーター・メディカル株式会社 〒141-0031 東京都品川区西五反田2-12-3 第一誠実ビル7階

製造販売業者：株式会社 医器研 〒350-1331 埼玉県狭山市新狭山2-12-27

販売名：小夏3SP 医療機器認証番号：226ADBZX00229000 特定保守管理医療機器

小夏5SP 医療機器認証番号：229AGBZX00028000 特定保守管理医療機器



生きる喜びを、もっと

Do more, feel better, live longer.

GSKは、より多くの人々に
「生きる喜びを、もっと」を届けることを
存在意義とする科学に根差した
グローバルヘルスケアカンパニーです。

<http://jp.gsk.com>

グラクソ・スミスクライン株式会社



TEIJIN
Human Chemistry, Human Solutions

血漿分画製剤(生体組織接着剤) 薬価基準収載

ボルヒール[®]組織接着用 献血

特定生物由来製品、処方箋医薬品
(注意 - 医師等の処方箋により使用すること)

BOLHEAL[®]

■「効能・効果」「用法・用量」「禁忌を含む使用上の注意」等につきましては、製品添付文書をご参照ください。

製造販売

KMバイオロジクス株式会社
熊本市北区大窪一丁目6番1号

販売

TEIJIN 帝人ファーマ株式会社
東京都千代田区霞が関3丁目2番1号 ☎0120-189-315
文献請求先及び問い合わせ先：メディカル情報グループ

BOL902-TO-2001-4
2020年1月作成



解熱鎮痛剤
アセトアミノフェン 静注液

アセリオ® 静注液 1000mg バッグ

acelio® Bag for Intravenous Injection 1000mg

薬価基準収載

劇薬、処方箋医薬品 注意—医師等の処方箋により使用すること

※「効能又は効果」、「用法及び用量」、「警告・禁忌を含む使用上の注意」等については、製品添付文書をご参照下さい。

製造販売元：テルモ株式会社 〒151-0072 東京都渋谷区幡ヶ谷2-44-1 www.terumo.co.jp

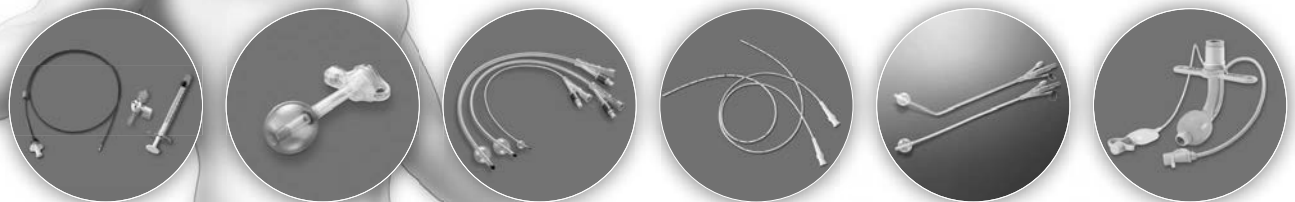
資料請求先：テルモ株式会社 コールセンター ☎0120-12-8195 (平日9:00-17:45受付)

TERUMO はテルモ株式会社の商標です。 acelio、アセリオはテルモ株式会社の登録商標です。 ©テルモ株式会社 2017年3月 2017年3月作成

φ **ファイコン**
CON

人と環境を見つめた
“ファイコン クオリティ”

それが、富士システムズの
シリコン製品の大切な約束です。



PHYCON DESIGN
C o n f i d e n t P r o d u c t s

 **富士システムズ株式会社**
本社 〒113-0033 東京都文京区本郷3-23-14 TEL(03)5689-1901

<http://www.fujisys.co.jp/>

札幌支店	TEL(011)211-0751	仙台支店	TEL(022)748-4201	大宮支店	TEL(048)729-6480
東京支店	TEL(03)5689-1901	名古屋支店	TEL(052)265-9221	大阪支店	TEL(06)6943-8404
広島支店	TEL(082)555-8091	福岡支店	TEL(092)262-6777		

たった一度のいのちと歩く。

私たちの志

ここにいる責任と幸福。

私たちの前には、いつもかけがえのないいのちがある。祝福されて生まれ、いつくしみの中で育ち、夢に胸を膨らませ、しあわせになることを願って生きるいのち。

まず、私たちは、この地球上でもっとも大切なもののために働きたい。

胸の高らかに掲げるこころ。

そのために、私たち製薬会社にできることは無限にある。

自分たちを信じよう、自分たちの力を、自分たちを信じて。

私たちは、決して大きな会社ではない。でも、

どこにもない歴史があり、どこにもマネのできない、どこにも

そしてどこにも真に誇れる優秀な人材がいる。

困難をおそれない勇気を持とう。飛躍を

革新とは、ただの成長ではない。飛躍と

その真は、現状に満足する者には永久

つくるものは、薬だけではない。私たち

人がどれほど生きることを望んでいるかを知ろう。

医療に従事する人がどれほどひとりで

人間に与えられた感受性をサビつか

世界を救うのは薬だけでは足りない。人間

最高のチームになろう。どんなに

力をあわせた人間というものか。ひとり

スピードをあげよう。いまここ

私たちは、その闘いがどんなに

急ごう。走ってはいけないが、止

そして、どんな時も誠実であり

私たちは薬をつくっている。人のいのち

仕事は、人をしあわせにできる。いつも、私たちはそのことを忘れないでいよう。

私たちは、さまざまな場所で生まれ、さまざまな時間を経て、さながら奇蹟のように、

この仕事、この会社、この仲間に出会った。そのことを心からよろこぼう。

そして、いまここにいる自分に感謝し、その使命に心血をそそぎ、かけがえのない

いのちのために働くことを、誇りとしよう。

人間の情熱を、人間のために使うしあわせ。私たちは、ひとりひとりが協和キリンです。

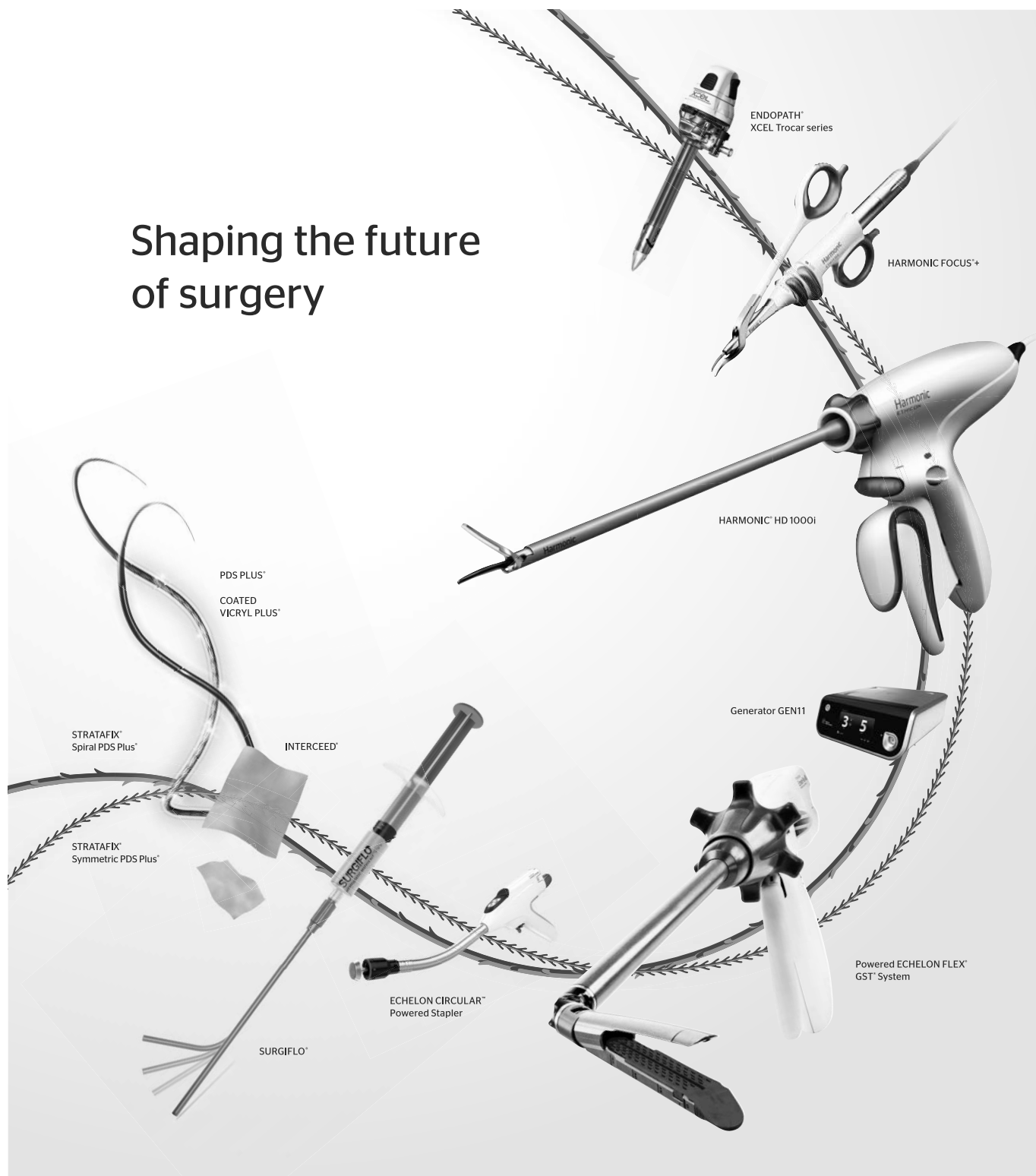
たった一度の、いのちと歩く。

KYOWA KIRIN

私たちの志

検索

Shaping the future of surgery



ETHICON

PART OF THE **JOHNSON & JOHNSON** FAMILY OF COMPANIES

販売名:ハーモニック HD 1000i
販売名:ハーモニック ブルーハンドピース
販売名:エンドパス トロカールシステム
販売名:STRATAFIX Spiral PDS プラス
販売名:エンドスピンク パワード リニヤー カッター

承認番号:22900BZX00116000
承認番号:22100BZX00831000
承認番号:21900BZX00882000
承認番号:22900BZX00123000
承認番号:22500BZX00396000

販売名:インターシャード*
販売名:PDS プラス
販売名:IESジェネレーター
販売名:エシェロン サークュラー パワードスタイプラー
販売名:GSTカートリッジ

承認番号:20300BZY01058000
承認番号:22300BZX00333000
承認番号:22500BZX00119000
承認番号:30100BZX00156000
承認番号:22700BZX00155000

販売名:ハーモニック FOCUS プラス
販売名:バイクリル プラス
販売名:STRATAFIX Symmetric PDS プラス
販売名:サージフロ*

承認番号:22700BZX00411000
承認番号:22000BZX01652000
承認番号:22800BZX00272000
承認番号:23100BZX00112000

製造販売元: ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社 メディカル カンパニー 〒101-0065 東京都千代田区西神田3丁目5番2号

133480-200226 ©J&J 2020



Better Health, Brighter Future

タケダから、世界中の人々へ。 より健やかで輝かしい明日を。

一人でも多くの人に、かけがえない人生をより健やかに過ごしてほしい。タケダは、そんな想いのもと、1781年の創業以来、革新的な医薬品の創出を通じて社会とともに歩み続けてきました。

私たちは今、世界のさまざまな国や地域で、予防から治療・治癒にわたる多様な医療ニーズと向き合っています。その一つひとつに応えていくことが、私たちの新たな使命。よりよい医薬品を待ち望んでいる人々に、少しでも早くお届けする。それが、いつまでも変わらない私たちの信念。

世界中の英知を集めて、タケダはこれからも全力で、医療の未来を切り拓いていきます。

武田薬品工業株式会社
www.takeda.com/jp



血漿分画製剤（血液凝固阻止剤）

薬価基準収載

ノイアート[®] 静注用 500単位 1500単位

Neuart[®] I.V. 500units, 1500units 献血（生物学的製剤基準 乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ）

特定生物由来製品 処方箋医薬品^注 注) 注意-医師等の処方箋により使用すること

※ 効能・効果、用法・用量、禁忌・原則禁忌を含む使用上の注意等については、添付文書をご参照ください。

製造販売元

JB 一般社団法人
日本血液製剤機構

2016年1月作成



Lilly

世界中の人々の
より豊かな人生のため、
革新的医薬品に
思いやりを込めて

日本イーライリリーは製薬会社として、
人々がより長く、より健康で、充実した生活を実現できるよう、
がん、糖尿病、筋骨格系疾患、中枢神経系疾患、自己免疫疾患、
成長障害、疼痛などの領域で、日本の医療に貢献しています。

日本イーライリリー株式会社

〒651-0086 神戸市中央区磯上通 5-1-28
www.lilly.co.jp

編集委員

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

日本血液代替物学会 会誌

■発行 日本血液代替物学会

■編集・制作「人工血液」編集委員会

■印刷 株式会社 研恒社

人工血液 vol.28(1) 2020年11月10日発行

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

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

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