

Necrosis Factor Regulates Type-1 Plasminogen Activator Inhibitor Expression in Mouse Adipose Cells. *Am J Physiol*, in press, 1999

7. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、坂野上 淳、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：人工赤血球研究の現況—循環系への影響の少ない新たなヘモグロビン系人工酸素運搬体の開発。循環制御 19(3): 379-386, 1998

8. 佐久間一郎、仲井邦彦、藤井 聡、吉岡充弘、富樫廣子、佐藤 洋、北畠 顕：人工血液とNO。心血管病態とNO。島田和幸、池田康夫、大熊 稔、日高弘義、丸山征郎編集。金芳堂、京都。pp181-193, 1998

9. 藤井ひとみ、藤井 聡、仲井邦彦、佐久間一郎、北畠 顕、劔物 修：赤血球代替物性能評価の方法の開発と臨床試験。人工血液 7(1): 7-15, 1999

10. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、坂野上 淳、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：人工血液の設計とガス状メディエーター。集中治療, 1999 in press

11. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：NO-hemoglobin の人工酸素運搬体としての応用。血管と内皮。9 増刊：71-82, 1999

2. 学会発表

1. I. Sakuma, K. Nakai, H. Togashi, J. Sakanoue, A. Aita, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Sato, A. Kitabatake: Effects of cell free S-nitroso-hemoglobin in vivo on blood pressure, platelet aggregation and Plasma $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$: comparison with those of cell free hemoglobin. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

2. K. Nakai, I. Sakuma, H. Togashi, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Satoh, A. Kitabatake: Vasoconstriction as a result of EDRF scavenging by

hemoglobin derivatives: Comparison between acellular and cellular hemoglobin in Langendorff perfusion of the rat heart. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

3. K. Nakai, I. Sakuma, S. Fujii, A. Kitabatake, H. Satoh: Polyethylene-glycol modified bovine hemoglobin as a candidate for plasma expander having oxygen transporting capacity: Its vascular activity and endothelial permeability. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

4. I. Sakuma, K. Nakai, H. Togashi, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Sato, A. Kitabatake: Effects of S-nitroso-hemoglobin on blood pressure, platelet aggregation and plasma $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. The 18th World Congress of the international Union of Angiology. Kyoto, Japan, 1998.9.

5. Jun Sakanoue, Osamu Hazeki, Yoko Hoshi, Yasuyuki Kakihana, Mamoru Tamura, Ichiro Sakuma, Kunihiko Nakai, Satoshi Fujii: Polyethylene glycol modified liposome encapsulated human hemoglobin improves cerebral oxygenation and redox behavior of cytochrome oxidase in the rat brain measured by near-infrared spectroscopy in vitro. The 71st Scientific Sessions of the American Heart Association. Dallas, U.S.A., 1998.11.

6. Ishimori N, Watano K, Goto D, Kaneko T, Makiguchi M, Nakagawa T, Mitchell J, Woodcock-Mitchell J, Sobel BE, Fujii S: Hyperinsulinemia and subsequent impaired fibrinolysis determine the severity of coronary artery disease in obese subjects. The 71st Scientific Sessions of the American Heart Association. Dallas, U.S.A.,

1998.11.

7. Zaman AKM, Goto D, Watano K, Isshimori N, Kaneko T, Mitchell J, Woodcock-Mitchell J, Fujii S: Diminished fibrinolysis and increased coagulation precede cardiac microvascular remodeling in obese mice. The 71st Scientific Sessions of the American Heart Association. Dallas, U.S.A., 1998.11.

8. Ichiro Sakuma, Kunihiro Nakai, Hiroko Togashi, Satoshi Fujii, Mitsuhiro Yoshioka, Hiroshi Sato, Akira Kitabatake: Possibility of S-nitroso-hemoglobin as a new cardioprotective agent. The International Society of Heart Research, the 15th Annual Meeting of Japanese Section. Tokyo, Japan, 1998.11.

9. K. Nakai, I. Sakuma, H. Togashi, S. Fujii, A. Aita, J. Sakanoue, M. Yoshioka, H. Satoh, A. Kitabatake: Vascular Activity of unmodified hemoglobin and S-nitroso-hemoglobin in rats. IBC's 6th Annual Conference on Blood Substitutes and Oxygen Therapeutics. Washington, DC, U.S.A., 1998.11.

10. 仲井邦彦、佐久間一郎、富樫広子、藤井 聡、吉岡充弘、北畠 顕：SNO-hemoglobin の人工酸素運搬体としての応用。第7回生体NOフォーラム、東京、1998.5.

11. 佐久間一郎、藤井 聡、富樫広子、吉岡充弘、仲井邦彦、佐藤 洋、北畠 顕：ヘモグロビン誘導体の内皮由来弛緩因子スカベンジャー作用による血管収縮：セルフリーヘモグロビンと細胞性ヘモグロビンのランゲンドルフ灌流心での比較。第3回VASCULAR MEDICINE学会、神戸、1998.7.

12. 佐久間一郎、富樫広子、仲井邦彦、藤井 聡、坂野上 淳、田村 守、佐藤 洋、吉岡充弘、北畠 顕：S-Nitrosohemoglobin が循環系機能に与える影響。日本血液代替物学会第5回年次大

会、札幌、1998.9.

13. 藤井 聡、佐久間一郎、仲井邦彦、富樫広子、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：ヘモグロビン系酸素運搬体による血小板作用。日本血液代替物学会第5回年次大会、札幌、1998.9.

14. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫広子、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：NO 供与能を有する hemoglobin 誘導体 S-nitrosohemoglobin の生体内における性質。第1回日本血管細胞生物学会、東京、1998.9.

15. 佐久間一郎、藤井 聡、北畠 顕：S-nitrosohemoglobin の生体内におけるNO 供与体としての性質。第2回日本心血管内分泌代謝学会総会、京都、1998.11.

16. 佐久間一郎、藤井 聡、北畠 顕、富樫広子、吉岡充弘、仲井邦彦、佐藤 洋：NO 供給能を有する hemoglobin 誘導体 S-nitrosohemoglobin の生体内における性質。第4回北海道活性酸素・フリーラジカル研究会、札幌。1998.11.

厚生科学研究費補助金（高度先進医療研究事業）

分担研究報告書

酸素運搬機能を有する人工赤血球の開発に関する研究

分担研究者 仲井邦彦 東北大学医学系研究科講師

研究要旨 ヒトおよびウシヘモグロビン (Hb) を原料として、酸素親和性の調節、polyethylene glycol (PEG) 修飾による血中半減期制御、さらに一酸化窒素の付加 (SNO 化) を行ない、新しい S-nitroso-PEG-conjugated Hb 製剤 (SNO-PEG-Hb) の開発を行なった。リットル単位での中規模製造工程を確立し、簡単な品質管理を行ない共同実験施設に供給した。また、ラットを用いて SNO-PEG-Hb の SNO の血中半減期を解析し、Hb 自身の血中半減期は 15 時間であるのに対し、SNO 部分の血中半減期は、1.1 時間であることが示された。この SNO-PEG-Hb は人工赤血球として臨床応用可能な物質であると考え、企業と共同で特許申請を行った。

A. 研究目的

セルフリーHb 修飾体による酸素運搬体の開発において、血管収縮、腸管異常収縮、血小板活性化などの副作用が最近明らかにされている。一酸化窒素 (NO) は内皮由来弛緩物質 (EDRF) として血管弛緩を惹起し、また腸管では非アドレナリン作動性非コリン作動性神経伝達物質の候補とされている。さらに NO は血小板では細胞内 cGMP を増加させ抑制に働いているが、Hb にトラップされ、不活化される。従って、Hb 修飾体によって惹起される副作用には、Hb による NO 除去が背景にあるものと予想される。そこで本研究では、副作用の少ない酸素運搬体の開発を行なうことを意図し、Hb 修飾体に NO 放出能を付与し、Hb による NO 除去を代償することを考案した。具体的には、酸素運搬能および血中滞留時間を確保するためにそれぞれ piridoxalation および pegylation を行ない、さらに Hb の SH を S-nitrosylation

し、SNO-PEG-Hb の作成を計画した。

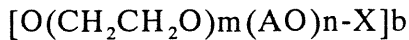
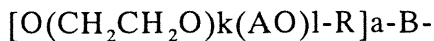
本分担研究では、その詳細な分子モデルを決定するとともに、リットル単位での中規模製造工程を確立、主任研究施設に製剤を供給することを担当した。また、製剤の特許性を確保するために民間企業との共同で新規 PEG 修飾体を考案し、特許申請を行なうことを企図した。さらに、製造物の特性を明らかにする目的で、主任研究施設での動物実験に協力し、SNO-PEG-Hb の血中半減期を解析し基礎資料の拡充を行なった。

B. 研究方法

従来法により精製 Hb の製造を行ない、酸素親和性の調節は pyridoxal 5'-phosphate による修飾を行なった。PEG 修飾に用いた PEG 誘導体は、下記の一般式を有するアミノ基結合型修飾剤を用い、分子量 2956 の修飾剤を中心として、分子量 8450、20450 の各修飾剤を用い、異なる

る分子量の PEG-Hb 修飾体を作成した。

ポリオキシアルキレン誘導体の一般式は以下のとおり



ただし、B：2-3 個の水酸基を持つ化合物の残基、AO：炭素数 3-4 のオキシアルキレン基、R：炭素数 1-30 の炭化水素基または水酸基、k と m：オキシエチレン基の平均付加モル数で、 $0 \leq k \text{ or } l \leq 500$ 、かつ $20 \leq k+m \leq 1000$ 。l と m：オキシエチレン基の平均付加モル数で、 $0 \leq k \text{ or } l \leq 10$ 、かつ $0 \leq k+m \leq 10$ 。また $0 \leq a \leq 6$ 、 $1 \leq b \leq 6$ 、かつ $2 \leq a+b \leq 6$ 。R と X：アミノ基と結合可能な官能基、例えば N-ヒドロキシサクシンイミド残基、イミダゾール基、または p-ニトロフェニル基。今回の実験では N-ヒドロキシサクシンイミド残基を採用した。

以上の工程は嫌気的条件とし、以後のニトロソ化は酸素飽和条件とした。NO ドナーとしてニトロソグルタチオンを使用し、Hb 濃度 0.050 mM、0.1 M リン酸緩衝液 (0.5 mM EDTA)、pH 8.6、4°C にて 10 時間反応させ、生成物を適当な分画分子量の限外ろ過膜にて分離、濃縮した。最終製剤は生理食塩水に透析し Hb 10% とした。

蛋白質結合 SNO の解析は、HPLC ゲルろ過カラム (Eicompak GFC-200 または TSK-GEL SW4000XL) を用いて分離後、ポストカラムにて HgCl_2 により SNO を遊離させ、生成した nitrite を Griese 試薬により発色させ定量した。SNO-PEG-Hb の SNO 部分の血中半減期解析は、Brown Norway 雄性ラットを用い、200mg/kg の Hb 溶液として大腿静脈に投与後、適当な時間を置いて採血し、直接 HPLC にて高分子画分から得られる SNO を定量した。

C. 研究結果

ヒト Hb の pyridoxalation により、酸素親和性の指標である P50 は 15-30mmHg を示し、一方ウシ Hb の場合は、28 mmHg

(未修飾の場合) から 50mmHg を示し、種々の酸素親和性を有する Hb 修飾体が製造可能であった。P50 値が高い場合、組織への酸素運搬効率が改善される可能性もあるが、共同研究施設にてラット高度交換輸血を行ない脳組織酸素化を指標にして各種酸素親和性の影響を比較評価したものの、大きな差異は認められず、主任研究施設へ供給する SNO-PEG-Hb の P50 値としては現在までのところ 28mmHg 前後の基準を採用することとした。

3つの異なる分子量 (2956、8450、および 20450) の PEG 修飾剤を用い PEG-Hb を作成したが、HPLC 上での生成物の見掛け上の分子量は、それぞれ 550kda、870 kda、1380kda となり、さらに SNO 化した場合の SNO 結合率は、20%、27%、18% となり、用いた PEG 鎖に無関係であった (同じ条件で未修飾 Hb を SNO 化した場合の SNO% は 20%。ただし、Hb 1 テトラマー当たり 2 個の SH に SNO 化が可能であり、100% SNO とはテトラマー当たり 2 個の SNO が結合した場合を指す)。

Hb に pyridoxalation および PEG 修飾を行なった後、SNO 化を実施したが、NO ドナーの添加量に依存して SNO 化率は 20-70% を示した。リットル単位での製造工程にて、Hb 変性の指標であるメト化率の基準を 10% と設定した場合、失敗なく作成できる SNO% はおよそ 50-60% であり、SNO-PEG-Hb 製剤としては、SNO% を 30% または 50-60% の 2 つとして品質の固定を試みた。共同研究施設に提供する Hb 製剤については、スペック表添付と品質管理の実施を心掛け、再現性ある成果の収集を目指した。なお、PEG 修飾法を核として、最終生成物である SNO-PEG-Hb の特許申請を行った。

ラット血中での SNO-PEG-Hb (PEG 分子量 2956 の場合) の半減期を解析した。SNO-PEG-Hb の Hb 自体の半減期は約 15 時間であったが、高分子領域に結合する SNO を塩化水銀にて遊離させ半減期を

求めた場合、SNO の血中半減期は 1.1 時間と算出された。なお、SNO-PEG-Hb 未投与動物においても高分子画分に結合する SNO が認められたが、極めて少量であった。

D. 考察

酸素運搬能、血中滞留時間、SNO 放出性、を有する新規な Hb 修飾体を SNO-PEG-Hb として作成し、リットル単位の中規模製造法を確立、品質管理を施しロット番号を与え共同研究施設に供給した。再現性ある実験結果を得るには製剤スペックの固定が必須であり、今後とも品質の安定に注意し安定的な製剤の供給を行ないたい。

Hb は顕著な昇圧反応を惹起し、一方 SNO-Hb の作用は明らかに弱い。PEG-Hb と SNO-Hb を比較した場合でも、SNO 化した Hb 修飾体の昇圧反応は弱い（佐久間ら、未発表データ）。従って、SNO-Hb より SNO が放出され血管平滑筋に作用しているものと推測される。SNO-PEG-Hb より遊離する SNO の化学的構造に関しては今だ未解決であり、血中に存在する SNO 量を直接解析することは不可能であるが、他の分担報告書の通り、SNO-Hb 投与後に血管-脳関門で隔てられた海馬領域の NO 代謝物量は顕著に上昇したことから、SNO-Hb から何らかの NO 代謝物が放出され組織に供給されることが示されている。そこで SNO-PEG-Hb 自体の血中半減期を解析した所、SNO の半減期は 1.1 時間であることがわかった。Hb 分子の半減期よりは短いものの、Hb よりの SNO 解離は徐放性であり、SNO-PEG-Hb は血漿中でも比較的安定であることが示された。今後、血漿中で SNO が解離する要因について解析を行なう予定である。

Hb 変性の基準としてメト化 10%以内を条件とすると、Hb 修飾体の SNO 化は 60-70%まで可能であったが、PEG-Hb は

未修飾 Hb に比べ血管収縮活性など小さいものと予想され、内因性 NO の除去効率も低いと考えられる。従って、代償的に投与すべき SNO 量も少なくすることが妥当かもしれない。また、内因性の NO に比較し外来性として投与する SNO 量は血管内環境で見た場合、かなり大量と思われる。実際に Hb 未投与動物の血漿からは極めて微量の SNO しか検出されない。SNO-PEG-Hb からの SNO 放出は徐放性であり投与後瞬時に大量の遊離 SNO が生じる訳ではないが、SNO-PEG-Hb の適応病態とも関連付けながら、SNO%の適正なレベルの検討を行なう必要がある。

最後に、人工酸素運搬体は薬剤の 1 つであり、開発研究において特許申請を行なうことが必要である。今回、日本油脂株式会社との共同研究により新たな PEG 鎖を開発し新規 SNO-PEG-Hb として、北海道大学総長を筆頭申請人として特許申請を行なうことができた。今後、国際研究を視野に入れ、現在米国および欧州に国際特許の申請準備中であるが、高額な申請費用などの工面が障害となった。また、特許性を確保するために申請までは関連する研究論文の公開、学会発表などを控える必要が生じ、学術活動の進展に少なくない制約を受けた。今後とも研究の進展とともに特許化を検討しており、迅速な特許手続きを可能とするシステムの構築とともに、科学研究の展開と発明権利の保証について条件面の整備が一層求められるものと思われた。

E. 結論

新規な PEG 修飾体を用い SNO-PEG-Hb を作成し、特許申請を行なうとともに、関連する各種の Hb 修飾体を製造し共同研究施設に供給した。SNO-PEG-Hb の SNO 部分の血中半減期を解析し、1.1 時間（Hb 自体は 15 時間）であった。従って、SNO-PEG-Hb の SNO は NO 自体とは異なり比較的安定であり、SNO からの NO 放出は徐放性であることが確かめられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakai K, Usuba A, Ohta T, Kuwahara M, Nakazato Y, Motoki R, Takahashi TA. Coronary vascular bed perfusion with a polyethylene glycol-modified hemoglobin-encapsulated liposome, Neo Red Cell, in rats. *Artif Organs* 22: 320-325, 1998

2. Nakai K, Sakuma I, Ohta T, Ando J, Kitabatake A, Nakazato Y, Takahashi TA. Permeability characteristics of hemoglobin derivatives across cultured endothelial cell monolayers. *J Lab Clin Med* 132: 313-319, 1998

3. Nakai K, Sakuma I, Kitabatake A. Vascular Activities of hemoglobin-based oxygen carriers. In: Tsuchida E. ed. *Present and Future Perspectives of Blood Substitutes*. Elsevier Science SA, Lausanne. pp251-264, 1998

4. Nakai K, Sakuma I, Satoh H, Kitabatake A. Vascular activities of hemoglobin-based oxygen carriers: relationship between vasoconstrictive activity and endothelial permeability. In: Kitabatake A, Sakuma I, ed. *Recent Advances in Nitric Oxide Research*. Springer-Verlag Tokyo. pp33-45, 1999

5. Jun Sakanoue, Mamoru Tamura, Kunihiro Nakai, Ichiro Sakuma, and Akira Kitabatake: Redox states of cerebral tissues of rats substituted by the liposome-encapsulated hemoglobin. *Oxygen Transport to Tissue XXI* ed. Eke A, Delpy DT, Plenum Press, 1999 in press

6. 仲井邦彦、佐久間一郎、北畠 顕：ヘモグロビン系酸素運搬体による血管反応。人工血液 6(2): 25-36, 1998

7. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、坂野上 淳、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：人工赤血球研究の現況—循環系への影響の少ない新たなヘモグロビン系人工酸素運搬体の開発。循環制御 19(3):

379-386, 1998

8. 佐久間一郎、仲井邦彦、藤井 聡、吉岡充弘、富樫廣子、佐藤 洋、北畠 顕：人工血液とNO。心血管病態とNO。島田和幸、池田康夫、大熊 稔、日高弘義、丸山征郎編集。金芳堂、京都。pp181-193, 1998

9. 藤井 ひとみ、藤井 聡、仲井邦彦、佐久間一郎、北畠 顕、劔物 修：赤血球代替物性能評価の方法の開発と臨床試験。人工血液 7(1): 7-15, 1999

10. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、坂野上 淳、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：人工血液の設計とガス状メディエーター。集中治療, 1999 in press

11. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫廣子、藤井 聡、吉岡充弘、佐藤 洋、北畠 顕：NO-hemoglobin の人工酸素運搬体としての応用。血管と内皮。9 増刊：71-82, 1999

2. 学会発表

1. I. Sakuma, K. Nakai, H. Togashi, J. Sakanoue, A. Aita, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Sato, A. Kitabatake: Effects of cell free S-nitrosohemoglobin in vivo on blood pressure, platelet aggregation and Plasma $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$: comparison with those of cell free hemoglobin. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

2. K. Nakai, I. Sakuma, H. Togashi, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Satoh, A. Kitabatake: Vasoconstriction as a result of EDRF scavenging by hemoglobin derivatives: Comparison between acellular and cellular hemoglobin in Langendorff perfusion of the rat heart. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

3. K. Nakai, I. Sakuma, H. Fujii, A. Kitabatake, H. Satoh: Polyethylene-glycol modified bovine hemoglobin as a

candidate for plasma expander having oxygen transporting capacity: Its vascular activity and endothelial permeability. The 3rd International Conference "Biochemistry and Molecular Biology of Nitric Oxide". Los Angeles, U.S.A, 1998.7.

4. Jun Sakanoue, Mamoru Tamura, Kunihiro Nakai, Ichiro Sakuma, Akira Kitabatake: Redox states of cerebral tissues of rats substituted by the liposome-encapsulated hemoglobin. The 26th Annual Meeting of the International Society on Oxygen Transport to Tissue. Budapest, Hungary, 1998.8.

5. I. Sakuma, K. Nakai, H. Togashi, S. Fujii, M. Yoshioka, H. Sato, A. Kitabatake: Effects of S-nitroso-hemoglobin on blood pressure, platelet aggregation and plasma $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. The 18th World Congress of the international Union of Angiology. Kyoto, Japan, 1998.9.

6. Jun Sakanoue, Osamu Hazeki, Yoko Hoshi, Yasuyuki Kakihana, Mamoru Tamura, Ichiro Sakuma, Kunihiro Nakai, Satoshi Fujii: Polyethylene glycol modified liposome encapsulated human hemoglobin improves cerebral oxygenation and redox behavior of cytochrome oxidase in the rat brain measured by near-infrared spectroscopy in vitro. The 71st Scientific Sessions of the American Heart Association. Dallas, U.S.A., 1998.11.

7. Ichiro Sakuma, Kunihiro Nakai, Hiroko Togashi, Satoshi Fujii, Mitsuhiro Yoshioka, Hiroshi Sato, Akira Kitabatake: Possibility of S-nitroso-hemoglobin as a new cardio-protective agent. The International Society of Heart Research, the 15th Annual Meeting of Japanese Section. Tokyo, Japan, 1998.11.

8. K. Nakai, I. Sakuma, H. Togashi, S.

Fujii, A. Aita, J. Sakanoue, M. Yoshioka, H. Satoh, A. Kitabatake: Vascular Activity of unmodified hemoglobin and S-nitroso-hemoglobin in rats. IBC's 6th Annual Conference on Blood Substitutes and Oxygen Therapeutics. Washington, DC, U.S.A., 1998.11.

9. 仲井邦彦、佐久間一郎、富樫広子、藤井 聡、吉岡充弘、北島 顕: SNO-hemoglobin の人工酸素運搬体としての応用. 第7回生体NOフォーラム、東京、1998.5.

10. 佐久間一郎、藤井 聡、富樫弘子、吉岡充弘、仲井邦彦、佐藤 洋、北島 顕: ヘモグロビン誘導体の内皮由来弛緩因子スカベンジャー作用による血管収縮: セルフリーヘモグロビンと細胞性ヘモグロビンのランゲンドルフ灌流心での比較. 第3回 VASCULAR MEDICINE 学会、神戸、1998.7.

11. 坂野上 淳、田村 守、仲井邦彦、佐久間一郎、北島 顕: 近赤外分光法を用いたラット脳におけるヘモグロビンリポソーム包接体の酸素運搬機能の測定. 日本血液代替物学会第5回年次大会、札幌、1998.9.

12. 仲井邦彦、佐久間一郎、富樫広子、坂野上 淳、田村 守、吉岡充弘、佐藤 洋、北島 顕: S-Nitrosohemoglobin の作製. 日本血液代替物学会第5回年次大会、札幌、1998.9.

13. 佐久間一郎、富樫広子、仲井邦彦、藤井 聡、坂野上 淳、田村 守、佐藤 洋、吉岡充宏、北島 顕: S-Nitrosohemoglobin が循環系機能に与える影響. 日本血液代替物学会第5回年次大会、札幌、1998.9.

14. 藤井 聡、佐久間一郎、仲井邦彦、富樫広子、吉岡充弘、佐藤 洋、北島 顕: ヘモグロビン系酸素運搬体による血小板作用. 日本血液代替物学会第5回年次大会、札幌、1998.9.

15. 佐久間一郎、仲井邦彦、富樫広子、藤井 聡、吉岡充宏、佐藤 洋、北島 顕:

NO 供与能を有する hemoglobin 誘導体 S-nitrosohemoglobin の生体内における性質. 第1回日本血管細胞生物学会、東京、1998.9.

16. 福島昭二、野崎秀人、杠 真紀、岸本修一、竹内由和、仲井邦彦、佐久間一郎：高圧ジェット流デュアルフィード型・反転型乳化機による O/W 型パーフルオロカーボンエマルジョン（人工血液）の調整. 第46回日本薬学会近畿支部総会大会、西宮、1998.10.

17. 佐久間一郎、藤井 聡、北島 顕、富樫広子、吉岡充宏、仲井邦彦、佐藤 洋：NO 供給能を有する hemoglobin 誘導体 S-nitrosohemoglobin の生体内における性質. 第4回北海道活性酸素・フリーラジカル研究会、札幌、1998.11.

18. 仲井邦彦、佐久間一郎、富樫廣子、坂野上 淳、田村 守、吉岡充弘、佐藤 洋、北島 顕：S-nitrosohemoglobin を応用した酸素運搬体の分子設計とその生理作用、第11回代用臓器研究会、札幌、1999.2.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

北島 顕、佐久間一郎、仲井邦彦、安河内徹（出願人：北海道大学総長、日本油脂株式会社）一酸化窒素代謝物-ポリオキシアルキレン-ヘモグロビン結合体. 1999年2月特許出願中.

