

きなかった。

図6にsodium fluorescein注入後の分離灌流肝小葉の染色パターンを示す。正常では小葉全体にdiffuseに染色し、内毒素処理により取込みの減少が見られた。ここにHbを投与すると門脈域を中心に染色が著明に低下した。一方metHb投与ではこのような取り込みの低下を認めなかった。またHbV投与においても取り込みの低下は認めなかった。以上の結果からHb投与では門脈周辺への灌流が低下しており胆汁低下機序の一因となっている可能性が示唆された。

D. 考案・結論

内毒素ショックではNOとCOの生成が亢進し、血管収縮に対する防御機構として作用していると考えられる。無細胞型のHbを肝臓に投与すると正常での収縮反応の著明な増強がおこり、結果として肝臓灌流の減少により胆汁分泌が低下する。従ってこのようなfenestrationを持つ臓器のfunctional integrityを維持するためにはliposome封入が有効な手段であることが示唆された。ショック肝では血管のpatencyの維持にNO、COの双方が必要であると同時にヘム分解のダイナミクスが大きく異なる。metHbではhemeの分解に伴って生じるCOが消去されず、Hbではこれがただちに消去されてしまうことがHbによる胆汁分泌低下のメカニズムと考えられるが、詳細な検討が今後必要である。高ビリルビン血症を増悪を回避しつつ生理的なヘム分解のコンパートメントであるマクロファージでの分解を促すような粒子の設計が今後必要になることが示唆された。もともと肝臓は赤血球から漏出したHbが自動酸化を受けてmetHbとなったものを代謝する使命があると考えられ、NOではなくCOが局所血流と胆汁流量を調節していることは極めて合目的性が高いと考えられる。ショック病態ではここにNOの関与が加わるため酸素運搬のためにHbを担体とした人工産物を投与する場合には細胞型を基盤にした設計が不可欠になると思われる。

(謝辞) HbとHb小胞体を供与いただいた早稲田大学理工学部 土田英俊教授、武岡真司助教授に深謝申し上げます。

引用文献

- 1) Suematsu M, Goda N, Sano T, et al: Carbon monoxide: An endogenous modulator of sinusoidal tone in the perfused rat liver. *J Clin Invest* 96: 2431-2437, 1995
- 2) Sano T, Shiomi M, Wakabayashi Y, et al: Endogenous carbon monoxide suppression stimulates bile acid-dependent biliary transport in perfused rat liver. *Am J Physiol (Gastrointest. & Liver Physiol.)* 272: G1268-G1275, 1997
- 3) Goda N, Suzuki K, Naito M, et al: Distribution of heme oxygenase isoforms in rat liver: Topographic basis for carbon monoxide-mediated microvascular relaxation. *J Clin Invest* 101(3): 604-612, 1998

E. 研究発表

1. 論文

- 1) T. Kyokane, S. Norimitsu, H. Taniyai, T. Yamaguchi, S. Takeoka, E. Tsuchia, M. Naito, Y. Nimura, Y. Ishimura, M. Suematsu. "Carbon monoxide from heme catabolism protects against hepatobiliary dysfunction in endotoxin-treated rat liver." *Gastroenterology* 120, 1227-1240 (2001).
- 2) N. Makino, M. Suematsu, Y. Sugiura, H. Morikawa, H. Shiomi, N. Goda, T. Sano, Y. Nimura, K. Sugimachi, Y. Ishimura. "Altered expression of heme oxygenase-1 in the livers of patients with portal hypertensive diseases." *Hepatology* 33, 32-42 (2001).
- 3) K.T. Kitchin, W.L. Anderson, M. Suematsu. "An ELISA assay for heme oxygenase-1." *J. Immunol. Meth.* 247, 153-161 (2001).
- 4) A. Tanimoto, K. Oshio, M. Suematsu, D. Pouliquen, D. Stark. "Relaxation effects of clustered particles." *J. Magnet. Reson. Imag.* (2001) in press.
- 5) M. Kashiba, Y. Ishimura, M. Suematsu. "Carbon monoxide reception in biological systems." *Porphyrins* (2001) in press.

2. 論説

- 1) M. Suematsu, Y. Ishimura "The heme oxygenase-carbon monoxide system: a regulator of hepatobiliary function" *Hepatology* 31, 3-6 (2000).

2) 末松誠、京兼隆典、二村雄次、石村巽 "ヘム分解から見た人工酸素運搬体の設計戦略"人工血液 8, 40-42 (2000).

2. 学会発表

1) 末松誠、京兼隆典、武岡真司、石村巽、二村雄次、土田英俊/ショック病態におけるリボソーム封入型ヘモグロビンの代謝・分解と自動酸化のメカニズム/第7回日本血液代替物学会年次大会/ 2000.9.8 /札幌、かでの2.7

F. 知的所有権の既得状況

1) 抗ヒトヘムオキシゲナーゼー1モノクローナル抗体 (特願2000-309737)

人工赤血球開発への前臨床研究、治験計画作製に関する研究

分担研究者 高折 益彦 岡山県赤十字血液センター 研究顧問

研究要旨 研究班会議において、各分担研究者の研究計画を聴取、検討し、具体的な実施案の提言を行った。また全国関係施設への研究参加の可能性を検討した。さらにまた実施可能な治験計画案の作製も行った。

A. 研究目的

早稲田大学理工学部において作製された人工赤血球を対象として、先ず小動物をもってその安全性と有効性とを検討するが、その際いかなる点について検討すべきか、そして更にそれをもって臨床試験へと進む場合、いかなる臨床使用法をもって、安全性、有効性を確かめるか、その具体案を提案、検討することを目的とした。

B. 研究方法

研究班会議において各分担研究機関での研究計画を聴取し、その実現性、有効性を批判、検討した。そして今後、追加検討すべき項目を指摘し、その可能性を各研究機関と協議し、可能な限り広範な領域での検討が行えるようにした。また現在分担研究を行っている研究機関のみならず、将来的に前臨床試験、ならびに臨床治験で共同研究が可能であろう研究機関を対象として全国的に調査表を配布した。そしてその可能性の高い施設については、訪問して現在の分担施設での研究進捗状況を説明して、近い将来での分担研究参加を尋ねた。また諸外国での研究成果を参考に独自の臨床治験計画の作製を試みた。

C. 研究結果

1) 研究班会議での検討

各分担研究機関での研究計画を綿密に検討した。そして前臨床試験での具体的な方法としてラットを用いて、(1) 連続的脱血と試作人工赤血球の連続注入による40%血液交換、(2) 単回50%血液交換での実験で、生体機能への安全性、酸素運搬能の有効性

を検討することを提案した。

2) 国内研究機関での対応

現在4施設については前臨床試験実施の参加が可能であるとの回答を得た。但しいずれも現在進行している分担研究機関での研究結果を確認の上で回答したいとの結論を得ている。

3) 治験計画の作製

Spahnらの研究結果を参考とし、出血量が1000 mL程度と予想される一般手術症例を対象とし、希釈式自己血輸血施行時に試作された人工赤血球を使用するのが最も行い易く、安全性の面でも、効果判定の面でも優れていることを認めた。

D. 考案

各分担研究機関での研究を討論した結果、賛成を得ることができたので、現行案をもって来年度も逐次研究を進めることが可能と考える。ただ、各研究機関の研究結果が完全にまとまった時点での検討と、時間的余裕とによってはさらなる検討計画の追加も考えられる。全国研究機関での、前臨床試験への参加に関しては分担研究機関での研究成果のまとめを速やかに提示する必要がある、可能なものから随時参考資料として提示して参加を確実ならしめるべきと考えた。治験計画に関しても各分担研究機関での成績を参考に、今後の計画を検討していくべきと思われた。

E. 結論

上記の現状から特に研究計画の変更を必要するものではなく、次年度も今年度の計画案に従い研究を進めるべきものと結論された。

E. 研究発表

1. 論説

1) 高折 益彦、"赤血球代替物の臨床応用を目指して"
"人工血液 8, 85-89 (2000).

2) 高折 益彦、仲井邦彦、"人工血液臨床応用をとりまく問題点と対策 (第7回日本血液代替物学会年次大会、ワークショップ)" 人工血液 8, 103-104 (2000).

2. 学会発表

1) 高折 益彦 / 人工血液の臨床応用を展望して / 第7回日本血液代替物学会年次大会 / 2000.9.8 / 札幌、かでの2.7

表6. 研究成果の刊行に関する一覧表

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名)	刊行年月日 (impact factor)	刊行書店名	執筆者名
<i>Bioconjugate Chem.</i> 11, 425-432 (2000) "Poly(ethylene glycol)-conjugation and deoxygenation enable long term preservation of hemoglobin-vesicles as oxygen carriers in a liquid state"	2000年5月 (2.269)	The American Chemical Society	Hiroimi Sakai Ken-ichi Tomiyama Keitaro Sou Shinji Takeoka Eishun Tsuchida
<i>Bioconjugate Chem.</i> 11, 372-379 (2000) "Poly(ethylene glycol)-modification of the phospholipid vesicles by using the spontaneous incorporation of poly(ethylene glycol)-lipid into the vesicles"	2000年5月 (2.269)	The American Chemical Society	Keitaro Sou Taro Endo Shinji Takeoka Eishun Tsuchida
<i>J. Am. Chem. Soc.</i> 122, 7927-7935 (2000) "Synthesis and assembly of poly(ethylene glycol)-lipids with mono-, di-, and tetraacyl chains and a poly(ethylene glycol) chain of various molecular weights"	2000年8月 (5.725)	The American Chemical Society	Shinji Takeoka, Katsura Mori Haruki Ohkawa Keitaro Sou Eishun Tsuchida
<i>Microvasc. Res.</i> 60, 21-27 (2000) "Constriction of resistance arteries determines L-NAME induced hypertension in a conscious hamster model."	2000年8月 (1.496)	Academic Press	Hiroimi Sakai Hiroyui Hara A.G. Tsai Eishun Tsuchida M. Intaglietta
<i>Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.</i> 279, 908-915 (2000) "Molecular dimensions of Hb-based O ₂ carriers determine constriction of resistance arteries and hypertension in conscious hamster model."	2000年9月 (3.077)	American Physiological Society	Hiroimi Sakai Hiroyuki Hara Minako Yuasa AmyG. Tsai Shinji Takeoka, Eishun Tsuchida Marcos Intaglietta
<i>Biochemistry</i> 39, 14595-14602, (2000) "Photoreduction of methemoglobin by irradiation in the near-ultraviolet region."	2000年11月 (4.628)	The American Chemical Society	Hiroimi Sakai Hirotu Onuma Mituyoshi Umeyama Shinji Takeoka Eishun Tsuchida
<i>Bioconjugate Chem.</i> 11, 815-821 (2000) "Synthesis of multiacyl poly(ethylene glycol) for the conjugation of cytochrome c to phospholipid vesicle."	2000年11月 (2.269)	The American Chemical Society	Haruki Ohkawa Yuji Teramura Shinji Takeoka Eishun Tsuchida
<i>Bioconjugate Chem.</i> 11, 772-776 (2000) "Kinetics of CO- and O ₂ -binding to human serum albumin-heme hybrid".	2000年9月 (2.269)	The American Chemical Society	Teruyuki Komatsu Yasuko Matsukawa Eishun Tsuchida
<i>Chem. Lett.</i> 2000, 1060-1061 (2000) "Nitrosyl iron(II) complex of meso-tetrakis (α,α,α,α-o-pivalamidophenyl)porphyrin with a covalently linked 2-methylimidazolylalkyl group"	2000年9月 (1.546)	The Chemical Society of Japan	Teruyui Komatsu Yasuko Matsukawa Eishun Tsuchida

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名)	刊行年月日 (impact factor)	刊行書店名	執筆者名
<i>Chem. Lett.</i> 2000, 1194-1195 (2000) "Redox behavior of human serum albumin-heme hybrid on graphite electrode modified with didodecyldimethylammonium bromide"	2000年10月 (1.546)	The Chemical Society of Japan	Yuping Wu Teruyuki Komatsu Eishun Tsuchida
<i>Bioconjugate Chem.</i> 12, 71-75 (2001) "Reaction of nitric oxide with synthetic hemoprotein, human serum albumin incorporating tetraphenylporphyrinatoiron(II) derivatives".	2001年1月 (2.269)	The American chemical Society	Teruyuki Komatsu Yasuko Matsukawa Eishun Tsuchida
<i>Bioconjugate Chem.</i> 12 (2001) "Photoreduction of autooxidized albumin-heme hybrid in saline solution; revival of its O ₂ -binding ability",	印刷中 (2.269)	The American Chemical Society	Akito Nakagawa Teruyuki Komatsu Eishun Tsuchida
<i>Chinese J. Appl. Chem.</i> (2001) "Human serum albumin incorporating synthetic heme; A novel O ₂ -carrying hemoprotein"	印刷中	The Chinese Chemical Society	Eishun Tsuchida Teruyuki Komatsu Yuping Wu
<i>Clin. Chem.</i> "Pretreatment to avoid interference effect of hemoglobin-vesicles (oxygen carriers) for blood serum clinical chemistry".	投稿中	American Association for Clinical Chemistry	Hiromi Sakai Kenichi Tomiyama Hirohisa Horinouchi Shinji Takeoka Koichi Kobayashi Eishun Tsuchida
<i>Artif. Cells Blood Substit Immobil Biotechnol</i> 28(5):375-383 (2000) "Removal of parvovirus B19 from hemoglobin solution by nanofiltration."	2000年9月 (0.830)	Marcel Dekker Inc.	Hideki Abe H. Sugawara Junichi Hirayama H. Ihara T. Kato Hisami Ikeda Kenji Ikebuchi
<i>Biol Pharm Bull</i> 24(4):418-421 (2001) "Involvement of reactive oxygen species in hemoglobin oxidation and virus inactivation by 1,9-dimethylmethylene blue phototreatment."	2001年4月 (0.823)	The Pharmaceutical Society of Japan	Junichi Hirayama Stephen J. Wagner Hideki Abe Kenji Ikebuchi Hisami Ikeda
<i>Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol</i> 29 (2001) "Effects of poly (ethyleneglycol)-modified hemoglobin vesicles on agonist-induced platelet aggregation and RANTES release in vitro."	印刷中 (0.830)	Marcel Dekker Inc.	Shinobu Wakamoto Mitsuhiro Fujihara Hideki Abe Hiromi Sakai Shinji Takeoka Eishun Tsuchida Hisami Ikeda Kenji Ikebuchi

刊行書籍又は雑誌名（雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名）	刊行年月日 (impact factor)	刊行書店名	執筆者名
<i>Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol</i> 29 (2001) "Superoxide generation from human polymorphonuclear leukocytes by liposome-encapsulated hemoglobin"	投稿中	Marcel Dekker Inc.	Hideki Abe Kenji Ikebuchi K. Niwa O. Inanami M. Kuwabara Mitsuhiro Fujihara Junichi Hirayama Hisami Ikeda
<i>Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol</i> 29 (2001) "Virus inactivation in hemoglobin solution by heat treatment."	投稿中	Marcel Dekker Inc.	Hideki Abe Kenji Ikebuchi Junichi Hirayama Mitsuhiro Fujihara Shinji Takeoka Hiromi Sakai Eishun Tsuchida Hisami Ikeda
<i>Int. J. Oncol.</i> 18/2, 227-232 (2001) "Measurement of tumor blood flow using colored dye extraction microspheres in two rat tumor model"	2001年2月 (1.040)	International Journal of Oncology	Arifumi Iwamaru Masazumi Watanabe Shankang Yu Takashi Ohtsuka Hirohisa Horinouchi Kouichi Kobayashi
<i>Am. J. Pathol.</i> "Hemoglobin-vesicles as oxygen carriers: influence on phagocytic activity and histopathological changes in reticuloendothelial system".	印刷中 (6.043)	American Society for Investigative Pathology	Hiromi Sakai Hirohisa Horinouchi Eiji Ikeda Kenichi Tomiyama Shinji Takeoka Koichi Kobayashi Eishun Tsuchida
<i>Gastroenterology</i> 120(5):1227-1240 (2001) "Carbon monoxide from heme catabolism protects against hepatobiliary dysfunction in endotoxin-treated rat liver."	2001年4月 (10.330)	American Gastroenterological Association	Takanori Koyokane Shinji Norimizu Hisashi Taniai Tokio Yamaguchi Shinji Takeoka Eishun Tsuchida Makoto Naito Yuji Nimura Yuzuru Ishimura Makoto Suematsu
バイオサイエンスとインダストリー 58, 252-255 (2000) "人工血液の開発動向"	2000年4月	(財) バイオインダストリー協会	土田 英俊 酒井 宏水 武岡 真司
人工血液 8, 21-25 (2000) 海外文献紹介 "Perflubron乳剤投与で整形手術時の輸血を遅延させることができる"	2000年6月	日本血液代替物学会	土田 英俊 酒井 宏水
人工血液 8, 30 - 39 (2000) "Mechanical, microvascular, and cellular basis for the design of artificial blood"	2000年6月	日本血液代替物学会	Amy G. Tsai Hiromi Sakai Eishun Tsuchida Marcos Intaglietta

刊行書籍又は雑誌名（雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名）	刊行年月日 (impact factor)	刊行書店名	執筆者名
<i>Artif. Cells Blood Substitutes Immobilization Biotechnol.</i> 28, v-viii (2001) "Is there a need for blood substitutes in the new millennium and what should we expect in the way of safety and efficacy?"	2001年1月 (0.830)	Marcel Dekker Inc.	Eishun Tsuchida
「血液・免疫・腫瘍」 <i>BIC Forum</i> 6, 12-18 (2001) "酸素輸液(人工赤血球)の設計原理と具体的構造"	2001年1月	メディカルビュー社	土田 英俊 小松 晃之 酒井 宏水
人工血液 8, 100-102 (2000) "海外論文紹介: 重症自己免疫性溶血性貧血症例に対するウシ重合ヘモグロビンの輸血"	2000年9月	日本血液代替物学会	岩丸 有史 小林 絃一
「血液・免疫・腫瘍」 <i>BIC Forum</i> 6, 19-28 (2000) "人工赤血球 (人工酸素運搬体)"	2000年1月	メディカルビュー社	小林 絃一
「第16回日本人工臓器学会卒後教育セミナー予稿集」 45-50 (2000) "人工赤血球"	2000年	日本人工臓器学会	小林 絃一
人工血液 8, 40-42 (2000) "ヘム分解の化学から見た人工酸素運搬体の設計戦略"	2000年6月	日本血液代替物学会	末松 誠 京兼 隆典 二村 雄次 石村 巽
<i>Hepatology</i> 31, 3-6 (2000) "The heme oxygenase-carbon monoxide system: a regulator of hepatobiliary function"	2000年1月 (5.621)	American Association for the study of liver disease	Makoto Suematsu Yuzuru Ishimura
人工血液 8, 85-89 (2000) "赤血球代替物の臨床応用をめざして"	2000年12月	日本血液代替物学会	高折 益彦
人工血液 8, 103-104 (2000) "人工血液臨床応用をとりまく問題点と対策" 第7回日本血液代替物学会年次大会ワークショップ	2000年12月	日本血液代替物学会	高折 益彦 仲井 邦彦
「バイオメディックスハンドブック」第7章(第6節), 長田義仁編 (2000) "酸素輸液としての人工赤血球"	2000年9月	エヌ・ティー・エス社	土田 英俊 酒井 宏水 武岡 真司

5. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況

次の特許を出願済。

1) 「小胞体分散液の製造法」 (特願2000-344458)

Hb小胞体を短時間で収率高く造粒するための方法。

2) 「カルボン酸型脂質」 (特願2000-344459)

Hb小胞体の負電荷成分として利用できる合成脂質。

3) 「ヘモグロビン小胞体の光還元法」 (特願2000-175611)

酸化劣化したHb小胞体を光還元して酸素運搬能を還元させる方法。

4) 「両親媒性テトラフェニルポルフィリンFe(III) 錯体の光還元方法」 (特願平11-096764、特開2000-24797)

高原子価金属ポルフィリン錯体をその配位子—中心金属間電荷移動吸収帯域の光照射により、相当する低原子価金属ポルフィリン錯体へ還元する光還元方法。

5) 「高原子価金属ポルフィリン錯体の光還元方法」 (特願平2000-69558、特開2000-281693)

高原子価金属ポルフィリン錯体をその配位子—中心金属間電荷移動吸収帯域の光照射により、相当する低原子価金属ポルフィリン錯体へ還元する光還元方法。

6) 「スピントラップ剤」 (出願中)

生理条件下においても感度良く作用する一酸化窒素トラップ剤、一酸化窒素検出剤、および一酸化窒素吸着剤を提供する。

7) 「ポルフィリン集合体」 (出願中)

フェニル環オルト位に軸塩基であるイミダゾリル基を一つ導入した両親媒性長鎖アルキル基を有するテトラフェニルポルフィリン誘導体からなるポルフィリン集合体と、その製造法。

8) 「塩基性軸配位子を有する置換テトラフェニルポルフィリン化合物」 (出願中)

2位置に塩基性軸配位子として機能するヒスチジン誘導体を導入することにより、優れた酸素配位能を持たせたテトラフェニルポルフィリン金属錯体とその製造法。

9) 抗ヒトヘムオキシゲナーゼ-1モノクローナル抗体 (特願2000-309737)

研究成果の刊行物・別冊

(2000. 4. ~ 2001. 3.)

20000486

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。