

分担研究報告書

臨床応用を目的とした生体機能代替可能な人工赤血球の開発に関する研究

分担研究者 小田切 優樹 熊本大学薬学部教授

研究要旨 α 1 酸性糖タンパク質 (α AP) は血中に 0.015%ほど含有されている蛋白であるが、PFC エマルジョンの凝集抑制効果を有するのみならず、細胞安定化作用等により虚血時の心筋障害を軽減する可能性がある。本年度の本研究班の研究結果から、PFC エマルジョン型人工赤血球が単離心臓の冷温保存再灌流時の心筋障害を軽減することが明らかとなったことから、さらに α AP を添加することにより、もしくはそれ自身で望ましい効果が得られるか否かを検討した。モルモット単離心臓 4℃6 時間保存後の再加温時の心機能、心筋酸素消費に関し、非酸素化心臓保護液群と非酸素化 α AP 添加 (0.015%) 心臓保護液群、さらに酸素化 PFC エマルジョン・BSA 添加心臓保護液群と酸素化 PFC エマルジョン・ α AP 添加 (0.015%) ・BSA 添加心臓保護液群を比較したが、どちらも有意差を認めなかった。したがって、0.015%の α AP では、それ自身の保護作用および PFC エマルジョンの保護作用への増強作用が明らかではないことが示された。

α 1 酸性糖タンパクのモルモット単離心臓の冷温保存再灌流心筋障害軽減作用の検討

A. 研究目的

α 1 酸性糖タンパク (α AP) は血中に 0.015%ほど含有されている蛋白であるが、昨年度の研究により PFC エマルジョンの凝集反応を抑制し、PFC エマルジョン型人工心臓の bioavailability を向上させることが明らかとされた。一方、本研究班の研究結果から PFC エマルジョン型人工赤血球を心臓保護液に添加することにより、単離心臓の冷温保存再灌流時の心筋障害を軽減す

ることが示された。これは、脳死心移植時の移植心の window period を延長、すなわち移植心を冷保存し得る時間が延び、donor 心の利用範囲拡大に資される可能性を意味する。そこで、 α AP には細胞安定化作用等により虚血時の心筋障害を軽減する可能性もあることから、 α AP 自身で、さらに α AP を PFC エマルジョンと併用した際に、それらの相加・相乗効果により、望ましい効果が得られるか否かを検討した。

B. 研究方法

a. 非酸素化 St Thomas 液群と非酸素化 α

AP 添加 St Thomas 液群の比較

【実験動物】体重 300-400g の Hartley 系雄モルモットを非酸素化 St Thomas 液群 (n=8) と非酸素化 α AP 添加 St Thomas 液群 (n=4: α AP 濃度は 0.015%) に分けて使用。

【実験方法】前処置として、ヘパリン 1000U/250 g およびケタミン 30 mg/kg を腹腔内投与し、15 分後に心臓を摘出し、心臓を大動脈圧 30mmHg、左室拡張期圧 10mmHg、心温 37 °C 下で心臓を Krebs-Henseleit 液 (KHS) で灌流後 30 分安定化し、その後 30 分間灌流 (baseline) した。その後、4 °C の心筋保護液 (St Thomas 液: (Na⁺ 120.0mEq/L, K⁺ 16.0 mEq/L, Mg²⁺ 32.0 mEq/L, Ca²⁺ 2.4 mEq/L, HCO³⁻ 10.0 mEq/L, Cl⁻ 160.4 mEq/L) または α AP 添加により、10 分かけて、cooling (終了時の心臓表面温度: 12.1±0.7°C) し、非酸素化 St-Thomas 液 または α AP 添加心筋保護液 (St Thomas 液) 下に 4 °C で 6 時間保存した。貯蔵後、20°C St-Thomas 液により 10 分かけて心臓表面温度が 25.1±0.4°C まで復温後、90 分間 KHS で灌流した。

【評価項目】血行動態の指標として心拍数、左室 Developed pressure、Coronary flow rate (ml/g/min) を継続的に測定した。酸素代謝の指標として baseline、再灌流直後、再灌流 10 分後、60 分後の時点で O₂ extraction ((arterial O₂-venous O₂)/arterial O₂ x 100) および心筋酸素消費量 (MVO₂/0.1 μ l/min)、心効率 (Developed pressure x 心拍数/心筋酸素消費量) を算出した。なお、arterial 値は心臓を通過する前の灌流液、venous 値は心臓を通過した後の灌流液の値とした。

【使用 PFC エマルジョン製剤】神戸学院大学薬学部薬効学福島昭二助教授より供給された製剤を使用した。PFC として FC-43 820 g、界面活性剤 (乳化剤) として HCO-60 を 33 g を加え、注射用水 1200 を添加して PFC 50% (w/v) とした。調製法としては、窒素置換した注射用水に HCO-60 を分散し、窒素気流下、高圧ジェット流型乳化機を用い、デュアルフィード法 15,000 psi の運転圧力で FC43 を乳化した。その後、30,000 psi の運転圧力にて本乳化し、平均粒子径 210 nm のエマルジョン製剤としたものである。使用前に St-Thomas 液に 10% (1:9) で混合し、PFC 濃度としては 5% に調整した後使用した。

b. 酸素化 PFC エマルジョン・BSA 添加 St-Thomas 液群と酸素化 PFC エマルジョン・ α AP 添加・BSA 添加 St-Thomas 液群の比較

【実験動物】体重 300-400g の Hartley 系雄モルモットを酸素化 PFC エマルジョン・BSA 添加 St-Thomas 液群 (n=8) と酸素化 PFC エマルジョン・ α AP 添加・BSA 添加 St-Thomas 液群 (n=4: α AP 濃度は 0.015%) に分けて使用。PFC エマルジョン添加時には、St Thomas 液と電解質組成と浸透圧が一致するよう、電解質補正と BSA 5% を加えた補正を行った。

【実験方法】a と同様にモルモットを処置し、cooling および 4 °C で 6 時間保存時に酸素化 PFC エマルジョン・BSA 添加 St-Thomas 液もしくは酸素化 PFC エマルジョン・ α AP 添加・BSA 添加 St-Thomas 液を使用した。

【評価項目】a と同じ

【使用 PFC エマルジョン製剤】a と同じ

倫理面への配慮

実験にあたっては、前もって熊本大学薬学部および北海道大学大学院医学研究科の動物研究委員会に実験計画書を提出し、裁可を得た。

C. 研究結果

a. 非酸素化 St Thomas 液群と非酸素化 α AP 添加 St Thomas 液群の比較

1. 心拍数 : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

2. Developed pressure (LVESP-LVEDP) : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった

3. coronary flow rate (ml/g/min) : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

4. 拍再開までの時間および同調律への回復時間 : unpaired student t test で有意差を認めなかった。

5. O_2 extraction : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

6. VO_2 : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

7. Cardiac efficiency : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

b. 酸素化 PFC エマルジョン・BSA 添加 St-Thomas 液群と酸素化 PFC エマルジョン・ α AP 添加・BSA 添加 St-Thomas 液群の比較

1. 心拍数 : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

2. Developed pressure (LVESP-LVEDP) : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった

3. coronary flow rate (ml/g/min) : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

4. 拍再開までの時間および同調律への回復時間 : unpaired student t test で有意差を認めなかった。

5. O_2 extraction : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

6. VO_2 : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

7. Cardiac efficiency : repeated measurement ANOVA で有意差を認めなかった。

D. 考察

本研究の結果、 α AP 濃度を 0.015% と血中と同じにした場合には、 α AP 自身の心筋保護作用および PFC エマルジョンの効果への相乗作用を認めなかった。今後 α AP 濃度をさらに上昇させることにより、心筋保護作用が顕在化される可能性はあると思われる。今後の再検討の必要が考えられた。

E. 結論

モルモット単離心臓の冷温保存再灌流時の心筋障害に対し、0.015% α AP には、それ自身の保護作用および PFC エマルジョンの保護作用への増強作用は認めなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. K. Matsumoto, K. Nishi, M. Otagiri et al. : Effects of α 1-Acid Glycoprotein on Erythrocyte Deformability and Membrane Stabilization. Biol. Pharm. Bull., 26(1)123-126 (2003)

2. K. Nishi, M. Otagiri et al. :

- Structural and Drug-binding Properties of α 1-Acid Glycoprotein in Reverse Micelles. *Biochim. Biophys. Acta*, 1601(2), 185-9 (2002)
3. V.T.G. Chuang, U. Kragh-Hansen, M. Otagiri: Pharmaceutical Strategies Utilizing Recombinant Human Serum Albumin. *Pharm. Res.*, 19(5), 569-577 (2002)
 4. K. Matsumoto, M. Otagiri et al.: Characterization of Ligand Binding Sites on the α 1-Acid Glycoprotein in Humans, Bovines and Dogs. *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 17(4), 300-306 (2002)
 5. U. Kragh-Hansen, V.T.G. Chuang, M. Otagiri: Practical Aspects of the Ligand-binding and Enzymatic Properties of Human Serum Albumin. *Biol. Pharm. Bull.*, 25(6), 695-704 (2002)
2. 学会発表
1. 丸山徹、小田切優樹： α 1-酸性糖蛋白質の体内動態及び生物活性. 第9回血液代替学会 2002.9 熊本
 2. 西弘二、松下貞治、中城圭介、岩尾康範、棚瀬純夫、芥 照男、小田切優樹：タノール資化酵母 *Pichia pastoris* を用いた α 1-酸性糖蛋白質の発現と精製. 日本薬学会第123年会 2003.3 長崎
 3. 安楽誠、新塘里奈、岩尾康範、Ulich Kragh-Hansen、小田切優樹：部位特異的変異法を施したアルブミンによる HSA 分子上の酸化部位の検索. 日本薬学会第123年会 2003.3 長崎
 4. 松元一明、菊池真理、徳富芳子、徳富直史、西勝英、末永綾香、小田切優樹：ラット足蹠浮腫及び好中球活性に対する α 1-酸性糖蛋白質の影響. 日本薬学会第123年会 2003.3 長崎
 5. 香月正明、Victor Chuang Tuan Giam、小田切優樹： α 1-酸性糖蛋白質と UCN-01 との相互作用：光アフィニティー法による結合部位の検索. 日本薬学会第123年会 2003.3 長崎
 6. 脇岡基樹、Victor Chuang Tuan Giam、末永綾香、小田切優樹：光アフィニティー法による AGP 分子上のフルニトラゼラム結合部位の同定. 日本薬学会第123年会 2003.3 長崎
 7. Odakiri Y: New Aspects of Serum Albumin as Drug Delivery Carrier. 5th International Symposium Innovation in Pharmaceutical Sciences & Technology. Jan 31-Feb 3 (2003), Mumbai, India.
 8. 岡井淳平、安楽誠、丸山徹、小松晃之、武岡真司、土田英俊、小田切優樹：ヒト血清アルブミンダイマーの構造・機能解析：モノマーとの比較検討. 第24回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2002.11 名古屋
 9. 松元一明、菊池真理、安楽誠、小田切優樹： α 1-酸性糖蛋白質及びその脱糖化修飾体の体内動態. 日本薬物動態学会 2002.11 千葉
 10. 安楽誠、丸山徹、川井恵一、小田切優樹：ヒト血清アルブミンの構造と機能に及ぼす酸化の影響：In vitro-In vivo の相関性. 日本薬物動態学会 2002.11 千葉
- G. 知的所有権の出願・登録状況 なし

分担研究報告書

臨床応用を目的とした生体機能代替可能な人工赤血球の開発に関する研究

分担研究者 並河和彦 麻布大学獣医学部助教授

研究要旨 本研究では人工赤血球の臨床応用を企図し、貧血によって致命的経過を示すイヌの原虫感染症である *Babesia gibsoni* 実験感染系を用いてポリエチレングリコール修飾ヘモグロビン(PEG-Hb)の有用性を検討した。*Babesia gibsoni* 原虫を感染させた摘脾犬が急性貧血を示し、瀕死状態になった時点で、PEG-Hbを投与することによりイヌは死亡から免れ臨床症状が改善された。このことから、原虫感染症に起因する急性貧血の治療に対する PEG-Hb 製剤の臨床的有用性が確認された。

イヌの原虫感染症に伴う急性貧血への新規
ヘモグロビン修飾体の臨床応用

A. 研究目的

人工赤血球は血中半減期が短いため慢性貧血には適応が困難である。しかしながら、急性に貧血が進行する疾患、および免疫介在性溶血性貧血等の赤血球輸血が困難な疾患に対しての緊急避難的な応用が期待される。

そこで本研究では、急性貧血によって致命的経過を示すイヌの原虫感染症に対して、本研究班で開発した新規 Hb 修飾体を臨床応用することを検討した。

イヌの感染症の中で、*Babesia gibsoni* 感染症はマダニによって媒介される感染症で、本マダニが常在する西日本では本病に

よって急性貧血に陥るケースが多いが、現在用いられている化学療法剤は効果を示すまでに数日を要し、急性に経過する症例に対しては効果を示すまでにイヌが死亡するケースもある。しかし、急性期の貧血を乗り越えたイヌは治療も可能となり、耐過後回復して不顕性感染に向かう。しかし獣医学領域では輸血供給システムは必ずしも完全ではなく、開業獣医師は個人で供血犬を多数飼育し、症例ごとに交差適合試験などの検査を行った後、同種血輸血を行っている。しかし血液型不適合や血液の長期保存ができないなどの問題があり、現在緊急時への対応はなかなか困難である。そこで、本研究ではその貧血期を支援するために新規 Hb 修飾体を投与し、その結果、治療効果が得られるか否かを検討することを目的と

した。

B. 研究方法

実験用ビーグル犬を摘脾後、当研究室で継代している *Babesia gibsoni* 原虫感染血液を静脈内接種して感染させ、急性貧血を惹起させた。原虫が増加した日から化学療法剤の Clindamycin を投与し、貧血が顕著となり瀕死状態になった日から本研究班で開発した新規 Hb 修飾体であるポリエチレングリコール修飾 (PEG)-Hb を体重 1kg あたり 1.5 g となるように、7.5% 溶液を 20ml/kg の割合で静脈内投与した。投与は 3ml/kg/hr の速度で行った。PEG-Hb 無投与対照群には原虫が増加した日から Clindamycin のみを投与した。

PEG-Hb はウシ赤血球から作成したもので、ウシ血液から赤血球を遠心により分離後蒸留水で溶血させてストローマフリーヘモグロビン (SFH) とし、これに PEG を修飾させたものを PEG-Hb として用いた。

PEG-Hb の効果を判定する項目として、イヌの生存状況、臨床所見の観察と血液検査を毎日実施し、貧血の回復と原虫の抑制状況を観察して PEG-Hb 無投与群と比較した。

倫理面への配慮

実験にあたっては、前もって麻布大学動物研究委員会に実験計画書を提出し、裁可を得た。

C. 研究結果

PEG-Hb 無投与対照群では、Clindamycin を投与したにもかかわらず、原虫接種後原虫は増加の一途を辿り、また赤血球数も極度の減少を示し 12-14 日に全頭死亡した。

これに対して、急性貧血期に PEG-Hb を投与したイヌは、瀕死期には無投与対照群と同程度の原虫数と貧血を示したが、PEG-Hb 投与後耐過して原虫は減少してゆき 24 日目には末梢血中からほとんど消失し、貧血も顕著に回復した。

なお、PEG-Hb 投与中に毒性症状などは認められなかった。

D. 考察

本研究は、獣医学領域において現在問題になっているイヌ *Babesia gibsoni* 感染症に対する人工血液の効果を検討したものだが、その効果を確認することによって、わが国でげっ歯類からヒトへの感染症例が確認されている *Babesia microti* による疾患や、マラリアなどの住血原虫性疾患に対する効果も期待できる。

獣医学領域において貧血を示す感染症には、イヌの *Babesia gibsoni* 感染症の他、イヌパルボウイルス感染症、イヌ鉤虫症、ネコの *Haemobartonella felis* 感染症、ネコ白血病ウイルス感染症、ネコ伝染性腹膜炎、ネコ免疫不全ウイルス感染症や、潜在的にこれらの感染症にかかっている供血動物からの医原性感染がある。そこで、これらの疾患に対して人工血液が応用可能であれば、獣医臨床に対する貢献は計り知れないものがあると思われる。

今回の実験では有効性が確認されたものの例数が少ないため、今後例数を重ねて適切な PEG-Hb の投与時期、投与回数や投与量を明らかにし、さらに副作用の少ないことが今までの本研究班の検討で確認されている SNO-PEG-Hb の有効性を検証する予定である。また人工血液の適応疾患を明らか

にするために、畜主とのコンセンサスが得られれば遭遇し得た様々な貧血症例に対して本剤の適応を試みたいと考えている。

E. 結論

致死経過を示すイヌの *Babesia gibsoni* 感染症の急性貧血期に、PEG-Hb を化学療法剤と併用して投与したところ、顕著な回復を示した。このことにより、原虫感染症に起因する急性貧血治療に対する新規人工赤血球製剤の臨床的有効性が確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 並河和彦、須永藤子、菅野康則: *Babesia gibsoni* 病の診断と治療—ミニレビュー—。動物の原虫病 16(1):1-14, 2002
2. Sunaga, F., Namikawa, K. and Kanno, Y. Protection of dogs against homologous challenge by the inoculation of irradiated *Babesia gibsoni*. J. Animal Protozooses 17(1); 15-18, 2002
3. Sunaga, F., Namikawa, K. and Kanno, Y. Continuous *in vitro* culture of erythrocytic stages of *Babesia gibsoni* and virulence of the cultivated parasite. J. Vet. Med. Sci. 64(7); 571-575, 2002

2. 海外文献紹介

1. 並河和彦、須永藤子、菅野康則: 獣医学領域における貧血性感染症. 人工血液 10(4): 126-129, 2002

G. 知的所有権の出願・登録状況 なし

分担研究報告書

臨床応用を目的とした生体機能代替可能な人工赤血球の開発に関する研究

分担研究者 宮尾秀樹 埼玉医科大学教授

研究要旨 ラットの中大脳動脈梗塞モデルへの S-nitroso-PEG-Hb（以下 SNO-PEG-Hb）投与と梗塞層の縮小効果を検討した。ハローセン、亜酸化窒素麻酔下のラットの頸動脈から先端を太くした合成糸を末梢に通し、中大脳動脈分岐部で中大脳動脈を閉塞させた。1または2時間の閉塞後、糸を抜去して閉塞を解除し再灌流させ 10% SNO-PEG-Hb（処置群）または生理食塩液（対照群）を 0.25 ml/100gBW 尾静脈より投与した。再灌流 24 時間または 48 時間後に神経障害スコアを記録し、断頭後脳を 2mm 切片に切り梗塞層の容積と百分率を求めた。結果は神経障害スコア、梗塞容積とも SNO-PEG-Hb 群と対照群に差は認められなかった。今回の実験系では SNO-PEG-Hb の脳梗塞縮小効果は確認できなかった。

S-nitroso-PEG-Hb の脳動脈梗塞巣縮小効果実験

A. 研究目的

一酸化窒素 (NO) は赤血球中の Hb の SH 基に結合解離を繰り返し、血管のトーンを変化させることにより生体内での血流の調節に関与していることが明らかになった。仲井らは Stroma free Hb に NO を結合させ、さらに Polyethylene glycol 鎖 (PEG) で分子量の拡大をはかると共に網内系への取り込みを防ぐために S-nitroso-PEG-Hb（以下 SNO-PEG-Hb）を開発した。この薬剤は赤血球が通過できないような微小血管や障害血管への酸素供給やケミカルメディエータを介して、組織修復に関与する可能性もある。

本研究の目的はラットの中大脳動脈梗塞モデルに SNO-PEG-Hb を投与することにより、梗塞層の縮小が認められるか否かを確認する事である。

B. 研究方法

5 週齢のラット（総計 140 匹使用）を 1 週間ほど実験棟で飼育し、環境に慣れさせた。実験開始前にラットの体重を測定。ハローセン (1-2%)、亜酸化窒素 2L/分、酸素 1L/分でマスク麻酔をかけたラットの頸動脈から先端を太くした合成糸を末梢に通し、中大脳動脈分岐部で中大脳動脈を閉塞させた。1または2時間の閉塞後、糸を抜去して閉塞を解除し再灌流させ 10% SNO-PEG-Hb（処置群）または生理食塩液（対

照群) を 0.25 ml/100gBW 尾静脈より投与した。また梗塞開始時に SNO-PEG-Hb を投与した群もある。神経障害スコア (表 1) を記録し、ケージにて飼育した。再灌流 24 時間または 48 時間後に神経障害スコアを記録し、上記麻酔下に断頭し脳をホルマリンで灌流固定し、2mm 切片に切り分けた。脳全体と梗塞層を切片毎に NIH image で面積測定し、それを 3 次元構築して梗塞層の容積と百分率を求めた (図 1)。

表 1
All animals were evaluated neurologically 48 hours after reperfusion
Score
0=no observable neurologic deficit
1=failure to extend the right forepaw
2=circling to the right
3=falling to the left
4=cannot walk spontaneously
(Yang et al., 1994)

倫理面への配慮

実験にあたっては、前もって埼玉医科大学動物研究委員会に実験計画書を提出し、裁可を得た。

C. 研究結果

表 2、3 に結果をしめす。2 時間梗塞+再灌流直後投与+48 時間後断頭、1 時間梗塞+再灌流直後投与+24 時間後断頭、梗塞開始時投与+1 時間梗塞+24 時間後断頭、それぞれ対照群に比して梗塞層の縮小は認められなかった。また神経障害スコアも有意な変化を認めなかった。

D. 考察

今回の実験でうまく結果が出なかった原因を次のように考える。

1. 中大脳動脈閉塞の侵襲が大きく、梗塞層では血流が途絶しているため、SNO-Hb の血管拡張効果が梗塞層の大きさで判定することが出来なかった。
2. SD が大きいのは栓塞糸による中大脳動脈の閉塞の程度が個体により一定しなかった。
3. SNO-PEG-Hb がこの実験系では有効でない。

今後の研究課題として上記番号順に

1. 梗塞周囲の Penumbra 領域の浮腫率や Viability を見る指標を考える。
2. 開頭により中大脳動脈を直接焼灼し、確実に同じ大きさの梗塞を作り再度同様の実験を行う。
3. 酸素親和性を増加させた SNO-PEG-Hb で実験を行う。あるいはパーフルオロカーボンエマルジョン、S-nitroso-Albumin 等の別の素材で検討する。あるいは脳以外の臓器での再灌流モデルを考える。

等の実験を考えているが、この 3 点につきさらに考察を加える。

1. 【梗塞周囲の Penumbra 領域の浮腫率や Viability を見る指標を考える】

梗塞周囲の組織が再生に向かうか壊死に向かうかは血流の影響を強く受けると考える。この領域の浮腫率や免疫組織化学染色により viability を検討することも再灌流障害に対する SNO-PEG-Hb の効果を見る上で重要であると考え。

2. 【開頭により中大脳動脈を直接焼灼し、

確実に同じ大きさの梗塞を作り再度同様の実験を行う】

この点に関しては本研究の血管閉塞が栓塞糸を使用したため、個体の大きさや栓塞糸の太さに影響を受け、それが梗塞層の大きさのばらつきに繋がったと考えている。直視下に中大脳動脈を直接焼灼することにより、梗塞層の大きさが均一化し、実験の精度が増すと考えている。

3. 【酸素親和性を増加させた SNO-PEG-Hb で実験を行う。あるいはパーフルオロカーボンエマルジョン、S-nitroso-Albumin 等の別の素材で検討する。あるいは脳以外の臓器での再灌流モデルを使用する】

人工赤血球の酸素親和性を低くすることが組織での酸素運搬に都合が良いと、長い間信じられてきた。最近の知見では特に修飾ヘモグロビンの場合、酸素親和性を低くすると衝動脈領域で早く酸素を放出するために組織での酸素放出が起こりにくい。酸素親和性を高くした方が、組織での酸素放出が起こりやすく、それを支持する実験結果も増加してきている。酸素親和性の高い SNO-PEG-Hb を使用して同様の実験を行うことは十分に意義のあることだと考える。

Hb はそれ自体が組織毒性を持っている。Hb を使わない人工血液であるパーフルオロカーボンエマルジョンが、再灌流障害にどのような効果があるかを検討する。またアルブミンに NO を結合させた S-nitroso-Albumin を製造し、NO の血管拡張作用のみで再灌流障害がどのように変化するかを検討するのも、NO-doner の効果を見る上で重要である。この2種類の薬剤を使うことで、再灌流障害における、酸素の役割と NO の役割がある程度検討できる

のではないかと考える。

脳以外の臓器、特に心臓は血流が多く、側副血行も発達しているため、再灌流障害に対する SNO-PEG-Hb の効果が脳とどのように異なるかを検討する必要があると考えている。

E. 結論

ラットの中大脳動脈梗塞モデルに SNO-PEG-Hb を投与することにより、梗塞層の縮小効果は認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

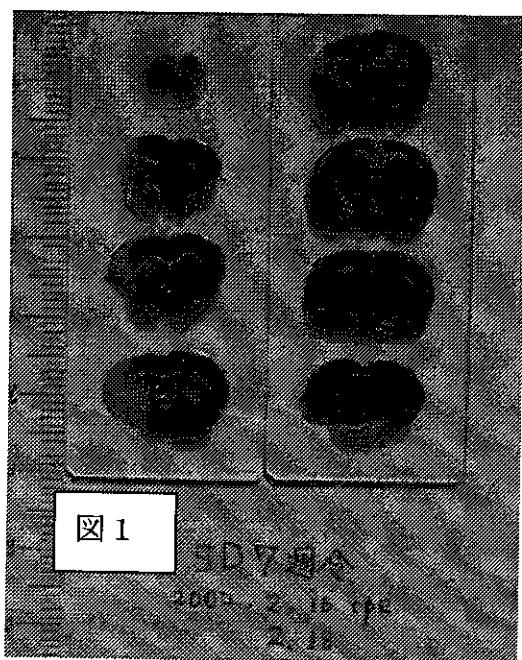
1. 宮尾秀樹：糖尿病の療養指導 2002（日本糖尿病学会編）まさかのときの糖尿病ケア 4. 手術（麻酔科の立場から）p83-86 診断と治療社、東京 2002
2. 小山 薫、宮尾秀樹：麻酔科診療プラクティス 7 周術期の危機管理—稲田英一編—IV. 体液・代謝 5. 乏尿の鑑別診断と治療麻酔科診療プラクティス 7 周術期の危機管理. p192-195、文光堂、東京 2002
3. 宮尾秀樹：臨床麻酔学全書 花岡一雄、真下節、福田和彦編 III 生理 G. 水電解質、酸塩基平衡、臨床麻酔学全書 p216-230、真興交易（株）医書出版部 2002
4. 宮尾秀樹：「麻酔科診療プラクティス」9巻「周術期治療薬ガイド」作用機序：細胞外液補充液の効果株。文光堂、東京 2003 in press
5. 宮尾秀樹：「麻酔科診療プラクティス」9巻「周術期治療薬ガイド」解説：26. 細胞外液補充液の使い方。文光堂、東京

- 2003 in press
6. 宮尾秀樹：「麻酔科診療プラクティス」9巻「周術期治療薬ガイド」治療薬一覧：細胞外液補充液. 文光堂、東京 2003 in press
 7. 宮尾秀樹：「麻酔科診療プラクティス」9巻「周術期治療薬ガイド」作用機序：血漿増量剤の効果. 文光堂、東京 2003 in press
 8. 宮尾秀樹：麻酔科学スタンダード臨床総論、第16章輸液. 麻酔科学スタンダード p265-282, 克誠堂出版 2003
 9. 小山 薫、金古逸美、豊田佳隆、宮尾秀樹、川添太郎、佐藤恭介：低侵襲冠動脈再建術の周術期管理—ニコランジルを用いた循環管理を中心に—日本外科系連合学会誌 26(5):1250-1253, 2001
 10. 福山達也、小山 薫、浅野和美、横田和美、鈴木俊成、宮尾秀樹 Fast-track cardiac anesthesia による冠動脈再建術の術後疼痛. 臨床麻酔 26(1):27-29, 2002
 11. Kodaka M, Handa F, Kawasaki J, Miyao H: Cp50 of propofol for laryngeal mask airway insertion using predicted concentrations with and without nitrous oxide.
 12. 官川 響、福山達也、小山薫、宮尾秀樹：人工呼吸中の加温加湿器の適正設定. 臨床呼吸生理 34(2):119-122, 2002
 13. 福山達也、小山薫、宮尾秀樹、石塚一郎、宮尾秀樹：2回にわたるステロイドパルス療法後に人工呼吸管理から離脱できた ARDS の2症例. 臨床呼吸生理 33(2):135-136, 2001
 14. 鈴木俊成、浅野和美、今井玲子、福山達也、横田和美、宮尾秀樹：後頭蓋開頭術中に空気塞栓を起こした3症例. 臨床呼吸生理 34(1)41-43, 2002
 15. 小高光晴、宮尾秀樹：Effects of S-Nitrosation of Hemoglobin on Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction and Nitric Oxide Flux. 人工血液 9(4):99-101, 2001
 16. 小山 薫、宮尾秀樹：血液代替物開発の現況. 循環制御 22(4):356-360, 2001
 17. 官川 響、宮尾 秀樹、福山達也、岡本由美、小山 薫：気管チューブの加温. 臨床麻酔 26(4)599-603, 2002
 18. 宮尾秀樹、官川 響、高田稔和、岡本由美、小山 薫、福山達也：人工呼吸中の適切な加温加湿. 人工呼吸 19(1):3-11, 2002
 19. 小山 薫、宮尾秀樹：腎機能と水分電解質代謝—特集 重症患者のモニタリング. 総合臨床 51(8):2417-2421, 2002
 20. 宮尾秀樹：人工呼吸下の加温加湿. 臨床呼吸生理 34(2):131-136, 2002
2. 学会発表
 1. 半田富美、許俊鋭、小山薫、宮尾秀樹. 当院の心臓麻酔における肺動脈カテーテルの適応と使用頻度の変遷. 第41回日本麻酔科学会関東甲信越地方会(大宮) 2001
 2. 小山 薫、奥山慎一郎、半田富美、宮尾秀樹、荻原正規、許 俊鋭. 大動脈解離術後の対麻痺に髄液ドレナージおよびナロキソン投与を行った1症例. 第6回日本心臓血管麻酔学会 2001
 3. 福山達也、和田 徹、小山 薫、片山顕徳、半田富美、宮尾秀樹. 心房性ナトリウム利尿ペプチドにより管理した重症拡張型心筋症の1例. 日本蘇生学会第20回大会 2001

4. 照井克生、半田富美、河村智永子、横田和美、内田淳子、宮尾秀樹. 異なる経胎盤的胎児麻酔法を用いた先天性横隔膜ヘルニアの3例. 日本小児麻酔学会第8回大会 2002
 5. 小山 薫、和田 徹、福山達也、鈴木俊成、宮尾秀樹. イソプロテレノールとマグネシウムで管理した喘息重発作の2症例. 第29回日本集中治療医学会岡山 2002
 6. 会田由紀男、吉村和法、門屋利彦、堀江秀典、野村正彦、宮尾秀樹. ラット坐骨神経切断モデルにおける酸化型ガレクチン-1投与によるサブスタンスPレセプターの発現の変化. 日本ペインクリニック学会第36回大会、宮崎 2002
 7. 岡本由美、会田由紀男、阿部千恵子、石塚一郎、丸尾俊彦、宮尾秀樹. 脊髄空洞症の上肢痛に著効した腕神経叢ブロック. 日本ペインクリニック学会第36回大会、宮崎 2002
 8. 石塚一郎、岡本由美、会田由紀男、丸尾俊彦、清水健次、重松俊之、宮尾秀樹. ケタミンによるドラッグチャレンジテストなしでのデキストロメトルファン投与症例. 日本ペインクリニック学会第36回大会、宮崎 2002
 9. 小山 薫、福山達也、武井秀樹、丸尾俊彦、奥山慎一郎、宮尾秀樹. 硬膜外モルヒネによる痒みに対する硬膜外ブプレノルフィンによる治療. 日本ペインクリニック学会第36回大会、宮崎 2002
 10. 半田富美、横田和美、河村智永子、内田淳子、齋藤利恵、照井克生、宮尾秀樹. 僧帽弁狭窄症合併妊娠の2例. 第7回日本心臓血管麻酔学会 2002
 11. Kodaka M , Uchida J , Maeyama A, Ishizuka I , Miyao H. Sevoflurane MAC and Cp50 for insertion of laryngeal mask ProSeal and Classic. IARS 2003
 12. 許俊鋭、半田富美、萩原正規、五條理志、小山 薫、宮尾秀樹. 埼玉医科大学総合医療センターの心臓麻酔におけるSwan-Ganz カテーテルの適応と使用頻度の変遷. 第21回日本臨床麻酔学会(横浜) 2001
 13. 今井玲子、川崎 潤、半田富美、溝部弘敬、岡田 清、宮尾秀樹. ヴァゾプレッシンとデスマプレッシンが凝血塊形成に及ぼす効果 (in vitro) -GPIIb/IIIa拮抗薬(レオプロ)とトロンボエラストグラフを用いて. 第41回日本麻酔科学会関東甲信越地方会(大宮) 2001
 14. 宮尾秀樹. 血液製剤の使い方-集中治療におけるVolume expander (HES, アルブミン)の使用について. 第29回日本集中治療医学会岡山 2002
 15. 宮尾秀樹. 人工呼吸下の加温加湿. 第88回臨床呼吸生理研究会 2002
- G. 知的所有権の出願・登録状況 なし

表 2. 梗塞層の大きさ (%表示)	2 時間梗塞 + 再灌流直後投与 + 48 時間後断頭	1 時間梗塞 + 再灌流直後投与 + 24 時間後断頭	梗塞開始時投与 + 1 時間梗塞 + 24 時間後断頭
生理食塩液	17.17 ± 2.50	11.73 ± 0.78	12.85 ± 6.27
SNO-PEG-Hb	22.29 ± 5.58	11.87 ± 3.79	17.98 ± 7.06

表 3. 神経障害スコア	2 時間梗塞 + 再灌流直後投与 + 48 時間後断頭		1 時間梗塞 + 再灌流直後投与 + 24 時間後断頭		梗塞開始時投与 + 1 時間梗塞 + 24 時間後断頭	
	再灌流直後	48h 後	再灌流直後	24h 後	再灌流直後	24h 後
生理食塩液	1.8 ± 0.63	2 ± 0	2 ± 0	3 ± 1.41	2 ± 0	1.5 ± 0.71
SNO-PEG-Hb	1.5 ± 0.93	1.5 ± 0.93	0.8 ± 0.84	2.8 ± 1.79	1.75 ± 0.5	2 ± 0



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Kunihiko Nakai et al.	S-nitrosylated polyethylene glycol-conjugated hemoglobin derivative as a candidate material for oxygen therapeutics.	Maeda H	Polymer drugs in the clinical stage: Advantages and prospects.	Kluwer Academic/Plenum Publishers	New York	2003	in press

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sunaga F, Namikawa K and Kanno Y	Protection of dogs against homologous challenge by the inoculation of irradiated <i>Babesia gibsoni</i> .	J Animal Protozooses	17	15-18	2002
Sunaga F, Namikawa K and Kanno Y	Continuous <i>in vitro</i> culture of erythrocytic stages of <i>Babesia gibsoni</i> and virulence of the cultivated parasite.	J Vet Med Sci	64	571-575	2002
Yutaka Makino, et al.	Artificial blood usage for non-transfusion cardiopulmonary bypass.	Artificial Organs		in press	2003
Mitsuhiro Isaka, Ichiro Sakuma, et al.	The effects of a novel perfluorooctylbromide emulsion administered during cardiopulmonary bypass: inflammatory reaction	Artificial Organs		in press	2003
藤井 聡、藤井ひとみ、富樫廣子ほか	ヘモゾロピン系人工酸素運搬体の血小板に及ぼす影響と人工材料としての臨床応用の可能性.	人工血液	10	17-20	2002
藤井 聡、藤井ひとみ、富樫 廣子ほか	ヘモゾロピン系人工酸素運搬体を用いた抗血栓性材料の開発.	循環制御	23	31-34	2002

藤井 聡、藤井ひとみ、富樫廣子、吉岡充弘、仲井邦彦ほか	ヘモグロビン系人工酸素運搬体：体外循環、人工血管コーティング、心筋保護等臨床応用にむけての基礎的検討.	Cardiovascular Anesthesia	6	67-71	2002
並河和彦、須永藤子、菅野康則	<i>Babesia gibsoni</i> 病の診断と治療—ミニレビュー—.	動物の原虫病	16	1-14	2002
並河和彦、須永藤子、菅野康則	獣医学領域における貧血性感染症.	人工血液	10	126-129	2002
佐久間一郎、北畠 顕	人工赤血球	医学のあゆみ	204	631-635	2003

20021045

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.53－P.54の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。