

別添 1

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

救急・災害医療に利用可能な人工赤血球の開発に関する研究

(研究課題番号：H17-医薬-072)

平成 15 年度～17 年度 総合研究報告書

主任研究者 四津 良平

(慶應義塾大学 医学部 外科)

平成 18 (2006) 年 4 月

目次

I. 総合研究報告書 1～93

四津 良平（慶應義塾大学 医学部 外科 教授）

II. 研究成果の刊行に関する一覧表94～115

III. 研究成果の刊行物・別冊116

救急・災害医療に利用可能な人工赤血球に関する研究

主任研究者 四津 良平 慶應義塾大学 医学部 外科 教授

研究総括 本研究は、体組織全細胞の呼吸を満足する充分量の酸素運搬機能を有し、安定で安全な人工赤血球が、救急・災害医療に利用可能であることを明らかにすることを目的としている。具体的な適応は、(1) 緊急を要する外科的措置の際の体外循環回路の補充液としての利用、(2) 出血性ショック状態における蘇生液としての緊急的投与、(3) 心、脳などの虚血性疾患に対する緊急対応としての酸素治療薬としての利用、などである。更に、循環血液から投与した人工赤血球を分離除去する方法、虚血性組織の酸素化の機序、適応に相応しい物性値についても検討を行った。第一期(平成15～17年度)の3年間で得られた成果は以下の通り。

① 新生児や乳児の開心術の成績は近年飛躍的に向上しているが、一般的には人工心肺回路の充填液として輸血が必須である。これは、低体重の患者において無輸血充填を行った場合、高度の血液希釈が生じ、特に酸素需要の大きな脳の不可逆的障害を来す可能性が高いためである。一方で、輸血には感染症、移植片対宿主反応、免疫抑制、炎症性生体物質活性化による臓器障害といった合併症の危険を伴う。こうした臨床上のジレンマの一解決手段として、我々はヘモグロビン小胞体(HbV)分散液に着目した。ラット人工心肺モデルを確立し、HbVを5%リコンビナントアルブミン(rHSA)で分散させた溶液(HbV/rHSA)で人工心肺回路を充填することにより、高次脳機能が維持されることを証明した。これは末梢組織への酸素運搬が保持されたためと考えられ、HbVの有用性が明らかとなった。現在は継続して、幼若ビーグル犬を用いた人工心肺モデルを確立し、HbV充填が脳血流量や酸素代謝の維持に及ぼす影響について検討を行っている。 ② ビーグル犬の出血性ショックモデルを用い、人工赤血球(アルブミン-ヘム)の酸素運搬機能及び安全性を検討した。循環血液量の75%血液希釈後、30%の脱血による重篤な出血性ショック状態を作製し、人工赤血球を投与した。対照のLactate Ringer 溶液及びrHSA溶液の投与では死亡例が認められたが、人工赤血球の投与では、rHSA群に比較して有意に酸素運搬量及び酸素消費量が回復し、全例がショック蘇生4時間後まで生存した。また、血液生化学的検査において、AST及びALTの上昇の程度はrHSA群に比べ穏やかであった。これらのことより、人工赤血球は出血性ショックの蘇生液として有効に利用できる可能性が示唆された。 ③ 出血性ショック状態のラット(30%脱血)に対し、腹腔内に自己血あるいはHbVを注入して腹腔内出血と同様の状況を作成し、SIRS (Systemic Inflammatory Response syndrome) の状態が惹起され易い環境でHbVが腹腔内に流出した際の影響について検討した。循環動態では、HbV注入群は自己血注入群とほぼ同様の経過を示した。また、サイトカイン産生の変動(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α)を検討したところ、臨床的に問題となるような強い

発現を認めず、腹腔内出血を伴う状態でHbVが安全に使用できる可能性が示唆された。④ ウサギ急性出血性ショックモデルを用い、Fluid ResuscitationとしてHbV/rHSAの投与効果を検討した。循環血液量の測定、晶質・膠質浸透圧、脳/肝臓/腎臓/骨格筋の酸素分圧を経時的に測定した。比較の乳酸リンゲル液の投与では、循環改善効果は一過性であり、血漿成分の血管外漏出と臓器循環障害・低酸素性障害を生じた。HbV/rHSAの投与では、早期より臓器酸素化は改善した。従って、HbVは大量出血後の輸液蘇生として、蘇生から有効止血処置の間の処置として利用効果があることが示唆された。⑤ 更に、大量出血患者に対する人工赤血球の大量投与は、凝固機能の破綻を来す可能性があるため、凝固機能について検討した。健康ボランティアより採血した全血に乳酸リンゲル液、またはHbVを混合し、ソノクロット分析法で凝固機能を測定し比較したところ、60%の希釈までは影響は認められなかった。⑥ ラット局所脳虚血モデルを用い、梗塞部位への酸素供給源として、HbV使用の可能性を検討した。急性実験として、HbV/rHSAおよびrHSA製剤で血液交換した際の脳梗塞領域サイズを比較したところ、虚血再灌流後30分では、HbV/rHSA投与群で有意に小さかった。しかし、2日後では明確な効果は認められなかった。NO捕捉の関与を検討するため、NO供与体(isosorbide dinitrate)の併用投与を実施したところ、脳梗塞域が減少する可能性が示唆された。⑦ ラット摘出心臓のランゲンドルフ灌流モデルを用い、HbVの心筋虚血-再灌流障害に対する保護効果を検討した。HbVをKrebs-Henseleit bufferで希釈[Hb] = 0.33 g/dLとし、虚血を惹起する10分前から10分間灌流した。その後、30分間の虚血を負荷し、続いて再灌流を行ったところ、明らかな心機能の回復が見られたことから、HbVが何らかの心筋保護作用を有することが示唆された。⑧ HbVによる組織酸素化の機序を解明することを目的とし、HbV分散液が微小血管モデル内(25 μ m径)を流動しているときの酸素放出速度を解析したところ、赤血球と同等であった。しかし、Hb溶液ではHbO₂の促進輸送効果により酸素放出速度が増大する現象が認められた。⑨ HbV投与後に顕微鏡視野にて皮下細動脈の血流を停止させて、下流域の酸素含量の変動を解析したところ、高酸素親和度HbVは酸素を徐放し、僅かな投与量でも低酸素領域では赤血球を上回る酸素供給源として機能した。⑩ 極度な血液希釈モデルにおいて、高酸素親和度HbVが血行動態の維持と組織酸素分圧の向上に有効である事がハムスター皮下微小循環の動態観測から明らかになった。⑪ 高酸素親和度・高粘度HbV分散液の投与により、ハムスター有茎皮弁内の虚血組織内の微小循環動態(血行動態、血管壁透過性、酸素分圧)が側副経路を経由して改善されることを確認した。⑫ また、HbVの体内機能半減期を延長させることを目的とした研究を実施した。HbVを静脈内投与した後、アスコルビン酸を8.4 mg/kg/hrの速度で輸注することにより、約3割のメト化抑制が認められた。⑬ metHb/-Tyr系がH₂O₂消去系として有効に作動し、生成するferrylHbラジカルがL-Tyrの共存によりmetHbに還元される機構を明らかにした。これをHbVに内包すると、*in vivo*でも大幅なmet化抑制効果が得られた。⑭ 遠心分離と限外濾過膜操作により、HbV投与後の血液からHbVのみを分離することが可能となった。投与効果が得られた時点で速やかに循環血液中から除去することにより、HbVを捕捉分解する細網内皮系の負担が軽減できる。⑮ 完全合成系アルブミン-ヘムについては、Hbと同じプロトヘムの誘導体を酸素結合部位として用いた場合でも、酸素輸送が可能であることを見出した。プロトヘム誘導体の構造変換により、酸素結合能を調節できる。⑯ さらに、アルブミン-ヘムの分子表面をPEG鎖で修飾することにより、未修飾系に比較して、ヘムの血中滞留時間を15-20倍に延長させることができた。⑰ 既存の製剤

用バッグ仕様や関連法規等の調査の結果、更に救急医療現場の臨床医の意見を総合し、要求される人工赤血球用バッグの要点が明確となった。

本研究班では人工赤血球の「有効性、機能向上」を追求し、臨床現場での適応を拡大することを目的としてきた。平行して人工赤血球の「安全性」は、厚生労働科学研究課題「人工赤血球の安全性向上に関する研究」(主任研究者：慶應義塾大学医学部 小林 紘一 教授)の研究班で詳細が検討された。これらの結果を受け、非臨床試験、臨床試験に円滑に移行するための準備が開始されている。

以上のように、本研究では人工赤血球が救急・災害医療（体外循環回路補充液、出血性ショック蘇生液、虚血性疾患に対する酸素治療薬）として利用可能であることを実証するに足る結果を動物投与試験から具体的に明示することができ、第一期(平成15～17年度)当初の目標を完了させた。第二期(平成18～20年度、申請中)では、更に「血液製剤安定確保のための、体外循環・虚血性疾患等の治療に使用する人工酸素運搬体に関する研究」として、小粒径で血管作動性の低い人工赤血球の利点を最大限活用した臨床的適応を明確にするために、各種疾患モデル動物を用いた研究を行い、臨床試験に耐え得る機能：体外循環(人工心肺)回路補填液、出血性ショック蘇生液、移植用臓器灌流液としての使用、更に虚血性疾患の治療薬としての効果を継続して追求する予定である。

分担研究者

小川 龍 日本医科大学 麻酔科学教室 教授 (H15 年度)
坂本 篤裕 日本医科大学 麻酔科学教室 教授 (H16-17 年度)
外 須美夫 北里大学医学部 麻酔科学教室 教授 (H15-17 年度)
相川 直樹 慶應義塾大学医学部 救急部 教授 (H15-17 年度)
堀之内 宏久 慶應義塾大学医学部 外科 講師 (H15-17 年度)
小松 晃之 早稲田大学 理工学総合研究センター 助教授 (H15-17 年度)
佐久間 一郎 北海道大学医学部 講師 (H15 年度)
大鈴 文孝 防衛医科大学校第一内科学教室 教授 (H16-17 年度)

研究協力者

饗庭 了 慶應義塾大学医学部 外科 講師
山崎 真敬 慶應義塾大学医学部 外科 助手
保土田健太郎 慶應義塾大学医学部 外科 助手
寺嶋 克幸 日本医科大学 麻酔科学教室 助手
杖下 隆哉 日本医科大学 麻酔科学教室 助手
岡本 浩嗣 北里大学医学部 麻酔科学教室 助教授
肝付 洋 北里大学医学部 麻酔科学教室
中野 貴明 北里大学医学部 麻酔科学教室
河野 光智 慶應義塾大学医学部 外科 助手
山本 学 慶應義塾大学医学部 外科 助手
藤本 博行 慶應義塾大学医学部 外科 助手
山本 尚志 ニプロ(株)医薬品研究所
土田 英俊 早稲田大学 理工学総合研究センター 顧問研究員／早稲田大学 名誉教授
武岡 真司 早稲田大学 理工学術院 教授
酒井 宏水 早稲田大学 理工学総合研究センター 助教授
宗 慶太郎 早稲田大学 理工学総合研究センター 助教授
黄 宇彬 早稲田大学 理工学総合研究センター 助教授
中川 晶人 早稲田大学 理工学総合研究センター 助手
王 栄民 早稲田大学 理工学総合研究センター 訪問教授
楠原 正俊 防衛医科大学校 第一内科学教室 助教授
柳田 茂樹 防衛医科大学校 第一内科学教室 研究員
山岸 正 防衛医科大学校 第一内科学教室 研究員
加藤 隆一 防衛医科大学校 第一内科学教室 研究員
別所 基明 防衛医科大学校 第一内科学教室 研究員
濱 御幸 防衛医科大学校 第一内科学教室 技官

1. 人工心肺による体外循環モデル作成と人工赤血球による充填効果

A. 研究目的

先天性心疾患を伴う体重10kg以下の乳児の開心術においては、同種血輸血による人工心肺回路充填が一般に行われている。その理由は、人工心肺回路の充填液は300mlから400ml必要であり、これを晶質液で満たした場合、体重10kg以下の患者（循環血液量は約800ml）では、高度な血液希釈が生じ、酸素運搬を担う赤血球の相対的な減少により組織障害、特に酸素需要の大きな脳の障害を来たすためである。

このために、現在体重10kg以下の患者に体外循環を行う場合、赤血球輸血は避けられない状況にある。しかし一方で、輸血による感染症、移植片対宿主反応、免疫抑制といった合併症のリスクを伴い、社会的にも大きな問題となっている。また、炎症性生体物質の遊離を促進することによる脳障害の発生も指摘されており、できるだけ輸血を避けるように努めるべきである。

この臨床上のジレンマの解決手段のひとつとして、我々は、人工酸素運搬体であるHb小胞体(HbV)に着目した。現時点のHbVは血中半減期が20～30時間と短いことが特徴の一つである。しかしなが

ら人工心肺運転中に生じる血液希釈状態という特殊な環境はおよそ数時間であり、その数時間だけ血液の役割を果たし、その後速やかに代謝される現在のHbVは小児心臓外科の立場から考えると臨床上のジレンマを解決に導く大きな利点となる。

平成15～16年度はラット人工心肺モデルにおいて、HbVを用いた人工心肺充填液による高次脳機能保護効果の検討、平成17年度はビーグル犬人工心肺モデルにおいて、HbVを人工心肺回路の充填液として使用することによる脳代謝・頸動脈血流量の維持について検討することを目的とした。

B. 研究方法

1) ラット慢性人工心肺モデル

ローラーポンプと特製膜型肺を用いて人工心肺回路を作成し（Fig. 1参照）、回路内に5%リコンビナントアルブミン(rHSA)を充填した群（HbV (-) 群、n=10）、同種血を充填した群（輸血群 n=10）、HbVを5%rHSAに分散させた溶液を充填した群（HbV (+) 群 n=9）、偽手術群（コントロール群 n=9）の4群に分けて実験を行った。体重450g前後のSDラットをセボフルレンにて全身麻酔し、14G静脈留置針にて気管内挿管した。挿管後人工呼吸器管理とした。人工心肺のカニューレーションとして、脱血は経右内頸静脈的に右房から、送血は尾動脈を介し

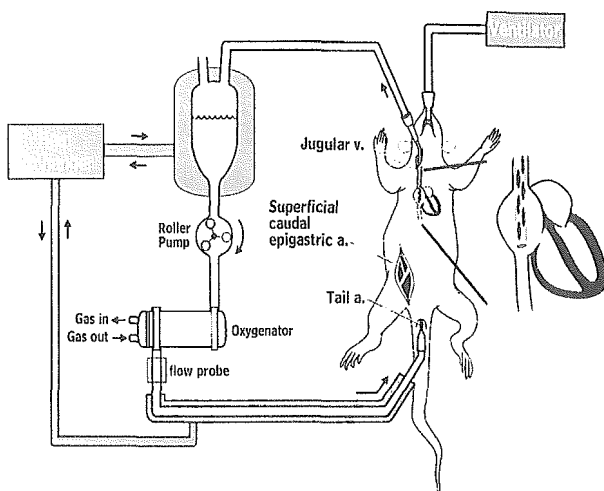
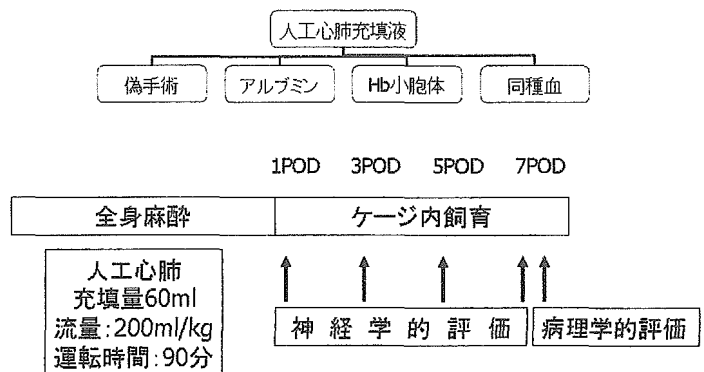


Fig. 1 ラット慢性人工心肺モデル

ラット慢性人工心肺モデル



て行った。胸骨正中切開は行わなかった。右内頸静脈にアプローチする際、ラットの右頸部に切開を加えるが、皮切線はわずかで動物への負担を最小にするように配慮した。人工心肺の運転は常温下、無拍動送血法で200ml/kg/minの流量で90分間行った。回路内充填量は60mlとした。Hb小胞体充填液のヘモグロビン濃度は8.6g/mLとした。

各群の充填量と組成の組み合わせ：

1群：HbV (-) prime 群, n = 10

充填量60 ml (充填は5%rHSA溶液)

2群：輸血群, n = 10

充填量60 ml (充填は同種血)

3群：HbV (+) prime 群, n = 9

充填量60 ml (充填はHbV/rHSA分散液)

4群：コントロール群 (sham surgery), n=9

充填量 60 ml

人工心肺運転終了後は人工心肺回路内の残存血液を遠心分離し、沈殿した自己血を20分間かけて血管内に戻した。その後、カニューレを抜き、麻酔から覚醒させたのち、動物をゲージにて飼育した。術後1,3,5,7日目に標準化神経学的機能試験及び2種の迷路試験(Morris water maze test)を行った。標準化神経学的機能試験はneurologic performance scale, Functional disability scoresを用いて数値化した (Neurologic performance scale : 0-95, 0 = no deficit and 95 = brain death, Functional disability scores : score 1 = no disability; score 2 = mild disability; score 3 = moderate disability; score 4 = severe disability; and score 5 = death.)。

以上の試験はビデオ録画して、後に盲検となっている神経学者が一括して評価した。術後7日目に動物は犠牲死させ、脳の組織を採取し、海馬部

の病理学検査を行った。

2) ビーグル犬急性人工心肺モデル

新生児の体重に近い、体重3.0-4.0kgのビーグル犬人工心肺モデルを確立した。ローラーポンプと動物実験用膜型肺を用いて人工心肺回路を作成し、回路の充填液を、①5%rHSA (rHSA群)、②HbV分散液 (HbV群)、③同種血 (同種血群) の3群に分けた。HbVは5%rHSAに分散させ、Hb濃度を8.6 g/dLとした。人工心肺回路の充填量は100mlとした。

ケタミン筋注によりビーグル犬を鎮静し、末梢静脈ラインを確保した。心電図モニタリング下にネブタールを静脈投与後、気管内挿管 (6 mm カフ付チューブ) を行った。セボフルレンで全身麻酔を維持した。左浅大腿動脈にカットダウン法で動脈圧ラインを挿入留置した。左側臥位とし、右頸静脈より外頸静脈を経て、中心静脈カテーテル (ダブルルーメン5Fr.) を挿入留置、血流量測定のために右総頸動脈をテーピングした。右総頸動脈は迷走交感神経幹とともに右頸動脈鞘内にあるため、これを損傷しないように注意した。胸骨正中切開は行わず、右第4肋間開胸を加え、上行大動脈に送血管を、右房に脱血管を挿入し、人工心肺を確立した。それぞれ皮膚切開線はできるだけ小さくし、動物への負担を最小にするように配慮した。人工心肺の運転は、常温下に無拍動送血法で120~160ml/kgの流量で90分間行い、人工心肺離脱後120分間、全身麻酔下に生存させた。人工心肺運転中の体温維持を目的に、回路に熱交換器を組み込んだ。人工心肺運転終了後、回路内血液を遠心分離し、血球成分を血管内に戻した。計測項目は、動脈圧、中心静脈圧、心拍数、直腸温、頸動脈血流量、心拍出量とした。また、動脈血、頸静脈血、混合静脈血について、血液ガス分析、lactate濃度、ヘマトクリット値測定を行った。大動脈から脳への血流は、総頸動脈と椎骨動脈との二系統に分けられるが、頸動脈血流は脳血流の総量に比例するとし、超音波ドップラー血流計で総頸動脈の血流

を測定した。心拍出量として、上行大動脈での血流を測定した。測定時点は、人工心肺運転前5分、運転開始後15、30、60、90分、人工心肺離脱後15、30、60、120分の9ポイントとした。

同種血群では、イヌ赤血球抗体 (DEA 1.1) 陰性のイヌをドナーとし、当日朝採取しヘパリン化した新鮮血を人工心肺回路の充填に使用した。

実験終了後、動物は犠牲死させ、脳組織を採取し、海馬部の病理学的評価を行った。

C. 研究結果

1) ラット慢性人工心肺モデル

1. 輸血群に関する所見

ラット慢性人工心肺モデルのHbV使用は技術上、問題は無かった。但し輸血群に関しては、他の群に比べ脳梗塞発生頻度が有意に高かったことから本実験から除外した。血液希釈を予防するために輸血を人工心肺の充填液に使用することは実際の臨床においてよく行われることではあるが、それによる副作用の報告も多く、輸血を充填液に使用することで高次脳機能に障害が起こる可能性もあるといわれている。実際、脳梗塞を起こさなかった輸血群のラットにおいて、後に行った神経学的評価で、コントロール群に比較し著明な高次脳機能障害を示唆する所見がいくつも得られたが、他群と同一条件になっていない可能性がある以上、除外せざるを得なかった。脳梗塞が発生しやすかった原因としては、同種血を採取する方法ま

たはその保存法に問題があったと考えられ、いずれにしても血栓形成がその根源にあったと思われる。

2. 人工心肺運転中の検査所見

HbV (-) prime、HbV (+) prime、sham surgeryの3群における人工心肺運転中の採血データをTable 1に示す。T1、T2、T3は採血したポイントを示し、T1は人工心肺運転前、T2は人工心肺運転中、T3は人工心肺運転後 (回路内血液を返血後) である。sham surgeryはカニューレーションのみで人工心肺は運転していないため、T2においてArterial PO₂の上昇やHematocritの低下を認めていない。

Arterial pHに関してはHbV (-) prime群でアシドーシスの傾向があった。これは血液希釈によるものと考えられた。またHbVの充填に関わらず、人工心肺を運転した群に関してはT3においてArterial PCO₂の上昇を認めた。ただし、それ以外の大きな所見は得られなかった。3群ともいずれの症例も生存した。

3. 標準化神経学的機能試験および迷路試験

術後1, 3, 5, 7日目に標準化神経学的機能試験及び2種の迷路試験(Morris water maze test)を行った。標準化神経学的機能試験は以下の方法を用いて数値化した。

① Neurologic performance scale

Table 1. 人工心肺運転中の動脈血液のpH, PCO₂, PO₂, ヘマトクリット。
T1は人工心肺運転前、T2は人工心肺運転中、T3は人工心肺運転後 (回路内血液を返血後)。

	T-1			T-2			T-3		
	Sham surgery	HbV(-) prime	HbV(+) prime	Sham surgery	HbV(-) prime	HbV(+) prime	Sham surgery	HbV(-) prime	HbV(+) prime
Arterial pH	7.59 ± 0.06	7.60 ± 0.04	7.61 ± 0.05	7.58 ± 0.05	7.44 ± 0.10*	7.50 ± 0.10	7.55 ± 0.03	7.36 ± 0.07*	7.45 ± 0.14
Arterial PCO ₂ (mmHg)	21.9 ± 1.6	23.1 ± 2.4	22.4 ± 2.9	21.2 ± 1.9	24.0 ± 4.4	22.9 ± 4.5	19.2 ± 1.7	28.7 ± 7.2 [†]	27.2 ± 7.9 [†]
Arterial PO ₂ (mmHg)	92.9 ± 10.5	85.2 ± 8.9	88.4 ± 10.7	96.8 ± 8.9	460.3 ± 37.3*	452.9 ± 38.5*	95.4 ± 7.6	79.1 ± 13.7	79.8 ± 19.7
Hematocrit (%)	40.7 ± 2.4	40.4 ± 3.1	42.0 ± 2.5	37.4 ± 2.3	9.9 ± 1.3*	10.0 ± 1.2*	37.1 ± 1.5	28.2 ± 2.3	27.7 ± 4.3

このスケールは行動や反射など多項目の評価基準を点数化し0から95点で評価したもので、0 = no deficit、95 = brain deathを示している。結果をFig. 2に示す。この結果から3群ともにNeurologic performance scale上は、有意差を認めなかった。

② Functional disability score

このスケールは小動物のabilityを点数化し1から5点で評価したもので、score 1 = no disability、score 2 = mild disability、score 3 = moderate disability、score 4 = severe disability、score 5 = deathを示している。結果をFig. 3に示す。

③ Water maze test-1

迷路試験は認知記憶の評価で行われるもので、

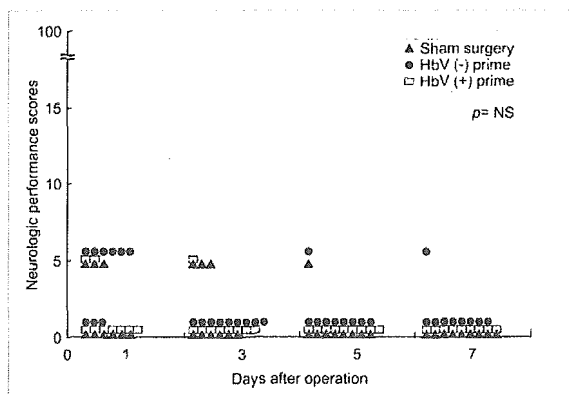


Fig. 2. Neurologic performances scores

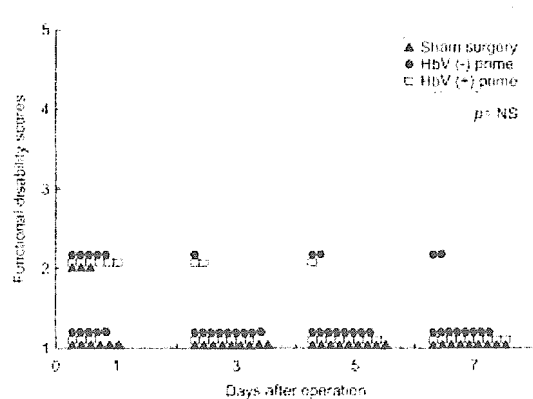


Fig. 3. Functional disability scores

高次脳機能に関わる海馬の評価に用いられる。Water maze test-1はFig. 4に示すとおり、円形のプールに浮島を設けたもので一般的にMorris water maze testと呼ばれるものである。Fig. 5に結果を示す。この結果からHbV (-) prime群は、HbV (+) prime群およびsham surgery群と比較して有意に到着時間が延長したことが分かった。またHbV (+) prime群とsham surgery群には有意差がなかった。

④ Water maze test-2

Water maze test-2はFig. 6に示すとおり、実際に迷路を正方形の枠の中に作成したものである。11箇所のjunction pointを設けた。Fig. 7に結果を示す。

この結果からもHbV (-) prime群は、HbV (+) prime

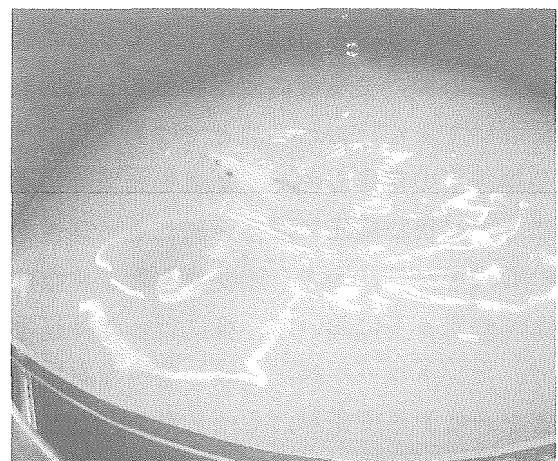


Fig. 4. Water maze test -1

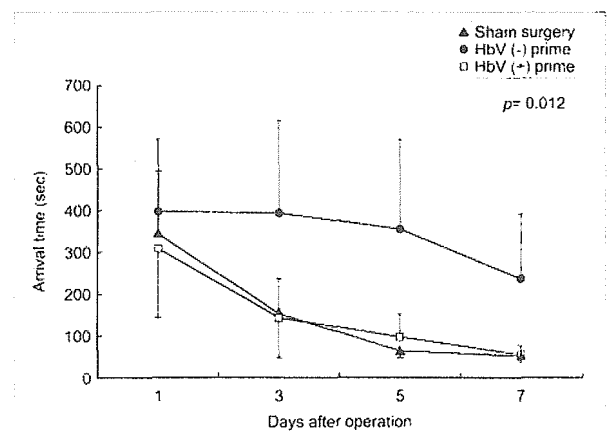


Fig. 5. Neurologic performances scores

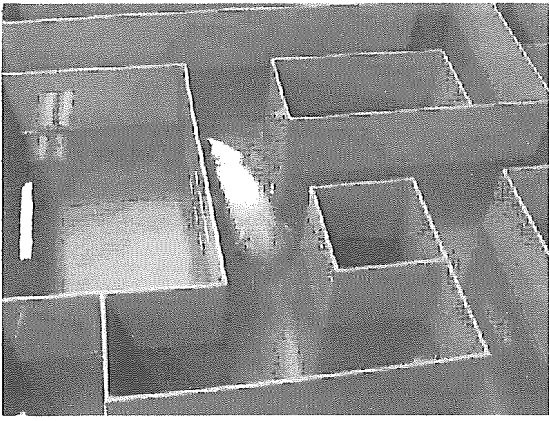


Fig. 6. Water maze test -2

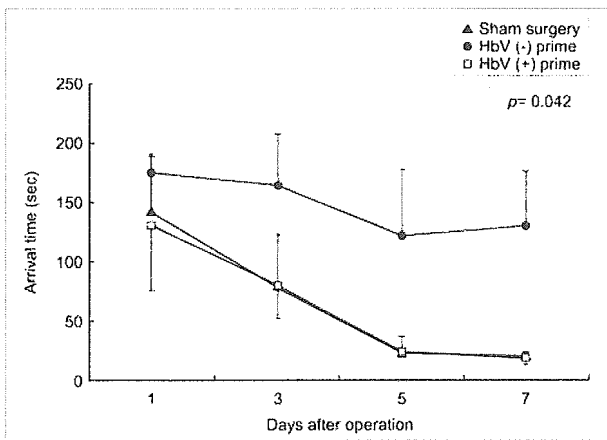


Fig. 7. Arrival time of the water maze test-2.

群およびsham surgery群と比較して有意に到着時間が延長したことが分かった。またHbV (+) prime群とsham surgery群には有意差がなかった。

2) ビーグル犬急性人工心肺モデル

平成17年度前半は、人工心肺運転の確立のための予備実験を行った。体重3~4kgの幼若ビーグル犬であったため、搬送や飼育に対するストレス反応が懸念されたが、当施設での飼育環境への適応に問題はなかった。また、喉頭や声門の構造が小さく、当初、気管内挿管に時間を要し、呼吸性アシドーシスを招くこともあったが、その後は技術の習熟により問題なく麻酔導入ならびに維持を行うことができた。

人工心肺運転中の溶血や出血による強い血液希

釈が当初見られたが、脱血管の深さ、位置の工夫、手術手技や人工心肺運転技術の習熟に伴い、いずれも解決した。現在、rHSA充填群における人工心肺運転中のヘマトクリット値は20台を維持できるようになった。

人工心肺運転中、離脱後の動脈血と頸静脈血との酸素含有量の差分が脳の酸素代謝総量に比例すると考え、3群で比較した。rHSA群 (n=4)、HbV群 (n=3)、同種血群 (n=1) 間において、人工心肺運転前に対する人工心肺離脱後の頸動脈血流量は減少したが、nが小さいため有意差の検討はできない。しかし、HbV群においては頸動脈血流の減少が小さい傾向にあった。また、いずれの群もnを重ねている段階である。

D. 考察

1) ラット慢性人工心肺モデル

Water maze test-1, 2の結果より短時間の人工心肺の運転であっても血液希釈をとまなう体外循環は記憶学習機能に障害をもたらすと考えられた。また人工赤血球を添加することにより得られる酸素運搬量の増大が高次脳機能の障害を軽減させる可能性が示唆された。

2) ビーグル犬急性人工心肺モデル

人工心肺中の頸動脈血流量はいずれの群も比較的保たれているが、特に人工心肺離脱後120分の時点での頸動脈血流量の変化が大きく現れる傾向にあった。人工心肺離脱後120分の時点での頸動脈血流量は、アルブミン群ではHbV群より少ない傾向であったが、有意差は認めていない。rHSA群における人工心肺離脱後の頸動脈血流量の減少は、脳浮腫による脳圧上昇が灌流圧を下げているためと考えられる。また、同種血群ではHbV群に比し、人工心肺離脱後120分時点での頸動脈血流量が少ない傾向であったが、有意差を認めなかった。いずれも今後、nを重ねた上での検討が必要である。

厚生労働科学研究「人工赤血球の安全性の向上

に関する研究」(主任研究者：小林紘一 慶大医教授)によれば、HbVが取り込まれる肝や脾の腫大が認められるものの、機能障害などは認めず、その安全性が示されている。HbVの血中半減期は約20から30時間であり、本研究では人工心肺運転中の数時間に、酸素運搬体としての働きを担うことができればよいと考えたのは既述の通りであるが、HbVの除去の可否や除去の方法についての検討も必要である。

E. 結論

ラット慢性人工心肺モデルにおいて、短時間の人工心肺運転であっても血液希釈を伴う体外循環

は記憶学習機能に障害をもたらすと考えられた。Hb小胞体による人工心肺回路充填で得られる酸素運搬量の増大が、高次脳機能の障害を軽減させる可能性が示唆された。

幼若ビーグル犬での急性人工心肺モデルにおいて、HbVが十分な酸素供給能を持つことに加えて、脳血流低下・脳血管抵抗増大を最小限にとどめる効果があることを証明することができれば、これが臨床応用に向けたさらなる一歩になると考える。

F. 健康危険情報

該当なし

2. 出血性ショックモデル(ビーグル犬)を用いた人工酸素運搬体の蘇生効果に関する研究

A. 目的

出血性ショックにおいては循環動態を維持すると同時に各臓器、組織の Anoxic metabolism を改善する必要がある。臨床では輸血と酸素投与により目的を達しているが、人工酸素運搬体を投与することが可能であれば輸血に関する検査や副作用を回避することができる。アルブミン-ヘム(HSA-FeP)は早稲田大学理工学総合研究センターにおいて開発された遺伝子組み換え技術を用いて製造されたヒトアルブミン(HSA)に人工合成のヘム(FeP)を包接させた人工酸素運搬体である。アルブミン-ヘムが生体内で酸素運搬を行い、循環動態に大きな影響を与えずに機能することを中動物を用いて検証することを目的とした。

B. 方法

雄性ビーグル犬(6.1~7.4 kg、月齢5~10ヶ月)を用い、ケタラルの基礎麻酔後に気管内挿管を行い、セボフルレン2%の吸入麻酔により全身麻酔とした。呼吸は自発換気とした。右前肢に薬剤投与用の静脈ラインを、右大腿静脈より Swan-Ganz カテーテルを肺動脈まで挿入し、右大腿動脈に血圧監視および採血用の動脈ラインを、左大腿動脈に脱血用の動脈ラインを挿入した。実験に先立ってまず腹部正中切開を行ない、脾摘を施行した。犬では、出血性ショック時に脾臓が収縮することにより出血性ショックの状況を緩和する体内貯蔵庫として機能することが知られており、脾臓の影響を取り除くために前もって脾摘を行なった。脾摘と同時に左腎皮質に Polarography 法による組織酸素分圧測定用の針電極を刺入した。脾摘後状態が安定した後に推定循環血液量の75%を5%リコンビナントヒトアルブミン生食溶液にて置換し血液希釈モデルを作製した。血液希釈30分後に推定循環血液量の30%を脱血し、30分間ショック状態を保持した後蘇生液を用いてショック蘇生を行った。蘇生液としては Lactate Ringer 溶液(LR 群)、5%リコンビナントヒト

アルブミン生食溶液(HSA 群)、アルブミン-ヘム生食溶液(HSA-FeP 群)を用い、蘇生液の投与量は脱血した血液量と等量とした。処置後、血液希釈後、脱血直後、脱血後30分、蘇生直後、30、60、90、120、180及び240分後に酸素代謝に関する諸標(動脈血血液ガス、混合静脈血血液ガス、腎皮質酸素分圧、脳組織内酸素飽和度、腹直筋組織内酸素飽和度)及び循環動態を表す諸標について計測した。また、血液生化学的検査及び病理組織学的検査を行なった。なお、本実験に用いたアルブミン-ヘム生食溶液は5%のアルブミン-ヘムを含有しており、酸素運搬能としては6 g/dLの濃度のHbを含む血液と同等と考えられている。

倫理的配慮: 実験プロトコールは慶應義塾大学医学部実験動物センター及び動物実験委員会の承認を得て行なわれ、実験動物に関しては、十分な麻酔下にて実験を施行し必要以上の苦痛を与えないように十分な配慮を行った。

C. 結果

1. 生存

Lactate Ringer 溶液で蘇生をした動物では、蘇生液投与中は血圧の上昇が認められたが、蘇生液投与終了後速やかに血圧と心拍の低下を認め、20分以内に死亡した。HSAで蘇生した群では4例中2例は40分以内に死亡した(Fig. 1)。これに比し、HSA-FeP群では4例全例がショック蘇生240分後まで生存した。

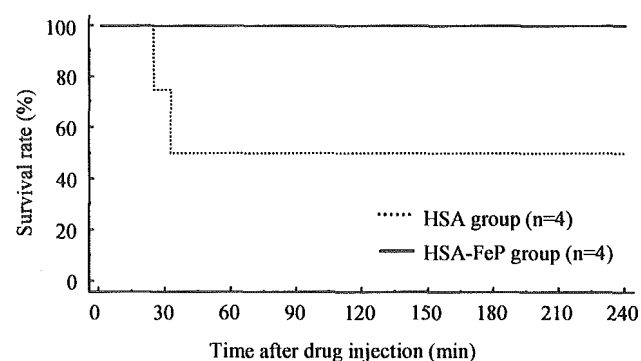


Fig 1. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on survival rate in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage.

2. 血圧、肺動脈圧、肺動脈楔入圧及び中心静脈圧

蘇生液投与直前までの血圧の変化は HSA 群、HSA-FeP 群ともに有意差なく、安定したモデルが形成されていた。40 分を超えて生存した HSA 群の 2 例では血圧の変化は HSA-FeP 群と同様な経過を辿った (Fig. 2)。

一方、肺動脈圧はショック、蘇生過程まで HSA 群、HSA-FeP 群ともにほぼ同様な推移を示し、有意差を認めなかった。蘇生後 HSA-FeP 群では肺動脈圧の変化も著しくなく、平均肺動脈圧の回復を認めた。

肺動脈楔入圧 (PCWP) も肺動脈圧と同様の経過を示し、HSA 群の中で生存した動物では蘇生直後に一時的な高値を取るものの漸次低下し、低い値で推移した。HSA-FeP 群では蘇生直後の一時的な上昇を認めるのは HSA 群と変わりがなかったが、その後は生理的な範囲内で推移した。

中心静脈圧 (CVP) も脱血に伴ってほぼ 0 mmHg まで低下したが、蘇生液の投与により上昇し生理的な範囲にまで回復した。しかし、HSA 群の死亡した 2 例では速やかな血圧の低下に伴い CVP も低下した。HSA 群の生存した 2 例では蘇生液投与後一時的に CVP の上昇を認めたが、その後は低い値を推移した。HSA-FeP 群では投与直後に一時的な上昇を認めたが、その後は若干の低下傾向を認めるものの生理的な範囲内で推移した。

3. 心拍数、心拍出量、体血管抵抗及び肺血管抵抗

HSA 群の生存した 2 例では、心拍数の変化は交換輸血により若干上昇し、脱血ショックによって低下、蘇生後心拍数の上昇を認め、観察期間中心拍数は高値のまま安定して推移していた (Fig. 3)。一方、HSA-FeP 群でも蘇生後心拍数は徐々に上昇し、ショック蘇生 60 分後に 144 beats/min に達しその後は安定して推移した。

心拍出量は血液希釈に伴い上昇した。脱血ショックにより著しく低下した。HSA 群では蘇生液投与によって心拍出量の増加を認めたが、脱血前値には復さなかった。その後、生存した 2 例では生理的な範囲内で

安定して経過した。一方、HSA-FeP 群では蘇生液として投与した直後より脱血前値に復し、安定した経過をたどった。

体血管抵抗 (Systemic Vascular Resistance, SVR) は血液希釈とともに低下し、ショック、蘇生にあまり関係なく、安定して経過した。

肺血管抵抗 (Pulmonary Vascular Resistance, PVR) は SVR と同様血液希釈により著しく低下した。ショック蘇生後、HSA 群では低下する傾向にあった。HSA-FeP 群ではショック蘇生後若干上昇したが、観察期間中安定した経過をたどった。

4. 呼吸数

呼吸数は脱血ショックにより 38.0 ± 16.4 breaths/min となったが、HSA-FeP による蘇生直後に 58.3 ± 12.8 breaths/min に上昇した。その後徐々に減少し、240 分後では 43.3 ± 10.1 breaths/min であった。HSA 群の中で生存した動物では蘇生後呼吸数の一時的な増加を認め (25.3 breaths/min から 42.8 breaths/min)、その後も呼吸数は上昇したが、90 分後に最大値 53.0 breaths/min を呈した後減少し、240 分後は 44.5 breaths/min であった。

5. 動脈血血液ガス及び混合静脈血血液ガス

動脈血液ガスの変化を検討すると、 PaO_2 、 PaCO_2 に関しては HSA 群、HSA-FeP 群ともに大きな変化はなく、出血後の過呼吸のため、 PaO_2 の上昇、 PaCO_2 の低下を認めたが、蘇生後生存した動物では正常範囲内で推移し、両群間で大きな相違はなかった (Fig. 4, 5)。

pH は血液希釈により減少し、脱血性ショックによって一時的に上昇したが、ショック状態の継続と伴にアシドーシスが進んだ。蘇生後は緩やかに回復した。

Base Excess (BE) は脱血ショックによって低下を認めたが、蘇生液投与により上昇し、蘇生 240 分後では HSA-FeP 群では -9.48 ± 1.98 であった。HSA 群で生存した動物でも同様の経過を示し、蘇生 240 分後では -8.35 であった。

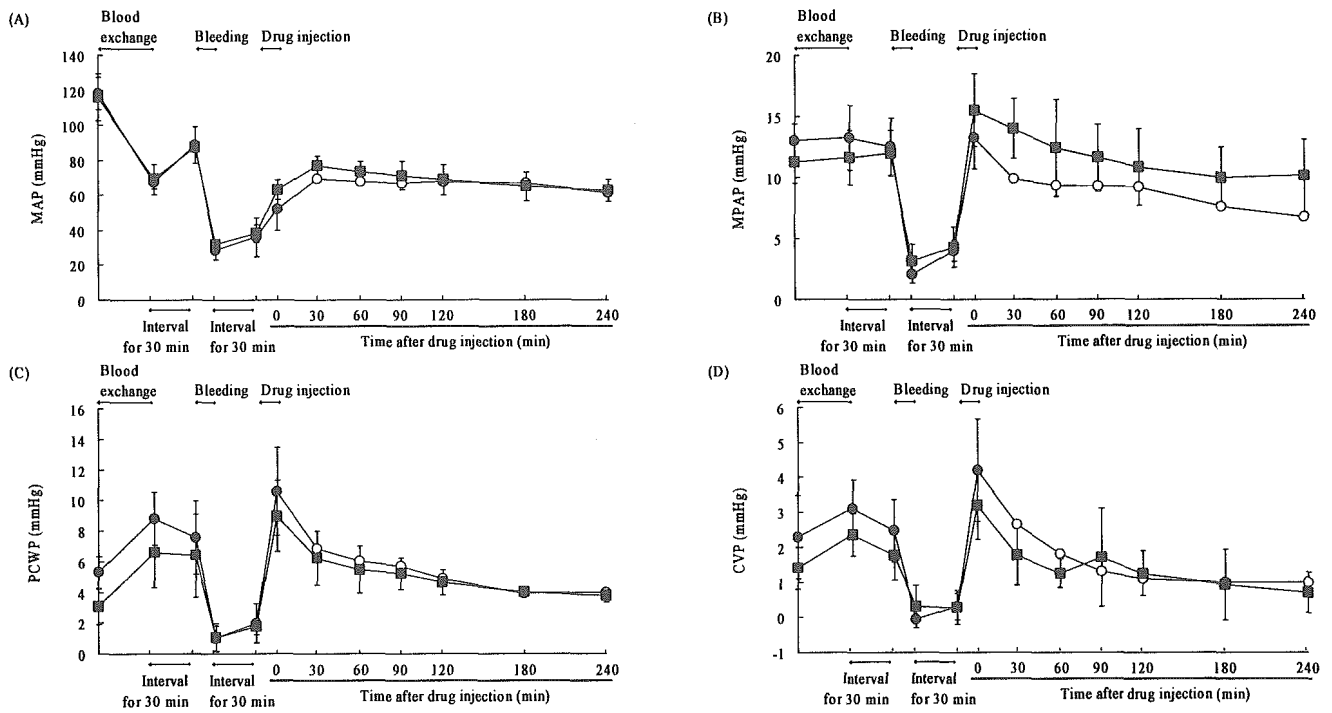


Fig 2. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on mean arterial pressure (MAP) (A), mean pulmonary arterial pressure (MPAP) (B), pulmonary capillary wedge pressure (PCWP) (C) and central venous pressure (CVP) (D) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group).

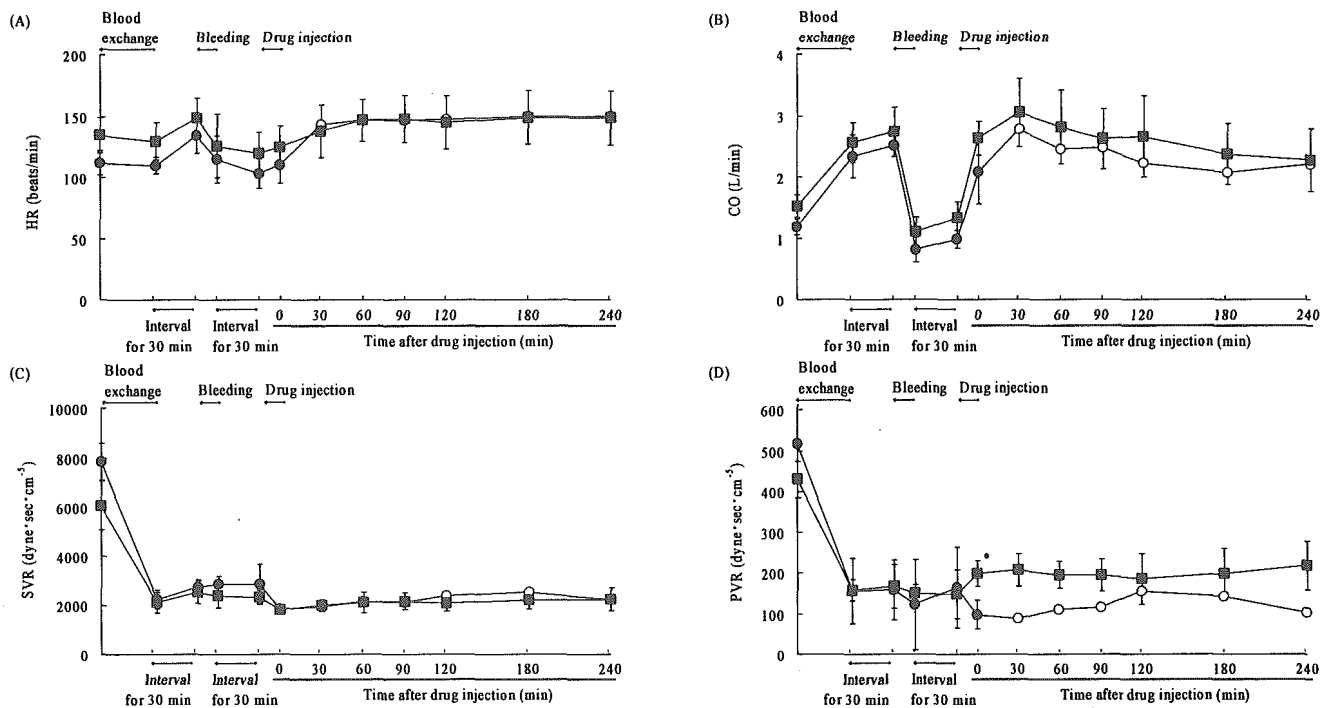


Fig 3. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on heart rate (HR) (A), cardiac output (CO) (B), systemic vascular resistance (SVR) (C) and pulmonary vascular resistance (PVR) (D) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group). * $P < 0.05$ vs HSA group (unpaired t-test).

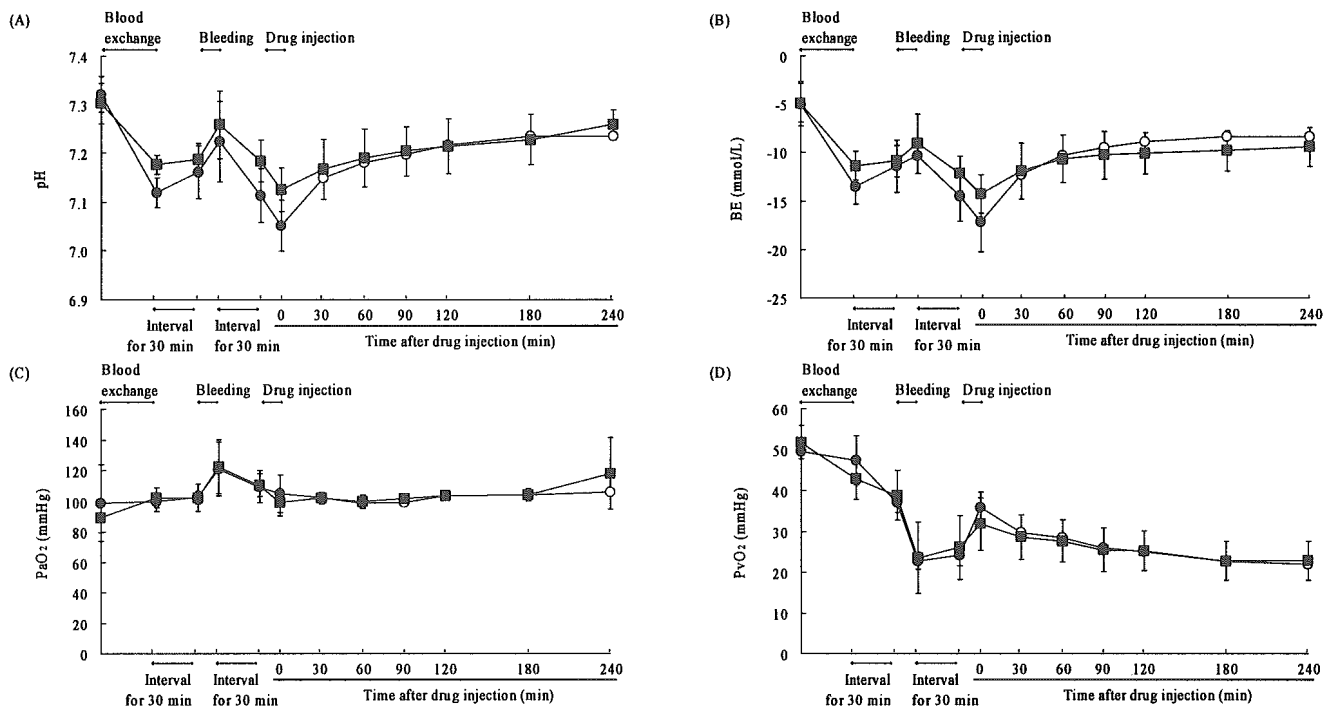


Fig 4. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on pH (A), base excess (BE) (B), arterial blood O₂-tension (PaO₂) (C) and venous blood O₂-tension (PvO₂) (D) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group).

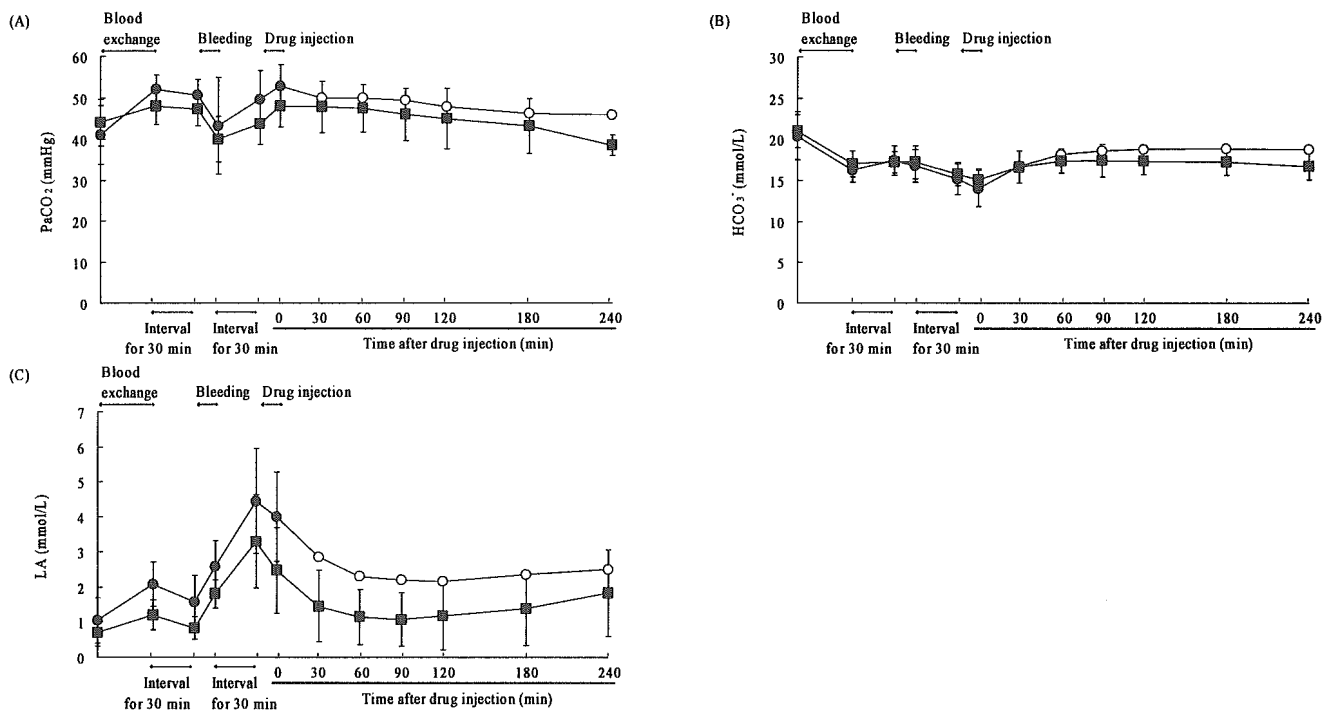


Fig 5. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on arterial blood CO₂-tension (PaCO₂) (A), blood bicarbonate concentration (HCO₃⁻) (B) and lactic acid level (LA) (C) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group).

PvO₂ の推移では血液希釈により HSA-FeP 群では 51.75 ± 4.06 mmHg から 42.88 ± 4.97 mmHg に低下し、出血ショックにより 23.50 ± 8.72 mmHg とさらに低下した。その後アルブミン-ヘムの投与により 31.83 ± 6.42 mmHg に回復した後、徐々に減少し、240 分後では 22.80 ± 4.80 mmHg となった。HSA 群で生存した動物では HSA-FeP 群とほとんど変化のない経過を示した。

血中乳酸濃度は血液希釈及び脱血ショックにより、蘇生液投与前には 0.70 ± 0.39 mmol/L から 3.30 ± 1.32 mmol/L まで増加した。HSA-FeP 群ではアルブミン-ヘムの投与により蘇生 90 分後には 1.08 ± 0.76 mmol/L まで回復した。生存した HSA 群の動物では HSA-FeP 群に比較して高値を推移した。

6. Hb 濃度

血中の Hb 濃度は当初の予測どおり血液希釈後約 3.38 g/dL に低下し、さらに 30% 脱血ショック蘇生を行った後 2.6 g/dL 程度で推移していた (Fig. 6)。

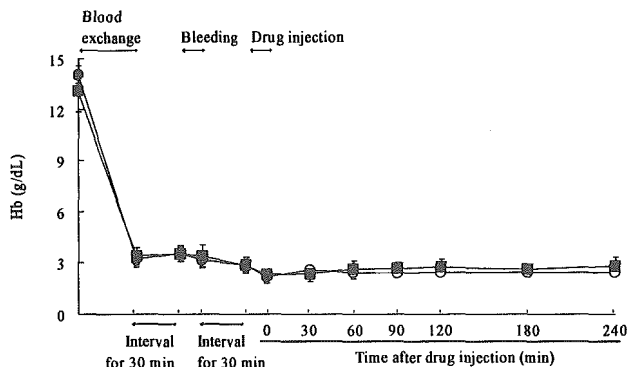


Fig 6. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on hemoglobin concentration (Hb) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean ± S.D. of 4 dogs (●; HSA group and ■; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (○; HSA group).

7. 組織酸素飽和度及び組織酸素分圧

腎皮質酸素分圧については血液希釈前に 31.5 ± 6.4 mmHg であったが、血液希釈により 24.3 ± 3.9 mmHg に減少し、さらに脱血ショックにより 19.5 ± 4.7 mmHg まで低下した。HSA-FeP 群では蘇生直後 19.5 ± 4.7 mmHg となり回復はみられなかったが、その後緩

徐に上昇し、240 分後には 25.0 ± 7.3 mmHg まで回復した (Fig. 7)。

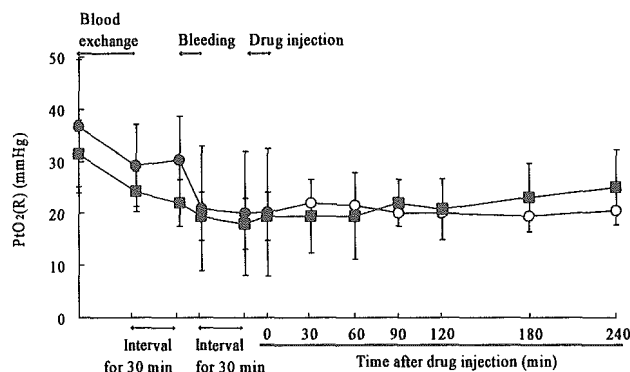


Fig 7. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on renal cortex O₂-tension (PtO₂(R)) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean ± S.D. of 4 dogs (●; HSA group and ■; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (○; HSA group).

脳内組織酸素飽和度の変化は HSA-FeP 群では脱血ショックにより 71.8 ± 5.3% から 43.0 ± 14.6% に低下したが、ショック蘇生後 50.3 ± 12.6% まで上昇し、その後は安定した経過をたどった (Fig. 8)。しかし、ショック前値には回復しなかった。HSA 群で生存した動物では蘇生後一時的に脳組織内酸素飽和度の上昇を認めたが、ショック後時間の経過とともに低下し、240 分後には 30.0% まで低下していた。

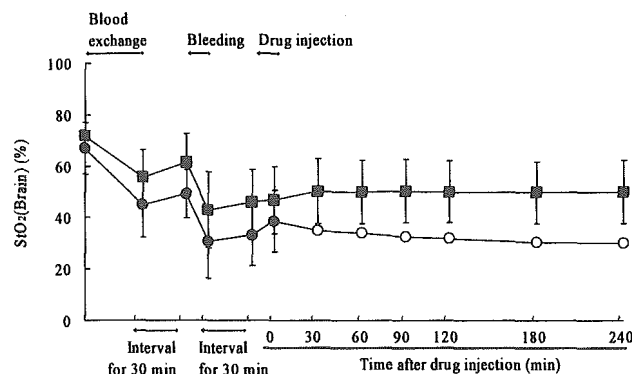


Fig 8. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on brain O₂-saturation (StO₂(Brain)) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. Each value of closed symbol represents the mean ± S.D. of 4 dogs (●; HSA group and ■; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (○; HSA group).

腹直筋組織酸素飽和度は血液希釈前に $76.8 \pm 5.5\%$ 、血液希釈後 $59.3 \pm 3.1\%$ 、脱血ショック後 $47.8 \pm 8.1\%$ であった (Fig. 9)。HSA-FeP 群ではアルブミン-ヘム投与により上昇し、44.0%から 47.3%の間で安定に推移したが、血液希釈後の値には回復しなかった。

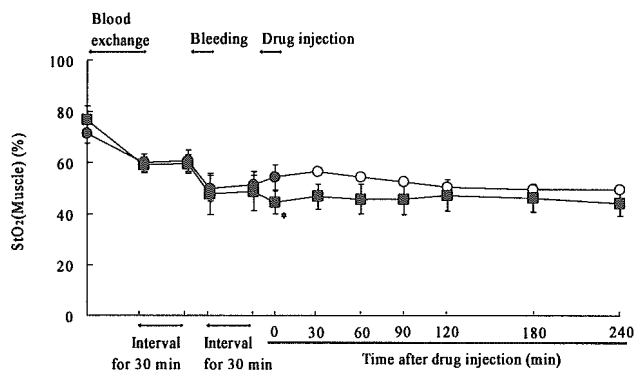


Fig 9. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on rectus abdominis O_2 -saturation (StO_2 (Muscle)) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. * $P < 0.05$ vs HSA group (unpaired t-test). Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group).

8. 血漿中アルブミン-ヘムの推移

経時的に採取した血液の血漿成分の中の鉄濃度を測定し、アルブミン-ヘムの血液内での消長を測定した。アルブミン-ヘム投与直後では $596.96 \pm 47.79 \mu M$ であったが経時的にはほぼ線形に減少し、投与 120 分後には $167.65 \pm 78.12 \mu M$ に減少した。このアルブミン-ヘムのメト化率を測定したところ投与直後は 4.68%であったが徐々に上昇し、120 分後には 8.72%となった。

9. 酸素運搬量及び酸素消費量

得られた動脈血酸素飽和度、混合静脈血酸素飽和度、心拍出量、赤血球の Hb 濃度、アルブミン-ヘム濃度より酸素運搬量、酸素消費量を計算で求めた (Fig. 10)。その結果、血液希釈後 $133.5 \pm 21.6 \text{ mL/min}$ の酸素運搬が行なわれていたが、脱血ショックにより $53.8 \pm 17.3 \text{ mL/min}$ まで低下した。HSA-FeP 群では蘇生 30 分後に $126.4 \pm 39.5 \text{ mL/min}$ に上昇し、その後徐々に

酸素運搬が低下し、120 分後では $112.1 \pm 32.3 \text{ mL/min}$ となった。HSA 群では生存した動物は蘇生 30 分後に 101.5 mL/min まで回復したが、急激に低下し、120 分後には 78.4 mL/min となった。酸素消費を検討すると HSA-FeP 群では $50.1 \pm 12.1 \text{ mL/min}$ からショック直後には $38.0 \pm 12.4 \text{ mL/min}$ まで低下したが、蘇生 30 分後には $70.5 \pm 13.8 \text{ mL/min}$ まで上昇し、以後安定して推移した。また、酸素運搬量、酸素消費量ともに、投与終了直後において、HSA 群に比較して HSA-FeP 群は有意な回復を示した。

アルブミン-ヘムによる酸素運搬量を算出すると、投与直後は 22.4%の酸素を運搬したが、血中からの消失に伴い 120 分後には 6.4%に低下した。一方、酸素消費に対するアルブミン-ヘムの貢献度も投与直後の 15.8%から、投与 120 分後では 4.2%に減少した。

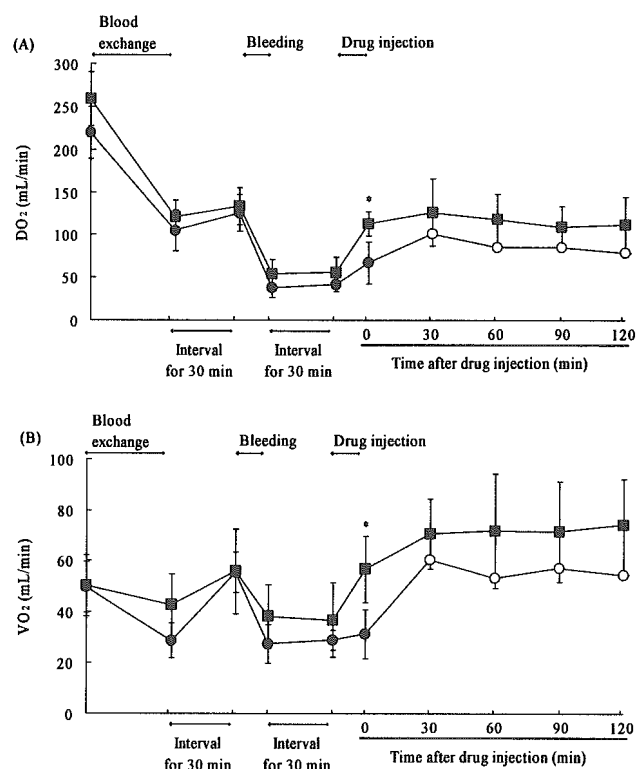


Fig 10. Effects of recombinant human serum albumin (HSA) and HSA-FeP on oxygen delivery (DO_2) (A) and oxygen consumption (VO_2) (B) in anesthetized dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage. * $P < 0.05$ vs HSA group (unpaired t-test). Each value of closed symbol represents the mean \pm S.D. of 4 dogs (\bullet ; HSA group and \blacksquare ; HSA-FeP group), and each value of open symbol represents the mean of 2 dogs (\circ ; HSA group).

10. 血液生化学的検査

AST 及び ALT は HSA の投与ではそれぞれ 4.5 及び 4.1 倍の上昇を示したが、HSA-FeP の投与ではそれぞれ 2.8 及び 1.4 倍の上昇に留まった (Fig. 11)。

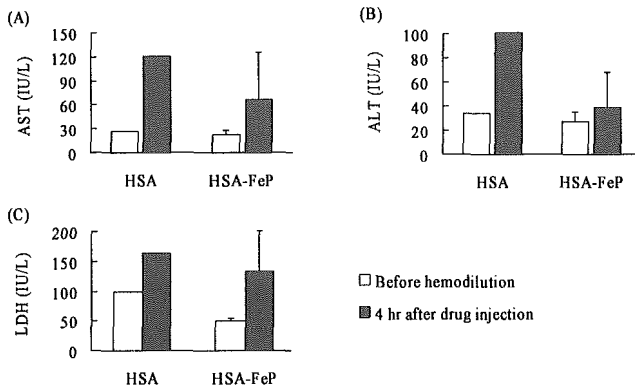


Fig 11. Plasma biochemical values of dogs subjected to 75% hemodilution and 30% hemorrhage followed by injection of recombinant human serum albumin (HSA) or HSA-FeP. A: aspartate aminotransferase (AST), B: alanin aminotransferase (ALT) and C: lactate dehydrogenase (LDH). In HSA group, each value represents the raw data of 2 dog. In HSA-FeP group, each value represents the mean \pm S.D. of 4 dogs.

11. 病理組織学的変化

急性実験であったが、実験終了直後に摘出した臓器のうち肝臓は色調が濃い褐色調に変化していた。これはアルブミン-ヘムの色調と考えられた。病理組織学的検査の結果、肝臓のクッパー細胞/マクrofageへの褐色色素沈着が認められた。これはアルブミン-ヘムに包接されていたヘムが蓄積しているものと思われた。また、HSA 群、HSA-FeP 群ともに、肝臓において軽度の小葉中心性の肝細胞の変性/壊死が認められた。その他の臓器においては、特に問題となる所見は認められなかった。

D. 考察

アルブミン-ヘムが中動物の脱血ショックモデルにて安全にしかも有効なショック蘇生液として機能することが明らかとなった。比較する対照群として蘇生液に Lactate Ringer 溶液あるいは 5%リコンビナントヒトアル

ブミン生食溶液を用いたが、ショック時間は生存していたものの、蘇生を行っても一時的な血圧の上昇を認めるのみで蘇生 40 分以内に血圧の維持が困難となり、死亡する例が散見された。アルブミン-ヘム群では全例がショック状態から脱し、実験期間中良好な経過を示した。

ガス交換および酸素運搬と消費について検討すると、ガス交換については HSA 群、HSA-FeP 群ともに安定していた。組織の嫌気代謝を反映する pH、BE 及び乳酸濃度より、出血性ショック後にアシドーシスの進行が認められたが、アルブミン-ヘム投与により改善が認められた。このことはアルブミン-ヘムが血圧の維持だけでなく、組織の酸素代謝を改善する効果があることを示していると考えられた。混合静脈血血液ガスではショック蘇生後すみやかに PvO_2 が改善した。これも、血圧の上昇に加え、アルブミン-ヘムによる酸素運搬が関与していることが考えられた。また、蘇生後上昇した PvO_2 は経時的に減少し、アルブミン-ヘムが血中より消失していることが推測された。

組織内の酸素分圧および組織中酸素飽和度を異なった方法で腎、脳、筋肉と 3 箇所計測した。HSA-FeP 群ではショック蘇生後、状態の安定に伴って腎皮質酸素分圧が徐々に上昇した。これはアルブミン-ヘムの酸素運搬能に加えてショックによる循環不全の状態が改善され、臓器灌流が改善したためであると考えられた。一方、脳組織内酸素飽和度及び腹直筋酸素飽和度はショック蘇生後上昇を認めたが、経時的に低下傾向を示した。これは、計測する目標が組織内の血流中の Hb をターゲットとしているためと思われた。

人工酸素運搬体による出血性ショックの蘇生について評価を行なう際、分子状の修飾 Hb では血管壁より漏出あるいは血管壁に近い部分を流れるために一酸化窒素 (NO) を吸着し、抵抗血管を収縮させるため、血管抵抗が上昇し、血圧が上昇してしまうと考えられている。アルブミン-ヘムも修飾 Hb 同様分子状の人工酸素運搬体であるため、同じ現象が起こるのではないかと考えられていた。しかし、体血管抵抗に関してはアルブミン-ヘムを投与後に著しい上昇を認めることはな

かった。肺動脈圧はアルブミン-ヘム投与直後に上昇したが、これはアルブミン投与によっても同様に上昇しており、ショック蘇生時の特徴的な所見と考えるとよいと思われた。また、肺血管抵抗値として検討すると、脱血前値に比して有意に高い値であったが、血液希釈前値に比べると明らかに低い値であり、アルブミン-ヘムが NO を吸着して血管を収縮させるということは考えられなかった。これは、修飾 Hb を用いた人工酸素運搬体の欠点を持たない点で有利であり、また、修飾 Hb による血管収縮の機序を明らかにする手段となると考えられた。

アルブミン-ヘムは投与後の半減期が短いことが小動物に投与した結果から予測されていた。今回の実験では血漿中の鉄分子を計測することにより酸素運搬にどの程度貢献しているかについて計算によって検討した。投与したアルブミン-ヘム溶液は血液に換算すると Hb 濃度が 6 g の洗浄赤血球と同等の酸素運搬能を有していると考えられる。今回のショックの実験系で、アルブミン-ヘムは蘇生直後においては 22% 以上の酸素

を運搬し、酸素消費の 15.8% がアルブミン-ヘム由来の酸素でまかなわれていたが、120 分後には酸素運搬の 6.4%、酸素消費の 4.2% をまかなうにとどまった。この事実から、ショック蘇生においては急性期に組織、臓器の血流と酸素代謝を改善することにより、ショック状態を離脱し、定常状態を作ることが重要であることが再確認され、この目的でアルブミン-ヘムを使用することに意義があると考えられた。

E. 結論

ビーグル犬を用いて 75% の血液希釈後に 30% の循環血液量を脱血し、ショックを作製、アルブミン-ヘムの蘇生効果及び安全性を検討した。その結果、アルブミンに比し、人工酸素運搬体(アルブミン-ヘム)はショック蘇生において酸素運搬を改善することが明らかとなり、また、生化学的検査、病理組織学的検査においても、アルブミンに比し、明らかな毒性を表わさなかった。出血性ショックの蘇生液として有効に利用できる可能性が示唆された。