

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

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発に関する研究

(研究課題番号：H17-医薬-050)

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武田 純三

(慶應義塾大学 医学部 麻酔科)

平成 18 (2006) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告書	1~4
武田 純三（慶應義塾大学医学部 教授）	
II. 分担研究報告書	
1. 武田 純三（慶應義塾大学医学部 教授）	5~10
2. 泉 陽太郎（慶應義塾大学医学部 助手）	11~13
3. 饗庭 了（慶應義塾大学医学部 講師）	14~16
4. 宗 慶太郎（早稲田大学 理総研 助教授）	18~23
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	24~27
IV. 研究成果の刊行物・別冊	28~

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発の関する研究

主任研究者 武田 純三 慶應義塾大学医学部 麻酔科 教授

研究要旨

期限切れ赤血球より精製した高純度・高濃度ヒトヘモグロビン（Hb）を、リン脂質小胞体に内包した Hb 小胞体（平均粒径 250nm）の基本物性と製造法に関する基礎技術はほぼ確立されている。さらに、生体に投与した際の安全性に関する研究、および救急医療への応用に関する研究が厚生労働科学研究として行われてきた。製造技術の移転が完了し、GMP 製造、非臨床・臨床試験の準備が進行中である。

一方、人工赤血球、Hb 小胞体実際の臨床応用を考えた場合には、集中治療室(Intensive Care Unit: ICU)において合併症を併発した状態においての使用が多く想定される。本研究では ICU 管理と密接な関係にある合併症や管理方法の中から、人工呼吸器管理、出血性ショック、膜型人工肺回路による管理における人工赤血球、Hb 小胞体の使用を想定し、それぞれ動物モデルを用いた検討を行った。更に ICU では、重症患者の輸液/輸血/呼吸管理のため、その容態について時宜を失すること無く観察することが必要となる。この際、大量投与される人工赤血球の存在自体が様々な測定機器および方法に干渉作用を示す場合がある。本研究では日常の検査法が支障無く使用できるよう、周辺 Medical Engineering(ME)技術の整備を試みた。具体的には血液中の Hb 小胞体を血漿から分離し、血漿を用いた生化学検査を可能にする技術、および Hb 小胞体の血中濃度の簡便な測定方法の確立を試みた。

①人工呼吸器管理に伴い人工換気それ自体が肺障害を惹起する可能性が指摘されている (ventilator induced lung injury: VILI)。本研究ではウサギにおける VILI モデルに人工赤血球、Hb 小胞体の投与を行った。検討した範囲では Hb 小胞体投与の VILI への影響は明らかではなかった。

②ICU 管理を要する症例の多くは単一ではなく、様々な疾患あるいは合併症を併発している。このような観点から提唱された概念の一つとして Systemic Inflammatory Response Syndrome(SIRS)がある。SIRS は複数の原因により全身的に炎症反応が亢進した状態を指す。原因に関らず SIRS には共通の臨床所見と病態があり、対処方法も共通していると考えられている。出血ショックは SIRS を惹起する代表的な病因の一つである。本研究ではラットを用い、SIRS 状態の簡便な評価方法として腸間膜リンパ節の採取および培養方法を検討した。本研究の条件では出血ショック蘇生後のラット腸間膜リンパ節の培養は Hb 小胞体群、5% アルブミン群ともに陰性であった。培養方法などを見直すことも必要と考えられたが、加えた侵襲が少なすぎた可能性が最も高いと考えられた。

③膜型人工肺回路への Hb 小胞体の応用を検討するため、幼若ビーグル犬を用いた人工心肺モデルの確立を試みた。全身麻酔および人工心肺装着に関して技術的に習熟する必要がある。人工心肺の還流は可能であった。還流条件の設定をさらに変更する必要があるが、Hb 小胞体を回路に充填することにより良好な組織還流が得られた。

④Hb 小胞体(粒径 250 nm)は血球に比して数十倍小さな微粒子であるため、血球の遠心分離条件で沈降させ

るのは実用上困難であり、Hb 小胞体の血漿あるいは血清へ浮遊は検査の障害となる。本研究では高分子凝集剤として高分子量デキストランを収容した採血管の条件設定により、Hb 小胞体投与後の採血液でも従来と同じ遠心分離法により透明な血清や血漿が得る方法を開発した。この採血管使用は、一部、リボ蛋白値で70%程度の低値となることを除き、通常実施される血液生化学検査項目の大部分に適合した。また、Hb 小胞体中の Hb 濃度は自動血球測定装置では測定が難しいが、本研究により、沈降占有容積率は Hb 小胞体濃度に一次比例することが示され、沈降占有容積率から Hb 濃度の換算が可能であることが明らかとなった。

分担研究者

泉 陽太郎 慶應義塾大学医学部 助手

饗庭 了 慶應義塾大学医学部 講師

宗 慶太郎 早稲田大学 理工総研 助教授

A. 研究目的

長期保存が容易であり、いつでもどこでも血液型に関係なく、必要量を安全に供給できる人工赤血球の開発は次世代の医療に不可欠な課題である。この有力な候補としてリン脂質小胞体(リボソーム)に精製したヒトヘモグロビンを内包した人工赤血球、Hb 小胞体の開発を我々は展開してきた。現在物性規格の決定と製造技術・工程の確立は厚生科学研究および厚生労働科学研究として進行している。安全性と救急医療への応用も推進されてきた。臨床応用に向けて必要となる安全性評価指針および大量製造に関する検討が現在進行中である。一方、人工赤血球、Hb 小胞体の実際の臨床応用を考えた場合には、集中治療室(Intensive Care Unit: ICU)において様々な合併症を併発した状態においての使用が多く想定される。本研究では ICU 管理となる合併症の中から、人工呼吸器管理、出血性ショック、膜型人工肺回路による管理における人工赤血球: Hb 小胞体の使用を想定し、それぞれ動物モデルを用いた検討を行った。更に ICU では、重症患者の輸液/輸血/呼吸管理のため、その容態について時宜を失うことなく観察することが必要となる。この際、大量投与される人工赤血球の存在自体が様々な測定機器および方法に干渉作用を示す場合がある。本研究では日常の検査法が支障無く使用できるよう、周辺 Medical Engineering(ME)

技術の整備を試みた。Hb 小胞体(粒径 250 nm)は血球に比して数十倍小さな微粒子であるため、血球の遠心分離条件で沈降させるのは実用上困難であり、Hb 小胞体の血漿あるいは血清へ浮遊は検査の障害となる。また、Hb 小胞体中の Hb 濃度は自動血球測定装置では測定が難しい。本研究では ME 技術整備の第一歩としてこれらの問題点の解決を試みた。

B. 研究方法

A 人工呼吸器管理はそれ自体が肺障害を惹起する可能性が指摘されている (ventilator induced lung injury: VILI)。本研究ではウサギの VILI モデルに人工赤血球 Hb 小胞体 (HbV) 生理食塩水分散液を投与し、肺障害の程度を検討した。実験には雄、日本白色家兔 (2.0~2.5 kg)を用いた。全身麻酔下に気管切開を行い、高一回換気量 (30 ml/kg)での人工換気を約 4 時間行った。この換気量において VILI が誘導されることの確認を先ず行った。続いて循環血液量の約 30%を試料で置換し、同様の実験を行った。試料としては生理食塩水に分散した HbV と生理食塩水を比較検討した。

B ICU 管理を要する症例の多くは単一ではなく、様々な疾患あるいは合併症を併発している。このため、個々の原因疾患に関わらずある時点におけ

る全身状態を包括的に把握する必要がある。このような観点から提唱された概念の一つとして Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)がある。SIRS は複数の原因により全身的に炎症反応が亢進した状態を指す。原因に関らず SIRS には共通の臨床所見と病態があり、対処方法も共通していると考えられている。ICU あるいは ICU の周辺において人工赤血球を使用する対象として出血性ショックがある。出血性ショックはまた SIRS 状態を惹起する代表的な原因の一つである。出血性ショックから SIRS 状態への移行原因の一つとして腸管の虚血による粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性が考えられている。本研究ではラットを用い、SIRS 状態の簡便な評価方法として腸間膜リンパ節の採取および培養方法を検討した。また出血性ショック蘇生後に培養を行い、5%アルブミン分散 HbV 群と 5%アルブミン群で比較を行った。

C 膜型人工肺回路への Hb 小胞体の応用を検討するため、ビーグル犬を用いた人工心肺モデルの確立を試みた。小児における使用も視野に入れ、体重 3.0-4.0kg の幼若ビーグル犬を用いた。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%リコンビナントアルブミン (アルブミン群)、②Hb 小胞体 (HbV 群)、③同種血 (同種血群) の 3 群に分けた。Hb 小胞体は 5%リコンビナントアルブミンに分散させ、Hb 濃度を 8.6 g/dL とした。人工心肺回路の充填量は 100ml であった。全身麻酔下に右第 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、人工心肺管理を行った。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 分間行った。人工心肺運転後、回路内血液を遠心分離し、血球成分を血管内に戻し、120 分間生存させた。この間血液ガス分析および循環動態に関する計測項目を測定した。

D 通常の遠心分離で Hb 小胞体を血中から分離する方法としてデキストラン添加を検討した。Hb 小胞体分散液に各種分子量のデキストランを混合し凝集時間を計測した。条件を最適化した後、実際

に Hb 小胞体を含有する血液を用いて血漿分離と生化学検査を行った。比較的簡便な方法で Hb 小胞体由来と赤血球由来の Hb を個別に定量する方法として、沈降占有容積率からの換算の妥当性を検討した。Hb 小胞体分散液 (Hb 濃度: 0.5~10 g/dL、各 1 mL) にデキストラン溶液 (分子量: 487 kDa、20 g/dL、0.15 mL) を混合してヘマトクリット管に充填した。これを遠心分離 (10,000 rpm、45 分間) して沈降占有容積率を計測した。Hb 濃度と沈降占有容積率をプロットして濃度換算式を導いた。

C. 研究結果・考察

A 血液ガスデータおよび体血圧は実験中ほぼ安定していたが、換気量増加に伴い麻酔薬投与量などのさらなる適正化が必要と考えられた。動脈血酸素分圧は人工呼吸開始後時間経過とともに両群で低下した。HbV 群では若干低下が緩やかであったが、有意差は無かった。切除肺においては両群で軽度の肺水腫が見られたが有意差は見られなかった。さらなる検討が必要であるが、Hb 小胞体の投与が VILI に明らかに影響する所見は今回の実験からは得られなかった。

B 無処置のラットにおいて上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中には少量のリンパ節が存在すると考えられた。肉眼的には脂肪組織中に微小なリンパ節が少数確認できた。病理組織学的にもこれらがリンパ節であることが確認できた。ショック蘇生後ラットの活動性、食欲には変化は見られなかった。またアルブミン群、HbV 群で差は見られなかった。体重もアルブミン群、HbV 群で差は見られなかった。ショック蘇生後 4 日目に開腹を行った。腹腔内に明らかな異常所見は見られなかった。上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中のリンパ節は無処置群と同様明らかではなかった。病理組織学的にはリンパ節が確認されたが、培養結果は好気性培養および嫌気性培養ともに陰性であった。本研究では検討した範囲では腸間膜リンパ節の培養陽性所見は得られなかった。培養方法などを見直すことも必要と考えられたが、加えた侵襲が少なすぎた可能性が最も高いと考えられた。今後は出血性

ショックの状態にある時間の延長、あるいは膠質浸透圧を有さない生理食塩水などに分散した試料による蘇生を検討する必要がある。

C 先ず、幼若なビーグル犬に対する人工心肺回路の装着技術の確立を試みた。全身麻酔について細い気管内への挿管に習熟する必要がある。溶血や出血による強い血液希釈が当初見られたが、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、アルブミン充填群において人工心肺運転中のヘマトクリット値は 20%を保つことが可能になった。人工心肺運転中の全身的な酸素化は良好であった。頸動脈血流量は HbV 群においてアルブミン群に比べて高く保たれる傾向が見られた。今後さらなる検討を進める必要がある。

D Hb 小胞体の浮遊する採血液に対し、分子量の異なるデキストラン溶液を添加し、10 分間静置した後遠心分離した場合、デキストランの分子量効果は明確であった。487kDa のデキストランを添加した系のみ透明な血漿が得られた。この採血管にて遠心分離した血清について生化学検査を実

施した。超遠心分離法は正確な測定値が得られる方法のコントロールとなるので比較すると、 β -リポ蛋白で低値傾向を認めるものの、その他の項目は同等であった。Hb 濃度と沈降占有容積率をプロットした場合、沈降占有容積率は Hb 小胞体濃度に一次比例し、沈降占有容積率から Hb 濃度の換算は可能であった。この方法は赤血球と Hb 小胞体由来の Hb を個別に測定できる方法として利用できる。

D. 結論

本年度の研究の結果、ICU という特殊な環境における人工赤血球使用に関する preliminary な知見が得られた。本研究では ICU において想定される病態および疾患管理方法として人工呼吸器管理、出血性ショック、人工心肺回路を検討した。さらなる検討が必要であるが、いずれの状況においても人工赤血球、Hb 小胞体の有用性が示唆された。また人工赤血球投与下においても、ICU で頻用される測定機器が使用可能となるための工夫に関する基本的知見が得られた。次年度のさらなる研究の進展が期待される

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発に関する研究

分担課題： ICU における呼吸障害の分析と人工赤血球利用法の開発

主任研究者	武田 純三	慶應義塾大学医学部	麻酔科	教授
研究協力者	小河 アイリーン尚美	慶應義塾大学医学部	麻酔科	助手
	森崎 浩	慶應義塾大学医学部	麻酔科	助教授

研究要旨

集中管理室（ICU）においては肺障害を合併している症例が多く、人工呼吸器管理が行われている場合が多い。本研究では人工赤血球の投与が人工呼吸器管理下にある肺に何らかの影響を及ぼすか否かを検討した。人工呼吸器管理はそれ自体が肺障害を惹起する可能性が指摘されている（ventilator induced lung injury: VILI）。本研究ではウサギの VILI モデルに人工赤血球 Hb 小胞体（HbV）生理食塩水分散液を投与し、肺障害の程度を検討した。HbV 群における VILI の度合いは生理食塩水投与と同様であった。

A. 研究目的

集中管理室(Intensive Care Unit: ICU)において治療を受ける対象となる場合、多くは肺に何らかの障害がみられる。この場合には呼吸機能を補助する必要があり、その代表的なものが人工呼吸器を用いた呼吸管理である。人工呼吸器は換気量、換気回数、酸素濃度などが設定可能であり、障害肺の機能を極めて効果的に補助する。ただし換気方法は生理的な呼吸とは異なり陽圧換気となる。このため肺胞は非生理的な過進展を受ける。近年、この機械的刺激が肺胞領域で炎症反応を惹起してガス交換を障害する可能性（ventilator induced lung injury: VILI）が指摘されている。詳細な機序は未だに明らかではないが、人工呼吸器管理自体が肺に及ぼす障害について我々は従来から様々な検討を行ってきた。その中で血液中の白血球や接着因子および様々なサイトカインの関与が明らかになってきている。これらの知見は人工呼吸器管理が肺に及ぼす影響は全身状態と密接に関連していることを示唆している。一方、様々な動物実験において人工赤血球投与の安全性が確認されているが、ICU における投与を想定した場合には、人工呼吸

器管理施行中の投与が行われる状況を考えざるを得ない。本研究では人工呼吸器管理下に人工赤血球を投与した際の肺への影響を検討した。特に VILI が増悪するか否かを中心に検討した。

B. 研究方法

動物種：雄、日本白色家兔（2.0～2.5 kg）。

実験操作：麻酔導入薬としてケタミン 100 mg を筋注。鎮静が得られた後耳静脈を確保した。耳静脈より鎮静薬 0.5 %ペントバルビタール 4 ml/kg/hr の投与を開始した。頸部に枕木をあて、仰向けに固定した。頸部および胸部腹側を剃毛した後消毒を行った。頸部に局所麻酔薬 0.5 %リドカイン 3 ml を皮下投与した。頸部に皮切を加え気管切開を施行し、気管周囲を剥離した。気管近傍の内頸動脈を露出し、内頸動脈ラインを確保した。内頸動脈ラインより持続的に動脈圧を測定し、また動脈血採血用ラインとして用いた。循環動態が安定した後、ほぼ通常の換気量（本実験では低一回換気量と定義する、8 ml/kg)にて人工換気を開始した。換気と呼吸状態が安定した後、筋弛緩薬パングロニウム 1 mg 静脈投与を行った。その後は筋弛緩を得

るため、0.3 mg/kg/hr にてパンクロニウムを経静脈持続投与した。血圧、脈拍、呼吸状態が安定した後ベースラインの動脈血液ガス分析とヘマトクリット測定を行った。その後動脈ラインより脱血、静脈ラインより試料の投与を行い（約 10ml/min）、循環血液量の約 30 %を試料で置換した。この交換スピードでは交換中の循環動態に明らかな変化は見られなかった。なお循環血液量は従来の検討より 56ml/kg とした。交換終了後再び動脈血液ガス分析およびヘマトクリット値の測定を行った。測定終了後一回換気量を増加させ、高一回換気量 (30 ml/kg)での人工換気を開始した。高一回換気開始後 30 分、120 分、180 分、240 分後に、動脈血液ガス分析を行った。この間の人工呼吸器の設定は、換気回数を 20 回/分とし、動脈血 pCO₂が 35~45 mmHg となるように適宜回路内に死腔を挿入した。高一回換気量による人工呼吸開始 240 分後に、最終動脈血液ガス分析を行った後、5 %ペントバルビタール 4 ml を投与して犠牲死させた。両側肺を摘出後、右主気管支を閉鎖し、右肺を切離した。気管より約 20cm 水柱にて 10%緩衝ホルマリンを注入し、左肺を充填した。左肺は病理組織標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。右肺は湿乾重量比の測定に用いた。試料としては人工酸素運搬体、Hb 小胞体 (HbV) 生理食塩水分散液と生理食塩水(生食群)を用いた。両群の比較を行った。データは平均値±標準偏差で表した。本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 研究結果・考察

ヘマトクリットは HbV 群では交換前 52±11%から交換後 35±8%、生食群では交換前 49±9%から交換後 35±8%へ低下した (図 1)。

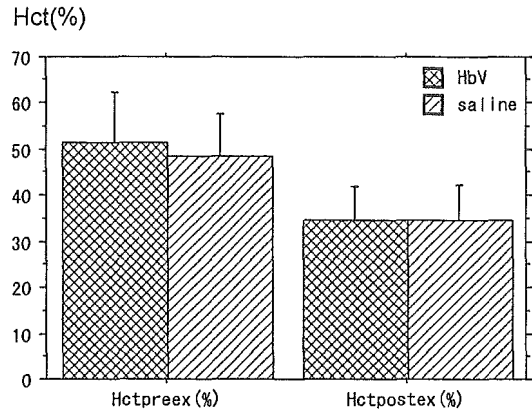


図1 Hct(%)

両群間に有意差は無く、両群ともに循環血液量の約 30%が実際に交換されたと考えられた。平均体血圧は時間とともに序々に低下する傾向がみられたが有意な低下ではなかった (preex:脱血交換前、postex:脱血交換後)。また両群間に明らかな差は見られなかった (図 2)。

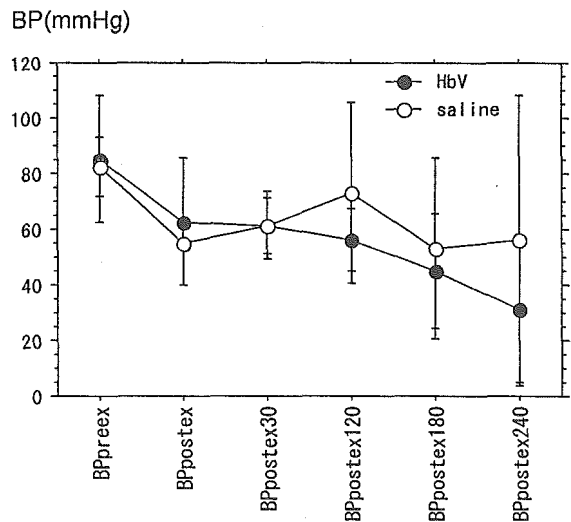


図2 BP(mmHg)

生理食塩水に分散した試料であるため、血液希釈が起こり、その結果循環血液量が若干低下したため、血圧の低下につながったと考えられた。動脈血酸素分圧は時間経過とともに両群で低下した (preex:脱血交換前、postex:脱血交換後)。HbV 群では若干低下が緩やかであったが、有意差はなかった (図 3)。

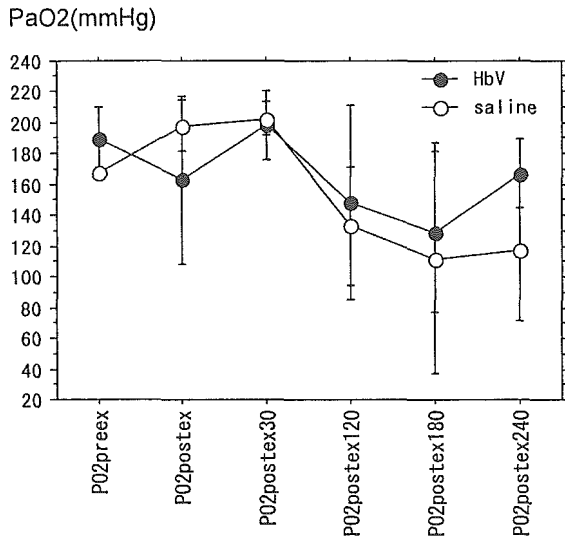


図3 PaO2(mmHg)

湿乾重量比は両群ともに正常肺と比べ上昇していた。両群間に有意差は見られなかった (図4)。

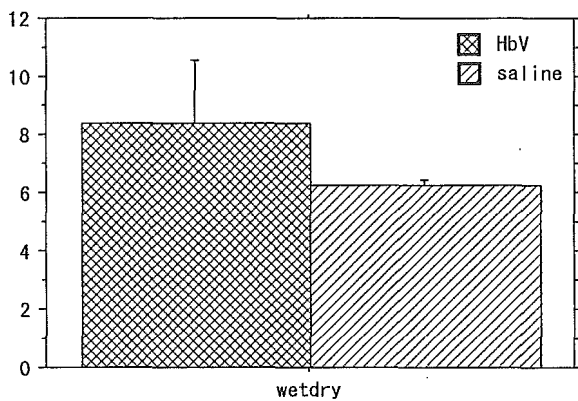


図4 湿乾重量比

切除肺においては両群で軽度の肺水腫が見られた。VILI の発生原因は未だ明らかではない。陽圧換気による肺胞の非生理的進展がきっかけになると考えられるが、その後白血球の活性化、様々なサイトカインの関与が考えられている。このため VILI の病態は全身状態と密接に関連すると思われる。また、我々の今までの検討では、全身的に他の何らかの侵襲が加わった場合に VILI が顕在化する可能性も考慮する必要がある。これらの意味で、人工呼吸器管理の行われる頻度が高い ICU において

人工赤血球を投与する場合には、VILI あるいはそれに類似した状況を想定する必要があると考えられる。本実験では基礎的検討として兔における VILI のモデルを用い、人工赤血球、Hb 小胞体を投与した際の影響を検討した。投与方法は交換輸血とした。生理食塩水投与との比較を行った。さらなる検討が必要であるが、HbV 投与が VILI に影響を及ぼしていると考えられるような所見は今回の検討では得られなかった。

D. 結論

人工赤血球を ICU で使用する場合、高頻度に合併する可能性がある VILI を動物モデルで再現し、人工赤血球投与の影響を検討した。本研究で設定した VILI のレベルでは、人工赤血球投与の影響は明らかではなかった。しかし実際の臨床では VILI のレベルは多岐にわたると考えられ、VILI の程度を変化させてさらなる検討が必要と考えられた。

E. 研究業績

1 学会発表

1. 小谷 透、小河アイリーン尚美、森山 潔、武田純三、石坂彰敏 / VILI における bio-trauma のメカニズム / 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会 / 2005 年 4 月 14 日-16 日 / 幕張

2. 藤島清太郎、森崎 浩、小竹良文、川合陽子、石坂彰敏、渡辺清明、武田純三、相川直樹 / ARDS 病態下における凝固線溶系動態 / 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会 / 2005 年 4 月 14 日-16 日 / 幕張

3. 中野泰、小谷 透、小竹良文、武田純三、石坂彰敏 / 人工心肺による気道内炎症反応活性化と好中球の関与 / 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会 / 2005 年 4 月 14 日-16 日 / 幕張

4. 鈴木武志・芹田良平・小竹良文・森崎浩・武田純三 / 敗血症心筋に対する β 遮断薬の保護効果 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸

5. 須藤貴世子、西部伸一・逢坂佳宗・山田達也・武田純三 / 人工心肺離脱時にプロタミンによる気管支痙攣を来した一症例 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸
6. 小河アイリーン尚美・西部伸一・松岡孝明・武田純三 / Norwood 手術の麻酔管理において持続的混合静脈血酸素飽和度モニターが有用であった二症例 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸
7. 鈴木麻衣子・西部伸一・辻田美紀・矢島聡・武田純三 / Bland-White-Garland 症候群の麻酔経験 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸
8. 辻田美紀・桜庭茂樹・羽鳥英樹・栗林淳也・武田純三 / アルツハイマー治療薬ドネペジルの塩酸モルヒネによる呼吸抑制に対する拮抗作用 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸
9. 香取信之、逢坂佳宗・武田純三・田中健一 / 直接トロンビン阻害薬による抗凝固作用の検討 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 2 日(木) / 神戸
10. 栗林淳也・桜庭茂樹・羽鳥英樹・辻田美紀・武田純三、桑名俊一 / 呼吸の中枢性化学受容機構における GABA 性ニューロンの役割 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 / 2005 年 6 月 3 日(金) / 神戸
11. 小竹良文・香取信之・芹田良平・森崎浩・武田純三、落合亮一 / 収縮期時相の比較を用いた経食道 Doppler 心拍出量測定装置の精度の客観的評価 / 日本麻酔科学会 第 52 回学術集会 2005 年 6 月 3 日(金) / 神戸
12. 柏木政憲、岡田泰昌、羽鳥英樹、中塚逸央、栗林淳也、福田健太郎、青山龍馬、吉田英彰、落合亮一、武田純三 / 局所麻酔薬が脊髄後角神経活動に及ぼす影響：膜電位感受性色素を用いたイメージング解析 / 第 82 回日本生理学会大会 / 2005 年 5 月 19 日 / 仙台
13. 渡邊陽子、栗林淳也、大西 幸、橋口さおり、津崎晃一、武田純三 / 難治性肛門部痛に対する強オピオイド使用により急性耐性、精神依存をきたした一例 / 日本ペインクリニック学会第 39 回大会 2005 年 7 月 28-30 日 / 宇都宮
14. 又吉 徹、森田雅教、柴野豊彦、平林則行、安藤朋子、林 明美、森崎 浩、小竹良文、武田純三 / シンポジウム「集中治療室におけるスタッフ教育」集中治療室における ME 機器のスタッフ教育 / 第 14 回日本集中治療医学会 関東甲信越地方会 / 2005 年 8 月 27 日(土) / 東京
15. 逢坂佳宗、小竹良文、芹田良平、香取信之、森山 潔、矢島 聡、細川幸希、森崎 浩、武田純三 / 術後の呼吸管理に難渋した肝肺症候群合併の生体部分肝移植の 1 症例 / 第 14 回日本集中治療医学会 関東甲信越地方会 / 2005 年 8 月 27 日(土) / 東京
16. 細川幸希、芹田良平、香取信之、平野昌人、山田高成、逢坂佳宗、矢島 聡、小竹良文、武田純三 / 右鎖骨下動脈内に留置した中心静脈カテーテルにより血栓形成したものの、無事抜去し得た一症例 / 第 14 回日本集中治療医学会 関東甲信越地方会 / 2005 年 8 月 27 日(土) / 東京
17. 矢島 聡、香取信之、逢坂佳宗、細川幸希、芹田良平、小竹良文、武田純三 / 多量飲酒をきっかけに発症した代謝性アシドーシスおよびショックに対し、持続的血液濾過透析が有効であった一症例 / 第 14 回日本集中治療医学会 関東甲信越地方会 / 2005 年 8 月 27 日(土) / 東京
18. 有坂博史、北濱 誉、森本順子、小出茂代、西田尚文、松本昌直、国松輝仁、古屋宗孝、吉田和市、龍信之助、中塚逸央、山田正文、武田純三 / N-CPAP を使用した睡眠時無呼吸症候群患者の周

術期の麻酔管理 / 第 15 回日本麻酔科学会 東京・
関東甲信越支部学術集会 / 2005 年 9 月 24 日(土) /
東京

19. 下村 誠、有坂博史、北濱 誉、西田尚文、松本
昌直、国松輝仁、古屋宗孝、吉田和市、桜庭茂樹、
鈴木麻衣子、武田純三 / 挿管困難を伴った
Goldenhar 症候群の麻酔経験 / 第 15 回日本麻酔科
学会 東京・関東甲信越支部学術集会 / 2005 年 9 月
24 日(土) / 東京

20. 香取信之、逢坂佳宗、山田達也、武田純三 / ソ
ノクロットを用いたトロンビン阻害薬の抗凝固作
用の検討 / 第 10 回日本心臓血管麻酔学会記念学
術大会 / 2005 年 9 月 23,24 日 / 岡山

21. 逢坂佳宗、山田達也、香取信之、武田純三 / 右
心不全に僧帽弁前尖の収縮期前方運動を合併した
1 症例 / 第 10 回日本心臓血管麻酔学会記念学術大
会 / 2005 年 9 月 23,24 日 / 岡山

22. Y. Kotake, T. Yamada, Y. Hosokawa, S. Yajima, J.
Takeda / Intrathoracic Blood Volume Predicts
Subsequent Hypovolemic Hypotension after Radical
Esophagectomy / 2005 ASA Annual Meeting. / 2005 年
10 月 22-26 日 / Atlanta

23. N. Nakamura, H. Morisaki, M. Yamamoto, Y.
Kotake, J. Takeda / Accumulation of Activated
Neutrophils and Gut Barrier Dysfunction during Acute
Hypoxia in Rabbits / 2005 ASA Annual Meeting. / 2005
年 10 月 22-26 日 / Atlanta

24. H. Morisaki, M. Yamamoto, R. Serita, Y. Kotake, J.
Takeda / Inhibition of Nitric Oxide Synthase Restores
Transfusion-Enhanced Gut Barrier Dysfunction in
Endotoxemic Rats / 2005 ASA Annual Meeting. / 2005
年 10 月 22-26 日 / Atlanta

25. Y. Kotake, M. Yamamoto, T. Yamada, H. Morisaki,
J. Takeda / Inhibition of Nitric Oxide Synthase Restores

Transfusion-Enhanced Gut Barrier Dysfunction in
Endotoxemic Rats / 2005 ASA Annual Meeting. / 2005
年 10 月 22-26 日 / Atlanta

26. T. Yamada, J. Takeda, S. Tsuga, N. Shiina, S.
Takada / Impact of Sonoclot Hemostasis Analysis after
Cardiopulmonary Bypass on Postoperative Hemorrhage
in Cardiac Surgery / 2005 ASA Annual Meeting. / 2005
年 10 月 22-26 日 / Atlanta

27. 津崎晃一、武田純三、大村昭人、唐澤富士夫、
畔政和 / 「安全な麻酔のモニター指針」に基づく
全国アンケート調査の解析結果 / 日本臨床麻酔学
会第 25 回大会 / 2005 年 11 月 17-19 日 / 大阪

28. 有坂博史、松本昌直、西田尚史、古屋宗孝、国
松輝仁、吉田和市、中塚逸央、武田純三 / 睡眠時
無呼吸症候群患者に N-CPAP を使用した麻酔管理
/ 日本臨床麻酔学会第 25 回大会 / 2005 年 11 月 17
-19 日 / 大阪

29. 山田高成、細川幸希、栗林淳也、小杉志都子、
大西 幸、橋口さおり、森崎浩、津崎晃一、張簡
珮怡、田中 守、吉村泰典、武田純三 / PCA 装置
を用いた無痛・和痛分娩 / 第 108 回 分娩と麻酔
研究会 / 平成 17 年 12 月 10 日(土) / 神奈川

2 投稿原稿

1. M. Seki, S. Kashimoto, O. Nagata, H. Yoshioka, T.
Ishiguro, K. Nishimura, O. Honda, A. Sakamoto, A.
Omi, Y. Ogihara, K. Fujimoto, M. Iwade, T. Yamada, M.
Nomura, J. Takeda / Are the Incidences of Cardiac
Events During Noncardiac Surgery in Japan the Same
as in the United States and Europe? / Anesth Analg
2005;100(5):1236-1240

2. 橋口さおり、大西 幸、小杉 志都子、栗林淳也、
高野学美、西部伸一、津崎晃一、武田純三 / PCA
を使用するの疼痛管理システム / ペインクリニック
26(5):134-141,2005

3. K. Ohshige, S. Shimazaki, H. Hirasawa, M. Nakamura, H. Kin, C. Fujii, K. Okuchi, Y. Yamamoto, K. Akashi, L. Takeda, T. Hanyuda, O. Tochikubo / Evaluation of out-of-hospital cardiopulmonary resuscitation with resuscitative drugs: a prospective comparative study in Japan. / *Resuscitation*. 2005 Jul;66(1):53-61.
4. S. Kosugi, H. Morisaki, T. Satoh, K. Ai, M. Yamamoto, J. Soejima, R. Serita, Y. Kotake, A. Ishizaka, J. Takeda / Epidural analgesia prevents endotoxin-induced gut mucosal injury in rabbits. / *Anesth Analg*. 2005 Jul;101(1):265-72,
5. Y. Kotake, M. Yamamoto, M. Matsumoto, H. Morisaki, J. Takeda / Sivelestat, a neutrophil elastase inhibitor, attenuates neutrophil priming after hepatoenteric ischemia in rabbits. / *Shock*. 2005 Feb;23(2):156-60.
6. T. Suzuki, H. Morisaki, R. Serita, M. Yamamoto, Y. Kotake, A. Ishizaka, J. Takeda / Infusion of the [beta]-adrenergic blocker esmolol attenuates myocardial dysfunction in septic rats *. / *Crit Care Med*. 33(10);2294-2301,2005
7. T. Yamada, R. Ochiai, J. Takeda, H. Kikuchi, M. Ishibashi, K. Watanabe / Off-pump coronary artery bypass attenuates transient hepatocellular damage after myocardial revascularization. / *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2005 Oct;19(5):603-7.

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発に関する研究

分担課題： SIRS 状態に於ける人工赤血球の機能解析

分担研究者 泉 陽太郎 慶應義塾大学医学部 呼吸器外科 助手

研究要旨

ICU 管理を要する症例の多くにおいて様々な原因により全身性に炎症反応が亢進した状態（Systemic Inflammatory Response Syndrome：SIRS）が見られる。このような状態において人工赤血球の投与を行った場合には正常な状態とは異なる影響が見られる可能性がある。本研究では出血性ショックにおける SIRS 状態を再現するラットモデル作成を試みた。出血性ショックにおいて腸間膜リンパ節への腸内細菌の移行が報告されており、SIRS 状態の指標の一つになり得ると考えられる。本研究では人工赤血球を用いた出血性ショック蘇生において腸管膜リンパ節の培養を行った。本研究の条件では細菌は検出されず、培養方法の再検討および出血性ショック状態をさらに遷延させる必要があると考えられた。

A. 研究目的

ICU 管理を要する症例の多くは単一ではなく、様々な疾患あるいは合併症を併発している。このため、個々の原因疾患に関わらずある時点における全身状態を包括的に把握する必要がある。このような観点から提唱された概念の一つとして Systemic Inflammatory Response Syndrome(SIRS)がある。SIRS は複数の原因により全身的に炎症反応が亢進した状態を指す。原因に関らず SIRS には共通の臨床所見と病態があり、対処方法も共通していると考えられている。ICU あるいは ICU の周辺において人工赤血球を使用する対象として出血性ショックがある。出血性ショックはまた SIRS 状態を惹起する代表的な原因の一つである。

出血性ショックから SIRS 状態への移行原因の一つとして腸管の虚血による粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性が考えられている。この際の人工赤血球投与の影響について、我々は以前出血性ショック時の腸管虚血が人工赤血球、ヘモグロビン小胞体 HbV 投与により軽減される興味深い知見を得ている（Yoshizu et al., ASAIO J

2004;50:458-463）。また同じモデルにおいて出血性ショック時に血中の TNF α が上昇することが確認されており、この上昇は HbV 投与により抑制された。同じモデルを用いて TNF α を含む複数のサイトカインの推移を確認することが必要となる。しかし網羅的なサイトカイン測定にはコストがかかる。測定が最も適切に行える出血性ショックおよび蘇生条件を十分に設定する必要がある。腸管虚血により腸管粘膜バリアが破綻した場合には、腸管に付属するリンパ節に腸内細菌が移行することが報告されている。そこで本研究では先ず出血性ショック時の SIRS 状態のより簡便な評価法として、腸管リンパ節の培養を試みた。

B. 研究方法

動物種：Wistar ラット、雄、約 250g。

実験方法：ラットにケタミンとキシラジンの混合液を筋注（10mg/kg）し麻酔を行った。腹部を剃毛後 70%アルコールで消毒を行った。腹部正中切開を行い、小腸をたどり、上腸間膜動静脈を確認する。上腸管膜リンパ節はその近傍の脂肪組織中に存在する。

実験①上腸間膜動静脈近傍の脂肪組織を採取し、病理組織学的検査を行った。

実験②腹部正中切開を行い、盲腸の表面を擦過した後閉腹した。4日後に再度開腹し腹腔内を観察した。また、上腸間膜動静脈近傍の脂肪組織を採取し病理組織学的検査と嫌気性および好気性培養検査を行った。対象として開腹を行った後その他の処置は行わず閉腹した群も検討した。

実験③麻酔下にラットの大腿動脈にカテーテルを留置した。ここから推定循環血液量 (56ml/kg) の50%に相当する血液を約5分間かけて脱血し出血性ショック状態とした。この状態を約15分間維持した。その後大腿動脈カテーテルより試料を投与した。その後カテーテルを抜去し血管を処置後生存させた。4日後麻酔下に腹部正中切開を行い、上腸間膜動静脈近傍の脂肪組織を採取し病理組織学的検査と嫌気性および好気性培養検査を行った。試料としては5%アルブミンおよび5%アルブミンで調製したHbV (ヘモグロビン濃度約8g/dl)を用いた。

本研究で使用したHb小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 研究結果・考察

実験①無処置のラットにおいて上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中には少量のリンパ節が存在すると考えられた。肉眼的には脂肪組織中に微小なリンパ節が少数確認できた。病理組織学的にもこれらがリンパ節であることが確認できた。

実験②盲腸の漿膜擦過後4日後に開腹を行った。盲腸漿膜表面には微小な出血斑が見られた。腹腔内に腹水の存在は明らかではなかった。開腹部に明らかな癒着は見られなかった。その他、腹腔内に明らかな炎症所見は見られなかった。上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中に肉眼的に見られたリンパ節は実験①の無処置群に比べより顕著であり、リンパ節腫大が疑われた。培養結果は好気性培養および嫌気性培養ともに陰性であった。開腹した後無処置で閉腹を行った群ではリンパ節腫大は顕著ではなかった。

実験③ショック蘇生後ラットの活動性、食欲には変化は見られなかった。またアルブミン群、HbV群で差は見られなかった。体重もアルブミン群、HbV群で差は見られなかった。ショック蘇生後4日目に開腹を行った。腹腔内に明らかな異常所見は見られなかった。上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中のリンパ節は無処置群と同様明らかではなかった。病理組織学的にはリンパ節が確認されたが、培養結果は好気性培養および嫌気性培養ともに陰性であった。

出血性ショックからSIRS状態への移行原因の一つとされている腸管の虚血による粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性を再現し評価し得る動物モデルの作成を試みた。腸管膜リンパ節は開腹のみでは影響は受けにくいと考えられた。従来の報告では、ラットを用いたエンドトキシン投与モデルや出血性ショックモデル、および腸管結紮や腸管虚血再還流モデルにおいて腸間膜リンパ節の細菌培養の陽性化が報告されている。これらの病態において全身的にサイトカインの産生が亢進するとされている。本研究では検討した範囲では腸間膜リンパ節の培養陽性所見は得られなかった。培養方法などを見直すことも必要と考えられたが、加えた侵襲が少なすぎた可能性が最も高いと考えられた。今後は出血性ショックの状態にある時間の延長、あるいは膠質浸透圧を有さない生理食塩水などに分散した試料による蘇生を検討する。これに基づき、出血性ショック後腸間膜リンパ節培養が陽性化する条件を設定する。この条件下に行った出血性ショック蘇生プロトコールにおいてサイトカイン測定を計画する。

D. 結論

出血性ショックからSIRSに至る過程において、腸管粘膜の破綻とそれに続く腸内細菌の腸間膜リンパ節への移行の関与が動物実験で示唆されている。本実験では、動物におけるSIRSモデル作成とサイトカイン測定に先立ち、上記報告の再現を試みた。腸間膜リンパ節の培養で陽性結果は得られず、ショックのレベルをさらに強くし、検討を行

う必要性があると考えられた。

E. 研究業績

1. 堀之内宏久, 泉 陽太郎, 小林紘一, 土田英俊 / 人工酸素運搬体の開発 現状と将来展望(解説) 検査と技術 / 33, 879-881(2005)

2. 泉 陽太郎, 山本学, 竹内健, 渡辺真純, 堀之内宏久, 寺村裕治, 酒井宏水, 武岡真司, 土田英俊, 小林紘一 / 人工酸素運搬体ヘモグロビン小胞体による固形腫瘍の酸素化の試み(会議録) / 第 11 回日本血液代替物学会 / 2005, 6

3. Y. Izumi, N. Tsukada, E. Ikeda, M. Kawamura, K. Kobayashi / Superficial contact cryoablation attenuates experimentally created lung air leakage. Cryobiology. 2005 / 51:306-10.

4. M. Kawamura, M. Gika, Y. Izumi, H. Horinouchi, N. Shinya, M. Mukai, K. Kobayashi / The sealing effect of fibrin glue against alveolar air leakage evaluated up to 48 h; comparison between different methods of

application. Eur J Cardiothorac Surg. 2005 / 28:39-42.

5. Y. Izumi, T. Oyama, E. Ikeda, M. Kawamura, K. Kobayashi / The acute effects of transthoracic cryoablation on normal lung evaluated in a porcine model. Ann Thorac Surg. 2005 / 79:318-22; discussion 322.

6. Y Izumi¹⁾, M Yamamoto¹⁾, K Takeuchi¹⁾, M Watanabe¹⁾, H Horinouchi¹⁾, Y Teramura²⁾, H Sakai²⁾, S Takeoka²⁾, E Tsuchida²⁾, K Kobayashi¹⁾

¹⁾ Dept of General Thoracic Surgery, School of Medicine Keio University, Tokyo, Japan

²⁾ Advanced Research Institute for Sci and Eng, Waseda University, Tokyo Japan / SYSTEMIC

ADMINISTRATION OF HEMOGLOBIN VESICLE AUGMENTS RADIATION RESPONSE IN LEWIS

LUNG CARCINOMA / 第 10 回血液代替物国際シンポジウム、2005 年 6 月 12-15、米国プロビデンス

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発の関する研究

分担課題：膜型人工肺回路における人工赤血球の機能評価

分担研究者 饗庭 了 慶應義塾大学医学部 心臓血管外科 講師
研究協力者 保土田 健太郎 慶應義塾大学医学部 心臓血管外科 助手

研究要旨

心停止下に行う心臓外科手術において、心臓と肺の機能を代替する人工心肺の使用は必須である。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た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、我々は人工赤血球（Hb 小胞体）に着目した。現在、ラット人工心肺モデルを確立し、回路充填に Hb 小胞体を用いた場合も膜型人工肺が十分に血液を酸素化することを証明した。また、Hb 小胞体充填群において高次脳機能が維持されることを証明した。これは Hb 小胞体の充填により末梢組織への酸素運搬が保持されたためと考えられ、Hb 小胞体の有用性が明らかとなった。さらに、幼若ビーグル犬を用いた人工心肺モデルを確立し、Hb 小胞体充填が脳血流量や酸素供給の維持に及ぼす効果について検討を行っている。

A. 研究目的

心停止下に行う心臓外科手術において、心臓と肺の機能を肩代わりする人工心肺の使用は必須である。人工心肺回路は心臓の役割を果たすローラーポンプ（または遠心ポンプ）と肺の役割を果たす膜型人工肺から成る。近年心臓外科手術の成績は、手技の発達に加え、ポンプと人工肺の優れた性能により、飛躍的に向上している。

その中でも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量である 300ml から 400ml 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、免疫抑制といった弊害が明らかであり、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 小胞体に着目し、研究を進めてきた。Hb 小胞体が膜型人工肺においてヒト赤血球と等しく、酸素の取り込みや二酸化炭素排出の役割を果たし、安全に使用できることを証明できれば、無輸血小児心臓手術の実現に大きな一歩となると考えた。

平成16年度は、ラット人工心肺モデルを確立し、

90分間の人工心肺運転後7日間において神経学的認知試験を施行した。その結果、Hb小胞体充填群では人工心肺運転中の血液の酸素化が十分に保たれ、慢性期における高次脳機能が維持されることが証明された。

本研究では、Hb小胞体を人工心肺回路の充填液として使用することにより、膜型人工肺が血液を十分に酸素化し、高度な血液希釈状態における酸素供給不足を補うことができることを証明することを目的とした。

B. 研究方法

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%リコンビナントアルブミン（アルブミン群）、②Hb小胞体（HbV群）、③同種血（同種血群）の3群に分けた。Hb小胞体は5%リコンビナントアルブミンに分散させ、Hb濃度を 8.6 g/dL とした。人工心肺回路の充填量は 100ml であった。

ケタラル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ンブタールを静脈投与後、気管内挿管（6mm 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、右顎静脈より中心静脈カテーテル（ダブルルーメン）を挿入留置、血流量測定のために右総頸動脈を剥離、テーピングした。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分間行った。人工心肺運転後、回路内血液を遠心分離し、血球成分を血管内に戻し、120分間生存させた。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。頸動脈血流量は脳血流の総量に比例すると考え、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同様に測定した。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う。

本研究で使用したHb小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 究結果・考察

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 3.0~4.0kg の幼若ビーグル犬は、週齢 8~10 でちょうど離乳したところであるが、当施設での飼育環境への適応は良好であった。また、幼若であるために、喉頭の構造が小さいことに加え、声門が細く、当初は気管内挿管に時間を要し、容易に呼吸性アシドーシスを認めたが、気管内挿管に習熟した後は、問題なく全身麻酔の維持を行うことができた。

溶血や出血による強い血液希釈が当初見られたが、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、アルブミン充填群において人工心肺運転中のヘマトクリット値は 20%を保つことが可能になった。

人工心肺中の動脈血の酸素分圧は 3 群とも高値を保った。動脈血と頸静脈血との間の酸素含有量の差分を、脳の酸素代謝総量に比例すると考え、各群で比較した。

アルブミン群 (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変化に有意差を認めないが、HbV群で低下が少ない傾向にあった。いずれの群も n を重ねている段階である。

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。アルブミン群における人工心肺離脱後の脳血流量の減少は、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 群より同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。

Hb 小胞体の血中半減期は約 20 から 30 時間である。本研究では人工心肺運転中の血液が希釈される、限られた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。したがって、人工心肺離脱後の Hb 小胞体の除去の要否、除去の方法について、検討が必要であり、現在研究が進行中である。

急性肺障害や急性心筋障害の治療に用いられる ECMO(Extracorporeal membranous oxygenation)は、装着に緊急を要することが多いため、回路充填のために迅速に使用できる Hb 小胞体は非常に有用である。また、その運転は数日に及ぶことがあり、輸血回避を目指すならば定期的に Hb 小胞体の補充が必要である。小林のグループの研究によると、動物に対する 1 週間にわたる投与により Hb 小胞体を取り込まれる肝や脾の腫大が認められているが、機能障害などは認めず、安全性が示された。

D. 結論

人工心肺回路の充填に Hb 小胞体を用い、ヒト赤血球と同様の組織への酸素供給能を持つことが証明されたことは、Hb 小胞体の心臓外科領域における臨床応用に向けた一歩になると考える。

E. 研究業績

1 論文

1. R. AEBA, R. Yozu, M. Morita, T. Matayoshi / Total cavopulmonary connection: Open anastomosis of an extracardiac conduit with vacuum-assisted venous drainage. *Ann Thorac Surg* (accepted for publication).

2 著書

1. 饗庭 了. 心臓外科 Knack & Pitfalls / 弁膜症外科の要点と盲点 高本眞一 監修 四津良平 編集 Ross 手術: 自己肺動脈弁を用いた大動脈弁置換術 p103-5. 2005 文光堂 版

2. 饗庭 了. 心臓外科 新井達太 編集 修正大血管転位症 p 148-53. 2005 医学書院 版

3. 饗庭 了 / 心臓血管外科学テキスト ALCAPA 中外医学社 版 (in Press)

3 学会発表

1. 山崎真敬, 饗庭 了, 四津良平 / シンポジウム. 血液代替物の適応。人工心肺による体外循環モデルと人工赤血球による充填効果 / 第12回日本血液代替物学会年次大会 / 2005,6 / 東京

2. 饗庭 了, 四津良平, 山崎真敬, 岡本一真 / パネルディスカッション. 成人先天性心疾患: 小児期手術例の長期予後 大動脈縮窄・離断 (複合), 弁置換 (MVR, AVR)。大動脈縮窄および離断症に対する小児期修復術後成人期に至るまでの再手術について / 第41回日本小児循環器学会総会. 学術集会 / 2005,7 / 東京

3. 山崎真敬, 饗庭 了, 四津良平 / 会長要望演題. 無輸血開心術. ヘモグロビン小胞体を用いた人工心肺充填液の feasibility test / 第41回日本小児循環器学会総会. 学術集会 / 2005,7 / 東京

4. 林拓也, 古道一樹, 仲澤麻紀, 土橋隆俊, 福島裕之, 山岸敬幸, 饗庭 了 / 示説. 当院における ASD 無輸血手術成績 / 第41回日本小児循環器学会総会. 学術集会 / 2005,7 / 東京

5. R. AEBA, T. Anzai, M. Yamazaki, R. Yozu / シンポジウム. Fontan type procedure, state of art. Application of modern technologies for adult cardiac surgery to Fontan procedure. / The 18th Annual Meeting World

Society of Cardio-Thoracic Surgeons-Japan Chapter. /
2005,7 / Nagano

6. T. Anzai, R. AEBA, R. Yozu / Port-access surgery for
a patient with partial anomalous pulmonary venous
connection. The 18th Annual Meeting World Society of
Cardio-Thoracic Surgeons-Japan Chapter. / 2005,7 /
Nagano

7. 饗庭 了, 安西 兼丈, 吉武 明弘, 四津 良平.
/ ビデオ.自己組織のみによる Nikaidoh 手術 / 第 58
回日本胸部外科学会総会 / 2005,10 / 岡山

8. 岡本一真, 饗庭 了, 安西 兼丈, 井上慎也, 吉
武 明弘, 保土田健太郎, 山崎真敬, 鈴木 亮, 木
村成卓, 武田尚一郎, 石田 治, 田野敦子, 小林
美里, 四津良平 / 示説 Ross-Konno 手術の Shone's
complex への適応拡大: 合併する僧帽弁狭窄の限界
について / 第 58 回日本胸部外科学会総会 /
2005,10 / 岡山

9. 山崎真敬, 饗庭 了, 四津良平.示説 / 乳児の無
輸血開心術は本当に“安全”なのか? 高次脳機能か
ら見た実験的検討 / 第 58 回日本胸部外科学会総会
/ 2005,10 / 岡山

10. Y. Miyagi, T. Anzai, K. Hotoda, R. AEBA, H. Kudo,
H. Shimizu, R. Yozu / Port-access surgery for a patient
with partial anomalous pulmonary venous connection. /
The 22nd Congress of Pan-pacific Surgical Association,
Japan Chapter. / 2005,11 / New Caledonia, France

11. M. Yamazaki, R. AEBA, R. Yozu / Use of
Hemoglobin vesicle during cardiopulmonary bypass
priming prevents neurocognitive decline in rat. /
Abstracts of The 2005 Scientific Sessions of the
American Heart Association. / Dallas, Texas, USA /
November, 2005, Circulation 2005(Paper Presented)

12. 武田尚一郎, 工藤樹彦, 古梶清和, 饗庭 了,
山崎真敬, 金子剛士, 高橋辰郎, 宮木靖子, 四津
良平 / ハーモニックスカルペルによる myectomy
が有効であった HOCM を伴った大動脈弁狭窄症の
一例 / 第 136 回日本胸部外科学会関東甲信越地方
会 / 2005,12 / 東京

ICU で使用可能な人工赤血球および ME 技術の開発に関する研究

- 分担課題： 1. Hb 小胞体投与後の血漿および血清採取法
2. Hb 小胞体沈降占有容積率からの濃度換算

分担研究者	宗 慶太郎	早稲田大学 理総研	助教授
研究協力者	土田 英俊	早稲田大学 名誉教授 /	理総研 顧問研究員
	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 理総研	助教授

研究要旨

厚生労働科学研究として推進されている人工赤血球：ヘモグロビン（Hb）小胞体は、感染や血液型不適合の心配がなく、長期間保存が可能で、十分な安全性と機能が実証されている。高濃度 Hb 溶液を脂質二層膜で被覆した微粒子（粒径：250 nm）として最終処方が決定され、現在、臨床治験に向けた準備が進められている。これまで類のない微粒子製剤を大量投与する輸血代替医療を円滑に推進するには、周辺の医療用具、医療機器等の整備も不可欠となる。このため、本研究では、Hb 小胞体の臨床応用に必要な周辺の医療技術の開発を進めることを目的としている。本年度の成果は、(1) Hb 小胞体投与後の血漿や血清採取法の確立のため、高分子凝集剤を採血管に収容させる方法を検討し、現行の血液分離法に適合できる条件を確定。生化学検査にて実用性を確認した。(2) 投与した Hb 小胞体の沈降占有容積率を Hb 小胞体の血中濃度の指標とする妥当性の確認と換算式を作成した。

1. Hb 小胞体投与後の血漿および血清採取法

A. 研究目的

採血液を対象とする臨床検査では、例えば、血液生化学検査等の血漿あるいは血清を対象に行なわれるものがある。このため、採血液から血漿や血清を得る操作は血液検体の処理として通常に行なわれる。Hb 小胞体(粒径 250 nm)は赤血球に比して約 1/30 程の微粒子であるため、血球の遠心分離条件で沈降させるのは実用上困難である。血液検体では溶血や乳糜血漿など、臨床検査の障害となる因子が知られているが、同様の理由により Hb 小胞体の血漿あるいは血清へ浮遊は検査の障害となる。従って、血球の遠心分離条件で Hb 小

胞体を分離できる条件を確定し、これを従来の採血管と同様の取扱いで血漿および血清採取に利用できる方法の開発を目的とした。

C. 研究方法

Hb 小胞体に水溶性高分子を添加する場合、高分子の種類、分子量、濃度などの諸条件により Hb 小胞体の凝集が生起する可能性がある。この凝集体は大粒子として取扱うことができるため、遠心分離での沈降が可能になる。本法はこの原理を利用して、採血液に浮遊する全ての Hb 小胞体を水溶性高分子添加により凝集体とし、これを血球と共に遠心分離で沈降させるものであり、そのための諸