

'06. 6 .11

アサヒ

オキシジェニクスがニプロと

人工酸素運搬体の製造で契約

バイオベンチャーのオキシジェニクス（東京都港区）は5月23日、ニプロとの間で、赤血球の代用品となる人工酸素運搬体「Oxygen Carrier（開発コード=OXY-0301）」の将来製造に関する業務契約を締結したと発表した。

同社は、ニプロと2004年から3年間の共同開発契約を結び、製造技術開発に着手。5月にミニスケールの治験薬製造プラントを稼働させ、ニプロが量産化に向けたスケールアップの検討を進めることとなった。

今回の契約によりニプロは、08年か

らOXY-0301の治験薬の製造を開始する。両社は、研究・開発に関する情報交換などをさらに強化し、今後、海外戦略についても検討していく。

同社は、早稲田大理工学部と慶応大医学部の共同研究による技術シーズを事業化するため、02年12月に設立された。

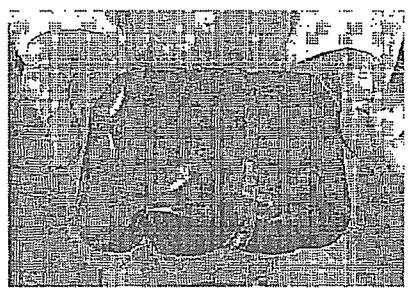
輸血などに使う人工的な血液成分の研究が盛んになっている。国内の献血者数が減少を続けているうえ、献血に頼る限り病原体の感染を完全に防ぐのは難しく、供給は不安定になりがち。今後一層懸念される血液不足の解決に向けて、企業や大学の開発競争が過熱している。

「動物実験で安全性が確認できれば、二〇〇七年度にも臨床試験（治験）に入りたい」。テルモの緒方嘉貴・主任研究員はこう意気込む。同社は人工赤血球を開発。手術や事故などで大量出血した患者に使われることを想定している。

この人工赤血球は、有効期限が切れた輸血用血液から、体内で酸素を運

人工血液 研究盛んに

企業・大学、赤血球や血小板開発



テルモが開発した人工赤血球は、期限の切れた輸血用血液から採取した成分に特殊加工を施している

献血減少に対応

感染症の危険も回避

ぶヘモグロビンを取りだして、今年五月にプロトタイプ、直径二百ナノは十億分の二の微細カプセルにとじ込めて作る。計画だ。

献血で集めた赤血球は有効期限が三週間しかないのに対し、最長一年間の保存が可能。しかも血液型に関係なく使える。製九五年に約六十三万人、造段階でウイルスを殺せなかったのが〇四年は五百

国内の献血者数は一九九五年に約六十三万人、造段階でウイルスを殺せなかったのが〇四年は五百

国内の献血者数は一九九五年に約六十三万人、造段階でウイルスを殺せなかったのが〇四年は五百

るため、感四十万人へ減少。毎年染を完全に度未などに輸血用血液の不足が頻発している。日回避できるのも特徴。本赤十字社は「特に若年層で献血者の減少が激しいため、一回当たりの献血量を増やすことが可能かどうかなど調査を進めている」と話す。だが、ジェニクス現時点では切り札となる対策は見つかっていないが現状だ。

三菱ウェルファーマは遺伝子組み換え酵母に人間の血液中のアルブミンというたんぱく質を作らせ、これを使って量産できる血液製剤の実用化準備を進めている。すでに治験は終了、厚生労働省に製造承認を申請中だ。中堅メーカーの化学及血清療法研究所（熊本市）も同様の血液製剤の治験を実施中で、熊本県菊池市の研究所に量産設備を建設済み。「〇九年の販売開始を目指したい」としている。

あらゆる細胞や生体組織に成長する能力を持つヒト胚（はい）性幹細胞（ES細胞）から血液成分を作る研究も進む。東京大学の中内啓光教授らは、けがをしたときに出血を止める働きをする血小板を世界で初めて作製した。同じ東大の辻浩一郎助教授らは、赤血球を高い効率で作ることに成功した。

実際に臨床応用するには安全性の十分な検証が必要だが、中内教授は「ヒトES細胞から効率よく血液成分ができれば、将来的には献血を不要にできる可能性もある」とみている。（本田幸久）

大地震などの自然災害や突発的な大事故の際に必要な血液を常時確保しておくための人工血液の開発は長年の課題であった。特に赤血球製剤の需要は増加傾向にあり、日本赤十字からの供給は年々増えている。一方で、輸血用血液は慢性的に不足しており、国内の献血者数は、1995年の約630万人から、2004年は547万人へと減少し、今後もヒトからヒトへの輸血では供給不足が進んでいくのは確実。また、ウイルス感染のリスクは完全には消えず、血液製剤を人工血液に代替したいという要望が高まっている。

厚生省は、高度先端医療研究事業として1997年度から大学や医療機関の専門家からなる研究班を設置し、人工血液の開発に取り組んできた。ヒト血液と全く同じものは現在の技術ではコスト的に無理。そのため、血液の45%を占める細胞成分（血球）のうち酸素を運ぶ赤血球の代替となる「人工赤血球」や止血機能を持つ「人工血小板」、感染を抑制する「人工免疫」の3種に的を絞った研究を推進した。

そのうち人工赤血球は、長期の保存ができ、血液型に関係なく安全に十分量の酸素を体組織に補給できる「酸素輸送能」を持つ代替酸素運搬体の開発が目標。

先端研究事業の支援を受けている早稲田大学理工学部の土田英俊名誉教授と武岡真司教授の研究グループは、すでに1980年代からヘモグロビンをリポソームに封入した人工赤血球の実用化に取り組んできた。

人工赤血球は、①ヒトやウシなどの生物由来のヘモグロビンまたは組換えヘモグロビンを利用した製剤と、②ヘム自体を合成した全合成系製剤に大別される。

さらに①は、ヘモグロビンのリポソームにくるんだ「細胞型（カプセル型）」と、ヘモグロビンの構造の一部を化学修飾して安定化した「非細胞型（非カプセル型）」に、また②は、酸素溶解能にすぐれたパーフルオロケミカル（PFC）を使うものと、全合成ヘム（リピドヘム）にそれぞれ小分類される。

早稲田大学理工学部の研究グループが開発したカプセル型ヘモグロビンは、期限切れのヒト赤血球を精製し、人工膜（リポソーム）で包み込んでつくる。ヒト赤血球の保存期間は3週間だが、1年以上の棚置きも可能。長年の研究でリポソーム化人工赤血球の製造に自信を深めた早稲田大学理工学部の研究グループは臨床応用を目指し、1990年代に慶應大学医学部の小林紘一教授と末松誠教授に協力を求めた。慶應大学の研究グループが持つバイオイメージング技術は、生体内の薬剤などの動きを観察するもの。さらに商業化のためには製薬企業の参加が必須だが、欧米が先行し、日本企業が苦戦していたこの分野で手を上げる企業はなかなかみつからなかった。

そこで、末松教授らは、グレン製薬で社長を務めた後、ベンチャー設立支援の「バイオ・アクセラレーター」を立ち上げていた高木智史氏に相談した。高木氏は、人

工血液の将来性を確信し、早慶の研究成果に基づくバイオ・ベンチャー「オキシジェニクス」を2002年12月に設立し、自ら社長に着任した。土田教授ら4人も技術顧問兼創業者に名を連ねる。

高木氏は、2004年にはバイオ・アクセラレーターを辞しオキシジェニクスの事業に専念、さらに2006年には三菱ウェルファーマとニプロの合併会社バイファの社長を務めた大村孝男氏を社長に迎え、自身は会長に就任した。

オキシジェニクスは、早慶グループが開発したリポソーム化PEG人工赤血球を「OXY-0301」として治験に入った。

2007年に日本で臨床開発し、現在輸血に頼っている緊急時や手術時の酸素輸液の代替を狙う（本号 p6）。

オキシジェニクスは、欧と日本と同時進行で開発する。将来は、先進国だけでなく、献血システムの確立していない国でも事業展開することを考えている。同社は、「輸血血液市場全体で約5000億円、人工輸血は推定1000億～1500億円」と試算している（月刊ミクス 34(3)26-27(2006.3)）。

一方、2001年2月の厚生科学研究の研究成果発表会で講演した北海道大学院医学研究科講師の佐久間一郎氏は、「現在の赤血球製剤の市場規模は約500億円で、人工赤血球が仮に10～20%のシェアを獲得したとしても売上げは50～100億円」とし、製造原価を

勘案すると従来の赤血球製剤と同じ薬価では人工赤血球の製品化は困難だが、「人工赤血球にしかない効能がつけば原価計算方式で薬価がつく。オーファンドラッグのような性質があれば薬価が上がり、日の目をみることができると」（日刊薬業 2001.2.14）。

さらに、オキシジェニクスと提携し治験用OXY-0301の大量製造を受け持つことになったニプロは、癌や虚血領域への応用も可能な人工赤血球は、国内約300億円、日米欧で約2400億円とされる現在の赤血球市場と同等以上の市場になるとみている（人工血液 13(1)34-41(2005.3)）。また、経産省新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）は、人工のナノカプセル型人工酸素運搬体製造プロジェクトは日米欧で1500億円の市場創出が可能としている。

ニプロは、オキシジェニクスのOXY-0301とは別の人工赤血球「アルブミン-ヘム」の開発を進めている。同社のアルブミン-ヘムも早慶両大学の研究グループが研究してきたもの。遺伝子組換え法で生産したヒト血清アルブミンにヘモグロビン分子のうちの酸素分子を捕える「ヘム」を包み込んだもので、ヒトのヘモグロビンを全く用いない「完全全合成系」は世界でも初剤が初めてとなる（本号 p8）。ニプロは、長年の早慶両大学の人工赤血球の研究に加え、熊本大学の組換え蛋白質製造技術と、グループ企業であるバイファの組換え蛋白開発・製造技術を結集してアルブミン-ヘムの実用化を目指す。バイファは、三菱ウェルファーマが申請中の初の組換えによるヒト血清アルブミンの製造を担当することになっている。

人工赤血球

テルモは、リポソーム化ヘモグロビンの開発が1988年からと長い経験を持つ。同社が当初福島県立医科大学第一外科と共同開発した「ネオレッドセル」は、赤血球の約1/40の大きさで、前臨床試験でも良好な結果を示した(低温医学 23(3)173-184(97.9))。しかし、リポソームカプセルが高温にして製造するのに対し、ヘモグロビンは熱に弱い蛋白であるため封入することは困難であった。

テルモは10年かけて効率良くリポソームに封入する技術や、感染ウイルスの完全除去のための加熱殺菌法を確立、ナノカプセル型人工酸素運搬体「TRM-645」として開発に入った。テルモのカプセル型人工赤血球の研究開発事業にはNEDOより2003年度から3年間助成金が支給されている。テルモは2007年の臨床入りを目指してGMP製造設備を整えた(本号 p4)。

海外ではテロや大規模災害時の血液代替物のニーズは大きく、1940年代から人工赤血球の研究が始まった。欧米では1997年までに非カプセル型の修飾ヘモグロビンだけで7種の人工赤血球が臨床試験に入った(日本臨床麻酔誌 17(10)549-580(97.10))。

日本は安全性、生体での挙動にすぐれるカプセル型の開発が中心なのに対し、欧米は非カプセル型の開発が中心となっている(表1)。

2004年10月28日に発表された米FDAの赤血球代替物ガイダンス(試案)によると、赤血球代替物の適応症は、①局所的酸素供給(心臓血管手術時灌流、放射線治療や化学療法時の腫瘍感受性増強)、②手術中、手術前後(待機的外科手術)、③外傷が挙げられる。また赤血球代替物による酸素治療剤はファースト・トラック(最優先審査承認制度)の対象になるとしている。

パーフオロケミカルを除き世界初の人工赤血球となったのが、米バイオピュア社の「ヘモピュア」である。ヘモピュアは、精製したウシのヘモグロビンをグルタルアルデヒドで分子架橋して安定化した非カプセル型修飾ヘモグロビン。ウシヘモグロビンの酸素親和性はヒトより低いため、酸素運搬能はヒトのヘモグロビンより高い。ヒトでの血中半減期も24時間に達した。BSE感染の不安が課題とされたが、安全性は認められ、南アフリカでは外科手術による緊急の貧血の適応で発売された。英でも整形外科手術による貧血を対象に申請中で、欧では1993年12月から心血管系虚血に対する酸素療法でもフェーズⅡが行われている。

米では、出血性ショックの軍人と一般市民を対象に外

傷現場から病院までの搬送中にヘモピュアが標準治療の輸液(晶質液)を投与し、死亡率と有病率を比較する単盲法の無作為化比較対照フェーズⅡb/Ⅲ試験(RESUS)を計画していた。しかし、海軍医学研究センター(NMRC)が提出した治験申請に対し、米FDAは2005年7月12日に実施保留との判断を下した(Biopure Press Release 2006.7.14)。

米ノースフィールド社、味の素、米サンガード社の非カプセル型修飾ヘモグロビンは、いずれもヒトヘモグロビンを化学結合でつなぎ合わせて安定化するとともにポリエチレングリコール(PEG)を付加するなどして分子量を大きくし血管から漏出しにくくしたもの。

そのうち、米ノースフィールド社の「ポリヘム」は、期限切れヒト赤血球由来のヘモグロビン4量体を分子間架橋という方法で重合させた。重篤な出血ショック720例に対し生理食塩液を対照薬に、救急車から病院到着12時間後まで投与し、30日間フォローアップするフェーズⅢを実施する。ポリヘムの開発には米国防特別予算の40万ドル(2005年)が付いている。

味の素が開発した安定化ヘモグロビン(PHP)は、ヒトヘモグロビンの酸素親和性を調整するために、PEGを付加し、さらにピリドキシル化して修飾したもの。1995年3月に米アベックスバイオサイエンス(現キュラサイト)社が味の素から製造技術を導入し、米で敗血症ショックを対象にフェーズⅢを進めている。味の素が行ったフェーズⅠでは、100mg/kg(最大7g)の投与で特に副作用はなかった。

米サンガード社の「ヘモスパン」もPEGで化学修飾したヘモグロビン。同社は2005年2月にスウェーデンで輸血代替物としてのフェーズⅡを終了、続いて2005年7月に米でも40例の外科的な出血に対し輸血代替物としてのフェーズⅡを開始した。

バクスター社の「ヘムアシスト」(DCLHb)は、期限切れのヒトヘモグロビン4量体を分子内架橋法でアスピリン類似体の2量体を用いて長期保存できるように化学的に加工した非カプセル修飾ヘモグロビン。

心臓バイパス術など大手術患者を対象に輸血代替物として世界で初めてフェーズⅢが開始されたが、輸血に比べて死亡が多かったとして1998年9月に中止した。日本でもヘムアシストの臨床試験が計画され、日本血液代替物学会が化学修飾ヘモグロビンの評価法に関する留意事項策定案を作成したが、開発中止となった。

表1 人工赤血球の開発

製造法	運搬体	製品名	会社名	開発段階
ナノカプセル(リポソーム)封入	ヒトヘモグロビン	TRM-545	テルモ	2007年臨床予定(日本)
カプセル(リポソーム)封入	ヒトヘモグロビン	OXY-0301	オキシジェン	2007年臨床予定(日欧)
ヘム脂質小球	完全合成ヘム	アルブミン-ヘム	ニプロ	前臨床
非カプセル型架橋修飾	ヒトヘモグロビン	ポリヘム	米ノースフィールド社	フェーズⅢ(米)
非カプセル型架橋修飾	ウシヘモグロビン	ヘモピュア	米バイオピュア社	申請中(欧米)、発売(南ア)
非カプセル型PEG修飾	ヒトヘモグロビン	安定化ヘモグロビン	米キュラサイト社	フェーズⅢ(米)
非カプセル型PEG修飾	ヒトヘモグロビン	ヘモスパン(MP-4)	米サンガード社	フェーズⅡ(米)

リポソーム封入人工赤血球

OXY-0301

ヘモグロビン小胞体
hemoglobin vesicles (HbV)
ヒトヘモグロビнкаプセル型人工酸素運搬体
hemoglobin encapsulated PEG-liposomes
Oxygen Carrier オキシジェンキャリア

開発会社名: オキシジェニクス、ニプロ
共同開発機関: 早稲田大学、慶応義塾大学
人工血液

本剤は、オキシジェニクスが早大、慶大と共同開発中の人工赤血球である。ヒト赤血球（ヘモグロビン）を直径250nmの微細な脂質2分子膜（リポソーム）内に封入した製剤で、100cc中10gの濃度でヘモグロビンを内包する。

約3週間の使用期限が切れた輸血用血液を原料とし、2段階にわたるウイルス不活性・除去処理を行い血液感染などの安全性を高くした。ヒトの赤血球と同等の高いヘモグロビン濃度が維持され、保存安定性にすぐれる点が特徴である。また、血液型に関係ないため、緊急時の輸血の際に血液型検査を行わずに人工酸素運搬体として使用できる。

剤型は注射剤。対象疾患は①緊急用酸素輸液、②手術時の緊急出血など、③備蓄用酸素輸液（災害など）、④癌、虚血性疾患などの低酸素状態の改善治療などを想定している。

本剤は、早稲田大学理工学部の土田英俊、慶應大学呼吸器外科の小林紘一らが開発した^[1]。

性状と特徴

天然のヒト赤血球は、大きさが直径約8 μ mで、直径が4 μ mの毛細血管内を変形して通過し、末梢組織でのガス交換を司る。その寿命は約120日で、老化するにしたがい変形能は低下する。

本剤は、日本赤十字より供与された期限切れヒト

赤血球から精製したヘモグロビンを内包した脂質二重膜構造からなる小胞体である。変形能は有さないが直径が250nmと天然ヒト赤血球の約1/30の大きさであるため毛細血管内をスムーズに通過できる。

本剤の内水相のヘモグロビン濃度は35g/dLで、脂質被膜厚は5~10nmで、天然ヒト赤血球とほぼ同等である。

本剤は膜糖鎖を有していないため、血液型不適合の問題もなく、またリポソームに包含するヘモグロビンは不活性化・除去しているため、輸血に比べて未知の感染症の危険性は極めて少ない。

さらに、ヒト赤血球は4℃で保存期間が最長21日なのに対して、本剤は室温で1年以上保存できる。

本剤の酸素飽和度が50%時の酸素分圧（P50）は27~34Torrで、ヒト赤血球（26~28Torr）と近似している。

機能性試験

ラットの50%出血モデルに本剤を5分間で静脈内投与した。輸血しない非処理群では100%が死亡し、組換えヒト血漿アルブミン（HSA）群では処置6時間後25%が死亡したのに対し、本剤群では0%で、すぐれた蘇生効果と効率的な酸素運搬能が示唆された。

ラットの90%交換輸血モデルに対し、組換えHSA投与群では、交換輸血に伴い著しい血圧低下と腎皮質酸素分圧の低下が見られたのに対し、本剤投与群では血圧・腎皮質酸素分圧とも低下はみられず、また心拍数、下腹大動脈血流量、血液ガス分析値なども良好に維持され、すぐれた酸素運搬能を有することが示された。

カニクイザルに10mL/kgの本剤を静脈内投与したところ、血漿中の本剤由来の総ヘモグロビン、非メト化ヘモグロビンは経時的に低下したが、非メト化ヘモグロビンの消失半減期は約15時間で、救命救急臨床に十分なポテンシャルを有していた。

リポソーム処方の問題点の1つである血小板活性化と凝集の惹起について、ラット、カニクイザルで検討した。本剤は血小板を活性化させない脂質成分（DHSG）を配合している。

カニクイザルに単回静脈内投与した場合、一般的なリポソーム構成成分では血小板数が約20~50%減

少したが、本剤では全く減少しなかった。また、出血時間の変動もほとんどみられなかった。一般的なリボソームがトラップされる肺や、修飾ヘモグロビンの毒性がみられる腎臓の組織剖検でも本剤投与による変化は認められなかった。

安全性・体内動態

本剤20mL/kgをウイスター雄ラットに静脈内投与したところ、脾臓重量の増加、血清アルブミンの減少はいずれも軽微であった。血清中コレステロールは、経時的に増加し2日後に最高値となった後漸減し、1週間後に前値に戻った。

カニクイザルに本剤5、10、20mL/kgを単回投与し、血漿中の本剤由来ヘモグロビン濃度を測定したところ、経時的に低下し、最終相の消失半減期は10mL/kgで2.8日、20mL/kgで2.9日であった。血清の総コレステロールの上昇が認められたが、代謝された本剤のリボソーム成分によるものと考えられた。

本剤のリボソームを調製した^[2]。

本剤は、期限切れ高濃度ヘモグロビン溶液を再び合成リン脂質二分子膜で被覆し直して調製したものである。

本剤の表面はひげ様に描かれているポリエチレングリコール (PEG) 鎖で修飾した (図1)。

PEG鎖の長さや密度は、保存安定性、血液滞留性、血液適合性などの観点から選択したものである。

膜構成成分の主成分にはDPPCとコレステロールを組み合わせた。コレステロールは疎水性相互作用を高めて膜を安定にし、DPPCの相転移濃度 (41℃) 以下では膜流動性を高める効果を持つ。

PEGは分子量5000のものをうい、リボソーム表面のPEG鎖密度は、0.3mol%とした。

PEG修飾効果を血液適合性として80%交換輸血ハ

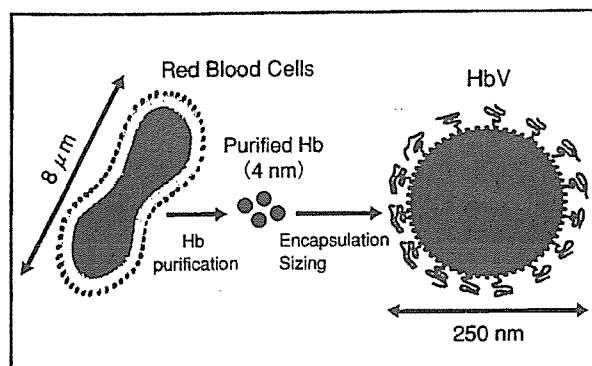


図1 ヘモグロビン小胞体 (HbV) のコンセプト

出典：人工血液 13(4)136-147(2006.5)

ムスターモデルで検討したところ、血流中での分散安定性が保てることが確認された。

文献

- [1] 人工血液 13(1)29-33(2005.3) オキシジェニクス 高木智史らーヒト赤血球由来ヘモグロビンによるヘモグロビン小胞体の開発と酸素輸液としての医療応用：[総説]
- [2] 人工血液 13(4)136-147(2006.5) 早大・理工学院 武岡真司ー分子集合科学を利用した人工血液の創製：[総説]

解説

本剤は、現在臨床準備中である [日本経済新聞 2006.7.17]。

オキシジェニクスは、早大理工学部の土田英俊名誉教授と武岡真司助教授のグループが開発したリボソーム合成技術と、慶應大学医学部小林紘一教授のバイオイメーキング技術を組み合わせた人工酸素運搬体の研究をシーズに事業化する目的で2002年12月に設立された。土田氏らは、1995年から国の支援を受けて研究を進めたきた。

オキシジェニクスの社長に就任した高木智史氏 (現会長) は、元グレラン製薬社長。2006年3月に新たに社長に就任した大村孝男氏は三菱ウェルファーマとニプロの合併会社「バイファ」の元社長である。

オキシジェニクスは、2004年に本剤の3年間の共同開発契約をニプロと結んだ。また、2006年5月にニプロと本剤の事業化を目指して、業務提携した。

日欧で07年に臨床入り、10年実用化へ

業務提携では、オキシジェニクスが2007年春から自社で製造して、日欧で臨床試験を開始、安全性などの確認が進んで対象患者が増えたとみられる2008年からニプロに製造を委託する計画。2010年の実用化を目指す [日経産業新聞 2006.5.24、日刊薬業 2006.5.24、日本経済新聞 2006.5.22]。

オキシジェニクスは、国内では慶應大学病院を中心に治験を進める。海外では後期フェーズⅡに達した段階で他社に供与しライセンス収入を確保する。2006年5月にはGMP治験薬製造設備を京都研究所内に建設した。

ニプロは、2002年から本剤の共同開発プロジェクトに加わり事業化を進めてきた。2007年から本剤のGMP準拠製造プラント設計を開始し、2008年から製造を開始する予定で、両社で早期の大量製造と実用化を目指す。

アルブミンを利用した完全合成赤血球

アルブミン-ヘム

recombinant human serum albumin-heme
rHSA-PeP

開発会社：ニプロ

共同研究機関：早稲田大学、慶應義塾大学、熊本大学
人工血液

本剤は、ニプロが早大、慶大、熊本大と共同開発中のアルブミンを利用した人工酸素輸液（赤血球代替物）である。

血漿増量効果を有する組換えヒトアルブミン（HSA）に、酸素配位能を有するヘム誘導体を包接した構造で、カプセル化の必要がなくそのまま投与できることが最大の利点である。また、献血によるヘモグロビン蛋白を使用しない完全合成系製剤であるため、感染の危険性が全くない。さらに、膠質浸透圧の調節能を有し、調製が簡単で低コストなどのすぐれた特徴がある。現在開発が進んでいる修飾ヘモグロビン製剤のような血管収縮・血圧上昇の副作用がないことが動物実験で確認された。

現在輸血代替として開発中だが、さらに腫瘍の酸素化による放射線治療の向上、虚血部位の酸素化による治療効果の向上など新しい適応へ向けた評価を行っている。

剤型は注射剤。ガラスバイアルのほか、凍結乾燥粉末製剤、さらに凍結乾燥粉末と溶解液のキット製剤の開発を行っている。災害時などに備えた長期備蓄を想定した形態を検討している。

本剤は、ニプロが早大、慶大と共同で開発した[1]。

本剤は、組換えHSAの分子中に合成ヘム誘導体を包接した人工酸素運搬体である。

ヘム誘導体はポルフィン骨格を有したテトラアミノフェニルポルフィリン誘導体である。分子内を配

位することで酸素分子の結合力を調整することが可能であるため、種々の誘導体を検討し、有効性や安全性などからシクロアミノフェニル誘導体（図1）を選択した。

アルブミン-ヘムの製造は、アルブミン水溶液とヘム誘導体エタノール溶液を至適条件下で混合し、アルブミン分子中にヘム誘導体を包接させた。包接させるヘム誘導体数は容易に調整できた。不純物としてのエタノールを除去し、塩濃度を調節、濃縮しアルブミン濃度5%のアルブミン-ヘム溶液を得た。なお、製造中のアルブミン誘導体の安定性を維持するため、予め鉄を還元しておいたヘム誘導体溶液をCOガス通気し、CO結合体として最終アルブミン-ヘム製剤を得た。酸素化の操作が必要のないCOを用いない製造法も確立した。

ラットで安全性と体内動態を調べた[2]。

20%血液交換ラットモデルに投与したところ、血液交換終了6時間までの呼吸・循環器系パラメータ、血液学的検査値は、20%組換えHSA投与群とほぼ同様に推移した。

交換1日後に体重は一旦減少したが、7日後には無処置対照群と同等値にまで増加し、本剤の高い安全性が示された。

本剤投与後の血漿中、主要臓器中のヘム濃度推移を定量したところ、ヘムは肝臓に特異的に捕捉され、14日後には消失した。

本剤の全血との適合成をインビトロで調べた[3]。

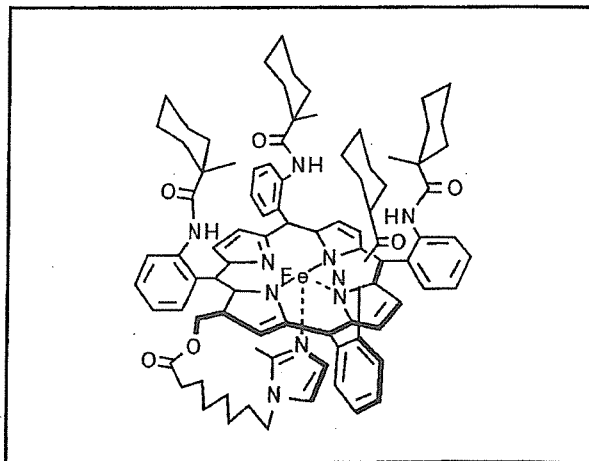


図1 シクロヘキナノイルアミノフェニル誘導体

全血に本剤を添加したところ、血漿相のFeP濃度は6時間の間一定に保持され、赤血球、白血球、血小板数の有意な経時的変化は認められなかった。顕微鏡観察では赤血球形態の変形は認められなかった。

本剤共存下の血液凝固パラメータ（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）にはほとんど影響は認められなかった。

以上、本剤はインビトロで溶液特性に影響を与えず、血液細胞機能も変化させなかった。

出血ラットで本剤の安全性と効果を調べた^[4]。

70%血液交換し、さらに40%出血させた。平均動脈血圧の低下は基準値の約90%まで有意に回復した。

さらに、腎皮質と骨格組織の酸素圧が上昇したことから、本剤のインビボでの酸素輸送効果が示された。

イヌ出血モデルで、本剤の酸素運搬能を評価した^[5]。

ビーグル犬の循環血液量の75%を5%組換えHSAで置換し、30%の脱血を行った。30分間ショック状態を保持した後、脱血量と等量の蘇生液を投与し、4時間までの酸素運搬能を評価した。

蘇生液として5%組換えHSAを用いた対照群では全例が死亡したが、鉄テトラニルボルフィリン誘導体 (Fecy P) を包接した本剤群では全例が生存した。

また、本剤投与により平均血圧は脱血前値の90%程度まで回復し、本剤投与直後の総酸素運搬量に占める本剤由来の酸素運搬量の割合は約25%であった。

以上、本剤は生体内で酸素運搬能を有しており、出血ショックからの回復に有効であった。

本剤とヘモグロビン小胞体 (HbV) のラット腫瘍モデルに対する効果を調べた^[6]。

ドンリユーラットの右大腿部にLY80腫瘍細胞を移植し、1週間後に腫瘍組織20部位の酸素分圧 (TPO₂) を算出した。本剤、HbV、5%組換えHSA (対照) を2.5mL/分/kgずつ投与し、投与4分後より15分後まで20部位のTPO₂を測定した。

その結果、本剤、HbV、対照群の投与前に対するTPO₂比は、それぞれ最大2.5、1.8、1.0で、両酸素運搬体群とも有意に上昇した。

以上、本剤とHbVは腫瘍組織への酸素供給能を有し、殺細胞療法との相乗効果が期待された。

組換えHSAダイマーのDDSへの応用を基礎的に検討した^[7]。

本剤は、組換えHSAに疎水性の合成ヘムを包接した組換えHSA-FePである。さらにHSA分子上で唯一遊離状態で存在する34位のシステイン残基を化学的に架橋したアルブミン二重体は、血液の1.3倍量以上の酸素を溶解できた。

将来的な組換えHSAダイマーの製剤化を視野に入れ二量化組換えHSA-FePの臨床応用につながる組換えHSAダイマーの基礎的評価を行った。

その結果、BMHを用いた架橋による組換えHSAの大きな構造変化は起こらないことが確認された。

加えて、熱やpHに対する構造安定性は二量体化で増大した。また、HSAの機能は、一量体と二量体で同程度であったが、コロイド浸透圧は約1/2に抑制し、ダイマーは膠質浸透圧を維持したまま高用量投与が可能と考えられた。

さらに、両者の放射線標識体をラットに急速静脈内投与したところ、ダイマーでは血中からの消失半減期が延長し、炎症やネフローゼ症候群などの病態時におけるHSAの血管外漏出や糸球体濾過を回避できる可能性が示された。

以上の知見は、本剤 (二量体) の臨床応用に向けた基礎的資料となるものだが、今後組換えHSAダイマーに変異を施すことなど、DDS製剤としての応用の可能性が考えられた。

文 献

- [1] 人工血液 13(1)34-41(2005.3) ニプロ・医薬研 甲斐俊哉らー完全合成型人工酸素運搬体の開発：[製法]
- [2] 日本血液代替物学会 (11回)49(2004.9) 早大・理工学部総合研究セ 小松晃之らーアルブミン-ヘム製剤の安全性に関する検討：[安全性試験]
- [3] 血液代替物国際会議 (9回)P-6(2003.3) Y. Huang (Waseda Univ)-Compatibility of Albumin-Heme with Blood Cell Components：[安全性試験]
- [4] 血液代替物国際会議 (9回)WS-I-3(2003.3) Komatsu T. (Waseda Univ)-Serum Albumin Including Synthetic Hemes as an Oxygen-Carrying Hemoprotein：[安全性試験]
- [5] 日本血液代替物学会 (12回)P-13(2005.6) 慶大・呼内山本尚志らー麻酔下イヌ出血ショックモデルを用いた人工酸素輸液アルブミン-ヘムの酸素運搬評価：[薬理試験]
- [6] 血液代替物国際会議 (9回)P-24(2003.3) Iwamura A. (Nat Seiran-sou Hosp)-Tumor Oxygenation Using the Hemoprotein (rHSA-FeP) and the Hemoglobin-Vesicle (HbV) in a Rat LY80 Tumor Model：[薬理]

試験]

- [7] 日本薬剤学会 (18年会)6-3-09(2003.4) 熊本大・薬 岡
井淳平ら－組換え型ヒト血清アルブミン二重体の
DDS応用に関する基礎的検討：[薬理試験]

●— 解 説

本剤は、現在前臨床の段階にある。

ラット、イヌを用いた交換輸血実験で酸素運搬効果を確認し、大量製造方法の検討に着手している。

ニプロは、オキシジェニクスと提携したヒトヘモグロビンカプセル型人工酸素運搬体 (OXY-0301) と本剤の製造施設を自社注射工場と併設して設備する。

ニプロは、赤血球市場は日米欧で約2400億円 (国内約300億円) と推定し、人工赤血球市場はこれと同等以上とみている (人工血液 13(1)34-41 (2005.3))。

血清アルブミン利用の完全合成系

現在実用化が進められている人工赤血球は、原料となる赤血球の確保とウイルスの完全除去・未

知病原菌への対応などで課題を残している。

本剤は、ヒト血清アルブミン (HSA) 自身の非特異的多分子結合能、血漿増量効果に加え、組換えHSAの高純度、生体への高い適合性、非感染性、量産性などの特徴に着眼し、組換えHSAに酸素配位能を有するヘム誘導体を包接する方法で調製した合成ヘム蛋白質である。

完全合成系製剤なので感染の危険性がなく、一切の血液資源を必要としない。

また、酸素親和性 (P50: 1~60Torr) の制御が比較的容易で、赤血球の値に調整できる。

さらに、アルブミンが血管内皮を通過しないため修飾ヘモグロビンでみられるようなNO捕捉に伴う血管収縮や血圧上昇などの副作用はない。

本剤は、すでに酸素輸液としての酸素結合能、溶液物性、血液適合性は実証されており、安全性と効果の解明を中心とした評価実験が進行している。また、組換えHSAで確立された製造・精製、品質管理方法の基礎技術を基に量産にも目途が立っている。

いわゆる赤血球代替物 (輸血) としての開発に留まらず、酸素のDDSとして適応拡大を目指した基礎研究も行っている (日本血液代替学会 (9回) 86(2002.9))。