

- hypoxia-related inflammation in critically ischemic hamster flap tissue. *Crit Care Med.* 35, 899-905 (2007).
3. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi. One-year observation of Wistar rats after infusion of Hb-vesicles (Artificial oxygen carriers). *Artif. Cells Blood Substitutes Biotechnol.* 35, 81-91 (2007).
 4. H. Abe, H. Azuma, M. Yamaguchi, M. Fujihara, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, H. Ikeda. Effects of hemoglobin vesicles, a liposomal artificial oxygen carrier, on hematological responses, complement and anaphylactic reactions in rats. *Artif. Cells Blood Substitutes Biotechnol.* 35, 157-172 (2007).
 5. H. Sakai, A. Sato, S. Takeoka, E. Tsuchida. Rheological properties of hemoglobin vesicles (artificial oxygen carriers) suspended in a series of plasma substitute solutions. *Langmuir* 23, 8121-8128 (2007).
 6. H. Sakai, A. Sato, K. Masuda, S. Takeoka, E. Tsuchida. Encapsulation of concentrated hemoglobin solution in phospholipid vesicles retards the reaction with NO, but not CO, by intracellular diffusion barrier. *J. Biol. Chem.* 283, 1508-1517 (2008)
 7. M. Yamamoto, Y. Izumi, H. Horinouchi, Y. Teramura, H. Sakai, M. Kohno, M. Watanabe, T. Adachi, E. Ikeda, S. Takeoka, E. Tsuchida, K. Kobayashi. Systemic administration of hemoglobin vesicles elevates tumor tissue oxygen tension and modifies tumor response to irradiation. *J. Surg. Res.* (in press).
 8. M. Yamaguchi, M. Fujihara, S. Wakamoto, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, H. Hamada, H. Azuma, H. Ikeda. Effects of hemoglobin vesicles, a cellular-type artificial oxygen carrier, on human hematopoietic stem/progenitor cells in vitro. *J. Biomed. Materials Res. A.* (in press).
 9. 佐藤 敦、酒井 宏水、武岡 真司、土田 英俊. 各種代用血漿剤に分散させたヘモグロビン小胞体 (人工赤血球)とその血液混合系のレオロジー特性. *日本ヘモレオロジー学会誌* (in press)
 10. H. Sakai, A. Sato, P. Sobolewski, S. Takeoka, J.A. Frangos, K. Kobayashi, M. Intaglietta, E. Tsuchida. NO and CO binding profiles of hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers. *Biochim. Biophys. Acta (Proteins & Proteomics)* (in press).
 11. H. Sakai, M. Okamoto, E. Ikeda, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Histopathological changes of rat brain after direct injection of hemoglobin-vesicles (oxygen carriers) and neurological impact in an intracerebral hemorrhage model. *J. Biomed. Materials Res. Part A* (in press).
 12. H. Sakai, Y. Seishi, Y. Obata, S. Takeoka, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi. Fluid Resuscitation with Artificial Oxygen Carriers in Hemorrhaged Rats: Profiles of Hb-vesicles Degradation and Hematopoiesis for 14 days. *Shock.* (submitted, Jan. 23, 2008)
 13. J. A. Plock, N. Rafatmehr, D. Sinovic, Y. Harder, H. Sakai, E. Tsuchida, A. Banic, D. Erni. Hemoglobin vesicles improve wound healing and tissue survival in critically ischemic murine skin. *Biomaterials* (submitted, Jan.).
 14. P. Bercik, H. Sakai, J. Lu, E. Tsuchida, S.M. Collins. Intestinal motor and barrier functions are preserved using hemoglobin vesicles (HbV) as an oxygen carrier in a model of isolated arterially perfused murine intestine. (to be submitted).
- (総説、著書など)
1. 酒井宏水、堀之内宏久、山本学、池田 栄二、武岡真司、高折益彦、土田英俊、小林絃一 / ヘモグロビン小胞体(HbV)-リコンビナントアルブミン分散溶液による40%交換輸血:ラット脾臓内HbV代謝と造血に関する2週間の観察 (論文記事、Secondary Publication). *日本輸血細胞治療学会誌* 53, 47-55 (2007)

2. D. Ermi, R. Wettstein, C. Contaldo, J. Plock, N. Rafatmehr, H. Sakai, E. Tsuchida. Hemoglobin vesicles to treat hypoxia in critically ischemic tissue. *Artif. Blood* 15, 58-64 (2007).
3. 酒井宏水、土田英俊. 輸血の代替が可能な酸素輸液の実現と組織再生技術. *環境と健康* 20, 464-472 (2007)
4. H. Sakai, E. Tsuchida. Hemoglobin-vesicles for a Transfusion Alternative and Targeted Oxygen Delivery. *J. Liposome Res.* 17, 227- 235 (2007).
5. H. Sakai, K. Sou, E. Tsuchida. Solution to the problems of acellular Hbs by encapsulation, and the intrinsic issues of Hb-vesicles as a molecular assembly. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine* 9, 226-236 (2007).
6. H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers: Present situation and future vision. *J. Intern. Med.* 263, 4-15 (2008).
7. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers (Review paper). *Artif. Organs* (submitted)
2. 学会発表
 1. 宮川賀仁、酒井宏水、佐藤 敦、堀之内宏久、武岡真司、高折益彦、小林紘一、土田英俊／人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)と各種代用血漿剤の併用によるラット血液交換試験／第56回高分子学会年次大会／2007.5.29-31／京都国際会議場
 2. 酒井宏水、堀之内宏久、小林紘一、土田英俊／人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)による50%出血性ショック蘇生後の回復過程／第56回高分子学会年次大会／2007.5.29-31／京都国際会議場
 3. 佐藤敦、酒井宏水、武岡真司、土田英俊／各種代用血漿剤(水溶性高分子)に分散させた人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)とその血液混合系のレオロジー特性／第56回高分子学会年次大会／2007.5.29-31／京都国際会議場
 4. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi. / Fluid resuscitation with Hemoglobin-vesicles (Artificial Red Cells) in hemorrhaged rats and profiles of recovery for 14 days. / 53rd Annual Conference of ASAIO / 2007. 6.7-9 / Chicago, USA.
 5. 酒井宏水、佐藤敦、宮川賀仁、武岡真司、堀之内宏久、高折益彦、小林紘一、土田英俊／ヘモグロビン小胞体と各種代用血漿剤の併用に関する検討／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 6. 須崎裕典、酒井宏水、小林直樹、池田達彦、堀之内宏久、小林紘一、武田朴、戸川達男、土田英俊／ヘモグロビン小胞体に対応できる多波長パルス分光法を用いたパルスオキシメータ／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 7. 池田達彦、堀之内宏久、井澤菜緒子、河野光智、泉陽太郎、渡辺真純、川村雅文、宗慶太郎、酒井宏水、土田英俊、小林紘一／Beagle犬を用いた40%脱血ショックにおけるHb小胞体の蘇生効果および中長期生存の評価／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 8. 河野光智、堀之内宏久、泉陽太郎、酒井宏水、土田英俊、小林紘一／ヘモグロビン小胞体の炎症性腸疾患治療への応用／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 9. T. Sato, H. Sakai, K. Sou, O. Glatter, E. Tsuchida. / Statistically valid structural information on hemoglobin vesicle (HbV) by means of small-angle X-ray scattering (SAXS) and dynamic light scattering (DLS).／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 10. 藤原満博、高橋大輔、東寛、酒井宏水、宗慶太郎、武岡真司、土田英俊、池田久實／In vitroにおけるヘモグロビン小胞体のヒトTリンパ球増

- 殖反応に対する影響／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
11. 高橋大輔、藤原満博、東寛、宗慶太郎、酒井宏水、武岡真司、土田英俊、池田久實／リポソームがラット免疫系に及ぼす影響／第14回日本血液代替物学会 年次大会／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
 12. 酒井宏水、土田英俊／(招待講演)人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)の配位子反応／第4回Heme Oxygenase研究フォーラム／2007.8.24／京都府立医科大学, 青蓮会館
 13. H. Sakai, E. Tsuchida. / Targeted oxygen delivery by Hb-vesicles. (poster) / 12th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes / 2007. Aug. 27-31 / Fukuoka International Congress Center.
 14. H. Sakai, A. Sato, S. Takeoka, E. Tsuchida. / Rheology control of hemoglobin- vesicles (artificial oxygen carriers) suspended in a series of plasma substitute solutions (water-soluble polymers). (poster) / 12th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes / 2007. Aug. 27-31 / Fukuoka International Congress Center.
 15. T. Sato, H. Sakai, K. Sou, O. Glatter, E. Tsuchida. / Static and Dynamic Structures of Hemoglobin Vesicle (HbV) and Related Bio-Inspired Systems. (poster) / 12th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes / 2007. Aug. 27-31 / Fukuoka International Congress Center.
 16. Y. Ebihara, S. Hanada, H. Sakai, E. Tsuchida, T. Nakahata, H. Nakauchi, K. Tsuji / Generation of human embryonic stem cell-derived erythroid cells with functional maturity. / International Society of Experimental Hematology, 36th Annual Scientific Meeting / Sept. 28-30, 2007 / Hamburg Convention Center, Germany
 17. T. Sato, H. Sakai, K. Sou, O. Glatter, E. Tsuchida. / Accurate and quantitative determination of the structural profiles of hemoglobin-vesicle by means of X-ray and light scattering techniques. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 18. H. Sakai, A. Sato, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. / Hemoglobin vesicles as artificial oxygen carriers: Interactions with ligand molecules in the production process and in blood circulation. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 19. H. Horinouchi, N. Aikawa, M. Kohno, Y. Izumi, H. Sakai, K. Sou, T. Komatsu, E. Tsuchida, K. Kobayashi. / Change of cytokine production in intra-abdominal hemorrhage model. -Effect of hemoglobin-vesicles. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 20. T. Ikeda, H. Horinouchi, M. Kohno, Y. Izumi, M. Watanabe, H. Sakai, K. Sou, E. Tsuchida, K. Kobayashi. / Resuscitation effect and long term effect of Hb vesicles on organ function in beagle dog. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 21. M. Kohno, H. Horinouchi, Y. Izumi, T. Ikeda, H. Sakai, E. Tsuchida, K. Kobayashi. / Application of hemoglobin vesicles to anemia due to inflammatory bowel disease in a mouse model. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 22. Y. Izumi, T. Yamada, E.N. Ogawa, H. Morisaki, H. Sakai, H. Horinouchi, J. Takeda, E. Tsuchida, K. Kobayashi. Administration of hemoglobin vesicle under mechanical ventilation does not affect lung function. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
 23. A. Sato, H. Sakai, M. Takaori, S. Takeoka, E. Tsuchida. / Rheological properties of Hb-vesicles

- suspended in a series of plasma substitute solutions. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
24. H. Suzuki, H. Sakai, N. Kobayashi, T. Ikeda, H. Horinouchi, K. Kobayashi, S. Takeda, T. Togawa, E. Tsuchida. / Multiwavelength pulse spectrophotometry applicable for hemoglobin-vesicles. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
25. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi. / Fluid resuscitation with Hb-vesicles in hemorrhaged rats and profiles of recovery for 14 days. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
26. P. Bercik, H. Sakai, J. Lu, K. Kobayashi, E. Tsuchida, S.M. Collins. / Intestinal barrier function is preserved using Hb vesicle (HbV) in a model of isolated arterially perfused murine intestine. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
27. K. Sou, H. Sakai, E. Tsuchida. / Surface characteristics of hemoglobin-vesicles: electrostatic properties and interaction with blood components. / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
28. H. Sakai, K. Sou, E. Tsuchida. / Ligand reactions of hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers. / 9th International Symposium on Polymers for Advanced Technologies / 2007. Oct. 22-25 / Beijing, China.
29. T. Sato, H. Sakai, K. Sou, O. Glatter, E. Tsuchida. / Static structure and dynamics of hemoglobin vesicle (artificial blood substitute) and its related systems. / 9th International Symposium on Polymers for Advanced Technologies / 2007. Oct. 22-25 / Beijing, China.
30. 富田裕、鳥海春樹、長田高志、富田稔、畝川美悠紀、酒井宏水、土田英俊、堀之内宏之、小林紘一、鈴木則宏 / マウス脳梗塞モデルへの人工赤血球投与の試み / 第19回 日本脳循環代謝学会総会 / 2007. 10.25-26 / 盛岡
31. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. / Hb-vesicles as artificial oxygen carriers: Interactions with ligand molecules in the production process and in blood circulation. / 2007 Joint Congress of the 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs (JSAO) and The 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs (IFAO) / October 28-31, 2007 / Osaka
32. H. Horinouchi, T. Ikeda, N. Izawa, H. Sakai, K. Sou, E. Tsuchida, K. Kobayashi, E. / Long term survival study after resuscitation of hemorrhagic shock model in beagle dog: Hb-vesicles has an equal potentiality for resuscitation compared to the autologous blood. / 2007 Joint Congress of the 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs (JSAO) and The 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs (IFAO) / October 28-31, 2007 / Osaka
33. P. Bercik, E.F. Verdu, J. Lu, H. Sakai, T. Tompkins, E. Tsuchida, M. Perdue, and S.M. Collins. / Effect of bacterial eradication and probiotic treatment on H. Pylori-induced intestinal barrier dysfunction / Canadian gastroenterology congress / February, 2008.
34. 酒井宏水、土田英俊 / 物質としての人工赤血球の特徴 / 平成19年度研究成果発表会「人工血液をつくる(8)」 / 2008.2.11 / 慶應義塾大学医学部北里講堂
35. H. Sakai, A. Sato, S. Takeoka, E. Tsuchida / Hb encapsulation in vesicles retards the reaction with NO by intracellular diffusion barrier, and the relevance to the vasoinactive properties of RBCs and Hb-vesicles / 第33回日本微小循環学会 総会 / 慶應義塾大学三田キャンパス / 2.21-22. 2008

分担研究報告書

人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究

分担課題：人工酸素運搬体の安定的な試料製造およびパイロットプラントの整備

分担研究者 山根 恒彦 株式会社オキシジェニクス 京都研究所 主任研究員

研究要旨

Hb小胞体（HbV）は、ヒト赤血球から精製した高純度高濃度Hb溶液をリン脂質小胞体に内包させた人工酸素運搬体である。厚生労働省科学研究における分担研究者の研究に供するため、スケジュール通りに試料製造を実施した。試料の物性を検証し、均質で要求項目に沿った資料が製造されたことが明らかとなった。パイロットプラントにおけるGMP製造の基礎技術となると考えられた。

A. 研究目的

人工酸素運搬体（Hb小胞体）の研究は厚生労働科学研究(平成9-14年研究代表者：土田英俊、平成15-18年研究代表者：小林紘一)として推進され、酸素運搬の役割を代替するために必要な物性と機能の改良を行い、動物試験によりその有効性と安全性の基本的事項が証明されている。臨床応用にはGMP製剤が必要であることから、平成13年度にオキシジェニクス社を設立し、産官学の共同体制のもと、厚生科研の成果として得た基本製造法を早稲田大学よりオキシジェニクス社に技術移転を行った。平成1年度には5Lまでスケールアップを行い、物性規格値の見直し、製造工程の最終決定、GMP製造設備の設計と設置を実施した。平成18年度は、厚生労働省科学研究で使用するHbV試料を調整し、また、パイロットプラントにおけるGMP下での治験薬製造を目指した製造技術の確立を目指した。

B. 研究方法

原料のヒト赤血球は日本赤十字社から期限切れの未使用「人赤血球濃厚液」の供与を受けた。これを原料に、株式会社ローマン工業にGMP基準下

でのヒトヘモグロビンの精製を委託した。また脂質類は日本精化株式会社と日本油脂株式会社から供給を受けた。オキシジェニクス社の京都研究所にて、厚生労働省科学研究に使用するHbV試料をスケジュールに従って調整した。また、パイロットプラントを建設し、GMP製造のためのValidationが可能となるべく製造技術を改良した。

C. 結果及び考察

1ロット当たり5Lスケールの厚生労働省科学研究用試料を2ロット作成し、また、ヘモグロビンを内包しない空小胞体の製造を1ロット製造した。また、これらの物性を評価し、規格値の範囲内にあることを確認した。パイロットプラントを建設し、製造技術の確立を図った。

D. 結論

厚生労働省科学研究に用いるHbV試料を調整し、規格に沿った物性を持つことが明らかとなった。GMP設備での製造が待たれる。

E. 研究発表

三田キャンパス

1. 論文発表

1. H. Komatsu, T. Furuya, N. Sato, K. Ohta, A. Matsuura, T. Ohmura, S. Takagi, M. Matsuura, M. Yamashita, M. Itoda, J. Itoh, H. Horinouchi, K. Kobayashi. Effect of hemoglobin vesicle, a cellular-type artificial oxygen carrier, on middle cerebral artery occlusion- and arachidonic acid-induced stroke models in rats. *Neurosci. Lett.* 421, 121-125 (2007).

2. 小松弘嗣、古屋利行、森田典子、勢司泰久、松浦昭宏、大村孝男、高木智史、鹿志村剛、平泰彦／ヘモグロビン小胞体(OXY-0301)の臨床試験へ向けた生物学的評価／第14回日本血液代替物学会年次大会／2007.6.14-15.／東京 慶應義塾大学三田キャンパス

2. 学会発表

1. 古屋利行、森田典子、勢司泰久、小松弘嗣、松浦昭宏、大村孝男、高木智史／ヘモグロビン小胞体(OXY-0301)のラット出血性ショックモデルにおける効果／第14回日本血液代替物学会年次大会／2007.6.14-15.／東京 慶應義塾大学

F. 報道

なし

G. 知的財産権の出願・登録情報

当該なし。

分担研究報告書

人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究

分担課題：人工臓器としてのHb小胞体の臨床応用における安全性の評価

分担研究者	高野 久輝	ニプロ株式会社 総合研究所 人工臓器開発センター センター長
研究協力者	堀之内宏久	慶應義塾大学医学部 呼吸器外科 准教授
	勢司 泰久	慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター
	酒井 宏水	早稲田大学理工学研究所 准教授

研究要旨

血液は全身の臓器、組織を灌流し、“動く臓器”とも呼ばれその機能は対組織に必要な成分の運搬、シグナル伝達、老廃物の運搬、環境条件の維持、生態防御など多岐にわたっている。この意味で人工酸素運搬体は人工臓器のひとつと定義されている。薬剤としての特徴も有する人工酸素運搬体を使用される状況を考えると、人工臓器としての安全性と薬剤としての安全性の双方を満足させる必要がある。人工臓器と考える場合、経時的変化による損耗をどのように評価するかということが問題となる。Hb小胞体(HbV)は高濃度のヘモグロビンをリン脂質膜で被覆した物質であるので、損耗が起こると脂質膜の脂質成分の脱落による脂質膜の統合性の消失や血管内比との相互反応の増強が起こる可能性がある。現在までの検討により、HbVは細網内皮系に取り込まれて代謝されることが明らかとなっているが、細網内皮系への取り込みはHbVの血流中での損耗とどのように関係しているかについてはまだ明らかとはなっていない。主として班会議および学術集会において他の研究者と意見を交換して人工臓器としての安全性を確立する方法についての検討を継続した。分担研究者の研究の方向性についても協議をおこなった。また、本年度は昨年に引き続き、他の人工臓器との適合性につき *In vitro, in vivo* モデルを作成して検討することとした。

A. 目的

血液は“動く臓器”とも呼ばれ、その機能は体組織に対し必須成分（酸素、栄養分、ホルモンなど）の運搬、老廃物の運搬、環境条件(温度、pH、浸透圧)の維持、生体防御など、多岐に及ぶ。その意味で、人工酸素運搬体は“人工臓器”の一つとして定義されている。Hb小胞体(HbV)が赤血球に比較して長期保存が可能であり、また赤血球に比較して低張溶血が起こり難いなど、構造的安定性に優れることが明らかになっている。しかし、体内に投与し

た場合のHb小胞体の安定性、ひいては人工臓器使用時の安定性に関する知見は皆無といえる。平成19年度は、18年度に続き、剪断速度に対するHb小胞体の安定性について基礎的な知見を得るとともに、人工臓器使用時のHb小胞体の安全性について検討するため、動物モデルを作成することを目的とした。

B. 方法

人工酸素運搬体の生体への投与による安全性と

有効性については、現在までの研究で明らかにされつつあるが、人工臓器として広く用いられている人工弁、人工腎臓、膜型肺、ローラーポンプ、遠心ポンプが使用される状況下での変化については十分な知見が得られていない。現在、体外循環の充填液としての臨床応用の可能性が検討されている。人工心肺の回路は人工肺、ローラーポンプ、熱交換器より成り、この回路での適合性を評価することによってこのような人工臓器との併用状況で問題となる凝固系への影響や血球成分の変化、Hb小胞体そのものの剪断応力に対する安定性などが総合的に判定できると考えられた。

1. ラットを用いた人工心肺モデル

ラット用に開発したPriming Volume40ml, 人工肺部分長10cm、熱交換器とリザーバーを有する回路を作成し、脱血は上大静脈、送血は尾動脈とし、90分間の人工心肺の運転を行う、高次脳機能の解析に用いるモデルを用いて検討した。

90分後、人工心肺を終了した際に、回路に残る血液を回収、4500 rpm、15分で血球成分を回収、動物に返血した。

本実験には返血後に残った血漿成分を用いて検討を行った。血漿成分はHbV/5%rHSAで充填した群ではHbVが通常の遠心では沈澱せずに血漿層に分散して残るため、混濁した赤橙色を呈していた。この血漿層を30000rpm30分の超遠心を行い、HbVを沈殿させて上清を検討することとした。

2. レオメータを用いた安定性の評価

剪断応力に対するHb小胞体の安定性について基礎的な知見を得るため、コーンプレート型レオメータ(Physica MCR301, Anton Parr社製)を用い、Hb小胞体分散液または、ヒト洗浄赤血球 ([Hb] = 10

g/dL)に対して剪断速度 1500 s^{-1} にて60, 120分流動させた後の溶血率を測定した。流動試験は 25°C にて行った。

C. 結果および考察

1. ラットを用いた人工心肺モデル

5%rHSA群、HbV/5%rHSA群ともに遠心後の血漿分画は透明であったが、個体により溶血を疑わせるあわい橙赤色の色調を呈したサンプルも認められた。比色によりHb特有の吸収を示し、ラットの赤血球の溶血あるいはHbVの崩壊により血漿中に遊離したHbの存在が示唆された。この系ではラットの赤血球が溶血してHbが遊離したのかHbVが崩壊したためかを確認するため、今後 Human Hemoglobin Eliza Quantitation kit (Bethyl社製)を用いて検討する予定である。

2. レオメータを用いた安定性の評価

ヒト赤血球では、 1500 s^{-1} で回転させ続けると、溶血率は60分で約1.5%、120分では5%に達したが、Hb小胞体では、溶血率は0.4%未満と極めて低い値であった。従ってHb小胞体が赤血球に比較して力学的強度が優れることが明らかになった。今後は、より高い剪断応力に対するHb小胞体の安定性について評価する予定である。

D. 研究業績

1. 学会発表

高野 久輝/人工心臓の現状と展望 (学術講演) / 第23回体液・代謝管理研究会/2008年1月26日/泉佐野市りんくう全日空タワーホテル大阪

E. 知的財産権の出願・登録情報

該当無し。

分担研究報告書

人工酸素運搬体の臨床応用に関する研究

分担課題：Hb小胞体のGMP製剤製造方法の確立

分担研究者 甲斐 俊哉 ニプロ株式会社 医薬品研究所 製剤研究部 部長
 研究協力者 西田 誠司 ニプロ株式会社 医薬品研究所 製剤研究室 室長
 片山 直久 ニプロ株式会社 医薬品研究所 製剤研究室 主席研究員

研究要旨

オキシジェニクス社にてパイロットプラントに対応したスケールでのHb小胞体（HbV）の製造を開始した。製造工程で巨大粒子の生成が認められたため、巨大粒子に関する基礎情報を得る目的で、pH、塩化ナトリウム及びグルコース溶液中での巨大粒子の変化を観察した。その結果、それらの因子は巨大粒子の挙動に影響を及ぼさなかった。また、弊社でもHbV製造を行えるようオキシジェニクス社より製造の技術移転を行った。

A. 目的

昨年度までに、Hb小胞体(HbV)のGMP製剤製造に向け、パイロットプラント以上のスケールに対応した製造設備の構築を行ってきた。今年度より、オキシジェニクス社京都研究所に新たに導入された治験薬GMP設備にて、製造の検討を開始した。ここで、HbV製造過程の終盤に巨大粒子（粒子径：1～10 μm）が生成することが判明した。HbVの粒子径は造粒工程により平均220 nmに整粒されるため、その後の未内包Hb除去、脱CO工程及び脱酸素工程で生成したものと考えられる。本年度の研究は、巨大粒子に関する基礎情報を収集することを目的として、巨大粒子に及ぼす、① pH、② 塩化ナトリウム、③ グルコースの影響について検討を行った。さらに、弊社でもHbV製造を可能とするため、オキシジェニクス社より技術移転を行った。

B. 方法

検体として、製造工程中の処理の異なる3種類のHbV試料（A. 透明巨大粒子を多く含むもの、B. 白

色巨大粒子を多く含むもの、C. 巨大粒子を含まないもの）を用いた。以下の検討項目に示すそれぞれの方法で試料を処理し、巨大粒子の変化を顕微鏡により観察し、また巨大粒子増減に伴う粘度の変化については毛細管粘度計法（ウベローデ型粘度計）により評価した。

1. pHの調節

試料3.5 mLに1 mol/L HClまたは1 mol/L NaOHを加えて、それぞれpH5, 6, 7, 8に調整した後、生理食塩液を加えて14 mLとした。

2. 塩化ナトリウム濃度の調節

以下の調製方法に従い、塩化ナトリウム濃度として0.225, 0.9及び9%の3濃度の水溶液を調製した。

試料3.5 mLに蒸留水10.5 mLを加えて混和し、0.225%塩化ナトリウムを含む試料とした。

試料3.5 mLに生理食塩液10.5 mLを加えて混和し、0.9%塩化ナトリウムを含む試料とした。

試料3.5 mLに45%塩化ナトリウム水溶液10.5 mL

を加えて混和し、9%塩化ナトリウムを含む試料とした。

3. グルコース濃度の調節

以下の調製方法に従い、グルコース濃度として5及び20%の2濃度の水溶液を調製した。

試料3.5 mLに12.5%グルコース溶液10.5 mLを加えて混和し、5%グルコースを含む試料とした。

試料3.5 mLに50%グルコース溶液10.5 mLを加えて混和し、20%グルコースを含む試料とした。

Table 1. pHの影響

	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
A	0.790	0.790	0.772	0.794
B	1.008	1.031	1.020	0.968
C	0.869	0.857	0.880	0.923

(単位：mm²/s)

Table 2. 塩化ナトリウムの影響

	0.225%	0.9%	9%
blank	0.746	0.761	0.835
A	0.819	0.775	0.896
B	1.049	1.064	1.087
C	0.917	0.892	0.962

(単位：mm²/s)

Table 3. グルコースの影響

	5%	20%
blank	0.825	1.362
A	0.886	1.517
B	1.096	1.691
C	0.986	1.548

(単位：mm²/s)

(表1~3)

A：透明巨大粒子を多く含むもの

B：白色巨大粒子を多く含むもの

C：巨大粒子を含まないもの

C. 結果及び考察

巨大粒子に及ぼすpH、塩化ナトリウム及びグルコースの影響について検討を行ったところ、それぞれの試料に含まれる粒子の顕微鏡パターンには差が認められなかった。

試料A~Cの動粘度は、白色巨大粒子を多く含む試料Bで大きかった。Table 1に示されるように、pHが5~8の間では、それぞれの試料に粘度の変化は認められなかった。また、Table 2及びTable 3から塩化ナトリウムやグルコース濃度の変化による粘度の変化は認められたが、blankでも同様の挙動を示しており、HbV巨大粒子の増減による現象ではないものと推察された。

今後、巨大粒子生成に寄与する製造工程を特定すると共に、その改善手段について検討していく必要がある。

また、Hb液調製から脱酸素工程に至る全行程について、オキシジェニクス社より技術移転を行った。製造されたHbVは、現時点での仮規格を全て満たしており、今後、弊社での製造も十分可能な体制を整えることができた。

D. 研究業績

1. 論文発表

- Ishima, Y., Sawa, T., Kragh-Hansen, U., Miyamoto, Y., Matsushita, S., Akaike, T., and Otagiri, M. S-Nitrosylation of human variant albumin Liprizzi (R410C) confers potent antibacterial and cytoprotective properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 320, 969-977, (2007)
- Ishima, Y., Akaike, T., Kragh-Hansen, U., Hiroyama, S., Sawa, T., Maruyama, T., Kai, T., and Otagiri, M. Effects of endogenous ligands on the biological role of human serum albumin in S-nitrosylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 364, 790-795, (2007)

2. 学会発表

1. M. Anraku, T. Kai, K. Taguchi, Y. Urata, E. Tsuchida, K. Kobayashi, M. Otagiri / Pharmacokinetic properties of hemoglobin-vesicles developed as a red blood cell substitutes / Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC) 2007 / 2007. 4. 22-25 / Amsterdam
2. T. Kai, K. Taguchi, Y. Urata, M. Anraku, H. Sakai, E. Tsuchida, M. Otagiri / Pharmacokinetic properties of hemoglobin-vesicles developed as a red blood cell substitute / PSWC 2007 / 2007. 6 / Amsterdam
3. 田口和明、浦田由紀乃、安楽誠、甲斐俊哉、岩尾康範、土田英俊、小林紘一、小田切優樹／出血性ショック時におけるヘモグロビン小胞体の体内動態特性／第14回日本血液代替物学会年次大会／2007.6.／東京 慶應義塾大学
4. 田口和明、岩尾康範、丸山徹、甲斐俊哉、土田英俊、小林紘一、小田切優樹／人工酸素運搬体ヘモグロビン小胞体の出血時における体内動態特性評価／第24回日本薬学会九州支部大会／2007.12.／福岡

E. 報道

なし

F. 知的財産権の出願・登録情報

1. 甲斐俊哉、西田誠司、片山直久、堀伸明、真鍋宣久、須賀裕子／特願2007-032978／人工酸素運搬体製剤

別添 5

表 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	刊行書店名	執筆者名
救急医療の現場での輸血医療の実態と人工酸素運搬体への期待. <i>救急医学</i> 31, 981-986 (2007)	2007年8月	へるす出版	高折益彦、堀之内宏久、小林紘一
Effect of hemoglobin vesicle, a cellular-type artificial oxygen carrier, on middle cerebral artery occlusion- and arachidonic acid-induced stroke models in rats. <i>Neurosci. Lett.</i> 421, 121-125 (2007).	2007年6月	Elsevier	H. Komatsu, T. Furuya, N. Sato, K. Ohta, A. Matsuura, T. Ohmura, S. Takagi, M. Matsuura, M. Yamashita, M. Itoda, J. Itoh, H. Horinouchi, K. Kobayashi.
Hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers: Present situation and future vision. <i>J. Intern. Med.</i> 263, 4-15 (2008).	2008年1月	Blackwell Publishing Co.	H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida.
Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone after chemotherapy with vinorelbine. <i>Cancer Chemother. Pharmacol.</i>	2008年 (印刷中)	Springer	H. Kuroda, M. Kawamura, T. Hato, K. Kamiya, M. Kawakubo, Y. Izumi, M. Watanabe, H. Horinouchi, K. Kobayashi.
Systemic administration of hemoglobin vesicles elevates tumor tissue oxygen tension and modifies tumor response to irradiation. <i>J. Surg. Res.</i>	2008年 (印刷中)	Elsevier	M. Yamamoto, Y. Izumi, H. Horinouchi, Y. Teramura, H. Sakai, M. Kohno, M. Watanabe, T. Adachi, E. Ikeda, S. Takeoka, E. Tsuchida, K. Kobayashi.
NO and CO binding profiles of hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers. <i>Biochim. Biophys. Acta (Proteins & Proteomics)</i> (in press).	2008年 (印刷中)	Elsevier	H. Sakai, A. Sato, P. Sobolewski, S. Takeoka, J.A. Frangos, K. Kobayashi, M. Intaglietta, E. Tsuchida
Effects of hemoglobin vesicles, a liposomal artificial oxygen carrier, on hematological responses, complement and anaphylactic reactions in rats. <i>Artif. Cells Blood Substitutes Biotechnol.</i> 35, 157-172 (2007).	2007年3月	Informa Healthcare	H. Abe, H. Azuma, M. Yamaguchi, M. Fujihara, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, H. Ikeda.
Effects of hemoglobin vesicles, a cellular-type artificial oxygen carrier, on human hematopoietic stem/progenitor cells in vitro. <i>J. Biomed. Materials Res. A.</i> (in press).	2008年 (印刷中)	Wiley	M. Yamaguchi, M. Fujihara, S. Wakamoto, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, H. Hamada, H. Azuma, H. Ikeda.

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	刊行書店名	執筆者名
Effects of endogenous ligands on the biological role of human serum albumin in S-nitrosylation. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 364, 790-795, (2007)	2007年10月	Elsevier	Ishima, Y., Akaike, T., Kragh-Hansen, U., Hiroyama, S., Sawa, T., Maruyama, T., Kai, T., and Otagiri, M.
Changes of net charge and alpha-helical content affect the pharmacokinetic properties of human serum albumin. <i>Biochim. Biophys. Acta.</i> 1774, 1582-1590, (2007)	2007年9月	Elsevier	Iwao, Y., Hiraike, M., Kragh-Hansen, U., Mera, K., Noguchi, T., Anraku, M., Kawai, K., Maruyama, T., and Otagiri, M.
Effect of olmesartan on oxidative stress in hemodialysis patients. <i>Hypertens. Res.</i> 30, 395-402, (2007)	2007年5月	The Japanese Society of Hypertension	Kadowaki, D., Anraku, M., Tasaki, Y., Kitamura, K., Wakamatsu, S., Tomita, K., Gebicki, J. M., Maruyama, T., and Otagiri, M.
Subdomain IIIA of dog albumin contains a binding site similar to site II of human albumin. <i>Drug Metab. Disposition</i> 36, 81-86 (2008).	2008年1月	The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics	Kaneko, K., Fukuda, H., Chuang, V.T.G., Yamasaki, K., Kawahara, K., Nakayama, H., Suenaga, A., Maruyama, T., Otagiri, M.
Effects of endogenous ligands on the biological role of human serum albumin in S-nitrosylation. <i>Biochem Biophys Res Commun.</i> 364, 790-5 (2007).	2007年12月	Elsevier	Ishima Y, Akaike T, Kragh-Hansen U, Hiroyama S, Sawa T, Maruyama T, Kai T, Otagiri M.
Design and evaluation of S-nitrosylated human serum albumin as a novel anticancer drug. <i>J Pharmacol Exp Ther.</i> 325, 69-76 (2008).	2008年4月	The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics	Katayama N, Nakajou K, Komori H, Uchida K, Yokoe J, Yasui N, Yamamoto H, Kai T, Sato M, Nakagawa T, Takeya M, Maruyama T, Otagiri M.
Platelet responsiveness to in vitro aspirin is independent of COX-1 and COX-2 protein levels and polymorphisms. <i>Thromb Res.</i> 121, 509-17 (2008).	2008年2月	Elsevier Ireland	Takahashi S, Ushida M, Komine R, Shimodaira A, Uchida T, Ishihara H, Shibano T, Watanabe G, Ikeda Y, Murata M.
周術期輸血	2007年6月	克誠堂 東京	高折 益彦

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	刊行書店名	執筆者名
Selective uptake of surface-modified phospholipid vesicles by bone marrow macrophages in vivo. <i>Biomaterials</i> 28, 2655-66 (2007).	2007年6月	Elsevier	K. Sou, B. Goins, S. Takeoka, E. Tsuchida, W.T. Phillips
Rheological properties of hemoglobin vesicles (artificial oxygen carriers) suspended in a series of plasma substitute solutions. <i>Langmuir</i> 23, 8121-8128 (2007).	2007年6月	American Chemical Society	H. Sakai, A. Sato, S. Takeoka, E. Tsuchida.
Encapsulation of concentrated hemoglobin solution in phospholipid vesicles retards the reaction with NO, but not CO, by intracellular diffusion barrier. <i>J. Biol. Chem.</i> 283, 1508-1517 (2008)	2008年1月	The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.	H. Sakai, A. Sato, K. Masuda, S. Takeoka, E. Tsuchida.
Electrostatic interactions and complement activation on the surface of phospholipid vesicle containing acidic lipids: Effect of the structure of acidic groups. <i>Biochim Biophys Acta.</i> (in press).	2008年 (印刷中)	Elsevier	K. Sou, E. Tsuchida.
各種代用血漿剤に分散させたヘモグロビン小胞体（人工赤血球）とその血液混合系のレオロジー特性. 日本ヘモレオロジー学会誌 (in press)	2008年 (印刷中)	日本ヘモレオロジー学会	佐藤 敦、酒井 宏水、武岡真司、土田 英俊.
meso-Tetrakis($\alpha, \alpha, \alpha, \alpha$ -o-amidophenyl) porphinatoiron(II) bearing a proximal histidyl group at the β -pyrrolic position via an acyl bond: synthesis and O ₂ coordination in aqueous media. <i>Chem. Lett.</i> 36. 640-641 (2007).	2007年5月	日本化学会	A. Nakagawa, T. Komatsu, E. Tsuchida.
Influence of O ₂ -carrying plasma hemoprotein "albumin-heme" on complement system and platelet activation in vitro and physiological responses to exchange transfusion. <i>J. Biomed. Mater. Res.</i> 81A, 821-826 (2007)	2007年6月	Wiley	T. Komatsu, Y. Huang, S. Wakamoto, H. Abe, M. Fujihara, H. Azuma, H. Ikeda, H. Yamamoto, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida.
Induced long-range attractive potentials of human serum albumin by ligand binding. <i>Phys. Rev. Lett.</i> 98, 208101-1-4 (2007).	2007年5月	The American Physical Society	T. Sato, T. Komatsu, A. Nakagawa, E. 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	刊行書店名	執筆者名
O ₂ -binding albumin thin films: solid membranes of poly(ethylene glycol)-conjugated human serum albumin incorporating iron porphyrin. <i>Bioconjugate Chem.</i> 18, 1673-1677 (2007).	2007年9月	American Chemical Society	A. Nakagawa, T. Komatsu, Y. Huang, G. Lu, E. Tsuchida.
Genetic engineering of the heme pocket in human serum albumin: modulation of O ₂ binding of iron protoporphyrin IX by variation of distal amino acids. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 129, 11286-11295 (2007).	2007年9月	American Chemical Society	T. Komatsu, A. Nakagawa, P. A. Zunszain, S. Curry, E. Tsuchida.
Heme pocket architecture in human serum albumin: regulation of O ₂ binding affinity of a prosthetic heme group by site-directed mutagenesis. <i>Macromol. Symp.</i> (in press).	2008年 (印刷中)	Wiley	T. Komatsu, A. Nakagawa, E. Tsuchida.
O ₂ binding to human serum albumin incorporating iron porphyrin with a covalently linked methyl-L-histidine isomer. <i>Bioconjugate Chem.</i> (in press).	2008年 (印刷中)	American Chemical Society	A. Nakagawa, T. Komatsu, M. Iizuka, E. Tsuchida.
Hemoglobin vesicles to treat hypoxia in critically ischemic tissue. <i>Artif. Blood</i> 15, 58-64 (2007).	2007年12月	日本血液代替物学会	D. Erni, R. Wettstein, C. Contaldo, J. Plock, N. Rafatmehr, H. Sakai, E. Tsuchida.
輸血の代替が可能な酸素輸液の実現と組織再生技術. <i>環境と健康</i> 20, 464-472 (2007)	2007年12月	共和書院	酒井宏水、土田英俊.
Hemoglobin-vesicles for a Transfusion Alternative and Targeted Oxygen Delivery. <i>J. Liposome Res.</i> 17, 227- 235 (2007).	2007年7月	Informa Healthcare USA, Inc.	H. Sakai, E. Tsuchida.
Solution to the problems of acellular Hbs by encapsulation, and the intrinsic issues of Hb-vesicles as a molecular assembly. <i>Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine</i> 9, 226-236 (2007).	2007年12月	Blackwell Publishing	H. Sakai, K. Sou, E. Tsuchida.

その他刊行物

1. 日本血液代替物学会、早大、血液由来のヘモグロビンを使わない次世代人工酸素運搬体を提案。日経バイオテク 2007年6月15日
2. Newton Highlight (ニュートン コリア) 2006年ニュートン誌に掲載された人工赤血球の記事が韓国版にも掲載された。2008年1月15日

研究成果の刊行物・別冊
(2007. 4. ～ 2008. 3.)

救急医療の現場での輸血医療の実態と 人工酸素運搬体への期待*

高折 益彦** 堀之内宏久*** 小林 紘一****

■要旨：わが国の186救急医療施設を対象としてアンケートを送付し、緊急輸血の実態、および人工酸素運搬体の開発に関する見解を調査した。そのうち74施設から回答が得られ、緊急輸血症例の51.5%の輸血量が1000ml以内であることが明らかになった。また人工酸素運搬体の酸素運搬機能が24時間は必要であることも明らかになり、現在開発途上にある人工赤血球で要望の77.1%に対応できることも認められた。さらに人工赤血球は検査なくただちに使用できる、血液型の取り違え、感染症などの事故がないことへの期待が大きいたことが明らかになった。

■key words：人工赤血球、人工酸素運搬体、輸血代替、救急医療、安全性

はじめに

すでに前世紀初頭から人工酸素運搬体の開発は進められてきていた。しかしようやくこの数年前から臨床使用に耐え得るような人工酸素運搬体の出現をみるに至った。そして海外で2～3の臨床治験が行われた^{1)～3)}。一方、わが国においてはリポソーム小胞体内にヒトヘモグロビン(Hb)を包埋した人工酸素運搬体を中心に開発が進められてきている⁴⁾。そしてこの製品に関しての前臨床試験はほぼ完成の域に達している。しかしこの製品の臨床使用には今後段階的に治験を施行しなければならない。したがって実際の臨床に至るまでにはなお時間を要すると思われる。またその間に製品の改良に努め、さらなる優れた製剤を作製することが期待されている。

人工酸素運搬体の臨床使用は多岐にわたると思われるが、その一つに救急医療での輸血への応用がある。すなわち搬送されてきた大量出血を伴う患者の

治療、あるいは医療機関外での出血患者の治療などが該当する。この点をふまえ、今回救急医療に携わる医師を対象に人工酸素運搬体に対する意識調査をアンケート方式にて行った。すなわち、まず現在の救急医療の現場での血液製剤、とりわけ赤血球製剤の使用状況を調査し、将来もし人工酸素運搬体(人工赤血球)が臨床使用可能となったときにはどの程度の利用率があるか、どのような製品が必要とされるかなどの諸点について調査を行った。

I 方法

図1に示す質問事項を記載したアンケート用紙を日本救急医学会の各評議員、195名の方を対象に2005年2月に郵送した。しかし種々の理由から返送されてきたものが9通あり、186通が送付されたものと思われた。このうち、指定期限である3月末日までに回答のあったものは74通(39.8%)で、この回答についてのみ解析を行った。設問には複数回答を要求するものもあったが、あらかじめ単一回答を期待したにもかかわらず複数の回答があったものについては同意義的な項目に編入、あるいはそれぞれ該当する項目に分割する処置などを行い集計した。また設問に対して回答の記入がなかったものは無回答、0とした。そのためそれぞれの設問に対する回答総数が上記74に達しない場合が生じた。複数回答となる設問では当然回答総数が74を超えた。

II 結果

設問1.の輸血を必要とする症例の発生頻度は、毎日3例以上とする回答が12施設、週に3～6例

* Survey of transfusion medicine and perception of artificial oxygen carrier in acute medicine

** 東宝塚さとう病院 *** 慶應義塾大学医学部呼吸器外科

**** 厚生労働省科学研究班医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス研究事業「人工赤血球の安全性向上に関する研究班」主任研究者

Masuhiko Takaori, Hirohisa Horinouchi and Koichi Kobayashi

1. 現在先生の診療なさっている部署で輸血が必要となる症例の頻度はどれぐらいでしょうか。
A) 毎日3例以上 B) 週に3から6例 C) 月に3から6例 D) 月3例以下
E) ほとんどない
2. 輸血を行う症例の輸血量は症例によりさまざまと思われますが、頻度が高いのは以下のどのレンジでしょうか。
A) 400ml～1000ml B) 1000ml～2000ml C) 2000ml～3000ml D) 3000ml以上
3. 輸血を使用する際、使用を決定してから輸血が開始されるまでどの程度の時間を要していますか。
A) 5分以内 B) 15分以内 D) 30分以内 E) 30分以上
4. 夜間に血液を使用するときに血液が使用できるまでの時間は日勤帯と比べていかがでしょうか？
A) 日勤帯とほとんど変わらない B) 日勤帯と比較すると夜間帯では時間がかかる
C) 夜間帯のほうがスムーズに輸血が可能である
5. 救急の現場で、輸血を行う場合、Informed consentが必要となります。先生の施設ではICをどのようにとっていますか。
A) 緊急の場合は説明なしで輸血を行っている
B) ICなしで輸血は行わない。
 i) ICは本人から取る
 ii) ICは患者家族から取る
 iii) 患者あるいは家族、関係者まで含め、いずれかよりICを取る
6. 大量輸血が必要な症例で注意しておられる事項がございましたら下記から選択してください(いくつでも可)。
A) 膠質輸液も使用する
B) 凝固能をチェックしている
C) 電解質(Caも含め)をチェックしている
D) 循環系諸標をモニターする(Thermodilution catheterなど)
E) 溶血、肝機能、鉄代謝についてモニターしている(ハプトグロビン、トランスフェリンなども含め)
F) その他()
7. 輸血に伴う感染症について輸血後のモニターはどのようにされておられますか。
A) HbV, HCV, HIVについては輸血後6から8週後に検査を行っている
B) 患者からの申し出があったときに検査を行っている
C) 他の診療科に依頼している
8. 輸血に伴う不規則抗体の発現について輸血後モニターされておられますか。
A) している B) していない

ここで人工血液についてお伺いいたします。

9. 人工血液について知っていますか。
A) 医学雑誌の記事あるいは論文を読んだことがある
B) 新聞報道などで開発が進んでいることは知っている
C) 知らない

図1a アンケート用紙

10. 人工赤血球が臨床使用できるようになれば、使用したいと思われませんか。
A) 使用したい B) 使用しない C) 有効性が輸血よりも優れていれば使用する
11. 人工赤血球にもっとも必要な資質は酸素運搬能と思いますがそれ以外に必要なものは何だ
とお考えでしょうか。
A) 血液と同等の粘度を保有すること B) 循環血液量を保持する能力
C) その他 ()
12. 人工赤血球の使用上限が規定されるとすれば、上限量がどの程度であればよいとお考えで
すか。次の中からお選びください。
A) 100mlまで B) 250mlまで C) 500mlまで D) 1000ml以上
13. 人工赤血球は血液型がなく、常温で保存可能となるよう設計されています。このため、輸
血が必要な症例には投与を決断すれば直ちに投与が可能です。
先生が治療される輸血を必要とする患者さんの中で緊急輸血の判断を迫られる症例の頻度
はどれぐらいでしょうか。
A) 毎日1症例はある B) 週に1～数症例 C) 月に1～数症例
D) すべての患者で診療の初期段階は輸液で対応するので、血液が直ちに必要となる症例
はない
14. 輸血治療が緊急に必要な患者でICが取れない場合、投与可能な人工血液があればICが取
れるまでのつなぎとして人工赤血球を使用されますか。
A) 人工赤血球を使用する B) ICが取れるまで晶質液中心の輸液で対応する
C) その他
15. 外傷による出血の症例では現場からの治療が救命に大きな役割を果たすことが明らかと
なっています。救急現場での治療が可能となるとしたら、次のいずれのレベルまでが行わ
れるべきと考えますか。
A) 呼吸管理のみ (気管内挿管を含む)
B) A)+生食による輸液管理
C) A)+B)+ 膠質輸液も含めた循環管理
D) A)+B)+C)+人工血液の投与も含めた循環管理
16. 人工赤血球は有効半減期が短いことが予想されています。臨床使用する際、有効半減期と
してどの程度の時間が必要とお考えでしょうか。
A) 2時間 B) 12時間 C) 24時間 D) 48時間以上
17. 厚生労働省科学研究班の研究では人工赤血球は投与後脾臓や肝臓のマクロファージに補足
され、代謝は細網内皮系で行われ、14日後には血液生化学、組織学的な変化を残さないこ
とが報告されています。またその間一時的な食能の低下とその後の活性化が明らかと
なっています。ヒトでも同様の代謝経路が予想されています。外傷患者に対して投与した
場合も細網内皮系の一時的な低下とその後の活性化が予想されますが、このことは治療の
上で問題となるとお考えでしょうか？
A) 問題であると思われる 理由 ()
B) 問題とはならないと思う
18. 最後に人工赤血球に期待する要素について先生のお考えがございましたらお教えてください。
()

図1b アンケート用紙