

## 27. 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

### A. 研究目的

血液は“流れる臓器”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)が赤血球と比較して長期保存が可能であり、また赤血球と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。そこで、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、動物モデルを用いた検討を行った。

### 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、200ml/kg/minのスピードで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。

本実験には体外循環開始前、及び返血後に残った血漿成分を用いて検討を行った。血漿成分は試料を4500rpm15分で遠心し、沈殿した層を赤血球成分として除去し、残りの血漿成分を用いて検討した。HbVはこの条件の遠心処理では沈殿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。

#### 2. 粒径、酸素解離曲線の測定

粒径の測定は動的光散乱法を用いて、酸素解離曲線は窒素ガス痙攣法による分光分析を用いて求めた。測定はいずれも25℃、大気圧下で行った。

#### 3. 体外循環施行前後のHb小胞体の電子顕微鏡的観察

体外循環前後のHb小胞体分散液をHitachi High-Technologies社Model SU6600を用いて低真空スキャニング電子顕微鏡観察を行った。

### C. 結果および考察

#### 1. ラットを用いた人工心肺モデル

体外循環は安定して運転することができ、運転終了後動物が覚醒することを確認し、循環系に急性の障害作用を起こさないことが確認された。体外循環終了後の試料の採取、試料の分離にも困難はなかった。

#### 2. 粒径、酸素解離曲線の測定

人赤血球では体外循環を行うとFragmentationや、溶血が少なからず認められるが、今回の検討では赤血球の除去して粒径分布を計測した。体外循環

前後の粒径分布はHb試料作成時とほぼ同等の260nm付近にあり、体外循環前の試料と粒径において有意差はなかった。また、酸素解離曲線も体外循環前後でほとんど変化を認めなかった。

### 3. 体外循環施行前後のHb小胞体の電子顕微鏡的観察

低真空SEMは試料の設置に凍結操作が入るため、Hb小胞体の脂質2重膜のIntegrityが失われ、簡便に微小形態を解析する方法としては条件設定を摸索する必要があると考えられた。

## 28. 試料の滅菌法の開発：超高压処理による滅菌の可能性の検討

### A. 研究目的

人工酸素運搬体は、多量を生体血管内に投与するので、感染症ないし敗血症を生じないことが肝要で、無菌状態でなければならぬ。そこで、本研究では、人工酸素運搬体であるHbV(Hb小胞体)の滅菌法の検討を行う。

滅菌法には、一般的に表-1に示すごとき方法が用いられている。試料には、ヘモグロビン(Hb)を含有しているため、高温加熱する滅菌法や高熱を出す方法、および変性させる滅菌方法は用いる事は不可能である。文献による血液に対する加熱の限界は、60℃を10時間まで可能と報告されている。濾過法が望ましいように思われるが、濾過は細菌までで、より小さいvirusは除去することはできない。放射線照射法は、試料に変性を起こす可能性があり、本試料には不適であることが判明した。

そこで我々は、再生医療で滅菌を兼ねて開発し

た超高压静水圧印加による、移植用生体組織の処理方法(特許公開2004-97552)を用いることを検討した。この方法は、本来異種動物の組織を臨床に用いる場合に、拒絶反応を生じないように、その動物の細胞を破壊、除去する目的に開発された方法で、動物の組織に高压(約10,000気圧)を印加して異種動物の細胞及びvirus、細菌類の微生物を死滅、除去させるものである。

本研究は本方法を、人工酸素運搬体(試料)の滅菌に応用する可能性を検討するものである。

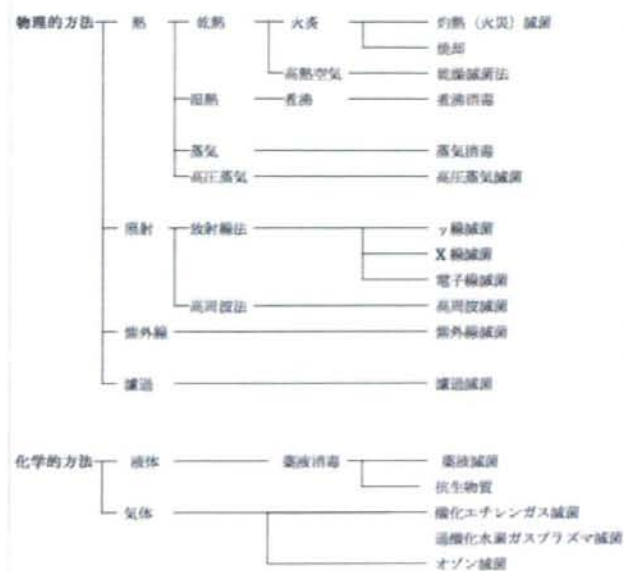
### B. 研究方法

各種細菌、virus、真菌の内、先ず滅菌が最も困難な芽胞を形成するBacillusの内、Bacillus atrophaeus(Bacillus subtilis var. niger)を滅菌の指標に選定して滅菌効果を検討した。本菌を103個封入した培地(NAMSA製SCDB)(以後これを検体と呼ぶ)を密閉容器に入れ、図1に示す冷間等方圧加圧装置(CIP:神戸製鋼製)で、300MPa(3,000気圧)、1,000MPa(10,000気圧)の超高压を印加し、印加中の温度を10℃、30℃、50℃、および60℃に維持し、加圧保持時間を10分、30分、60分にして、微生物の生存を培地の色の変色(培地が黄変すればbacillusが生存していることを意味し、変色しなければ死滅を意味する)で、判定した。

### C. 結果

栄養型細菌及びvirusは、50~60℃3,000気圧30分で、死滅効果を認めた。即ち滅菌可能であった。一方、芽胞を形成するBacillusは、10℃、30℃では、10分間10,000気圧加圧では、培地が黄変し、Bacillusの死滅効果は認めなかった。しかし、60分~100分間10,000気圧の加圧では培地の変化を認めなく死滅効果を認めた(表-2)。

表一 滅菌法の種類



表一 超高压処理実験成績(压力設定：10, 000気圧)

培地：NAMSА SCDB 培養器：PIC-100、30~37℃

サンプル No	温度(℃)	昇圧時間(分)	保持時間(分)	減圧時間(分)	培地の変色
1	10	5	10	5	黄変
2	10	5	10	5	黄変
3	30	5	10	5	黄変
4	30	5	10	5	黄変
5	30	15	10	15	黄変
6	30	15	10	15	黄変
7	30	15	10	15	黄変
8	30	15	100	15	変化なし
9	30	15	100	15	変化なし
10	30	15	60	15	変化なし
11	30	15	60	15	変化なし
12	37	15	60	15	変化なし
13	37	15	60	15	変化なし
14	37	15	10	15	変化なし
15	37	15	10	15	変化なし

シリンダもしくは水圧ポンプ  
で圧縮する

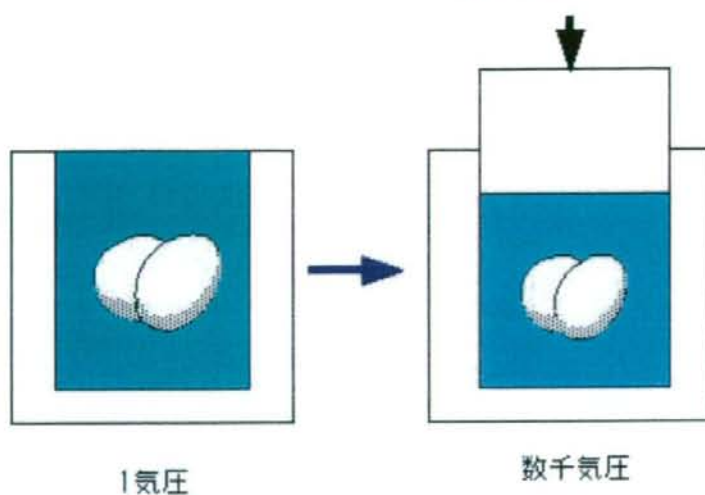


図-2. 冷間等方圧超高压加压装置 (CIP)

~10,000atm





表一3 超高压処理実験成績(圧力設定：3,000気圧)

培地：NAMSА SCDB 培養器：PIC-100、30~37℃

サンプル No	温度(℃)	昇圧時間(分)	保持時間(分)	減圧時間(分)	培地の変色
3 1	6 0	1 0	6 0	1 0	変化なし
3 2	6 0	1 0	6 0	1 0	変化なし
3 3	6 0	1 0	3 0	1 0	変化なし
3 4	6 0	1 0	3 0	1 0	変化なし
3 5	6 0	1 0	3 0	1 0	変化なし
3 6	5 0	1 0	1 0 0	1 0	変化なし
3 7	5 0	1 0	1 0 0	1 0	変化なし
3 8	5 0	1 0	1 0 0	1 0	変化なし
3 9	5 0	1 0	6 0	1 0	変化なし
4 0	5 0	1 0	6 0	1 0	変化なし
4 1	5 0	1 0	6 0	1 0	変化なし
4 2	5 0	1 0	3 0	1 0	変化なし
4 3	5 0	1 0	3 0	1 0	変化なし
4 4	5 9	1 0	3 0	1 0	変化なし

なお、3,000気圧の加圧でも、50~60℃と温度を高め30分~100分の加圧保持時間であれば、培地の変色が無く死滅効果を認めた(表一3)。

#### D. 考察

冷間等方圧加圧装置を用いた超高压処理による滅菌の可能性の検討を行なった。常在菌の栄養型細菌及びvirusは、60℃で3000気圧を10分以上加えることにより滅菌が可能であることが判明した。しかし、芽胞を形成Bacillusは、60℃で3000気圧10分以上加圧又は、30℃で、10000気圧60~100分間保持で、滅菌が可能であることが判明した。

そこで、完全な滅菌法が存在しない現況では、通常血液製剤は、滅菌されているので、人工赤血球の原材料(ヘモグロビン)は滅菌されているはずである。そこで、製剤の操作(リボゾームへのヘモグロビンの封入)を無菌的に行う原則に立って、試料を作成(製剤)し、最終的に60℃で3000気圧10分以上加圧又は、30℃で、10,000気圧60~100分で、ほぼ滅菌が可能と考えられる。

なお、今回の評価では、評価に用いたBacillusの数が103個であったが、今後もっと多い数、106個での評価を試みなければならない。更に3,000気圧

と10,000気圧を代表的な超高压として滅菌の評価としたが、今後更に低圧での検討も行わなければならない。また、常温で更に超高压のより短時間の印加での検討を加えて無ければならない。さらに、超高压による試料の変性、変質の有無をも検討しなければならない。

#### E. 結論

最終的に60℃で3000気圧10分以上加圧又は、30℃で、10,000気圧60~100分で、ほぼ滅菌が可能と考えられる。しかし、超高压の印加による試料への影響(編成の有無)、さらに印加する気圧、温度、加圧時間、評価に用いるBacillusの数を覚えて、最も実用的な超高压滅菌法の確率を図りたい。

## 29. Hb小胞体の製造工程に関する検討

### A. 研究目的

前期までに、治験薬製造工程において、ダイアライザーに照射装置を組み合わせた装置脱CO化処理を導入など、プラントへのスケールアップとともに規格試験設定など進めてきた。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。

本研究では、より一層の品質向上とその確保を目指して基礎的な情報収集や製造法検討を行うこととし、上記巨大粒子に関する基礎情報を収集、また原材料、特に脂質のバイオバーデン管理向上の方法を詳細に評価することとした。

### B. 研究方法

#### B-1. 巨大粒子

巨大粒子に及ぼす①pH、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。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

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

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

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。

### B-2. 脂質のバイオバーデン管理

一般的に滅菌が困難な脂質混合物あるいはその予調製物である脂質分散液について、種々の方法による滅菌効果とその安定性を評価した。すなわち、微生物殺滅効果を確認すると共に、これらの熱などの負荷による脂質の安定性や分散液の性状を評価した。

## C. 結果及び考察

### C-1. 巨大粒子

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。

表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：mm<sup>2</sup>/s)

表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: mm<sup>2</sup>/s)

表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: mm<sup>2</sup>/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

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。表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、表2及び表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。

## C-2. 脂質のバイオバーデン管理

現在、高圧蒸気滅菌を含め2、3の方法での滅菌と安定性確保の可能性を調べている。特に安定性評価には脂質成分分解物の低分子・極性化の可能性を考慮して脂質抽出に依らない成分定量(HPLC)も新たに取り入れた。

その結果、脂質成分の分解は、特に温度、続いてpHに依存していた。高圧蒸気滅菌のように100℃を超える条件では脂質の分解が当然みられる。この時、脂質成分により安定性に顕著な差があることを確認した。実製造における前後工程との整合性も考慮してこれらの滅菌方法を工程に組み込む検討を進めた。



### 30. 研究発表 (2006.4~2009.3)

#### A. 小林 絃一 (研究代表者)

堀之内 宏久 (研究研究者)

村田 満 (分担研究者)

饗庭 了 (分担研究者)

#### 1. 論文発表

1. M. Yamazaki, R. Aeba, R. Yozu, K. Kobayashi. Use of hemoglobin vesicles during cardiopulmonary bypass priming prevents neurocognitive decline in rats. *Circulation* 114, 1220-1225 (2006).

2. Y. Huang, T. Komatsu, H. Yamamoto, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. PEGylated albumin-heme as an oxygen-carrying plasma expander: exchange transfusion into acute anemia rat model. *Biomaterials* 27, 4477-4483 (2006).

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. Izumi Y, Gika M, Shinya N, Miyabashira S, Imamura T, Nozaki C, Kawamura M, Kobayashi K. Hemostatic efficacy of a recombinant thrombin-coated polyglycolic acid sheet coupled with liquid fibrinogen, evaluated in a canine model of pulmonary arterial hemorrhage. *J Trauma*. 2007 Oct;63(4):783-7; discussion 787.

5. 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).

6. 高折益彦、堀之内宏久、小林絃一. 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. *救急医学* 31, 981-986 (2007).

7. 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).

8. T. Komatsu, Y. Huang, S. Wakamoto, H. Abe, M. Fujihara, H. Azuma, H. Ikeda, H. Yamamoto, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Influence of O<sub>2</sub>-carrying plasma hemoprotein "albumin-heme" on complement system and platelet activation in vitro and physiological responses to exchange transfusion. *J. Biomed. Mater. Res.* 81A, 821-826 (2007).

9. 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* 1784, 1441-1447 (2008).

10. 須崎裕典、酒井宏水、小林直樹、池田達彦、堀之内宏久、小林 絃一、武田 朴、戸川 達男、土田英俊. 多波長パルス分光法を用いたHb小胞体用パルスオキシメータに関する研究. *人工血液* 16, 198-204 (2008).

11. 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.* 151, 48-54 (2009).

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* 31, 192-200 (2009).

13. H. Kuroda, M. Kawamura, T. Hato, K. Kamiya, M. Kawakubo, Y. Izumi, M. Watanabe, H.



- Horinouchi, K. Kobayashi. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone after chemotherapy with vinorelbine. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 62, 331-333 (2008).
14. 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).
  15. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Hemoglobin-vesicles and red blood cells as carriers of carbon monoxide prior to oxygen for resuscitation after hemorrhagic shock in a rat model. *Shock* (in press).
  16. 宗慶太郎、小峰梨沙、酒井宏水、小林紘一、土田英俊、村田満。ヘモグロビン小胞体を含む血液検体の臨床検査。人工血液 (in press).
  17. K. Taguchi, T. Maruyama, Y. Iwao, H. Sakai, K. Kobayashi, H. Horinouchi, E. Tsuchida, T. Kai, M. Otagiri. Pharmacokinetic analysis of hemoglobin vesicles for red blood cell substitution in a rat model of hemorrhagic shock. *J. Control. Release* (in press).
  18. H. Horinouchi, H. Yamamoto, T. Komatsu, Y. Huang, E. Tsuchida, K. Kobayashi. Enhanced radiation response of a solid tumor with the artificial oxygen carrier 'albumin-heme'. *Cancer Sci.* 99, 1274-1278 (2008).
  19. X. Qu, T. Komatsu, T. Sato, O. Glatter, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Structure, photophysical property, and cytotoxicity of human serum albumin complexed with tris(dicarboxymethylene)[60]fullerene. *Bioconjugate Chem.* 19, 1556-1560 (2008).
  20. Kawada I, Soejima K, Watanabe H, Nakachi I, Yasuda H, Naoki K, Kawamura M, Eguchi K, Kobayashi K, Ishizaka A. An alternative method for screening EGFR mutation using RFLP in non-small cell lung cancer patients. *J Thorac Oncol.* 2008 Oct;3(10):1096-103.
  21. Shiono S, Kawamura M, Sato T, Nakagawa K, Nakajima J, Yoshino I, Ikeda N, Horio H, Akiyama H, Kobayashi K; Metastatic Lung Tumor Study Group of Japan. Disease-free interval length correlates to prognosis of patients who underwent metastasectomy for esophageal lung metastases. *J Thorac Oncol.* 2008 Sep;3(9):1046-9.
  22. Kamiya K, Hayashi Y, Douguchi J, Hashiguchi A, Yamada T, Izumi Y, Watanabe M, Kawamura M, Horinouchi H, Shimada N, Kobayashi K, Sakamoto M. Histopathological features and prognostic significance of the micropapillary pattern in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2008 Aug;21(8):992-1001.
  23. Kawamura M, Nakajima J, Matsuguma H, Horio H, Miyoshi S, Nakagawa K, Fujisawa T, Kobayashi K; Metastatic Lung Tumor Study Group of Japan. Surgical outcomes for pulmonary metastases from hepatocellular carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008 Jul;34(1):196-9.
  24. Kuroda H, Kawamura M, Hato T, Kamiya K, Kawakubo M, Izumi Y, Watanabe M, Horinouchi H, Kobayashi K, Nakayama M. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone after chemotherapy with vinorelbine. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008 Jul;62(2):331-3.
- (総説、著書など)
1. E. Tsuchida, H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi. Hemoglobin-vesicles as a transfusion alternative. *Artif. Cells Blood Substitutes Biotechnol.* 34, 581-588 (2006)
  2. 山崎真敬、饗庭了、四津良平、小林紘一。ヘモグロビン小胞体を用いた人工心肺充填液による高次脳機能保護効果 -ラット人工心肺モデルによる検討- *人工血液* 14, 62-65 (2006)

3. 小松晃之, 黄 宇彬, 王 荣民, 中川晶人, 山本尚志, 堀之内宏久, 小林絃一, 土田英俊. ポリ(エチレングリコール)修飾アルブミン-ヘム: 酸素輸送血漿増量剤としての溶液物性と機能. *人工血液* 14, 47-54 (2006).
  4. 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)
  5. 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).
  6. H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Review of hemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers (Review paper). *Artif. Organs* 33, 139-145 (2009)
  7. E. Tsuchida, K. Sou, A. Nakagawa, H. Sakai, T. Komatsu, K. Kobayashi. Artificial oxygen carriers, hemoglobin vesicles and albumin-hemes, based on Bioconjugate Chemistry. *Bioconjugate Chem.* (in press)
  8. H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Hemoglobin-vesicle, a cellular artificial oxygen carrier, that fulfils the physiological roles of the red blood cells structure. *Adv. Exp. Med. Biol.* (in press).
  9. Kudo M, Yozu R, AEBA R, Kokaji K, Kimura N, Iwanaga S. A case report of surgical correction for congenital mitral regurgitation with subvalvular apparatus abnormality. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 56, 36-8 (2009).
  10. 饗庭 了. 心臓手術の実際 許俊鋭 編著 心内膜床欠損症に対する手術と体外循環 - 慶應義塾大学- p218-20.2008 秀潤社 版
  11. 饗庭 了. 四津良平 心エコー キーワード index 2008 メジカルビュー社 版
  12. 饗庭 了. 心臓血管外科テクニック 弁膜症編 弁膜症の病態と治療戦略 肺動脈弁狭窄症・肺動脈弁閉鎖不全症 p49-59.2008 メディカ出版 版
- ## 2. 学会発表
1. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Hemoglobin-vesicles (HbV) as artificial oxygen carriers: Recovery after acute hemodilution with HbV suspended in recombinant human serum albumin for 14 days / 52nd Annual Conference of ASAIO / 2006. 6. 8-10 / Chicago, USA
  2. Y. Izumi, M. Yamamoto, K. Takeuchi, M. Watanabe, H. Horinouchi, Y. Teramura, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, K. Kobayashi / Modification of radiation response in Lewis lung carcinoma by administration of hemoglobin vesicle / 52nd Annual Conference of ASAIO / 2006. 6. 8-10 / Chicago, USA
  3. 小林絃一/血液代替物の開発一夢の実現に向けて/第13回日本血液代替物学会 / 2006.8.24-25/慶大医, 東京
  4. 堀之内宏久/ヘモグロビン小胞体(HbV)の臨床応用へ向けた開発研究/第13回日本血液代替物学会 / 2006.8.24-25/慶大医, 東京
  5. 池田達彦, 堀之内宏久, 井澤奈緒子, 泉陽太郎, 河野光智, 渡辺真純, 川村雅文, 酒井宏水, 土田英俊, 小林絃一/Beagle犬を用いた50%脱血ショックにおけるHb小胞体の蘇生効果および酸素運搬能の評価/第13回日本血液代替物学会 / 2006.8.24-25/慶大医, 東京
  6. 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, 小林絃一/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/第13回日本血液代替物学会 / 2006.8.24-25/慶大医, 東京
  7. E. Tsuchida, H. Sakai, K Sou, H. Horinouchi, K.



- Kobayashi / Hemoglobin-Vesicles as Artificial Oxygen Carriers: Present Situation and Future Visions. (INVITED LECTURE) / International Visions on Blood Substitutes / 2006.9.17-20 / Parma, Italy.
8. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi / Blood Exchange with Hemoglobin-Vesicles Suspended in Recombinant Albumin: Profiles of hematopoiesis and metabolism of HbV. (INVITED LECTURE) / International Visions on Blood Substitutes / 2006.9.17-20 / Parma, Italy.
  9. 堀之内宏久、山本尚志、小林絃一、小松晃之、土田英俊／人工酸素運搬体による腫瘍酸素加による放射線感受性の増強／第43回癌治療学会総会／2005.9／名古屋
  10. 酒井宏水、堀之内宏久、土田英俊、小林絃一／人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)による50%出血ショック蘇生後の回復過程／第44回日本人工臓器学会大会／2006.10.31-11.2／パシフィコ横浜
  11. 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、小林絃一／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／第44回日本人工臓器学会大会／2006.10.31-11.2／パシフィコ横浜
  12. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Ikeda, K. Sou, K. Kobayashi, E. Tsuchida. / Physiological Capacity of RES for the Degradation of Hb-vesicles (Artificial O<sub>2</sub> Carriers) after Massive Intravenous Doses by Daily Repeated Infusions for 14 Days. / International Liposome Society Annual Meeting 2006 / Dec. 8-12/ London, UK.
  13. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. / Hb-vesicles suspended in recombinant human serum albumin (rHSA) for fluid resuscitation from hemorrhagic shock./ International Liposome Society Annual Meeting 2006 / Dec. 8-12/ London, UK.
  14. H. Sakai, H. Horinouchi, E. Tsuchida, K. Kobayashi / Exchange-transfusion with Hb-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin (rHSA) solution: degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks./ International Liposome Society Annual Meeting 2006 / Dec. 8-12/ London, UK.
  15. 小林 絃一／人工赤血球の臨床応用への道／平成18年度研究成果発表会「人工血液をつくる(7)」／2007.2.11／日本科学未来館、東京
  16. M. Anraku, T. Kai, K. Taguchi, Y. Urata, E. Tsuchida, K. Kobayashi, M. Otogiri / Pharmacokinetic properties of Hb-vesicles developed as a red blood cell substitutes / Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC) 2007 / 2007. 4. 22-25 / Amsterdam
  17. 宮川賀仁、酒井宏水、佐藤 敦、堀之内宏久、武岡真司、高折益彦、小林絃一、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
  18. 酒井宏水、堀之内宏久、小林絃一、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
  19. 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.
  20. 小林絃一／人工血液の将来展望／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
  21. 村田満／ヘモグロビン(Hb)小胞体投与における血液検体検査の最適化／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

22. 酒井宏水、佐藤敦、宮川賀仁、武岡真司、堀之内宏久、高折益彦、小林絃一、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
23. 田口和明、浦田由紀乃、安楽誠、甲斐俊哉、岩尾康範、土田英俊、小林絃一、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／2007.6.14-15／慶應義塾大学 三田キャンパス
24. 須崎裕典、酒井宏水、小林直樹、池田達彦、堀之内宏久、小林絃一、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
25. 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、小林絃一／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
26. 河野光智、堀之内宏久、泉陽太郎、酒井宏水、土田英俊、小林絃一／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
27. K. Taguchi, Y. Urata, M. Anraku, T. Kai, Y. Iwao, K. Kobayashi, E. Tsuchida, M. Otagiri. / Possible utility of hemoglobin-vesicle for blood cell substitution pharmacokinetic properties in hemorrhagic shock rat model. / The 8th International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX) / Oct. 8-12, 2007 / Sendai International Center
28. K. Kobayashi / Possible clinical use of hemoglobin vesicle (HbV)-cellular type artificial oxygen carrier / The 11th International Symposium on Blood Substitutes / 2007. Oct. 18-21 / Beijing, China.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. H. Suzaki, 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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、小林絃一、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
38. 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
39. 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
40. 小林 絃一 / 人工赤血球の臨床応用に当たった問題点と対策・開発現況 / 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
41. 堀之内宏久、酒井宏水、土田英俊、池田達彦、小林絃一 / (教育講演) 人工酸素運搬体の臨床応用へ向けた取組みと開発状況 / 第56回日本輸血・細胞治療学会総会 / 福岡国際会議場 / 4.25-28, 2008
42. H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Hb-Vesicle: A Cellular Hb-Based Oxygen Carrier that Fulfills the Physiological Roles of the RBC Structure / ISOTT 2008 (International Society on Oxygen Transport to Tissue) / Sapporo Prince Hotel / August 3-7, 2008
43. T. Ikeda, H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Hb-Vesicle: A Cellular Hb-Based Oxygen Carrier that Fulfills the Physiological Roles of the RBC Structure / ISOTT 2008 (International Society on Oxygen Transport to Tissue) / Sapporo Prince Hotel / August 3-7, 2008
44. 酒井宏水、堀之内宏久、小林絃一、土田英俊 / 人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)のNO, COとの反応制御と新しい医療応用 / 第57回高分子討論会 / 大阪市立大学 杉本キャンパス / 2008.9.24-26
45. 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、小林絃一 / 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後の安全性の検討 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
46. 勢司泰久、堀之内宏久、相川直樹、酒井宏水、土田英俊、小林絃一 / 腎障害による制御不能出血モデルに対するヘモグロビン小胞体の蘇生効果 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講



堂 / 2008.10.23

47. 堀之内宏久、勢司泰久、河野光智、泉陽太郎、酒井宏水、小林絃一、土田英俊 / 血管損傷による制御不要出血性ショックの蘇生 - 人工酸素運搬体の効果について - / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
48. 河野光智、竹田貴、堤恭介、池田達彦、泉陽太郎、渡辺真純、堀之内宏久、小林絃一、酒井宏水、土田英俊 / マウス肺切除 + 周術期出血モデルでのヘモグロビン小胞体投与の有効性の検討 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
49. 田口和明、丸山徹、甲斐俊哉、酒井宏水、土田英俊、小林絃一、小田切優樹 / 出血性ショックモデルラットにおけ頻回投与時のヘモグロビン小胞体の体内動態特性 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
50. 高橋大輔、藤原満博、東寛、宗慶太郎、酒井宏水、堀之内宏久、小林絃一、土田英俊、池田久實 / ヘモグロビン小胞体(HbV)が免疫系に及ぼす影響 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
51. 小松晃之、屈 雪、土田英俊、堀之内宏久、小林絃一 / アルブミン-フラーレン錯体の光物性と細胞毒性 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
52. K. Taguchi, Y. Urata, M. Anraku, T. Maruyama, T. Kai, D. Kadowaki, H. Sakai, K. Kobayashi, E. Tsuchida, M. Otagiri / Effect of initially injected hemoglobin vesicles (HbV) on the pharmacokinetics of second injection of HbV in mice. / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
53. H. Azuma, H. Abe, D. Takahashi, M. Fujihara, H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida, H. Ikeda / Transient induction of immune-suppressor cells in rat spleen by massive injection of hemoglobin-vesicle (HbV) / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
54. Y. Izumi, M. Yamamoto, K. Takeuchi, M. Watanabe, H. Horinouchi, Y. Teramura, H. Sakai, S. Takeoka, E. Tsuchida, K. Kobayashi / Potential tumor oxygenation by systemic administration of hemoglobin vesicles in a mouse Lewis lung carcinoma model / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
55. Y. Tomita, H. Toriumi, J. Tatarishvili, M. Tomita, M. Unekawa, H. Sakai, E. Tsuchida, H. Horinouchi, K. Kobayashi, N. Suzuki. / Effect of artificial RBCs on murine hemorrhagic model / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
56. H. Sakai, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Hemoglobin-vesicles as O<sub>2</sub>- and CO carriers / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
57. H. Sakai, K. Sou, Y. Izumi, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Hb-vesicle, a cellular Hb-based oxygen carrier, fulfills the physiological roles of the RBC structure. / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
58. Y. Izumi, H. Nagata, T. Yamada, H. Morisaki, H. Sakai, H. Horinouchi, J. Takeda, E. Tsuchida, K. Kobayashi / The effect of hemoglobin vesicle administration on ventilator induced lung injury / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
59. R. Aeba, Y. Seishi, H. Horinouchi, M. Yamazaki,



- E. Tsuchida, H. Sakai, K. Kobayashi / Effect of artificial oxygen carrier Hb vesicle on cerebral blood flow during and after hemodiluted cardiopulmonary bypass in rat / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
60. Y. Seishi, H. Horinouchi, N. Aikawa, H. Sakai, E. Tsuchida, K. Kobayashi / Effect of HbV as a resuscitation fluid in uncontrolled hemorrhage shock model: blunt kidney injury model / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
61. H. Horinouchi, Y. Seishi, M. Kohno, Y. Izumi, H. Sakai, K. Kobayashi, E. Tsuchida / Resuscitation of hemorrhagic shock due to uncontrolled hemorrhage – effect of hemoglobin-vesicle in vascular injury model / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
62. 酒井宏水、堀之内宏久、土田英俊、小林絃一 / 人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)とCOの反応性と細胞保護効果 / 第46回日本人工臓器学会大会 / 東京 六本木アカデミーヒルズ40階 / 2008.11.27-29
63. 小林絃一 / 人工血液開発の将来展望 / 平成20年度研究成果発表会「人工血液をつくる(9)」 / 慶應義塾大学医学部 北里講堂 / 2009.2.11.
64. 堀之内 宏久 / 人工赤血球の出血性ショックへの応用 / 平成20年度研究成果発表会「人工血液をつくる(9)」 / 慶應義塾大学医学部 北里講堂 / 2009.2.11.
- B. 池田 久實 (分担研究者)
1. 論文発表
1. H. Abe, M. Fujihara, K. Ikebuchi, S. Takeoka, E. Tsuchida, H. Harashima, H. Azuma, H. Ikeda. Interaction of hemoglobin vesicles, a cellular-type artificial oxygen carrier, with human plasma: Effects on coagulation, kallikrein-kinin, and complement systems. *Artif. Cells Blood Substitutes Biotechnol.* 34, 1-10 (2006).
  2. 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).
  3. T. Komatsu, Y. Huang, S. Wakamoto, H. Abe, M. Fujihara, H. Azuma, H. Ikeda, H. Yamamoto, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida. Influence of O<sub>2</sub>-carrying plasma hemoprotein "albumin-heme" on complement system and platelet activation in vitro and physiological responses to exchange transfusion. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 81(4), 821-826 (2007).
  4. Yamaguchi M, Fujihara M, Wakamoto S, Sakai H, Takeoka S, Tsuchida E, Azuma H, Ikeda H. Influence of hemoglobin vesicles, cellular-type artificial oxygen carriers, on human umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 88, 34-42, (2009).
  5. 2. Yamaguchi M, Fujihara M, Wakamoto S, Sakai H, Takeoka S, Tsuchida E, Azuma H, Ikeda H. Biocompatibility study of hemoglobin vesicles, cellular-type artificial oxygen carriers, with human umbilical cord hematopoietic stem/progenitor cells using an in vitro expansion system. *ASAIO J* (in press)

(総説、著書など)

1. 藤原満博, 東 寛, 池田久實. ヘモグロビン小胞体のin vitroにおけるヒト血液細胞および

血漿タンパクへの適合性. 人工血液 16, 212-220 (2008).

## 2. 学会発表

1. 高橋大輔、阿部英樹、藤原満博、東 寛、酒井宏水、武岡真司、土田英俊、池田久實 / ヘモグロビン小胞体(HbV)が免疫系に及ぼす影響 / 第13回日本血液代替物学会年次大会 / 2006.8.24-25 / 慶大医, 東京
2. 藤原満博、山口美樹、若本志乃舞、東 寛、酒井宏水、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造血前駆細胞への影響 / 第13回日本血液代替物学会年次大会 / 2006.8.24-25 / 慶大医, 東京
3. 東 寛、藤原満博、池田久實 / 人工赤血球と血液事業 / 第30回日本血液事業学会総会 / 2006.10. / 札幌
4. 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
5. 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
6. 東寛、藤原満博、池田久實 / HbVの血液適合性の検討(シンポジウム: 人工赤血球の諸問題) / 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. 藤原満博、東寛、山口美樹、高橋大輔、酒井宏水、土田英俊、池田久實 / 人工酸素運搬体、ヘモグロビン小胞体 (HbV)のin vitroにおけるヒト造血幹/前駆細胞への影響 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
8. 高橋大輔、藤原満博、東寛、宗慶太郎、酒井宏水、堀之内宏久、小林紘一、土田英俊、池田久實 / ヘモグロビン小胞体(HbV)が免疫系に及ぼす影響 / 第15回日本血液代替物学会年次大会 / 慶應義塾大学信濃町キャンパス 北里講堂 / 2008.10.23
9. H. Azuma, H. Abe, D. Takahashi, M. Fujihara, H. Sakai, K. Sou, H. Horinouchi, K. Kobayashi, E. Tsuchida, H. Ikeda / Transient induction of immune-suppressor cells in rat spleen by massive injection of hemoglobin-vesicle (HbV) / The 6th Current Issues on Blood Substitute Research / Keio University Shinanomachi Campus / Oct 24-25, 2008.
10. 東 寛 / 人工血液使用時の免疫の変調について / 平成20年度研究成果発表会「人工血液をつくる(9)」 / 慶應義塾大学医学部 北里講堂 / 2009.2.11.

C. 小田切 優樹 (分担研究者)

1. 論文発表

1. Deguchi T, Isozaki K, Yousuke K, Terasaki T, Otagiri M. Involvement of organic anion transporters in the efflux of uremic toxins across the blood-brain barrier. *J. Neurochem.* 96: 1051-1059 (2006).
2. Nishi K, Komine Y, Fukunaga N, Maruyama T, Suenaga A, Otagiri M. Involvement of disulfide bonds and histidine 172 in a unique beta-sheet to alpha-helix transition of alpha 1-acid glycoprotein at the biomembrane interface. *Proteins.* 63: 611-620 (2006).
3. Iwao Y, Anraku M, Yamasaki K, Kragh-Hansen U, Kawai K, Maruyama T, Otagiri M. Oxidation of Arg-410 promotes the elimination of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta.* 1764: 743-749 (2006).
4. Iwao Y, Anraku M, Hiraike M, Kawai K, Nakajou K, Kai T, Suenaga A, Otagiri M. The structural and pharmacokinetic properties of oxidized human serum albumin, advanced oxidation protein products (AOPP). *Drug Metab Pharmacokinet.* 21: 140-146 (2006).
5. Matsushita S, Chuang VT, Kanazawa M, Tanase S, Kawai K, Maruyama T, Suenaga A, Otagiri M. Recombinant human serum albumin dimer has high blood circulation activity and low vascular permeability in comparison with native human serum albumin. *Pharm Res.* 23: 882-891 (2006).
6. Kragh-Hansen U, Watanabe H, Nakajou K, Iwao Y, Otagiri M. Chain length-dependent binding of fatty acid anions to human serum albumin studied by site-directed mutagenesis. *J Mol Biol.* 363: 702-712 (2006).
7. Ishima Y, Sawa T, Kragh-Hansen U, Miyamoto Y, Matsushita S, Akaike T, Otagiri M. S-Nitrosylation of Human variant albumin Liprizzi (R410C) confers potent Antibacterial and Cytoprotective properties. *J Pharmacol Exp Ther.* 320: 969-77 (2006).
8. Anraku M, Kouno Y, Kai T, Tsurusaki Y, Yamasaki K, Otagiri M. The role of N-acetyl-methionine as a new stabilizer for albumin products. *Int J Pharm.* 329: 19-24 (2007).
9. Chuang, V. T., and Otagiri, M. Recombinant human serum albumin. *Drugs Today (Barc)*, 43, 547-561, (2007)
9. 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)
10. Ishima, Y., Akaike, T., Kragh-Hansen, U., Hiroshima, 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)
11. Iwao, Y., Hiraike, M., Kragh-Hansen, U., Mera, K., Noguchi, T., Anraku, M., Kawai, K., Maruyama, T., and Otagiri, M. Changes of net charge and alpha-helical content affect the pharmacokinetic properties of human serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1774, 1582-1590, (2007)
12. Kadowaki, D., Anraku, M., Tasaki, Y., Kitamura, K., Wakamatsu, S., Tomita, K., Gebicki, J. M., Maruyama, T., and Otagiri, M. Effect of olmesartan on oxidative stress in hemodialysis patients. *Hypertens. Res.*, 30, 395-402, (2007)
13. Kitamura, R., Yamamoto, Y., Nagayama, S., and Otagiri, M. Decrease in plasma concentrations of antiangiogenic agent TSU-68 ((Z)-5-[(1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene) methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-propanoic acid) during oral administration twice a day to rats. *Drug. Metab. Dispos.*, 35, 1611-1616, (2007)



14. 7. Kosa, T., Nishi, K., Maruyama, T., Sakai, N., Yonemura, N., Watanabe, H., Suenaga, A., and Otagiri, M. Structural and ligand-binding properties of serum albumin species interacting with a biomembrane interface. *J. Pharm. Sci.*, 96, 3117-3124, (2007)
15. Matsumoto, K., Nishi, K., Kikuchi, M., Kadowaki, D., Tokutomi, Y., Tokutomi, N., Suenaga, A., and Otagiri, M. Alpha1-acid glycoprotein suppresses rat acute inflammatory paw edema through the inhibition of neutrophils activation and prostaglandin E2 generation. *Biol. Pharm. Bull.*, 30, 1226-1230, (2007)
16. Mera, K., Nagai, R., Haraguchi, N., Fujiwara, Y., Araki, T., Sakata, N., and Otagiri, M. Hypochlorous acid generates N epsilon-(carboxymethyl)lysine from Amadori products. *Free. Radic. Res.*, 41, 713-718, (2007)
17. Nagai, R., Fujiwara, Y., Mera, K., and Otagiri, M. Investigation of pathways of advanced glycation end-products accumulation in macrophages. *Mol. Nutr. Food. Res.*, 51, 462-467, (2007)
18. Nagai, R., Mera, K., Nakajou, K., Fujiwara, Y., Iwao, Y., Imai, H., Murata, T., and Otagiri, M. The ligand activity of AGE-proteins to scavenger receptors is dependent on their rate of modification by AGEs. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1772, 1192-1198, (2007)
19. Nakai, Y., Inoue, K., Abe, N., Hatakeyama, M., Ohta, K. Y., Otagiri, M., Hayashi, Y., and Yuasa, H. Functional characterization of human proton-coupled folate transporter/heme carrier protein 1 heterologously expressed in mammalian cells as a folate transporter. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 322, 469-476, (2007)
20. Shimoishi, K., Anraku, M., Kitamura, K., Tasaki, Y., Taguchi, K., Hashimoto, M., Fukunaga, E., Maruyama, T., and Otagiri, M. An oral adsorbent, AST-120 protects against the progression of oxidative stress by reducing the accumulation of indoxyl sulfate in the systemic circulation in renal failure. *Pharm. Res.*, 24, 1283-1289, (2007)
21. Kaneko, K., Fukuda, H., Chuang, V.T.G., Yamasaki, K., Kawahara, K., Nakayama, H., Suenaga, A., Maruyama, T., Otagiri, M. Subdomain IIIA of dog albumin contains a binding site similar to site II of human albumin. *Drug Metab. Disposition* 36, 81-86 (2008).
22. Taguchi K, Maruyama T, Iwao Y, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. Pharmacokinetics of single and repeated injection of hemoglobin-vesicles in hemorrhagic shock rat model. *J Control Release* (2009) in press.
23. Nishi K, Ueno M, Murakami Y, Fukunaga N, Akuta T, Kadowaki D, Watanabe H, Suenaga A, Maruyama T, Otagiri M. A site-directed mutagenesis study of drug-binding selectivity in genetic variants of human alpha(1)-acid glycoprotein. *J Pharm Sci.* (2009) in press.
24. Iwao Y, Hiraie M, Kragh-Hansen U, Kawai K, Suenaga A, Maruyama T, Otagiri M.. Altered chain-length and glycosylation modify the pharmacokinetics of human serum albumin.. *Biochim Biophys Acta.* (2008) in press.
25. Iwao Y, Nakajou K, Nagai R, Kitamura K, Anraku M, Maruyama T, Otagiri M. CD36 is one of important receptors promoting renal tubular injury by advanced oxidation protein products. *Am J Physiol Renal Physiol.* (2008) 295(6):F1871-80.
26. Ishima Y, Akaike T, Kragh-Hansen U, Hiroyama S, Sawa T, Suenaga A, Maruyama T, Kai T, Otagiri M. S-nitrosylated human serum albumin-mediated cytoprotective activity is enhanced by fatty acid binding. *J Biol Chem.* (2008) 283(50):34966-75.
27. Anraku M, Kitamura K, Shintomo R, Takeuchi K, Ikeda H, Nagano J, Ko T, Mera K, Tomita K, Otagiri M. Effect of intravenous iron administration frequency on AOPP and

- inflammatory biomarkers in chronic hemodialysis patients: a pilot study. *Clin Biochem.* (2008) (14-15):1168-74.
28. Kitamura R, Asanoma H, Nagayama S, Otagiri M. Identification of human liver cytochrome P450 isoforms involved in autoinduced metabolism of the antiangiogenic agent (Z)-5-[(1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene)methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-propanoic acid (TSU-68). *Drug Metab Dispos.* (2008) ;36(6):1003-9.
29. 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. Design and evaluation of S-nitrosylated human serum albumin as a novel anticancer drug. *J Pharmacol Exp Ther.* (2008) 325(1):69-76.
30. Nagai R, Mera K, Fujiwara Y, Nagai M, Otagiri M. Comparison of pharmacokinetics between highly and mildly modified AGE proteins in mice. *Ann N Y Acad Sci.* (2008) ;1126:325-7.
31. Kitamura R, Matsuoka K, Nagayama S, Otagiri M. Time-dependent induction of rat hepatic CYP1A1 and CYP1A2 expression after single-dose administration of the anti-angiogenic agent TSU-68. *Drug Metab Pharmacokinet.* (2008) ;23(6):421-7.
2. 学会発表
1. 安楽誠, 甲斐俊哉, 河野陽介, 山崎啓之, 小田切優樹/ヒト血清アルブミンの安定性に及ぼす各種添加剤の影響/第13回血液代替物学会/2006. 8./東京
2. 田口和明, 浦田由紀乃, 安楽誠, 甲斐俊哉, 武岡真司, 土田英俊, 小林紘一, 小田切優樹/マウスにおけるヘモグロビン小胞体構成脂質の体内動態解析/第13回血液代替物学会/2006. 8. /東京
3. 広山秀一, 異島優, 赤池孝章, 小田切優樹/S-ニトロ化ヒト血清アルブミンの調製と評価/第13回血液代替物学会/2006. 8./東京
4. 金子健一, 福田光, Chuang Tuan Giam, Victor, 山崎啓之, 川原浩一, 中山仁, 丸山徹, 小田切優樹/イヌアルブミン分子上の薬物結合部位のトポロジー解析/第21回日本薬物動態学会第21回年会/2006. 11./東京
5. 平池美香子, 岩尾康範, Ulrich Kragh-Hansen, 川井恵一, 丸山徹, 小田切優樹/ヒト血清アルブミンの構造変化は体内動態に影響を及ぼす/第21回日本薬物動態学会第21回年会/2006. 11./東京
6. 平田憲太郎, 中城圭介, 異島優, 廣山秀一, 片山直久, 甲斐俊哉, 丸山徹, 小田切優樹/糖鎖付加組換え型アルブミンの肝臓特異的DDS担体としての評価/第21回日本薬物動態学会第21回年会/2006. 11./東京
7. 上原奈緒, 西弘二, 菊池真理, 丸山徹, 末永綾香, 小田切優樹/ $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質(AGP)の肝実質細胞への取り込みにおけるヘモグロビン $\beta$ サブユニットの関与./第21回日本薬物動態学会第21回年会; 2006. 11./東京
8. 竹内耕治, 安楽誠, 北村健一郎, 丸山徹, 小田切優樹/血液透析患者の酸化ストレスにおいてヒト血清アルブミンの34CYSは重要なアミノ酸残基として機能する/第21回日本薬物動態学会第21回年会; 2006. 11. 東京
9. 門脇大介, 安楽誠, 坂哉 萌, 丸山徹, 小田切優樹/血管内皮細胞を用いたレニン・アンギオテンシン系作用薬の抗酸化能評価/第28回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム/2006. 11. /静岡
10. 岩尾康範, 平池美香子, 安楽誠, 中城圭介, 永井竜児, 北村健一郎, 小田切優樹/酸化修飾アルブミンはCD36を介して尿細管間質障害を引き起こす/第28回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム/2006. 11./静岡
11. 異島優, 赤池孝章, 廣山秀一, 澤 智裕, 丸山徹, Ulrich Kragh-Hansen, 小田切優樹/内因性リガンド結合によるS-ニトロ化ヒト血清



- アルブミンの肝ターゲティング／第 28 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム／2006. 11.／静岡
12. 安楽 誠、小田切優樹／人工赤血球の体内動態／平成18年度研究成果発表会「人工血液をつくる(7)」／2007.2.11／日本科学未来館、東京
  13. 平田憲史郎、中城圭介、異島優、廣山秀一、片山直久、甲斐俊哉、丸山徹、小田切優樹／糖鎖含有アルブミンの肝臓ターゲティング素材としての有用性評価／日本薬学会第127年会／2007. 3.／富山
  14. 門脇大介、安楽誠、坂哉萌、丸山徹、小田切優樹HUVCECにおけるolmesartanの抗酸化効果／日本薬学会第127年会／2007. 3.／富山
  15. 安楽誠、下石和樹、田先由佳、丸山徹、小田切優樹／尿毒症物質インドキシル硫酸による血中酸化ストレス誘導機序について／日本薬学会第127年会／2007. 3.／富山
  16. 丸山徹、上原奈緒、西弘二、菊池真理、末永綾香、小田切優樹／ $\alpha$  1-酸性糖タンパク質(AGP)の肝実質細胞取り込みにおけるヘモグロビン $\beta$ サブユニットの関与／日本薬学会第127年会／2007. 3.／富山
  17. 米良克美、原口望、藤原章雄、永井竜児、小田切優樹／次亜塩素酸はアマドリ化アルブミンのCML化を誘導する／日本薬学会第127年会／2007. 3.／富山
  18. 岩尾康範、平池美香子、Ulrich Kragh-Hansen、川井恵一、丸山徹、小田切優樹／ヒト血清アルブミンの一残基変異が及ぼす構造・動態特性への影響／日本薬学会第127年会／2007. 3. 富山
  19. 末永綾香、竹内耕治、安楽誠、北村健一郎、丸山徹、小田切優樹／腎透析患者への鉄剤投与時の酸化ストレスにおけるヒト血清アルブミン34Cysの役割／日本薬学会第127年会／2007. 3. 富山
  20. 異島優、赤池孝章、廣山秀一、澤智裕、丸山徹、小田切優樹／内因性リガンド結合が及ぼすヒト血清アルブミンのS-ニトロソ化効率への影響／日本薬学会第127年会／2007.3.／富山
  21. Iwao, Y., Hiraike, M., Kragh-Hansen, U., Kawai, K., Maruyama, T., Otagiri, M. / The elimination of serum albumin is dependent on its conformational Stability / Pharmaceutical Sciences World Congress. / 2007. April (Amsterdam)
  22. Ishima, Y., Hiroyama, S., Sawa, T., Kragh-Hansen, U., Akaike, T., Otagiri, M. / S-Nitrosylation of human variant albumin Liprizzi (R410C) confers potent antibacterial and cytoprotective properties. / Pharmaceutical Sciences World Congress / 2007. April (Amsterdam)
  23. Suenaga, A., Takeuchi, K., Anraku, M., Kitamura, K., Maruyama, T., Otagiri, M. / The role of 34cys of human serum albumin for oxidative stress on iron administrated hemodialysis patients. / Pharmaceutical Sciences World Congress. / 2007. April (Amsterdam)
  24. 田先由佳、下石和樹、岩尾康範、安楽誠、末永綾香、丸山徹、小田切優樹。 / 尿毒症物質インドキシル硫酸による血中酸化ストレス誘導機序 / 日本薬剤学会第22年会 / 5月 (埼玉)
  25. 異島優、赤池孝章、廣山秀一、澤智裕、丸山徹、小田切優樹 / 内因性リガンド結合によるヒト血清アルブミンのS-ニトロソ化制御機構の解明 / 日本薬剤学会第22年会 / 5月 (埼玉)
  26. 金子健一、福田光、Chuang Tuan Giam、Victor、山崎啓之、川原浩一、中山仁、丸山徹、小田切優樹 / イヌアルブミン分子上の薬物結合部位のトポロジー解析 / 日本薬剤学会第22年会 / 5月 (埼玉)
  27. 米良克美 / 異型アルブミンを利用した低抗原性DDS担体の開発 / 日本薬剤学会第22年会 / 5月 (埼玉)
  28. 田口和明、浦田由紀乃、安楽誠、甲斐俊哉、岩尾康範、土田英俊、小林統一、小田切優樹