

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。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」。テルモの精方嘉貴・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

るため、感四十七万人へ減少。毎年

染を完全に度未などに輸血用血液の

回避できる不足が顕著している。日

のも特徴 本邦十字社は「特に若年

層で献血者の減少が激しい

だ。人工赤血球は国内で

球は国内で血液を増やすことが可能

はペンチャかどうかなど調査を進め

ーのオキシている」と話す。だが、

ジェニクス現時点では切り札となる

（東京・港）対策は見つかっていない

も開発中のが現状だ。

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たで、今年五月に「プロト

し、直径二百、（）は十 提携した。〇七年から日

億分の二）材の微細カプ 本や欧州で治験を始める

セルにとじ込めて作る。 計画だ。

献血で集めた赤血球は有 開発の背景には輸血用

効期限が三週間しかない 血液の慢性的な不足があ

のに対し、最長一年間の る。

保存が可能。しかも血液 国内の献血者数は一九

型に関係なく使える。製 九五年に約六百三十万人

造段階でウイルスを殺せ だったのが〇四年は五百

れば、感染防止が期待で

は、けがをしたときに

三葉ウエルファーマは

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

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、特

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

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

分を作る研究が進む。東

京大学の中内啓光教授ら

は、けがをしたときに

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。

厚労省は、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、ヘモグロビンを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(リビドヘム)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純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、グレル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担う(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、日の目をみる事ができる」という(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」は世界でも同剤が初めてとなる(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ドライン(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。

パーフルオロケミカルを除き世界初の人工赤血球となったのが、米バイオビュア社の「ヘモビュア」である。ヘモビュアは、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ビ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を。

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重体を分子間架橋という方法で重合させた。重篤な出血性ショック720例に対し生理食塩水を対照薬に、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を。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重体を分子内架橋法でアスピリン類似体の2重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	ヘモビュア	米バイオビュア社	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)

リボ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（リボソーム）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、慶応大学呼吸器外科の小林祐一らが開発した^[1]。

性状と特徴

天然のヒト赤血球は、大きさが直径約8μmで、直径が4μm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、またリボ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。

リボ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、一般的なりモソーム構成成分では血小板数が約20~50%減

少ししたが、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。一般的なリポ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ポソーム成分によるものと考えられた。

本剤のリポソームを調製した^[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のものを用い、リポソーム表面の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

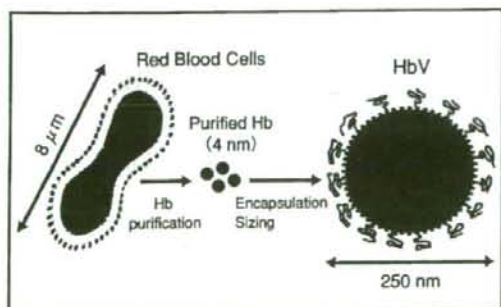


図1 ヘモグロビン小胞体 (HbV) のコンセプト

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—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—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ポソーム合成技術と、慶應大学医学部小林紘一教授のバイオイメージ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弁会社「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ると思われる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投与群とは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]。

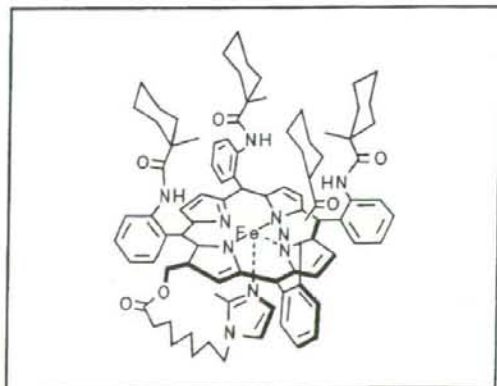


図1 シクロヘキナノイルアミノフェニル誘導体

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、鉄テトラニルポルフィリン誘導体 (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体組換え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 小松見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力、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、量産生などの特徴に着目し、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力、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))。

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



2007年6月14日、慶応大学で日本血液代替物学会年次大会が開催され、人工血液研究の最前線と題するシンポジウムの中で、早稲田大学理工学術院の小松晃之准教授は、アルブミンにヘムを結合させたアルブミン-ヘムについて報告した。

ヘムは2価の鉄を中心に持つポルフィリン化合物。ヘモグロビンは4つのヘムを持つ分子量6万4000のたんぱく質だ。現在、オキシジェニックス(東京・港、大村孝男社長)やテルモが人工酸素運搬体を開発しているが(関連記事1、関連記事2)、これらは日本赤十字社から提供された期限切れの赤血球製剤から精製したヘモグロビンをリポソームに封入して作ったもの。血液型に関係なく利用でき、長期間保存できるなどの利点があるが、ヘモグロビンの安定性の問題や、赤血球製剤からヘモグロビンを精製する過程で病原体が混入する可能性がゼロにはならない、などの課題がある。

一方、アルブミンについては、三菱ウェルファーマや化学及血清療法研究所が遺伝子組み換え技術で製造されたものを医薬品として開発しており、血液由来ではないものももうすぐ実用化されようとしている。

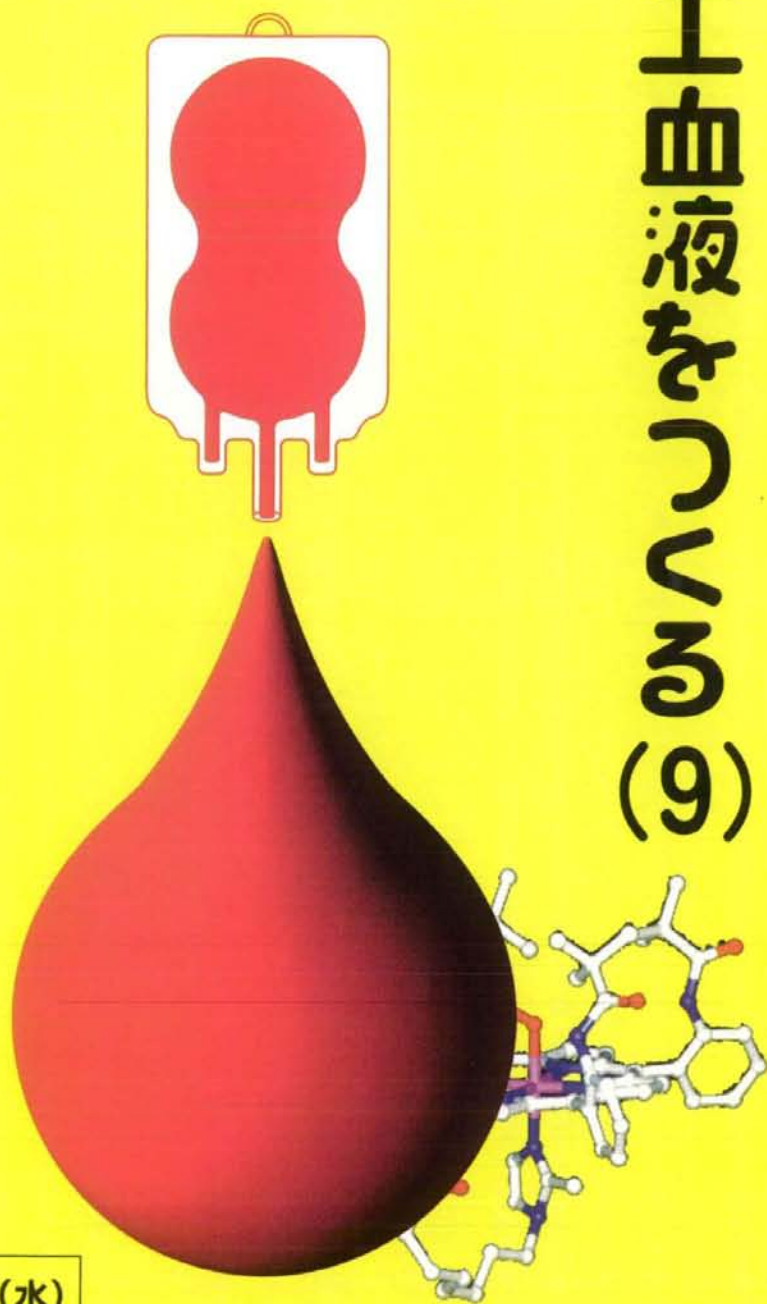
小松准教授らはアルブミンが脂肪酸と結合することに着目し、アルブミンと結合するヘムを30種類程度化学合成した。ヘムによって酸素親和性が高いものから低いものまでさまざまあり、「用途に応じて使い分けられる」と小松准教授は説明した。ヘムを解離しにくいようにアルブミン-ヘムの表面をPEGで修飾したものを作成し、貧血状態にしたラットに投与した結果、赤血球を投与したのと同様の効果が得られた。これらのことから、血液由来の成分を全く使わない完全合成のアルブミン-ヘムを次世代の人工酸素運搬体として利用できる可能性を示した。さらに小松准教授は、アルブミンのアミノ酸を遺伝子組換えにより3つだけ改変すれば、天然のヘムでも結合し酸素を運搬できるようになることを明らかにした。

小松准教授は、「アルブミン-ヘムは、たんぱく質製剤として利用されているアルブミンを酸素の運搬に使おうというもので、ヘモグロビンを封入したリポソームとはコンセプトが違う。また、リポソームの直径は200nmから250nmだが、アルブミンは8nm程度なので、脳梗塞などの虚血部位への酸素供給など、用途も広がる」と語った。ちなみに、小松准教授はアルブミン-ヘムの適応として、出血ショックの蘇生液、救急車内での酸素供給液、虚血部位への酸素供給液のほか、移植用臓器の灌流液、体外循環回路の補填液などを挙げている。また、天然のヘムを利用しても、「ヘモグロビンを利用する場合と違って感染因子が入り込む可能性はほとんどない」(小松准教授)とのことだ。(橋本宗明)

平成20年度厚生労働省科学研究費補助金
政策創薬総合研究推進事業 研究成果等普及啓発事業

平成20年度 研究成果発表会

人工血液をつくる (9)



平成21年2月11日(水)

時間:9:00~17:10

慶應義塾大学信濃町キャンパス

医学情報センター 北里講堂

定員:250名

主催:財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

後援:日本血液代替物学会