

モデルでは1次血栓(血小板血栓)形成能、2次血栓(フィブリン血栓)形成能が共に強く阻害されていた。大量輸血によりショック病態のような著明な血圧低下は認められなかったが、本モデルでは凝固因子が脱血により喪失するため、純粋な血小板減少のみのモデルとするには凝固因子の補充が必要であった。実臨床においても同様に新鮮凍結血漿などを補充投与することから、この点でも臨床に則したモデルと言える。今回の検討でも、H12(ADP)リポゾームを投与する際には platelet-poor plasma (PPP)などで凝固因子を補充している。

平成22年度は、この家兎の急性血小板減少モデルを用いて、H12(ADP)リポゾームもしくは血小板を投与した後に肝臓に外傷性臓器損傷による臓器出血モデルを作製し、H12(ADP)リポゾームの前投与による臓器出血に対する止血制御効果を検討した。血液交換により作製した血小板減少家兎に開腹後、肝臓に直径5mmの円柱状の組織欠損を加えると、同部位からの出血により死に至る致死的な外傷性出血モデルとなる。このモデルにH12(ADP)リポゾームを臓器出血作製前投与することで急性血小板減少病態における肝臓器出血が制御出来、救命効果が得られた。しかしながら、実臨床では、ほとんどの症例で既に臓器出血を来した状態でのH12(ADP)リポゾームの投与になると考えられるため、H12(ADP)リポゾームの後投与における臓器出血制御効果を検討する必要があると考えられた。

そこで平成23年度は家兎の急性血小板減少モデルを用いて、これに肝臓器出血を作製した後にH12(ADP)リポゾームの後投与を行い、その臓器止血制御効果を検討した。血液交換により作製した血小板減少家兎に外傷性の肝臓器出血を作製し、出血部位を5分間圧迫している間にH12(ADP)リポゾームを投与、H12(ADP)リポゾームが肝臓の臓器出血に及ぼす止血効果を検討した。その結果、H12(ADP)リポゾームの後投与によりPRPの後投与と同等もしくはそれ以上に、肝臓器出血からの臓器出血量の減少と出血時間の短縮を認め、これによる救命率の向上も認められた。H12(ADP)リポゾームの後投与は、実臨床において大量出血による易出血傾向を伴う臓器出血時にH12(ADP)リポゾームが投与されるであろう状況を再現していると考えられ、H12(ADP)リポゾームの外科救急時における臨床応用への有用性が期待された。

A. 研究目的

多発外傷や外科手術時の大量出血では輸血により対処せざるを得ない事態に遭遇することが時にある。しかし、大量輸血は生体に血小板減少を伴う出血傾向をもたらし、止血制御に難渋した場合の大量輸血では、これがさらに出血部位からの止血制御を困

難なものにする。この結果、更なる輸血をせざるを得ず、出血傾向がさらに増悪するといった負の連鎖に陥り、最終的には大量失血により患者を死に至らしめることが決して少なくない。

このような場合、外科的には血小板輸血が有効であるが、現在その供給状況は必ず

しも十分とは言い難く、緊急時にはさらに入手困難なものとなる。このため、本来の血小板輸血に代わり得る代替物の開発が急務である。救急医療の現場では、時に血小板の輸血のみが唯一の命を繋ぐ救命手段となることも現実に起こり得ると考える。とくに大規模な震災等では大量出血を伴う多発外傷患者の同時大量発生が容易に想像出来る。このような非常事態では輸血用血小板が、例えこれが唯一の救命手段であっても、全く入手出来ない事態が広範囲において発生することが危惧される。

本研究の目的は、H12(ADP)リポゾームが前述のような外科的な急性の血小板減少を伴う易出血性病態で、血小板輸血に代わり得る効果があるか否かを研究することである。平成 21 年度は、外傷時の血管破綻などによる大量出血とこれに対する大量輸血により生じる、急性の血小板減少を伴う易出血性病態モデルを家兎において作製した。平成 22 年度は、本モデルを用いて、これに肝臓器損傷を作製し肝臓器出血が H12(ADP)リポゾームの前投与により止血制御出来るかを研究した。この結果、H12(ADP)リポゾームの前投与により顕著な止血制御効果とこれによる救命率改善が認められた。しかしながら、実際の臨床ではほとんどの症例で臓器出血を来たした後の、これに対する止血制御を目的に止血剤が投与されるため、H12(ADP)リポゾームの出血後の投与における臓器出血制御効果を検討する必要があると考えられた。そこで平成 23 年度は家兎の急性血小板減少モデ

ルを用いて、肝臓器出血を作製した後に、実臨床と同様に臓器損傷部を圧迫し出血を制御しながら H12(ADP)リポゾームの投与を行い、臓器止血制御効果を検討した。

B. 研究方法

1. 家兎における急性血小板減少モデルと肝臓器損傷の作製（平成 21 年度）

1.1. 実験動物

NZW ウサギ（日本 SLC,1.8-2kg、雄）を用いて実験を行った。

1.2. 脱血および輸血用ルートの確保

ネンブタールとキシラジンの麻酔下に、一方の大腿動脈に 21G サフロー針にてカニューレーションを行いルート確保し、脱血と動脈圧測定用とした。次に対側の大腿静脈に 21G サフロー針にて同様にカニューレーションを行いルート確保し、輸液および輸血用とした。

1.3. 初回脱血および Lactated Ringer 輸液

まず、大腿動脈より 12.5 mL/kg の脱血を行い、対側の大腿静脈より 12.5 mL/kg の Lactated Ringer (5% albumin)を投与した。ヒトアルブミンは膠質浸透圧を上げることで循環動態に与える影響を出来るだけ軽減することを目的に使用した。

1.4. 洗浄赤血球および platelet-rich

plasma(PRP)、platelet-poor plasma (PPP)の採取

大腿動脈より脱血した動脈血を 100 ×g で 15 分間遠心分離し、上清を PRP として採取した。その後、さらに 500 ×g で 10 分間遠心分離を行い、この上清を PPP として採取

した。残った赤血球を含む血球成分を生理食塩水で洗浄し(500 ×g,10 分間)、洗浄赤血球とした(Fig. 1)。

1. 5. 脱血(2 回目以降)および洗浄赤血球輸血

引き続き 2 回目の脱血を大腿動脈より同様に、1 回目の脱血で得られた洗浄赤血球を 5% albumin 加生理食塩水で 25mL にして大腿静脈より輸血した。

さらに同様に 12.5 mL/kg の脱血(3 回目)を行い、2 回目の脱血で得られた洗浄赤血球を生理食塩水で 12.5 mL/kg として輸血した。このように、1 回 12.5 mL/kg の脱血を計 8 回 (合計 100 mL/kg) 行い、最後の 8 回目の脱血で採取した洗浄赤血球はさらなる脱血を行わずに生理食塩水で 12.5 mL/kg にして投与した(Fig. 2)。

1. 6. 測定項目

1. 6. 1. 動脈圧

大腿動脈に挿入したルートより動脈圧を圧測定装置にて経時的に測定した。

1. 6. 2. 血小板数、ヘモグロビン濃度、白血球数

大腿動脈ルートより、脱血前、25 mL/kg 脱血後、37.5、50、62.5、75、87.5、100 mL/kg 脱血後に 0.1μL 採血し、測定に供した。

1. 6. 3. 耳介出血時間

脱血と輸血の操作終了後、家兎の耳介に 1cm の傷をメスにて作製し、切開部位からの出血を 25°C の生理食塩水中で観察し止血されるまでの時間を計測した。

1. 6. 4. 肝臓からの組織損傷による出血

耳介出血時間測定後、開腹し肝臓に直径

5mm の Derma punch を用いて臓器損傷を作製した(Fig. 3)。

1. 6. 5. 凝固因子の測定

大腿動脈ルートより、脱血前、血液交換終了後に 8 mL を採血し、fibrinogen や Prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), antithrombin III (AT III)などの各種凝固因子を測定した。

1. 6. 6. ソノクロットによる血栓形成能

脱血前と血液交換終了後 (薬物投与前)、各種薬物投与後に 0.8 mL 採血し、1 次血栓 (血小板血栓)および 2 次血栓 (フィブリン血栓) の形成能をソノクロット (Sienco 社, Morrison, CO) を用いて解析した (Fig. 4)。

2. 家兎急性血小板減少モデルでの肝損傷時の臓器出血に対する H12(ADP)リポゾームの前投与による止血制御効果の検討 (平成 22 年度)

2. 1. 家兎における急性血小板減少モデルの作製

NZW ウサギ (日本 SLC, 1.8-2.0 kg) を用いて、平成 21 年度に作製した急性血小板減少モデルと同様の実験モデルを作製した。

2. 2. H12(ADP)リポゾームや PRP, PPP, ADP リポゾームの臓器出血前投与

計 100 mL/kg の脱血と等量の洗浄赤血球輸血が終了し、薬物投与前の耳介出血時間を測定した後に、H12(ADP)リポゾーム 20mg/kg を PPP で 15 mL/kg に溶解したもの、もしくは採取した PRP を 15 mL/kg、PPP を 15 mL/kg、H12 が付いていない ADP リポゾーム 20 mg/kg (PPP で 15 mL/kg に調整)を

各々静脈内投与した。薬物投与後、さらに耳介出血時間測定や採血を行った後に開腹した。肝鎌状靭帯を切離後、手術用手袋に開けた穴に肝葉をくぐらせ、出血が腹腔内に漏れずに手袋内に貯まるようにした後に Derma Punch で臓器損傷を作製し、臓器出血に対する薬物投与による止血制御効果を検討した。H12(ADP)リポゾーム投与群、PRP 投与群、PPP 投与群は各群 7 羽、ADP リポゾーム投与群は 4 羽を用いて行った (Fig. 5, 6)。

2. 3. 測定項目

2. 3. 1. 凝固因子の測定

血液交換終了後、大腿動脈ルートより薬物投与前後に 8 mL を採血し、fibrinogen や Prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), antithrombin III (AT III)などの各種凝固因子を測定した。

2. 3. 2. 耳介出血時間

同様に血液交換終了後、薬物投与前後に、家兎の耳介に 1cm の傷をメスで作製し、切開部位からの出血を 25°C の生理食塩水中で観察し止血されるまでの時間を計測した。

2. 3. 3. ソノクロットによる血栓形成能

血液交換終了後の薬物投与前後に 0.8 mL 採血し、1 次血栓(血小板血栓)および 2 次血栓 (フィブリン血栓) の形成能をソノクロット (Sienco 社, Morrison, CO) を用いて解析した。

2. 3. 4. 肝損傷部からの出血量と出血時間の測定

薬物投与終了後、開腹し肝臓に直径 5mm の Derma punch を用いて組織損傷を作製し

た。肝損傷作製から 5 分後までの 5 分間、これに続く 5-10 分後までの 5 分間の肝臓からの臓器出血量を計測した(Fig. 6)。また、肝臓器出血が止血出来るまでの時間も測定した。

3. H12(ADP)リポゾームの急性血小板減少モデルでの肝損傷時の臓器出血に対する後投与による止血制御効果の検討 (平成 23 年度)

3. 1. 家兎における急性血小板減少モデルの作製

NZW ウサギ (日本 SLC, 1.8-2.0 kg) を用いて、平成 21 年度に作製した急性血小板減少モデルと同様の実験モデルを作製した。

3. 2. 外傷性臓器損傷による肝臓器出血の作成と損傷部圧迫

計 100mL/kg の脱血と等量の洗浄赤血球輸血が終了し、血小板数が $5 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 程度になったところで、まず開腹し肝臓に直径 5mm の Derma punch を用いて組織損傷を作製した。手術用手袋に開けた穴に肝葉をくぐらせ、出血が腹腔内に漏れずに手袋内に貯まるようにした後に Derma punch にて肝損傷を作製した。損傷部圧迫止血は、くり抜いた肝損傷部を小児用尿道カテーテルを用いて 5 分間圧迫することで止血した (Fig. 7)。しかしながら、本モデルのような急性血小板減少状態(血小板数が $5 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 以下)では 5 分間の圧迫による止血効果は全く認められないことをあらかじめ確認している。

3. 3. H12(ADP)リポゾームの後投与および PRP、PPP の後投与

肝損傷作成後の臓器出血を確認した後に、バルーンによる損傷部圧迫を5分間行い、この間にH12(ADP)リポゾーム 20 mg/kgをPPPで15 mL/kgに溶解したものを静脈内投与した(H12(ADP)リポゾーム群, n=5)。対照として、採取したPRPを15 mL/kg、PPPを15 mL/kgをそれぞれH12(ADP)リポゾーム群と同様に投与した群を作製した(PRP群 n=5, PPP群 n=3)。

3.4. 測定項目

3.4.1. 動脈圧

大腿動脈に挿入したルートより動脈圧を圧測定装置にて血液交換終了後の肝損傷作製前、および薬物投与後となる肝損傷作製20分後に測定した。

3.4.2. 血小板数、ヘモグロビン濃度、白血球数

同様に大腿動脈ルートより、血液交換終了後の肝損傷作製前、および薬物投与後となる肝損傷作製20分後に0.1 mL採血し、測定に供した。

3.4.3. 凝固因子の測定

血液交換終了後の肝損傷作製前、および薬物投与後となる肝損傷作製20分後に0.8 mLを採血し、fibrinogenやProthrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), antithrombin III (AT III)などの各種凝固因子を測定した。

3.4.4. 肝損傷部からの臓器出血量、出血時間

バルーン圧迫の解除から5分間と、それに続く5分間の損傷部からの出血量を測定した。また、止血までに要した時間を出血

時間として測定した。

3.4.5. ソノクロットによる血栓形成能

肝損傷作成20分後(バルーン圧迫解除15分後)に採血し、1次血栓(血小板血栓)および2次血栓(フィブリン血栓)の形成能をソノクロット(Sienco社, Morrison, CO)を用いて解析した。

C. 研究結果

1. 家兔における急性血小板減少モデルの作製(平成21年度)

1.1. 急性血小板減少モデル作製時の各種パラメーターの推移

1.1.1. 動脈圧の推移

実験期間中、顕著な動脈圧の低下は認められなかった(Fig. 8A)。

1.1.2. 血小板数の推移

血小板数は脱血と洗浄赤血球輸血の反復により持続的に減少し、血液交換終了時には $5 \times 10^4/\mu\text{L}$ にまで低下した(Fig. 8B)。

1.1.3. ヘモグロビン濃度、白血球数の推移

ヘモグロビン濃度は血液交換開始直後に低下したが、その後は8 g/dLとほぼ一定で推移した(Fig. 8C)。

白血球数も若干の増減を繰り返したが顕著な増減は認められず、血液交換終了時にはほぼ実験前値と同程度になっていた(Fig. 8D)。

1.1.4. 凝固因子の変化

血液交換終了後、脱血前に比しfibrinogen値の明らかな低下や、PT、APTT値の延長、AT III値の低下が認められ(Table 1)、血液交換(脱血と洗浄赤血球輸血)による凝固

因子の喪失が示唆された。

1.2. 耳介出血時間

耳介出血時間は脱血前に比し、血液交換終了後著しい延長を認めた(Fig. 9)。

1.3. 肝臓器出血量

正常家兎では肝臓器損傷を作製しても、出血はほとんど認められなかったが、血液交換終了後の急性血小板減少家兎では臓器出血が止血されずに死に至った(Fig. 10)。

1.4. 1次血栓(血小板血栓)および2次血栓(フィブリン血栓)の形成能の変化

脱血前の正常家兎血液を用いたソノクロットによる血栓形成能の解析では、1次血栓(血小板血栓)の形成能が active clotting time として、2次血栓(フィブリン血栓)の形成能が clot rate として Fig. 11A のように表わされる。血液交換終了後は Fig. 11B 右のように脱血前の Fig. 11B 左に比し血液の凝固が認められず、active clotting time も極端に延長し、clot rate も顕著に低下していたことから(Fig. 12)、1次血栓(血小板血栓)形成能と2次血栓(フィブリン血栓)形成能が共に著しく阻害されたことが示唆された。

2. 家兎急性血小板減少モデルでの肝損傷時の臓器出血に対する H12(ADP)リポゾームの前投与による止血制御効果(平成22年度)

2.1. H12(ADP)リポゾームの前投与が肝損傷部からの臓器出血後の予後に与える影響

H12(ADP)リポゾームを臓器出血前に投与することで、PRPの前投与と同様に全例

を救命し得た。一方、PPPやADPリポゾームの投与ではいずれも生存率が20%以下に留まっていた(Fig. 13)。このようにH12(ADP)リポゾーム投与群やPRP投与群ではPPP投与群やADPリポゾーム投与群に比し、明らかに生存率が改善した。

2.2. H12(ADP)リポゾームの前投与が肝損傷部からの臓器出血量に与える影響

H12(ADP)リポゾーム投与群では肝臓からの臓器出血がPPP投与群と比べて少なく、とくに肝損傷作製から5分以上経過した後に、その止血効果が顕著になった(Fig. 14)。

H12(ADP)リポゾーム投与群では、肝損傷作製から5分以内の初期の出血量はPPP投与群より少ない傾向にあったものの血小板を多く含んだPRP投与群に比べるとやや多い傾向にあった。しかし、H12(ADP)リポゾーム投与群ではそれに続く5分間(損傷作製から5~10分後)の出血量は顕著に減少しており、PRP投与群よりむしろ出血量が少ない傾向にあった(Fig. 14)。PRP投与群は出血初期の5分間で既に出血量が少なかったが、その後の5分間ではH12(ADP)リポゾーム投与群のような顕著な出血量の減少は認められなかった(Fig. 14)。凝固因子のみを含んだPPP投与群では初期の5分間、それに続く5分間のいずれでも、他群に比し出血量は多かった(Fig. 14)。ADPリポゾーム投与群は肝損傷初期の5分間ではH12(ADP)リポゾーム投与群と同程度の出血量であったが、その後の5分間では出血量がむしろ増加する傾向にあった(Fig. 14)。

2.3. H12(ADP)リポゾームの前投与が肝損

傷部からの臓器出血時間に与える影響

H12(ADP)リポゾーム投与群では PRP 投与群と同様に、PPP 投与群に比し肝臓からの出血量が明らかに減少していた(Fig. 15)。一方、ADP リポゾーム投与群では、出血量が PPP 投与群と同程度と抑制されていなかった(Fig. 15)。

2. 4. H12(ADP)リポゾームや PRP、PPP、ADP リポゾームの前投与が各種パラメーターに与える影響

2. 4. 1. 動脈圧やヘモグロビン濃度、血小板数、白血球数

動脈圧は血液交換終了後に行った H12(ADP)リポゾームはじめ各種薬剤の投与の前後で顕著な差を認めなかった(Table 2)。ヘモグロビン濃度や白血球数も各種薬剤投与前後で顕著な差はなかった(Table 2)。血小板数は血小板成分を多く含んだ PRP の投与でのみ明らかな上昇を認めたが、血小板成分を含んでいない H12(ADP)リポゾームや ADP リポゾーム、PPP の投与では上昇を認めなかった(Table 2)。

2. 4. 2. 各種凝固因子

H12(ADP)リポゾームはじめ各種薬剤投与により、fibrinogen 値の改善(上昇)を認めた (Table 3)。薬物投与前に延長していた Prothrombin time (PT)も、各種薬物投与により短縮、もしくは短縮傾向を認めた (Table 3)。APTT も各種薬物投与により短縮傾向を認め、AT III 値も増加を認めた(Table 3)。

2. 5. H12(ADP)リポゾームの前投与が耳介出血時間に与える影響

H12(ADP)リポゾームの投与により PRP

投与と同様に耳介出血時間の著しい短縮を認めたが、PPP や ADP リポゾームの投与では耳介出血時間は延長したままの状態での改善を認めなかった(Fig. 16)。

2. 6. H12(ADP)リポゾームの前投与が血栓形成能に与える影響

各群の血栓形成能をソノクロットで解析した。H12(ADP)リポゾームの投与により PPP 投与群と比較して、1 次血栓(血小板血栓)の形成能の指標である active clotting time が有意に低値となり(Fig. 17A)、2 次血栓(フィブリン血栓)の形成能の指標である clot rate も有意に高値となった(Fig. 17B)。これは H12(ADP)リポゾームの投与により 1 次血栓(血小板血栓)の形成能、2 次血栓(フィブリン血栓)の形成能が共に改善したことを示唆している。PRP 投与群でも同様に PPP 投与群と比較して active clotting time の低値と clot ratio の高値が認められ、血栓形成能が改善したことが示唆された(Fig. 17A, B)。一方、ADP リポゾームの投与では PPP 投与と同様に血栓形成能の改善は認められなかった(Fig. 17 A, B)。H12(ADP)リポゾームや PRP、PPP 投与後のソノクロット解析の典型例を Fig. 18 に示す。

3. H12(ADP)リポゾームの急性血小板減少モデルでの肝損傷時の臓器出血に対する後投与による止血制御効果 (平成 23 年度)

3. 1. 肝損傷部からの臓器出血後の予後に対する H12(ADP)リポゾームの後投与の効果

H12(ADP)リポゾームの後投与により 5 例

中 3 例を救命し得た(60% survival)。一方、PRP の後投与では 5 例中 1 例を救命し得たに留まった(20% survival)。肝出血後に PPP を後投与しても全例救命出来ず死に至った(Fig. 19)。

3.2. 肝損傷部からの臓器出血量

H12(ADP)リポゾーム投与群では肝臓からの臓器出血が PPP 投与群と比べて少なく、とくに肝損傷作製から 5 分以内で、その止血効果が顕著であった(Fig. 20)。さらに H12(ADP)リポゾーム投与群は PRP 投与群に比しても肝損傷作製から 5 分以内の初期の出血量が有意に抑制されていた(Fig. 20)。肝損傷作製から 5~10 分後の出血量は 3 群共に減少していたが H12(ADP)リポゾーム投与群で最も少なく、次いで PRP 投与群、PPP 投与群の順に出血量が多い傾向が認められた(Fig. 20)。PPP 投与群ではいずれも止血を認めなかったが、肝損傷作製 5~10 分後では出血量が減少していた。これには最初の 5 分間で大量出血を来たしたために血圧が低下し出血量が減少した可能性も推測される。PPP 投与群は n=3 と少なく、今後更なる検討の追加を要すると考える。

3.3. 肝損傷部からの臓器出血時間に対する H12(ADP)リポゾームの後投与の効果

PPP 投与群では完全な止血が認められなかったが、H12(ADP)リポゾーム投与群では PRP 投与群と同様に、肝損傷作製から 25 分前後で止血が認められた(Fig. 21)。Fig. 22 に H12(ADP)リポゾームの後投与による止血経過を示す。本症例では肝損傷を作成後、H12(ADP)リポゾームを投与し 25 分後に肝

臓器出血の止血完了が認められ、翌日の開腹所見でも腹腔内に血液の貯留は認めなかった(Fig. 22)。

3.4. 肝臓器出血後の動脈圧やヘモグロビン濃度、血小板数、白血球数の変化に対する H12(ADP)リポゾームの後投与の影響

肝臓器出血後に H12(ADP)リポゾームを投与することで出血 20 分後の動脈圧低下が回避された(Table 4)。一方、PPP や PRP の投与では動脈圧は低下する傾向にあり(Table 4)、とくに PPP 投与群ではその後も出血が持続し血圧が低下、死に至った。肝臓器出血後のヘモグロビン濃度の低下も H12(ADP)リポゾーム投与群で出血量が抑制されたため PPP 投与群や PRP 投与群のような低下は認められなかった(Table 2)。白血球数は各種薬剤投与で顕著な差はなかった(Table 4)。血小板数は血小板成分を多く含んだ PRP の投与でのみ肝臓器出血後にもかかわらず上昇を認めたが、血小板成分を含んでいない H12(ADP)リポゾームの投与では変化はなく、PPP の投与ではさらに低下していた(Table 4)。

3.5. 肝臓器出血後の各種凝固因子の変化に対する H12(ADP)リポゾームの後投与の影響

肝臓器出血後に H12(ADP)リポゾーム、PRP、PPP いずれを投与しても fibrinogen 値の改善(上昇)は認められなかった。とくに PRP 投与群、PPP 投与群ではいずれも 50 mg/dL 以下と測定限界以下であった(Table 5)。Prothrombin time (PT)も、肝臓器出血後の各種薬物投与では明らかな改善を認めず、

PRP 投与群、PPP 投与群では計測し得ないほど延長していた(Table 5)。APTT も 3 群共に計測し得ないほど延長していた。AT III 値も肝臓器出血後の薬物投与では 3 群共改善を認めなかった(Table 5)。

3. 6. H12(ADP)リポゾームの後投与が肝臓器出血後の血栓形成能に与える影響

各群の血栓形成能をソノクロットで解析した。1 次血栓(血小板血栓)の形成能の指標である active clotting time は、肝臓器出血後の H12(ADP)リポゾーム投与でも血液交換終了時(603 ± 54 sec)より改善する傾向にあり、PRP 投与群でも同様であった(Table 5)。しかし、PPP 投与群では血液凝固が認められなかった。2 次血栓(フィブリン血栓)の形成能の指標である clot rate も、肝臓器出血後の H12(ADP)リポゾーム投与で血液交換終了時(1.6 ± 0.3 sec)より改善する傾向にあり、PRP 投与群でも同様の傾向が認められた(Table 5)。PPP 投与群では血液凝固が認められなかったため、clot rate も active clotting time と同様に検出できなかった(Table 5)。肝臓器出血作製 20 分後の H12(ADP)リポゾームや PRP、PPP 投与群のソノクロット解析の典型例を Fig. 23 に示す。

D. 考察

平成 21 年度は外傷性の血管破綻による大量出血とこれに対する大量輸血の際に発生する急性の血小板減少を伴う易出血性病態を家兎において作製し、本モデルが外科的な急性血小板減少時における血小板代替物の投与効果を検討するのに適したモデル

であることを確認した。

平成 22 年度はこのモデルにおいて肝臓器出血を作製し H12(ADP)リポゾームの出血前投与による止血制御効果を血小板成分を多く含む PRP 投与群や血小板成分を含まない PPP 投与群と比較検討した。その結果、H12(ADP)リポゾームを臓器出血前にあらかじめ投与しておくこと、血小板減少によって起きる致死性の大量出血が止血制御出来、救命効果があることが認められた。

平成 23 年度はさらに実臨床での使用を念頭に、あらかじめ本モデルにおいて肝臓器出血を作製し、この出血に対して H12(ADP)リポゾームを後投与することで止血制御効果が得られるかを検討した。臓器出血後の H12(ADP)リポゾーム投与では、救命率が低下するものの、PRP の後投与よりも高い救命効果が得られる傾向が認められ、外科的な急性血小板減少病態での H12(ADP)リポゾームの高い止血制御効果が期待された。

今回用いた脱血と洗浄赤血球輸血により作製した家兎の急性血小板減少モデルでは、体重 1.8-2.0 kg の家兎の循環血液量にほぼ相当する 100 mL/kg の脱血と、脱血検体から得られた赤血球成分のみを返却輸血することで、血小板のみが $5 \times 10^4 / \mu\text{L}$ と顕著に低下するがヘモグロビン濃度は 7~8 g/dL に留まるモデルが作製出来た。1 次血栓(血小板血栓)の形成能を反映する active clotting time の顕著な延長や 2 次血栓(フィブリン血栓)の形成能を反映する clot rate の顕著な低下も認められ、血栓形成能の増悪が示

唆された。本モデルでは凝固因子も血小板同様、著明に低下したことから(Table 1)、易出血性病態の発現には血小板低下のみならず、凝固因子の低下も関与していることが考えられた。そこで、H12(ADP)リポゾーム投与時には凝固因子を含む PPP もあわせて投与した。平成 22 年度の検討から、これにより凝固因子がある程度改善することが分かっている。しかし、平成 23 年度の検討では各種薬剤の出血後の投与であるため、出血後は凝固因子が消費されるため、fibrinogen, PT, APTT, AT III の各因子の改善は 3 群いずれでも認められなかった(Table 3)。

本実験中に採取した PRP は従来の検討から十分な止血制御機能を有していることを確認しており、これら PRP を投与することで、有効な血小板輸血が行われたと考えることが出来る。また、本モデルでは洗浄赤血球のみの輸血としたが、救急医療の現場では多くの場合、新鮮凍結血漿の大量投与により、凝固成分の補充が通常は行われている。採取した PPP を投与することで、このような凝固成分の補充も可能であり、臨床に即したモデルが作製し得たと考えられる。PPP には血小板成分が含まれていないことを確認している。

このような外科的な急性の血小板減少による易出血性病態モデルにおいて、肝臓に外傷性の臓器損傷を作製したところ、血小板成分を含まない PPP の出血後投与では臓器出血が止血制御出来ずに全例が死亡した。これは PPP 投与によりある程度凝固因子を

補充しても、血小板の補充がなければ止血制御が出来ず、救命出来なかったことを示唆させる。本モデルにおいて、PRP として血小板を輸血投与することで臓器出血後の投与であっても、20%の救命率が得られた。平成 22 年度に行った PRP の前投与では全例が救命出来ていたが、20%の救命に留まったのは、いかに血小板減少状態での大量臓器出血の制御が困難かを物語っているとも言え、我々の臨床経験とも一致するとの印象を受ける。注目すべきは H12(ADP)リポゾームを出血後に投与することでも血小板輸血と同等、もしくはそれ以上の止血制御効果が得られたことである。とくに救命率は 60%と PRP 投与群の 20%を凌ぐ救命効果が認められた。また、肝臓器出血後の投与であるにもかかわらず、H12(ADP)リポゾーム投与でソノクロットで評価した血液凝固能が若干改善したことは(Fig. 23)、今後使用が想定される臨床現場での H12(ADP)リポゾームの止血制御効果を考える上で非常に興味深い。PPP 投与のように例え凝固因子を投与して fibrinogen や AT III 濃度を上げても、血小板がなければ 1 次血栓が形成されないため、引き続き起こる fibrin による 2 次血栓も形成されないことは、血小板減少時の止血制御を考える上で示唆に富む所見である。すなわち実際の臨床現場において、血小板低下を伴う易出血性病態を呈する症例に対し、いくら凝固因子を新鮮凍結血漿などで補充しても血小板を輸血しなければ効果的な止血制御が出来ないことを示唆させる。

H12(ADP)リポゾームによる止血効果が、急性血小板減少時の外傷性損傷による臓器からの出血に対する後投与でも認められ、さらに救命効果があったことは、臨床応用を考える上で非常に意義深い。平成22年度の研究において、H12(ADP)リポゾームの臓器出血前からの投与では止血効果が出血直後から現れるのではなく、ある程度出血した後顕著に発揮されていた。しかし、平成23年度のH12(ADP)リポゾームの出血後投与では、早い段階から止血制御効果が認められ、実臨床での有用性が示唆された。今後、その機序に関して研究する必要があると考える。

D. 結論

1. 家兎において、脱血と洗浄赤血球輸血を繰り返すことで、急性の血小板減少性の易出血性病態モデルを作製した。本モデルを作製後、肝臓に外傷性の臓器損傷を作製したところ、臓器からの出血により死に至る致死性の血小板減少性易出血性病態モデルとなり得ることが確認された。(平成21年度)
2. このモデルにおいて肝臓器出血前に、あらかじめH12(ADP)リポゾームを投与すると、血小板を多く含んだPRPを投与した群と同様に全例が止血救命出来た。(平成22年度)
3. 実臨床を念頭に置いて、本モデルで肝臓に外傷性臓器損傷による臓器出血を作製後にH12(ADP)リポゾームを投与しても臓器出血に対する止血救命効果が得られた。

H12(ADP)リポゾームの外科臨床での止血救命効果が期待された。(平成23年度)

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

(原著)

1. Inatsu, A., Kinoshita, M., Nakashima, H., Shimizu, J., Saitoh, D., Tamai, S., and Seki, S. : Novel mechanism of C-reactive protein for enhancing mouse liver innate immunity. *Hepatology* 49: 2044-2054, 2009.
2. Fujie, T., Matsutani, N., Kinoshita, M., Okamura, Y., Saito, A., and Takeoka, S. : Adhesive, flexible, and robust polysaccharide nanosheets integrate for tissue-defect repair. *Adv. Funct. Mater.* 19: 2560-2568, 2009. (Nature Nonotechnology introduced at Research Highlights, 19, June, 2009)
3. Okamura, Y., Kabata, K., Kinoshita, M., Saitoh, D., and Takeoka, S. : Free-standing biodegradable poly(lytic acid) nanosheet for sealing operations in surgery. *Adv. Mater.* 21: 1-5, 2009.
4. Matsumoto, A., Tsujimoto, H., Ono, S., Kinoshita, M., Habu, Y., Kawabata, T., Shinomiya, N., and Seki, S. : Loss of hepatic B cells following lipopolysaccharide injection and polymicrobial sepsis. *J. Gastroen. Hepatol.*

- 24: 262-269, 2009.
5. 木下 学, 小野 聡, 藤枝俊宣, 平木修一, 辻本広紀, 木村曉史, 下野浩貴, 岡村陽介, 宮崎裕美, 庄野 聡, 武岡真司, 斎藤大蔵, 関 修司 : ナノテクノロジーにより作製した超極薄膜ナノシートを用いた穿孔性腹膜炎時の穿孔部閉鎖治療. 日本腹部救急医学会雑誌, 29: 807-808, 2009.
 6. 庄野 聡, 木下 学, 羽生仁子, 中島正裕, 佐藤厚志, 関 修司 : 高脂肪食摂取時のエンドトキシンと大腸菌感染に対するマウスの免疫反応の特徴, エンドトキシン研究 12 (日本エンドトキシン研究会編), 第 1 版, 医学図書出版, 東京, 2009, 49-53 頁.
 7. 野上弥志郎, 木下 学, 庄野 聡, 高瀬凡平, 石原雅之, 菊地 眞, 前原正明 : 出血性ショックに対する人工赤血球(リポゾーム内包型ヘモグロビン)の救命蘇生効果. 防衛医科大学校雑誌, 34: 203-216, 2009.
 8. Hyoudo T, Oda T, Kikuchi Y, Higashi K, Kushiyama T, Yamamoto K, Yamada M, Suzuki S, Hokari Y, Kinoshita M, Seki S, Fujinaka F, Yamamoto T, Miura S, Kumagai H. Voltage gated potassium channel Kv1.3 blocker as a potential treatment for rat anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. Am J Physiol-Renal 299; 1258-1269, 2010.
 9. Nogami, Y., Takase, B., Kinoshita, M., Shono, S., Kaneda, S., Ishihara, M., Kikuchi, M., Maehara, T. Characteristic changes in heart rate variability induces during hemorrhagic shock, and effect of liposome-encapsulated hemoglobin in rats. J Arrhythmia 26: 189-198, 2010.
 10. Kinoshita, M., Uchida, T., Sato, A., Nakashima, M., Nakashima H., Shono S., Habu, Y., Miyazaki, H., Hiroi, S., and Seki, S. Characteriation of two F4/80-positive Kupffer cell subsets by their function and phenotype in mice. J. Hepatol. 53; 903-910, 2010.
 11. Takahashi, T., Kinoshita, M., Shono, S., Habu, Y., Ogura, T., Seki S., and Kazama, T. The effect of ketamine anesthesia on the immune function of mice with postoperative septicemia. Anesthesia & Analgesia 111; 1051-1058, 2010.
 12. Fujie, T., Saito, A., Kinoshita, M., Ohtsubo, S., Saitoh, D., and Takeoka, S. : Dual therapeutic action of antibiotic-loaded nanosheets for the treatment of gastrointestinal tissue defects. Biomaterials 31; 6269-6278, 2010.
 13. Shono, S., Kinoshita, M., Takase, B., Nogami, Y., Kaneda, S., Ishihara, M., Saitoh, D., Kikuchi, M. and Seki, S. : Intraosseous transfusion with liposome-encapsulated hemoglobin improves mouse survival after hypohemoglobinemic shock without scavenging nitric oxide. Shock 35; 45-52,

- 2011.
14. Nogami, Y., Kinoshita, M., Takase, B., Inatsu, A., Ishihara, M., Seki, S., and Maehara, T. : Cardiac dysfunction induced by experimental myocardial infarction impairs the host defense response to bacterial infection in mice due to reduced phagocytosis of Kupffer cells. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 140: 624-632, 2010.
 15. Fujie, T., Kinoshita, M., Shono, S., Saito, A., Okamura, Y., Saitoh, D., and Takeoka, S. : Sealing effect of a polysaccharide nanosheet for murine cecal puncture. *Surgery* 148; 48-58, 2010.
 16. Tanaka, M., Kinoshita, M., Yoshihara, Y., Shinomiya, N., Seki, S., Nemoto, K., and Morimoto, Y. : Influence of Intraarticular Neutrophils on the Effects of Photodynamic Therapy for Murine MRSA Arthritis. *Photochem. Photobiol.* 86; 403-409, 2010.
 17. Yamamoto, T., Kinoshita, M., Shinomiya, N., Hiroi, S., Sugawara, H., Matsushita, Y., Majima, T., Saitoh, D., and Seki, S. : Pretreatment with ascorbic acid prevents lethal gastrointestinal syndrome in mice receiving a massive amount of radiation. *J. Radiat. Res.* 51: 145-156, 2010.
 18. Kawarabayashi, N., Seki, S., Hatsuse, K., Kinoshita, M., Takigawa, T., Tsujimoto, H., Kawabata, T., Nakashima, H., Shono, S., and Mochizuki, H. : Immunosuppression in the livers of mice with obstructive jaundice participates in their susceptibility to bacterial infection and tumor metastasis. *SHOCK* 33: 500-506, 2010.
 19. 松谷哲行, 藤枝俊宣, 木下 学, 尾関雄一, 武岡真司 : 肺瘦修復における超薄膜状ナノバイオマテリアルの臨床応用へ向けた基礎的検討. *日本呼吸器外科学会誌*, 24: 2-7, 2010.
 20. 宮崎裕美, 木下 学, 四木久美子, 高木智絵, 庄野 聡, 小野 聡, 関 修司, 齋藤大蔵: 熱傷後の Interleukin-18 投与によるマウスクッパー細胞の活性化に関する研究. *防衛衛生*, 57: 95-104, 2010. 防衛衛生学会最優秀論文.
 21. 高木智絵, 宮崎裕美, 木下 学, 庄野聡, 小野 聡, 関 修司, 齋藤大蔵: 出血性ショック時の superoxide dismutase 投与の臓器保護効果について. *防衛衛生*, 57: 177-186, 2010. 防衛衛生学会最優秀論文.
 22. 辻本広紀, 矢口義久, 平木修一, 小野聡, 木下 学, 山本順司, 長谷和生: 上部消化管穿孔症例における腹膜 CT 値測定の意義. *日本腹部救急医学会雑誌* 31: 13-17, 2011.
 23. 木下 学, 小野 聡, 稲津昭仁, 佐藤厚志, 平木修一, 高畑りさ, 辻本広紀, 齋藤大蔵, 関 修司 : 合成 CRP の致死的重症感染症に対する予後改善効果—クッパー細胞の貪食能亢進効果と炎症性サイトカイン抑制効果—.

- Shock 25: 1-7, 2010
24. 辻本広紀, 平木修一, 木下 学, 愛甲 聡, 小野 聡, 山本順司, 長谷和生 : 腹部救急における敗血症の病態と治療戦略 特に血液浄化療法について: 制御性 T 細胞に着目した sepsis に続発する免疫抑制状態. 日本腹部救急医学会雑誌, 29: 711-715, 2009. Miyazaki H, Kinoshita M, Saito A, Fujie T, Kabata K, Hara E, Ono S, Takeoka S, Saitoh D. An ultra-thin poly(L-lactic acid) nanosheet as a burn-wound dressing for protection against bacterial infection. Wound Repair Regen (in press)
 25. Kimura A, Ono S, Hiraki S, Takahata R, Tsujimoto H, Miyazaki H, Kinoshita M, Hatsse K, Daizoh Saito, Hase K, Yamamoto J. The postoperative serum interleukin-15 concentration correlates with organ dysfunction and the prognosis of septic patients following emergency gastrointestinal surgery. J Surg Res (in press)
 26. Hiraki S, Ono S, Kinoshita M, Tsujimoto H, Takahata, R., Miyazaki H., Saitoh D, Seki S, Hase K. Neutralization of IL-10 restores the down-regulation of IL-18 receptor on NK cells and IFN- γ production in septic mice, thus leading to an improved survival. SHOCK (in press)
 27. Nakashima M, Kinoshita M, Nakashima H, Habu Y, Miyazaki H, Hiroi S, Nakanishi K, Seki S. Characterization of mouse liver phagocytic B cells in innate immunity. J. Leukocyte. Biol. 96; 537-546, 2012.
 28. Tanaka M, Kinoshita M, Yoshihara Y, Shinomiya S, Seki S, Nemoto K, Hamblin M, Dai T, Huang L, Morimoto Y. Cytotoxicity on neutrophils by PDT with the photosensitizers used for localized microbial infection. Photochem. Photobiol. (in press)
 29. Maemura T, Kinoshita M, Shin M, Miyazaki H, Tsujimoto H, Ono S, Hase K, Saitoh D. Assessment of a Tissue-Engineered Gastric Wall Patch in a Rat Model. Artif. Organs (in press)
 30. Shono S, Habu Y, Nakashima M, Sato A, Nakashima H, Miyazaki H, Kinoshita M, Tsumatori G, Shinomiya N, Seki S. The immunologic outcome of enhanced function of mouse liver lymphocytes and Kupffer cells by high-fat-cholesterol diet. SHOCK 35; 45-52, 2011.
 31. Kinoshita M, Miyazaki H., Ono S, Inatsu, A., Nakashima, H., Tsujimoto, H., Shinomiya, N., Saitoh, D., Seki, S. Enhancement of neutrophil function by IL-18 therapy protects burn-injured mice from MRSA infection. Infect Immun 79; 2670-80, 2011.
 32. Fujino M, Kinoshita M, A Saitoh, H Yano, K Nishikawa, T Fujie, K Iwaya, M Kakiyama, S Takeoka, D Saitoh, and Y Tanaka. Novel overlaying technique of

- poly L-lactic acid (PLLA) nanosheet for adhesion prophylaxis and fixation of intraperitoneal onlay polypropylene mesh in a rabbit model. *Surg Endosc* 25; 3428-36, 2011.
33. Hiraki S, Ono S, Tsujimoto H, Kinoshita M, Takahata, R., Miyazaki H., Saitoh D, Hase K. Neutralization of interleukin-10 or tumor growing factor-beta decreases the percentages of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in septic mice, thus leading to an improved survival. *Surgery* 151;313-22, 2012.
 34. Miyazaki H., Kinoshita M, Ono S, Nakashima M, Hara E, Ohno H, Seki S, Saitoh D. Augmented bacterial elimination by Kupffer cells after IL-18 pretreatment via IFN-gamma produced from NK cells in burn-injured mice. *BURNS* 37; 1208-1215, 2011.
 35. Takahata, R., Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Kimura A, Kinoshita M, Miyazaki H., Saitoh D, Hase K. Postoperative serum concentrations of High Mortality Group Box chromosomal protein-1 correlates to the duration of SIRS and pulmonary dysfunction following gastrointestinal surgery. *J Surg Res* (in press)
 36. Tanaka M, Kinoshita M, Yoshihara Y, Shinomiya S, Seki S, Nemoto K, Hamblin M, Morimoto Y. Photodynamic therapy using intra-articular photofrin for murine MRSA arthritis: biphasic light dose response for neutrophil-mediated antibacterial effect. *Laser Surg Med* 43; 221-229, 2011.
 37. Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Kinoshita M, Hase K. Preoperative Toll-like receptor expression in monocytes is associated with host immunological responses following gastrointestinal surgery. *World J Surg* 35; 365-371, 2011.
 38. Shono, S., Kinoshita, M., Takase, B., Nogami, Y., Kaneda, S., Ishihara, M., Saitoh, D., Kikuchi, M. and Seki, S. : Intraosseous transfusion with liposome-encapsulated hemoglobin improves mouse survival after hypohemoglobinemic shock without scavenging nitric oxide. *Shock* 35; 45-52, 2011.
 39. Miyazaki H, Kinoshita M, Saito A, Fujie T, Kabata K, Hara E, Ono S, Takeoka S, Saitoh D. An ultra-thin poly(L-lactic acid) nanosheet as a burn-wound dressing for protection against bacterial infection. *Wound Repair Regen* (in press)
 40. Tanaka M, Kinoshita M, Yoshihara Y, Shinomiya S, Seki S, Nemoto K, Hamblin M, Morimoto Y. Photodynamic therapy using intra-articular photofrin for murine MRSA arthritis: biphasic light dose response for neutrophil-mediated antibacterial effect. *Laser Surg Med* 43; 221-229, 2011.

(総説)

1. Seki S, Nakashima H, Nakashima M, Kinoshita M. Antitumor immunity produced by the liver Kupffer cells, NK cells, NKT cells and CD8+ CD122+ T cells. Clin. Dev. Immunol. 2011.
2. 木下 学, 藤枝俊宣 : 超極薄膜ナノシートの外科への応用. 医学の歩み, 288: 187-189, 2009.
3. 稲津昭仁, 木下 学, 清水 潤, 関 修司 : CRP の炎症性サイトカインの産生抑制. 臨床免疫・アレルギー科, 51: 187-195, 2009.
4. 小野 聡, 木下 学, 辻本広紀, 平木修一, 長谷和生, 斎藤大蔵 : 熱傷, Sepsis に対するサイトカイン療法. ICU とCCU, 33: 371-378, 2009.
5. 藤枝俊宣, 松谷哲行, 木下 学, 武岡真司: ナノシートからなる手術用フィルムの開発. MATERIAL STAGE 10: 4-6, 2010.
6. 藤枝俊宣, 木下 学, 斎藤大蔵, 武岡真司: 穿孔性腹膜炎に対するナノシートの応用. Surgery Frontier 17: 37-43, 2010.
7. 木下 学: HIF-1 (Hypoxia inducible factor-1). 外科と代謝 44: 271-274, 2010.
8. 木下 学, 藤枝俊宣: 外科手術用創傷被覆材(ナノシート). 化学と教育 58: 570-573, 2010.
9. 小野 聡, 辻本広紀, 木下 学: 制御性T細胞(Treg). 外科と代謝 44: 339-342, 2010.
10. Seki S, Nakashima H, Nakashima M, Kinoshita M. Antitumor immunity produced by the liver Kupffer cells, NK cells, NKT cells and CD8+ CD122+ T cells. Clin. Dev. Immunol. (in press)
11. 木下 学: CRP (C-reactive protein). 外科と代謝 45: 43-47, 2011.
12. 木下 学: プロカルシトニン. 外科と代謝 46: 15-18, 2012.
13. 木下 学, 庄野聡, 中島弘幸, 中島正裕, 佐藤厚志, 五十嵐正巳, 宮崎裕美, 小野聡, 関修司 : 食食活性酸素産生 Kupffer 細胞とサイトカイン産生 Kupffer 細胞. ショック学会誌 2011.

G学会発表

1. Inatsu, A., Kinoshita, M., Shinomiya, N., Saitoh, D., Tamai, S., and Seki, S. : Treatment with synthetic C-reactive protein can rescue mice from lethal endotoxin shock and improve postburn infections. Chemical and biological defense science and technology conference, 2009, Dallas, (CBD S&T proceeding: 279, 2009.)
2. Yamamoto, T., Kinoshita, M., Shinomiya, N., Hiroi, S., Hagiwara, K., Matsushita, Y., Majima, T., Saitoh, D., and Seki, S. : Pretreatment with ascorbic acid prevents lethal gastrointestinal syndrome in mice receiving a massive amount of radiation. Chemical and biological defense science

- and technology conference, 2009, Dallas, (CBD S&T proceeding: 121, 2009.)
3. Shinomiya, N., Kinoshita, M., Tokuno, S., Kaku, K. Takei, E., Shono, S., and Yamada, N. : Retrospective analysis of subway train attack incident. Chemical and biological defense science and technology conference, 2009, Dallas, (CBD S&T proceeding: 516, 2009.)
 4. Miyazaki, H., Kinoshita, M., Shono, S., Takagi, T., Hara, E., Ono, S., Seki, S. and Saitoh, D. : Lethicized superoxide dismutase improves hepatic injury induced by hemorrhagic shock. Society for free Radical Biology and Medicine 16th Annual Meeting, 2009, San Francisco, USA, (Free Radical Biology & Medicine, 47: S147, 2009.)
 5. Watanabe, S., Takase, B., Kinoshita, M., Nogami, Y., Maehara, T., and Ohsuzu, F. : Heart Rate Variability Indices Correlate APACHE Prognostic Score, Cytokines and Catecholamines in Intensive Care Patients. 13th Congress of International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, 2009, Yokohama, Japan.
 6. Saitoh, D., Miyazaki, H., and Kinoshita, M. : Lecithinized SOD treatment improves the survival rate of animals with *Escherichia Coli* infection after burn injuries. 7th Asia Pacific Burns Congress, 2009, New Delhi, India, (Proceedings of APBC: 98, 2009.)
 7. Fujie, T., Matsutani, N., Kinoshita, M., Okamura, Y., Saito, A., and Takeoka, S. : Biomedical application of polysaccharide nanosheet for tissue-defect repair. The 236th ACS National Meeting, 2009, Washington DC, USA, (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem., 50: 432, 2009.)
 8. Kinoshita, M., Uchida, T., Sato A., Nakashima, M., Nakashima, H., Shono, S., Habu, Y., Miyazaki, H., and Seki, S. : Functional and Phenotypical characterization of Kupffer cell subsets in mice. 第39回日本免疫学会総会, 2009, 大阪. (日本免疫学会誌, 39: 27, 2009.)
 9. Miyazaki, H., Kinoshita, M., Ono, S., Habu, Y., Nakashima, H., Seki, S., and Saitoh, D. : Reduced superoxide production and restored phagocytotic activity of neutrophils by lecithinized SOD treatment improves the survival of burn-injured mice infected with *E. coli*. 第39回日本免疫学会総会, 2009, 大阪. (日本免疫学会誌, 39: 241, 2009.)
 10. 佐藤厚志, 木下 学, 羽生仁子, 庄野聡, 中島弘幸, 中島正裕, 稲津昭仁, 宮崎裕美, 関 修司 : 合成CRPがヒトPBMCの細菌性刺激に対する免疫応答へ及ぼす影響-TNF産生抑制効果と相反するIFN- γ 産生亢進効果について-. 第39回日本免疫学会総会, 2009, 大阪. (日本免疫学会誌, 39: 41, 2009.)
 11. 木下 学, 中島正裕, 佐藤厚志, 庄野

- 聡, 稲津昭仁, 宮崎裕美, 中島弘幸, 羽生仁子, 四ノ宮成祥, 関 修司 : Activating neutrophils by IL-18 therapy protects burn-injured mice from MRSA infection. 第 82 回日本細菌学会総会, 2009, 名古屋. (日本細菌学会誌, 64: 235, 2009.)
12. 稲津昭仁, 木下 学, 齋藤大蔵, 玉井誠一, 関 修司 : A novel mechanism of C-reactive protein for enhancing mouse liver innate immunity. 第 82 回日本細菌学会総会, 2009, 名古屋. (日本細菌学会誌, 64: 230, 2009.)
 13. 中島正裕, 木下 学, 羽生仁子, 宮崎裕美, 庄野 聡, 中島弘幸, 佐藤厚志, 関修司 : B 細胞による貪食について. 第 82 回日本細菌学会総会, 2009, 名古屋. (日本細菌学会誌, 64: 234, 2009.)
 14. 庄野 聡, 木下 学, 羽生仁子, 中島正裕, 関 修司 : 高脂肪食マウスにおける大腸菌感染と腫瘍細胞に対する免疫反応. 第 82 回日本細菌学会総会, 2009, 名古屋. (日本細菌学会誌, 64: 237, 2009.)
 15. 羽生仁子, 木下 学, 庄野 聡, 中島弘幸, 中島正裕, 佐藤厚志, 関 修司 : 高脂肪・高コレステロール食摂取マウスの Con-A あるいは α GalCer 誘導性肝炎に対する影響. 第 82 回日本細菌学会総会, 2009, 名古屋. (日本細菌学会誌, 64: 240, 2009.)
 16. 佐藤厚志, 木下 学, 羽生仁子, 庄野聡, 中島弘幸, 中島正裕, 稲津昭仁, 宮崎裕美, 関 修司 : 合成 CRP がヒト PBMC の細菌性刺激に対する免疫応答へ及ぼす影響—TNF 産生抑制効果と相反する IFN- γ 産生亢進効果について—. 第 92 回日本細菌学会関東支部会総会, 2009, 東京, (第 92 回日本細菌学会関東支部会総会講演抄録集: 44, 2009.)
 17. 木下 学, 小野 聡, 川端利信, 庄野 聡, 辻本広紀, 平木修一, 木村暁史, 齋藤大蔵, 長谷和生, 関修司 : 腹部外科感染症の病態に及ぼす加齢の影響とその機序に関する検討—細菌 DNA と TLR-9 に注目して—. 第 109 回日本外科学会定期学術集会, 2009, 福岡. (日本外科学会雑誌, 110: S317, 2009.)
 18. 平木修一, 小野 聡, 辻本広紀, 木村暁史, 木下 学, 末山貴浩, 菅澤英一, 坂本直子, 矢口義久, 愛甲 聡, 市倉 隆, 齋藤大蔵, 山本順司, 長谷和生 : 外科侵襲時における制御性 T 細胞の意義に関する実験的検討. 第 109 回日本外科学会定期学術集会, 2009, 福岡. (日本外科学会雑誌, 110: S662, 2009.)
 19. 小野聡, 辻本広紀, 平木修一, 木村暁史, 木下 学, 菅澤英一, 矢口義久, 坂本直子, 愛甲 聡, 市倉 隆, 山本順司, 長谷和生, 齋藤大蔵 : 腹部救急疾患術後の病態形成における interleukin-15 の役割とその臨床的意義に関する検討. 第 109 回日本外科学会定期学術集会, 2009, 福岡. (日本外科学会雑誌, 110: S662, 2009.)

20. 辻本広紀, 市倉 隆, 菅澤英一, 平木修一, 坂本直子, 矢口義久, 赤瀬崇嘉, 木下 学, 愛甲 聡, 小野 聡, 山本順司, 長谷和生胃穿孔症例の術中診断と予後に関する検討. 第 109 回日本外科学会定期学術集会, 2009, 福岡. (日本外科学会雑誌, 110: S549, 2009.)
21. 菅澤英一, 市倉 隆, 間嶋 崇, 小野 聡, 辻本広紀, 平木修一, 坂本直子, 矢口義久, 赤瀬崇嘉, 木下 学, 山本順司, 長谷和生 : 胃癌におけるサイトカイン、ケモカインを介した癌宿主応答に関する検討. 第 109 回日本外科学会定期学術集会, 2009, 福岡. (日本外科学会雑誌, 110: S547, 2009.)
22. 木下 学, 小野 聡, 川端利信, 庄野 聡, 平木修一, 辻本広紀, 長谷和生, 関 修司 : CpG-ODN の抗腫瘍効果と加齢生体での臓器傷害増強作用およびその対策. 第 64 回日本消化器外科学会総会, 2009, 大阪. (日本消化器外科学会雑誌, 42: 355, 2009.)
23. 小野 聡, 辻本広紀, 平木修一, 木村暁史, 木下 学, 矢口義久, 坂本直子, 市倉 隆, 山本順司, 長谷和生 : 消化器外科周術期感染症の病態形成における制御性 T 細胞の役割とその対策に関する検討. 第 64 回日本消化器外科学会総会, 2009, 大阪. (日本消化器外科学会雑誌, 42: 1038, 2009.)
24. 木下 学, 小野 聡, 藤枝俊宣, 平木修一, 辻本広紀, 木村暁史, 下野浩貴, 岡村陽介, 宮崎裕美, 庄野 聡, 武岡真司, 齋藤大蔵, 関 修司 : ナノテクノロジーにより作成した超極薄膜ナノシートを用いた穿孔性腹膜炎時の穿孔部閉鎖治療. 第 45 回日本腹部救急医学会総会(診療と研究のトピックス), 2009, 東京, (日本腹部救急医学会雑誌, 29: 328, 2009.)
25. 辻本広紀, 小野 聡, 木下 学, 菅澤英一, 平木修一, 坂本直子, 矢口義久, 赤瀬崇嘉, 愛甲 聡, 市倉 隆, 山本順司, 長谷和生 : 胃穿孔症例の臨床病理学的特徴と予後に関する検討. 第 45 回日本腹部救急医学会総会(パネルディスカッション), 2009, 東京, (日本腹部救急医学会雑誌, 29: 256, 2009.)
26. 平木修一, 小野 聡, 辻本広紀, 木村暁史, 末山貴浩, 木下 学, 菅澤英一, 矢口義久, 坂本直子, 愛甲 聡, 市倉 隆, 齋藤大蔵, 山本順司, 長谷和生 : 腹部外科侵襲時における制御性 T 細胞の意義に関する検討. 第 45 回日本腹部救急医学会総会(診療と研究のトピックス), 2009, 東京, (日本腹部救急医学会雑誌, 29: 332, 2009.)
27. 木下 学, 小野 聡, 稲津昭仁, 平木修一, 高畑りさ, 木村暁史, 辻本広紀, 長谷和生, 齋藤大蔵, 関修司 : 外科侵襲後の重症感染症に対する CRP の炎症性サイトカイン抑制効果と Kupffer 細胞貧機能賦活化効果. 日本外科代謝・栄養学会 第 46 回学術集会, 2009, 東京, (外科と代謝・栄養, 43: 98, 2009.)
28. 辻本広紀, 平木修一, 小野 聡, 木下

- 学, 菅澤英一, 坂本直子, 矢口義久, 堀尾卓矢, 熊野勲, 愛甲 聡, 山本順司, 長谷和生 : 樹状細胞と制御性 T 細胞に着目した spesis の免疫抑制状態に関する検討. 日本外科代謝・栄養学会第 46 回学術集会, 2009, 東京, (外科と代謝・栄養, 43: 97, 2009.)
29. 宮崎裕美, 木下 学, 齋藤大蔵 : 熱傷後感染に対する活性酸素阻害による救命効果. 第 35 回日本熱傷学会総会・学術集会, 2009, 東京, (第 35 回日本熱傷学会総会・学術集会 プログラム・抄録集, 125, 2009.)
 30. 庄野 聡, 木下 学, 羽生仁子, 小野 聡, 関 修司 : 高脂肪食摂取マウスの蛋白レベル、mRNA レベルでみた Kupffer 細胞の TLR4 発現について. 第 15 回日本エンドトキシン研究会, 2009, 東京, (日本エンドトキシン研究会プログラム・講演抄録集, 28, 2009.)
 31. 小野 聡, 宮崎裕美, 齋藤大蔵, 辻本広紀, 平木修一, 高畑りさ, 山本順司, 長谷和生, 木下 学, 庄野 聡 : 敗血症時のサイトカイン産能における病原関連分子パターンの役割に関する実験的検討. 第 15 回日本エンドトキシン研究会, 2009, 東京, (日本エンドトキシン研究会プログラム・講演抄録集, 48, 2009.)
 32. 宮崎裕美, 木下 学, 齋藤大蔵 : 熱傷ラットモデルにおけるレシチン化 SOD の投与効果. 第 17 回日本熱傷学会関東地方会, 2009, 東京, (第 17 回日本熱傷学会関東地方会 プログラム・抄録集, 17, 2009.)
 33. Takase, B., Shono, S., Kinoshita, M., Nogami, Y., and Ishihara, M. : Resuscitation with Intraosseous Infusion of Artificial Oxygen Carrier (Liposome-Encapsulated Hemoglobin) from Lethal Hemorrhagic Shock and Its Effect on Cytokins. 第 73 回日本循環器学会総会・学術集会, 2009, 大阪, (Circulation Journal 73: 441, 2009)
 34. 庄野 聡, 矢部一憲, 木下 学, 高瀬凡平, 緒方嘉貴, 金田伸一, 関 修司, 齋藤大蔵, 石原雅之, 菊地 眞 : 致死性出血性ショックにおける人工赤血球の投与後の再投与と輸血について. 第 54 回防衛衛生学会, 2009, 東京, (防衛衛生 56:59, 2009.)
 35. 藤枝俊宣, 松谷哲行, 木下 学, 岡村陽介, 武岡真司 : 多糖ナノシートの構築および胸膜欠損モデルイヌに対する創傷被覆効果. 第 89 回日本化学会春季年会, 2009, 船橋.
 36. 齋藤晃広, 藤枝俊宣, 木下 学, 武岡真司 : 多糖ナノシートからなる薬物担持絆創膏の構築と抗炎症効果. 第 89 回日本化学会春季年会, 2009, 船橋.
 37. 藤枝俊宣, 松谷哲行, 木下 学, 岡村陽介, 齋藤晃広, 武岡真司 : 医用応用可能な高分子ナノシートの構築とその創傷被覆効果. 第 31 回日本バイオマテリアル学会大会, 2009, 京都.
 38. 齋藤晃広, 藤枝俊宣, 木下 学, 武岡真