

- Jahr JS, Sadighi A, Doherty L, Li A, Kim HW (2011) Hemoglobin-based oxygen carriers: history, limits, brief summary of the state of the art, including clinical trials in chemistry and biochemistry of oxygen therapeutics. In: Mozzarelli A and Bettati S (eds) John Wiley and Sons
- Kim HW, Mozzarelli A, Sakai H, Jahr JS (2011) Academia and industry collaboration in HBOC development in chemistry and biochemistry of oxygen therapeutics. In: Mozzarelli A and Bettati S (eds) John Wiley and Sons
- Kim HW, Greenburg AG (2004) Artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a selected review and current status. *Artif Organs* 28:819–828
- Mozzarelli A, Bettati S (eds) (2011) *Chemistry and biochemistry of oxygen therapeutics*, John Wiley and Sons
- Natanson C, Kern SJ, Lurie P, Banks SM, Wolfe SM (2008) Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. *JAMA* 299:2304–2312
- National institutes of health–national heart lung and blood institute. nih/fda/dod interagency working group on oxygen therapeutics. 26 July, 2011, Massachusetts General Hospital, Harvard University, Boston. Massachusetts <http://www.nhlbi.nih.gov/meetings/workshops/therapeutics.htm> (accessed 12 June, 2013)
- Office of naval research (2010) Broad Agency Announcement, BAA #10–008
- Silverman T, Landow L, Ko HS, Lindsey L (2008) Review of publicly available reports of adverse events associated with HBOCs. Office of Blood Research and Review, CBER, FDA. <http://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/newsevents/workshopsmeetingsconferences/ucm092845.pdf>
- Silverman TA, Weiskopf RB (2009) Hemoglobin-based oxygen carriers: current status and future directions. *Transfusion* 49:2495–2515
- Stowell CP (2010) Effects of storage on the biology and clinical efficacy of the banked red blood cell. *Transfus Apheres Sci* 43:45–47
- Weiskopf RB, Silverman TA (2013) Balancing potential risks and benefits of hemoglobin-based oxygen carriers. *Transfusion* 53:2327–2333
- World health organization (2007) Global blood safety and availability-key facts and figures from the blood safety survey. <http://www.who.int/worldblooddonorday/media/Keyfactfigures2007BTSsurvey.pdf>
- World health organization (2008) Global database on blood safety. Report 2004–2005. WHO Press

人工赤血球の開発とこれからの展望

奈良県立医科大学医学部化学教室
酒井 宏水



PROFILE

酒井 宏水 奈良県立医科大学医学部化学教室 教授
Hiromi Sakai

1994年：早稲田大学大学院理工学研究科修了 博士(工学)
同 年：日本学術振興会 特別研究員(PD)
1996年：同 海外特別研究員(カリフォルニア大学サンディエゴ校)
1999年：早稲田大学理工学総合研究センター 客員講師、客員助教授
2006年：慶 義塾大学医学部 博士(医学)
2007年：早稲田大学理工学術院総合研究所理工学研究所 客員准教授
2009年：早稲田大学バイオサイエンスシンガポール研究所 主任研究員
2010年：早稲田大学総合研究機構 主任研究員(研究院准教授)
2011年：早稲田大学重点 域研究機構 主任研究員(研究院准教授)
2012年：同 上級研究員(研究院教授)
2013年：奈良県立医科大学医学部化学教室 教授

趣味：ジョギング、奈良観光

はじめに

血液の構成成分とその代用物を一覧にまとめてみた (Table 1)。殆どの血漿成分は何らかの代替物が既に存在していると言っても良いが、血球成分についてはまだ開発段階にある。本稿では赤血球の代替物に関する研究の現状と展望について述べてたい。

Table 1. 血液の成分とその代替物

分 画	成分〔役割〕	代 替 物
血 成分 (55 vol%)	血 蛋白	アルブミン 〔循環血液 の維持〕
		代用血 剤 (ヒドロキシエチルスターチ、デキストラン、ゼラチン、遺伝子組換えアルブミン)
		グロブリン〔免疫抗体〕
	電解質 低分子	抗生物質 人工免疫グロブリン
		フィブリノゲン 凝固因子
血球成分 (45 vol%)	電解質 低分子	フィブリン接着剤 各種遺伝子組換え凝固因子
		Na ⁺ 、K ⁺ 、Ca ²⁺ 、Mg ²⁺ 、Cl ⁻ 、 HCO ₃ ⁻ 、HPO ₄ ²⁻
	電解質 低分子	電解質輸液
		ビタミン 、アミノ酸、 糖 、脂質など
血球成分 (45 vol%)	血小板	栄養輸液 (アミノ酸、トリグリセリド、糖)
	白血球	人工血小板 (研究開発中)
	赤血球	(抗生物質で対処?) 人工赤血球 (研究開発中)

一番下の赤血球の代替物として研究されているのが人工赤血球である。

人工赤血球とは

血液に含まれる蛋白質のうち、最も沢山あるのがヘモグロビン (Hb) である。Hb は酸素を可逆的に結合-解離する蛋白質であり、血液の酸素輸送機能が生命維持にとって最も重要な要素であることを意味しているのかもしれない。しかし、高等動

物ではHbは赤血球(長径約8 μ m)の袋の中に極めて高濃度に(35g/dL)封じ込まれており、最も沢山あるにも関わらず、溶血によって一旦赤血球の外に遊離すると、様々な副作用(毒性)を生じる。Hbを使った人工酸素運搬体の研究は随分と長い歴史がある。Hbの毒性は早くから知られていたもので、欧米のグループが、二量体への解離を抑制するために分子内架橋(crosslink)をしたり、分子量を大きくするために重合(polymerize)したり、あるいは水溶性高分子を結合させて(polymer conjugation)大きくするなど、実に数多のCell-free Hb based oxygen carriers (HBOCs)が試されたが、それでも副作用が残った¹⁾。血管内皮弛緩因子である一酸化窒素(NO)をHbが捕捉することにより、血管収縮により血圧が亢進し、末梢血管抵抗が増大する状況に陥るのである(ウシ由来のHbを架橋剤グルタルアルデヒドで重合したPolyHbは、南アフリカとロシアのごく限られた地域でのみ認可されていると聞くと、副作用が心配されている)。この結果から、私たちは、やはりHbは本来、赤血球あるいは赤血球構造に類似するカプセルの中にあるべき、という考えが正しいことを認識し、“細胞型(cellular)”の人工赤血球であるHb小胞体を研究している(Fig.1)^{2,3)}。赤血球の細胞型構造の生理的意義を理解すれば、上述のCell-free HBOCsに副作用が生じたことは容易に理解できる。赤血球は長径約8 μ mの中窪み円盤状粒子であり、蛋白質Hb(分子量64,500)の高濃度溶液を赤血球膜に内包した構造を持つ。Hb溶液が赤血球膜で覆われている理由は、①本来様々な毒性のあるHbの逸脱、血管壁との直接的な接触の抑制、②腎臓の糸球体からの漏出など血管外漏出を防ぎ血中滞留時間を長くする、③35%濃厚Hb溶液の高い粘度と膠質浸透圧の抑制(赤血球は膠質浸透圧を示さない)、④Hb機能維持のための各種リン酸化合物などエネルギー分子、解糖-並びに還元-酵素系の保持、⑤血管内皮弛緩因子[NO、一酸化炭素(CO)]との反応性の制御などの役割もある。また、⑥血液(血球分散系)は非ニュートン流体で、体内循環とくに末梢血管内における特色ある流動形式と生理作用が特性である。

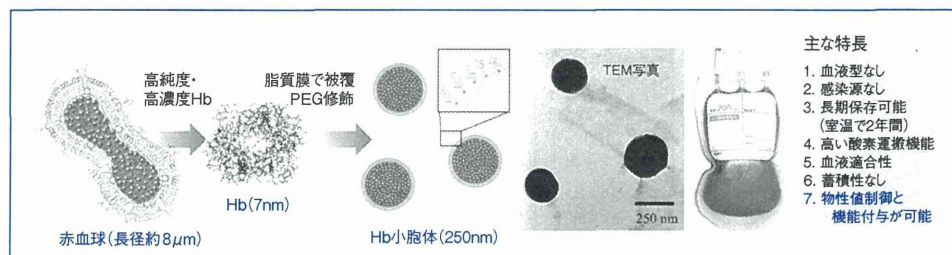


Fig.1. 人工赤血球(Hb小胞体)製剤の概要

有効期限切れ赤血球から精製して得られた高純度高濃度ヘモグロビン溶液をリン脂質小胞体(リボソーム)の中に内包させる。

高純度・高濃度Hb溶液(濃度35%以上、約3万個のHb分子)を脂質分子二層膜(厚さ5nm)で包んだ小胞体(平均粒径250nm)は、脂質成分とHbが分子間相互作用(二次的相互作用:疎水の相互作用、静電的相互作用、水素結合など)だけで形成している分子集合体である。原料のHbは日本赤十字社から提供されるNAT(核酸増幅)検査済みの献血由来の有効期限切れ赤血球由来であるが、精製に際しHbにCOを結合させて安定化し、60℃で10時間の加熱処理とウィルス除去膜処理を組み合わせることで、感染に対する安全性を確保できる。COは光解離によって除去する。約1,500本のポリエチレングリコール(PEG)を粒子表面に配置することにより小胞体粒子間の凝集抑制と分散安定度の向上の効果が得られ、更に脱酸素化して容器に封入することにより溶液のまま室温にて長期保存が可能になった。「ナマモノ」の血

液から高純度Hb溶液を単離し、これを人工赤血球という安定な「物質」に再生したといえる。微粒子表面の性質は、生体適合性を決定する要素である。PEG修飾と負電荷脂質の導入により補体活性や凝固系の活性、あるいは阻害を誘導しない微粒子を構成している。

輸血代替としての人工赤血球 投与の可能性

私が大学院生だったときに慶應義塾大学医学部の小林絃一先生のグループで行っていた実験が、ラットの循環血液量の90%を人工赤血球に置換するというものであった⁴⁾。麻酔したラットの頸動脈から1mL脱血、頸静脈から1mLの人工赤血球を投与し、ヘマトクリット5%以下まで交換した。人工赤血球は赤血球と同様に膠質浸透圧を持たないので、5%アルブミン溶液を併用した。アルブミンのみで血液希釈をすると代償機能により最初は心拍出量に1.5倍程度の増大がみられるがその後は低下し、全例が90%交換を待たずに死亡する。これに対して人工赤血球/アルブミンで交換すると、全例が生存した。当時、血液がここまで希釈される状況は臨床的にはあり得ないだろうと考えていた。しかし出血が酷く止血手段が無い状況(uncontrolled hemorrhage)では、輸液を絶えず注入することになり、ヘマトクリットが低下する。米国の映画「ブラックホーク・ダウン」では、敵地で大腿動脈を損傷した負傷兵の止血ができず輸液(晶質液)を受け続けるものの、最後は貧血状態となって命を落としていく生々しいシーンがあった。Seishiらの最近の研究では⁵⁾、ラットのuncontrolled hemorrhage modelを作成し、人工赤血球を投与し続けることにより延命されることを確認している。他方、循環血液量の40~50%を急速脱血してショック状態としたラット、ウサギ、ビーグル犬に等量の人工赤血球を投与することにより蘇生でき、血行動態、血液ガス組成などは、脱血液を投与した対照群と同等に推移し、全例が生存できることを確認している(Fig.2)^{6,7)}。このように、人

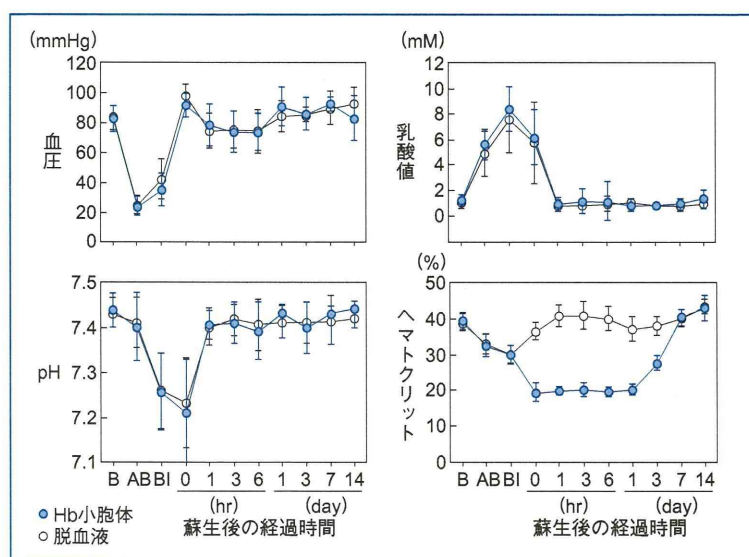


Fig.2. 出血性ショック状態にあるラットの蘇生試験

循環血液 (56mL/kg)の50%を急速脱血してショック状態とし15分経過後に人工赤血球(Hb小胞体)を遺伝子組換えアルブミンに分散させた溶液を同 投与した。6時間後に覚醒させてその後14日間観察した。脱血液の投与と同等の回復を示し、低下したヘマトクリットも1週間以内に回復した。Hb小胞体は細網内皮系に捕捉され、分解されて糞尿中に排 される。B: ベースライン, AB: 脱血後, BI: 投与直前 (文献6より引)

工赤血球は、自然災害や有事の大量需要に対して、血液型に関わらず、いつでも何処でも必要時に投与して延命ができる酸素輸液剤として期待できる。術前血液希釈、術中出血分の補充的投与の可能性も十分に考えられる。

ところで、ショックの蘇生は全身的な再灌流傷害を生起するが、興味深いことに、COを結合させた人工赤血球を投与したところ、再灌流傷害を低減させた⁸⁾。蘇生初期においては酸素よりも循環血液量の回復が優先され、またCOが細胞保護効果を示したと考えている。COは酸素の200倍の結合力があることが知られているが、体内では圧倒的に酸素が多いため、意外と短時間でCOを解離し呼吸を通して排泄され、人工赤血球は酸素を結合し、酸素運搬体に変化する(Fig.3)。勿論COは有害なガスなので至適投与量が存在すると考えられるが、毒をもって毒を制する治療法の可能性の一例になろう。

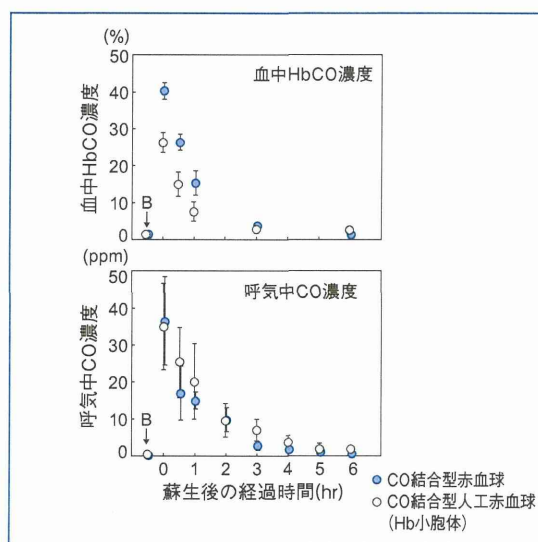


Fig.3. COを結合した人工赤血球(Hb小 体)または赤血球をした後のCOレベルの推移

Fig.2の実験モデルと同様に循環血液量の50%を急速脱血してショック状態とし15分後にCOを結合したHb小胞体あるいは赤血球を投与した。血中HbCO濃度は直ぐに低下し3時間で3%以下になる。平行して呼気中にCOが現れ、減少していくことをガスクロマトグラフィーから検出した。呼吸が保たれていれば、投与したCOは確実に排泄されることが明らかになった。また、この際、COは細胞保護効果を示すことが解っている。B:ベースライン。

更に胸部外科手術では、人工心肺(体外循環回路)の補充液としての利用が期待できる。体外循環回路の小型化が進み、成人患者の場合は補充液に晶質液を使用すれば十分である。しかし小児患者の場合は、全血液量に比較して体外循環回路の容量がまだ大きいため、無輸血充填(血漿増量剤の充填)とした場合に、術中のほんの数時間の血液希釈でも酸素欠乏により脳に障害を与え、術後の知能発達に影響を及ぼすことが報告された。そこでYozuら(慶應義塾大学医学部外科)は、人工赤血球(Hb小胞体)を充填液とすれば脳への酸素供給が維持できるのではと考え、動物実験で人工赤血球(Hb小胞体)を用いた体外循環を実施したところ、脳の機能が保護されることを具体的に明らかにしている⁹⁾。

輸血では対応できない疾患 の治療、外科的治療への応用 の可能性

細動脈レベルの血管(たとえば内径20~100 μm)を光学顕微鏡でみると、赤血球(長径約8 μm)が血管の中心側を流れ(軸集中:centralization)、管壁近傍に血漿層が形成されていることに気付く。この血漿層はplasma layerあるいはRBC-free layerなどと呼ばれる。血管に分岐がある場合には、軸集中した赤血球は血流の速い支流に多く流れていき、遅い方の支流は血漿が多くなる場合がある(血漿分離:plasma skimming)。また、細動脈は更に無数の毛細管に分岐されるが、毛細管全てに一樣に血液が流れていない。ある毛細管は血流が速く赤血球が多く流れているかと思うと、ある毛細管は赤血球がたまにしか流れていない。また毛細管内のヘマトクリットは、採血液のヘマトクリットよりも明らかに小さい(Fåhræus効果)。1996年にProf. Intagliettaの研究室に留学した際にこれらの現象を目の当たりにして驚いたが、ヘモレオロジーの教科書にすべて書いてある事である。では、粒子径が僅か250nmの人工赤血球(Hb小胞体)はどのように流れるのか。答えは、人工赤血球は血漿層と一緒に流れることになる(Fig.4)¹⁰⁾。実はこれが虚血性疾患における酸素輸送には極めて適している。赤血球が通過出来ない狭窄血管でも、血漿の流れが残っていれば、血漿と一緒に通過して酸素を運搬出来るし、上述のplasma skimmingは、虚血性組織の周辺血管で顕著になると考えられるが、plasma skimmingのplasmaと一緒に流れて虚血性組織に酸素をより多く運搬することになる。

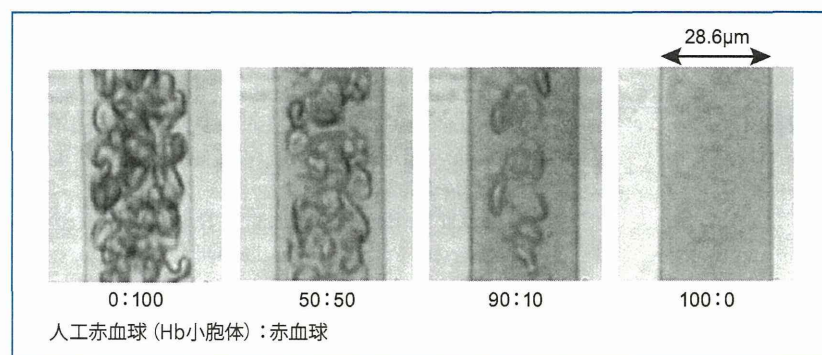


Fig.4. 人工赤血球(Hb小胞体)と赤血球混合系の細管内流動の様子

赤血球のみ(左)では、管壁近傍に血漿層が形成されていることが解る。Hb小胞体の含量を多くしていくと、赤血球が軸側を流れている様子が解る。光学顕微鏡ではHb小胞体粒子一つ一つを見る事が出来ないが、血漿層はHb小胞体が分散しているため次第に濁度が上昇する。右端はHb小胞体のみを流動させた場合。管内がHb小胞体で満たされている。中心流速1mm/s。(文献10より引用)

また、人工赤血球の一つの特徴は、アロステリック因子の含量を換えることにより酸素親和度を自在に調節出来ることがある。酸素結合解離曲線を左方シフトさせた高酸素親和度の人工赤血球は、酸素を離し難くなる。正常の酸素分圧にある組織であれば、この高酸素親和度人工赤血球は酸素を放出せずに通過する。しかし低酸素分圧の組織では酸素を離すことになり、酸素のターゲッティングが可能となる¹¹⁾。これまでに有茎皮弁モデルや脳梗塞モデル動物を用い、人工赤血球の虚血性疾患に対する有効性、創傷治癒効果について確認している^{12,13)}。腫瘍組織の毛細血管は形状がいびつで、赤血球が流れず血漿のみが流れている場合も多い。腫瘍組織酸素分圧が低いことが放射線治療の十分な効果が得られないことの原因とされる。ここに人工赤血球を投与すると腫瘍酸素分圧が上昇するので、その時を狙って放射線照射することにより、腫瘍重量の増大が抑制されることが明らかになっている¹⁴⁾。

おわりに

このほか、人工赤血球は、移植臓器の保存灌流液としての利用、輸血拒否患者の対応、獣医療領域への利用、レーザー治療のターゲットとしての利用など、様々な可能性が芽生えてきている。問題なのは、現段階で実用化に向けて製薬会社からの支援をなかなか頂けないことである。本製剤が従来に無い範疇の製剤であること、投与量が数リットルに及ぶ大量投与を伴うが安全性が担保されるのか、また現在輸血で何とか間に合っているのに何故その代用物が必要か、など消極的な意見を聞く事もある。今回は安全性評価試験については割愛させて頂いたが、安全性を実証する実に多くの非臨床*in vivo*試験結果が得られており^{2,3,15)}、次段階に進むべき対象であると考えている。少子高齢化でこのままだと2027年には100万人分の献血液が不足するという予測が日本赤十字社から公表されている。有効期限切れとなった献血液や、不規則抗体を有する献血液は現在廃棄されているが、献血者の善意を無駄にせずこれらを有効利用することは重要な課題ではないだろうか。更に大規模災害や有事の際の大量需要にどう対応するかを考えれば、やはり血液型がなく備蓄可能な人工赤血球が必要ではないか。また、今回紹介したように輸血では為し得ない疾患の治療や外科的手法にも用いることができる可能性がある。更に、献血技術が十分でない諸国への国際貢献も期待できる。是非とも皆様からのご支援を頂き、人工赤血球を実用化させたい。

謝辞：本研究は、厚生労働科学研究費補助金(創薬基盤推進研究事業)「人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)製剤の実用化を目指す研究」を受けて推進されている。

引用文献

- 1) Natanson C, Kern SJ, Lurie P, et al. : Cell-free hemoglobin-based blood substitutes and risk of myocardial infarction and death: a meta-analysis. JAMA 299 : 2304-2312, 2008.
- 2) Sakai H, Sou K, Horinouchi H, et al. : Haemoglobin-vesicles as artificial oxygen carriers : present situation and future visions. J Intern Med 263 : 4-15, 2008.
- 3) Sakai H, Sou K, Tsuchida E : Hemoglobin-vesicles as an artificial oxygen carrier. Methods Enzymol 465 : 363-384, 2009.
- 4) Sakai H, Takeoka S, Park SI, et al. : Surface modification of hemoglobin vesicles with poly(ethylene glycol) and effects on aggregation, viscosity, and blood flow during 90% exchange transfusion in anesthetized rats. Bioconjug Chem 8 : 23-30, 1997.
- 5) Seishi Y, Horinouchi H, Sakai H, et al. : Effect of the cellular-type artificial oxygen carrier hemoglobin vesicle as a resuscitative fluid for prehospital treatment : experiments in a rat uncontrolled hemorrhagic shock model. Shock 38 : 153-158, 2012.
- 6) Sakai H, Seishi Y, Obata Y, et al. : Fluid resuscitation with artificial oxygen carriers in hemorrhaged rats : profiles of hemoglobin-vesicle degradation and hematopoiesis for 14 days. Shock 31 : 192-200, 2009.
- 7) Yamamoto M, Horinouchi H, Kobayashi K, et al. : Fluid resuscitation of hemorrhagic shock with hemoglobin vesicles in Beagle dogs : pilot study. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol 40 : 179-195, 2012.
- 8) Sakai H, Horinouchi H, Tsuchida E, et al. : Hemoglobin vesicles and red blood cells as carriers of carbon monoxide prior to oxygen for resuscitation after hemorrhagic shock in a rat model. Shock 31 : 507-514, 2009.
- 9) Yamazaki M, Aeba R, Yozu R, et al. : Use of hemoglobin vesicles during cardiopulmonary bypass priming prevents neurocognitive decline in rats. Circulation 114 (1 Suppl) : I220-I225, 2006.

- 10) Sakai H, Suzuki Y, Kinoshita M, et al. : O₂ release from Hb vesicles evaluated using an artificial, narrow O₂-permeable tube : comparison with RBCs and acellular Hbs. Am J Physiol Heart Circ Physiol 285 : H2543-H2551, 2003.
- 11) Sakai H, Cabrales P, Tsai AG, et al. : Oxygen release from low and normal P₅₀ Hb vesicles in transiently occluded arterioles of the hamster window model. Am J Physiol Heart Circ Physiol 288 : H2897-H2903, 2005.
- 12) Plock JA, Rafatmehr N, Sinovic D, et al. : Hemoglobin vesicles improve wound healing and tissue survival in critically ischemic skin in mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 297 : H905-H910, 2009.
- 13) Komatsu H, Furuya T, Sato N, et al. : 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.
- 14) Yamamoto M, Izumi Y, Horinouchi H, et al. : Systemic administration of hemoglobin vesicle elevates tumor tissue oxygen tension and modifies tumor response to irradiation. J Surg Res 151 : 48-54, 2009.
- 15) 酒井宏水, 堀之内宏久, 東寛, 他 : 輸血代替としての人工赤血球 (ヘモグロビン小胞体) 製剤の安全性試験. 人工血液 21 : 36-48, 2013.



アートな弘前とサイエンスな琉球



弘前大学では琉球大学との交換留学を行っています。平成21年度から開始されたばかりの新しい制度ですが、昨年度は私にチャンスがやってきました。弘前大学と琉球大学の魅力が少しでも伝わればと、この場を借りて書かせていただきます。

弘前大学では年間麻酔管理症例数約3,600件、そのほぼ全例を全身麻酔で行っています。プロポフォール、フェンタニル (あるいはレミフェンタニル)、ケタミンを用いた全静脈麻酔 (total intravenous anesthesia : TIVA) と超音波ガイド下末梢神経ブロックが全身麻酔の中心となります。「医療とはサイエンスとアートとの融合」という先代の松木教授の言葉から、麻酔科医各人がサイエンス〔薬物動態学(PK)/薬力学(PD)〕をベースにアート (五感、第六感) を有機的に融合させ、各症例の全身麻酔を行っています。標的濃度調節持続静注 (target-controlled infusion : TCI) を用いないのも「アート」へのこだわりかもしれません。弘前大学では麻酔科医の経験とセンスに重きを置いた麻酔管理を行っています。



一方、琉球大学は「サイエンス」に重きを置いた麻酔管理という印象を受けました。TCIを用いた術後持続フェンタニルの患者自己調節鎮痛 (patient controlled analgesia : PCA) やPK/PDを意識した麻酔薬の使い方を勉強させていただきました。そんな中、最も感銘を受けたのが揮発性麻酔薬による導入と維持 (volatile induction/maintenance of anesthesia : VIMA) での自発呼吸温存気管挿管です。シンプルながら呼吸は安定、循環変動が小さく、患者へのストレスが少ない点が印象的でした。TIVAで管理できない症例はないと思いますが、TIVAに勝るVIMAを自発呼吸温存気管挿管に見たように思います。他にもTIVAの良さ、ケタミンの良さ、ケタミンと吸入麻酔薬との相互関係等々、琉球大学に行き初めて感じるものがありました。

今後も弘前大学と琉球大学の交換留学が続いていくことを願っています。気候、文化など大きく異なる弘前と琉球ですが、違うからこそ面白いと思います。琉球大学の先生方も寒さを恐れず弘前へ来てください。私が学んだことを一人でも多くの後輩が経験してくれることを期待しています。最後になりましたが、留学の機会を与えて下さった当教室員のみなさん、温かく迎えて下さった琉球大学および関連病院の先生方に御礼申し上げます。

人工赤血球による生体組織への酸素輸送

酒井 宏水^{1,2}

¹奈良県立医科大学化学教室・教授

²早稲田大学重点領域研究機構・客員上級研究員

【連絡先】

〒634-8521 奈良県橿原市四条町840 奈良県立医科大学医学部化学教室

e-mail: hirosakai@naramed-u.ac.jp, tel&fax: 0744-29-8810

血液には実に多くの種類の蛋白質が存在しているが、そのうち最も濃度高く存在しているのが、血色素ヘモグロビン(Hb)である。その濃度は12-15g/dL程度である。Hbの機能は酸素分圧に応じて酸素を可逆的に結合-解離することであり、生体組織への酸素輸送が生命の維持にとって如何に重要であるかを物語っている。Hbは赤血球内に35g/dL濃度で封入され、血液の流れに沿って体内を循環し、酸素運搬を司っている。平常時において中心静脈血の酸素飽和度は75%程度であり、血液は一回の循環において酸素を全体の僅か25%しか放出せず、いざという時(酸素消費量の多い運動時、或は失血時)のために余力として残しているといえる。しかし、この重要な蛋白質Hbは最も多く存在しているにもかかわらず、赤血球から一旦遊離(溶血)すると、腎毒性(尿細管内での析出)や血管活性(NO捕捉による血管収縮、血管損傷)など、様々な副作用(毒性)を呈する。勿論、ハプトグロビンやヘモペキシンなどが溶出したHb、ヘムを排除しようとするが、その許容には限界がある。

虚血、貧血における有効な治療方法として赤血球輸血治療がある。日本の献血・輸血システムは世界最高水準にあり、現行の医療に不可欠である。しかし、緊急時や大規模災害時の

救命医療においては、血液型検査、感染の可能性 (Window periodによるHIV感染が話題になった)、短い保存期限(日本では僅か3週間)、少子高齢化(2027年には100万人分の輸血用血液が不足するとの日赤の試算)などが、危機管理体制の不安要素となりうる。そこで我々は、輸血代替として、赤血球の細胞型構造を模倣した人工赤血球(ヘモグロビン小胞体)製剤を開発して来た[1,2] (図1)。人工赤血球(粒子径約250nm)は感染源を含まず、血液型が無く、長期間備蓄でき、何時でも何処でも使えるので、輸血治療を補完する技術として期待されている。更に、脆弱な赤血球と比べ化学的に安定で、物性値の調節や機能分子の導入が可能なので、輸血では対応のできない疾患の治療や外科的治療への可能性も検討されている[3]。

実は、Hbを使った人工酸素運搬体の研究は随分と長い歴史がある。Hbの毒性は早くから知られていたもので、欧米のグループが、二量体への解離を抑制するために分子内架橋(crosslink)をしたり、分子量を大きくするために重合(polymerize)したり、あるいは水溶性高分子を結合させて(polymer conjugation)大きくするなど、実に数多のCell-free Hb based oxygen carriers (HBOCs)が試されたが、それでも副作用が残った[4]。血管内皮弛緩因子である一酸化窒素(NO)をHbが捕捉することにより、血管収縮により血圧が亢進し、末梢血管抵抗が増大する状況に陥るのである(ウシ由来のHbを架橋剤グルタルアルデヒドで重合したPolyHbは、南アフリカとロシアのみのごく限られた地域で認可されていると聞くと、副作用が心配されている)。また、米国Sangart社のPEG修飾Hb (Hemospan)は臨床試験が進展し期待されていたものの、2013年11月に開発を断念した。PEG修飾によって分子サイズを大きくしたが、膠質浸透圧が生理条件を遥かに超え、Hb濃度が僅か4.8g/dLと低いこと、また酸素親和度が高すぎる(P_{50} が低すぎる)ために、酸素輸送効果を明確に示す事が出来なかった(代用血漿剤としての効果に留まった)ことが原因と考えられる。これらの結果から、私たちは、やはりHbは本来、赤血球あるいは赤血球構造に類似するカプセルの中にあるべき、という考えが正しいことを認識し「細胞型 ”cellular”」の人工赤血球: Hb小胞体を中心に研究している。

赤血球の細胞型構造の生理的意義を理解すれば、上述のCell-free HBOCsに副作用が生じたことは容易に理解できる。赤血球は直径約 $8\mu\text{m}$ の中窪み円盤状粒子であり、蛋白質Hb(分子量64,500)の高濃度溶液を赤血球膜に内包した構造を持つ。Hb溶液が赤血球膜で覆われている理