慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Hemorrhagic Shock Resuscitation With an Artificial Oxygen Carrier, Hemoglobin Vesicle, Maintains Intestinal Perfusion and Suppresses the Increase in Plasma Tumor Necrosis Factor-α
Sub Title	出血性ショック蘇生における人工酸素運搬体、ヘモグロビン小胞体投与による腸管血流維持と血漿中Tumor Necrosis Factor αの抑制
Author	吉津, 晃
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.36-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0036

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hemorrhagic Shock Resuscitation With an Artificial Oxygen Carrier, Hemoglobin Vesicle, Maintains Intestinal Perfusion and Suppresses the Increase in Plasma Tumor Necrosis Factor-α.

（出血性ショック蘇生における人工酸素運搬体、ヘモグロビン小胞体投与による腸管血流維持と血漿中Tumor Necrosis Factor αの抑制）

吉　津　　晃

内容の要旨

輸血は外傷や外科手術により大量出血した際の一般的な治療方法である。しかし、輸血には感染症や自己免疫病の誘発、移植片対宿主病などの問題がある。こういった問題を背景として人工血液代替物の開発が展開されてきた。hemoglobin vesicle（HbV）は脂質薄膜でヘモグロビンを被覆した人工酸素運搬体である。このHbVの酸素運搬能が、出血性ショックで腸管の血流動態を安定させうるか否かを調べた。

HbV溶液の調整は期限切れヒト赤血球より精製し高濃度ヘモグロビン溶液（40g/dl）を作成した。これにアロステリックエフェクターとしてピリドキサール5'リン酸を、還元剤としてホモシステインを添加した。HbVの脂質二重膜は1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine（DPPC）、cholesterol、1,2-dipalmitonyl-sn-glycero-3-phospatidylglycerol（DPPG）、α-tocopherolを含む混合脂質Presome PPG-Iより構成されている。さらに表面をpolyethylene glycolで修飾し細網内皮系への取り込みを抑制した。これを５％アルブミンに分散させ、0.45μmのフィルターを通過させて作成した。また、対象としてヘパリン加ウサギ（ラット）脱血液を遠心し上澄を除去したのち５％アルブミンで２回洗浄したウサギ（ラット）洗浄赤血球を用いた。Hb濃度はHbVと同様に10g/dLとした。雄日本白色ウサギに循環血液量の40%相当の脱血を行い、10分後５％アルブミン、HbV、洗浄赤血球それぞれを脱血量に相当するまで投与した。同様の操作をもう１度行い30分経過を観察した。平均体血圧、血流量や脈拍数を測定した。上腸間膜静脈血、動脈血、末梢静脈血に対し血液ガス分析を行い、小腸粘膜pH、小腸粘膜下組織酸素分圧をそれぞれ測定した。さらに血漿中TNF-αを測定するため雄ウィスターラットを用い、実験のプロトコールや試料はウサギの時に準じて行った。TNF-αはELISA法にて測定した。

平均体血圧、上腸間膜動脈血流量、脈拍、動脈血酸素分圧、動脈血二酸化炭素分圧は差が認められなかった。Systemic base excess、消化管粘膜内pH、小腸粘膜下組織酸素分圧は洗浄赤血球、HbVはほぼ初期値まで回復したが、５％アルブミンでは回復せず有意差を認めた。５％アルブミンでは血漿中TNF-αが有意に増加していた。これに対しHbVでは洗浄赤血球ほどではないが約1/40に抑制されていた。以上よりHbVは酸素運搬能に優れておりショック時の治療に有効であると考えられた。また容易に酸素親和性などを操作出来る特性がありショックに対する治療でさらに有効となるよう改善されていくものと考える。

論文審査の要旨

輸血療法には血型の判定、交差試験の必要性、輸血感染症などの問題があり、これらを克服すべく人工血液代替物の開発が展開されてきた。赤血球の酸素運搬能を代替すべく開発されている人工酸素運搬体もその一つであるが、未だ臨床応用に至ったものはない。Hemoglobin vesicle（HbV）は脂質薄膜でヘモグロビンを被覆した人工酸素運搬体であり、現在臨床応用に向け開発が進められている。本研究ではHbVの酸素運搬能を検証した。ウサギの出血性ショックモデルに対して投与を行い、虚血に敏感な小腸の血流動態を観察した。対照として５％アルブミンと洗浄赤血球を投与した。全身的血行動態では差が無かったが、Base excess、小腸粘膜内pH、小腸粘膜下組織酸素分圧は５％アルブミンでは有意に低下したのに対しHbVでは洗浄赤血球と同等の回復を示した。次にラットで同様の出血性ショックモデルを作成し、血漿中TNF-αを測定した。５％アルブミンと比較しHbVと洗浄赤血球では有意にその上昇が抑制されていた。以上より、HbVの酸素運搬能は赤血球に近いと推定され、出血性ショックの治療に有効であると考えられた。

審査では、実験終了後に５％アルブミンでは大半の動物が死亡した原因について質問がなされた。現象としては呼吸停止が先ず見られたが病理学的検索でも死因については同定されなかったと回答された。TNF-αを測定した理由について質問がなされた。本実験は消化管の虚血障害によりbacterial translocationが起こりその後敗血症に至るというモデルを想定しており、敗血症においてTNF-αは重要な役割を担っていると考えられているためと回答がなされた。TNF-αの測定について種の違う動物を用いた理由が質問された。ELISA法におけるウサギの抗体で適切なものがなかったためとの説明があったが、種のちがう動物のデータで同一実験系について議論することはできれば避けた方がよかったのではとの指摘を受けた。また、アロステリックエフェクターの量を調節することで酸素親和性をコントロールし、いかなる病態や治療が可能になるかとの質問がなされた。例えば酸素親和性を上げることにより低酸素状態にある障害部位でのみ酸素を放出させるといった利用が考えられるが投与方法や実験系については今後検討を継続する予定である旨の説明がなされた。さらに他の人工酸素運搬体である修飾ヘモグロビンで行った場合での結果について質問がなされた。酸素運搬能のみから推測すると消化管への効果ではHbVに匹敵する結果が得られる可能性が高いと思われるが、腎機能障害などの副作用が強いため全身状態では差が出てくる可能性があるとの回答がなされた。

以上のように、本研究ではさらに検討するべき課題を残しているものの、出血性ショックにおける消化管の障害をHbVが抑制する可能性が示され、臨床応用につながる有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　小林　紘一
医化学　末松　誠　　内科学　池田　康夫
救急医学　相川　直樹
学力確認担当者：北島　政樹、末松　誠
審査委員長：末松　誠

試問日：平成17年 9月14日