

Title	Acute 40 percent exchange-transfusion with hemoglobin-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin solution : degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks
Sub Title	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
Author	酒井, 宏水(Sakai, Hiromi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.4 (2006. 12) ,p.19-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20061202-0019

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.

Acute 40 percent exchange-transfusion with hemoglobin-vesicles (HbV) suspended in recombinant human serum albumin solution: degradation of HbV and erythropoiesis in a rat spleen for 2 weeks

(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)

酒 井 宏 水

内容の要旨

ヘモグロビン小胞体 (HbV) は、期限切れ赤血球から精製した高純度高濃度Hb溶液を脂質膜で被覆した、赤血球と類似の細胞構造の人工酸素運搬体である。HbVは赤血球に比べ血中半減期は短い、血液型なし、感染源なし、長期室温保存可能、小粒径 (250nm) などの特長は赤血球の性能を凌いでいる。申請者らはこれまでに交換輸血、出血性ショック蘇生試験等で、急性期に於ける赤血球と同等の酸素運搬機能を表証し、輸血代替として輸血回避或は遅延のための新しい医療手段としての可能性を示して来たものの、投与後の中長期的な観察は充分になされていなかった。そこで本論文では、術中の頻回出血に対する投与を想定した動物投与試験を行い、HbVの細網内皮系における代謝とHctの回復過程について、特にHbVの代謝臓器である脾臓に注目した検討を実施した。

Wistar系ラットを麻酔状態とし、頸動脈にカテーテルを挿入し、1 mL/minの脱血と、次に記す溶液を同量投与する操作を繰り返して40%の血液を交換した。投与溶液として、HbVを5%リコンビナントアルブミン (rHSA) に分散させた溶液 (HbV群, n=20)、ラット血液にCPDA液を添加し1週間保存の後、赤血球を洗浄してrHSA溶液に分散させた溶液 (sRBC群, n=20)、およびrHSA単独の溶液 (rHSA群, n=20) とした。実験終了後、最長14日間生存させた。1, 3, 7, 14日後に無作為に選択し、セボフルレン麻酔下、尾静脈採血液を血球分析に、下大静脈血を血液生化学検査の検体とした。脾臓を摘出し重量測定と組織病理学的検討 (ギムザ、ベルリンブルー染色) を行った。

全例が犠牲死させるまで生存した。HbV群およびrHSA群は、血液交換後Hctが26%に低下したが、7日後には交換前の値 (43%) に復した。血中EPO値は1日後に全群で上昇し、特にrHSA群で貧血に起因する高値 ($321 \pm 123 \text{ IU/L}$) を示した (HbV群, 153 ± 22 ; sRBC群, 63 ± 7 ; 標準値, 21 ± 3)。脾臓重量の増大が全群で見られた (HbV群 > rHSA群 > sRBC群)。組織病理学的検討では、HbV群では脾臓マクロファージに捕捉されたHbVが経時的に減少し、14日後には消失した。また、赤芽球が多く存在し、造血が盛んであった。rHSA群でも3日目に赤芽球を多く認めたことから、脾臓肥大はEPOが造血を活性化したとと考えられた。また、sRBC群の脾臓肥大は、脆弱な保存赤血球の捕捉と造血作用の両方が考えられた。sRBC群およびHbV群では、ヘモジドリンが僅かに観測された。

結論として、ラットモデルにおいてHbVの投与 (40%血液交換) に際し、Hctは7日以内に回復し、またHbVは脆弱な保存赤血球の場合と類似の生理的経路により脾臓で捕捉代謝される過程が予想された。輸血代替としてのHbVの安全性に関する知見を得ることができ、臨床試験の実施が待たれる。

論文審査の要旨

ヘモグロビン小胞体 (HbV) は、高濃度のヒトHb溶液をリン脂質小胞体に内包した人工酸素運搬体であり、これまでに急性期に於ける機能と安全性が検討されてきた。本論文では、ラットを用い40%血液交換を行い、HbVの代謝とHctの回復過程について、特に脾臓に注目して検討を行った。その結果、Hctは7日以内に回復したこと、脾臓肥大は対照群でも認められたこと、ラットに特有な脾臓における著明な髄外造血がこれらに関与していること、HbVは脆弱な保存赤血球と同様の生理的経路により細網内皮系で捕捉代謝され、構成成分が支障無く排泄或は再利用される様相が明らかになった。

審査では先ず、血液交換1日後のHct値の低下について、白血球数、血小板数などがこれに対応して減少しない点が質疑された。白血球や血小板は体内にプールがある為と回答された。トリグリセリドの低下は、外科的侵襲により初期の食餌摂取量の低下の影響であることが体重変動から予想された。血中コレステロールが3日後に増大したのは、細網内皮系でHbVが捕捉分解した後に血中に遊離された為と回答された。また、放射化標識したコレステロールの体内動態から、胆汁中への排泄が明らかになりつつあるが、 ^{13}C 標識体で検討すべきとの指摘があった。一般にEPOは腎由来であるが、肝での低酸素誘導因子 (HIF) とEPOの分泌も最近報告されたので、肝微小循環の観察が興味深いと考えられた。また、HbVが造血機能に何ら障害を与えない点を明確にした事は評価できるとの意見があった。ヘモジドリン沈着が保存赤血球とHbVの投与で異なる点について、HbVは脾だけでなく肝・骨髄にも移行すること、HbVの血中半減期が短いことが影響すると回答された。また、ヒトHbを原料とするHbVをヒトに投与する場合のallo抗原性について、繰返し投与の検討が必要と考えられた。7週齢のラットでは脾臓に赤芽球が多量に存在し、髄外造血が盛んであるが、週齢、動物種、性別の影響などの検討も課題である。PEG修飾に関する、HbV粒子当たりのPEGの含量が僅かなため膠質浸透圧には影響しないこと、また血小板への影響も無いものの、一部のPEG-蛋白質製剤には止血抑制作用もあり、今後検討すべきとの意見があった。アロステリック因子ピリドキサル-5-リン酸はビタミンB₆類に属し、製剤として安定であるが、生体投与後の安全性を検討する必要性が議論された。血液生化学検査において、比色・比濁検査法におけるHbVの干渉作用を排除するため、高分子量Dextranを採血液に添加してHbVを遠心分離する簡便法の確立が紹介された。

以上のように、本研究は輸血代替として相当量のHbVを投与した場合について、成分の迅速な代謝と造血機能に重篤な影響を与えていないことを明らかにした。更に検討すべき点も残しているが、今後GMP製剤について非臨床、臨床試験を実施するにあたり重要な知見を有しているものと評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 小林 統一
内科学 池田 康夫 医化学 末松 誠
臨床検査医学 村田 満
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 池田 康夫

試問日: 平成18年9月4日