

Title	Erythrocytes with T-State-Stabilized Hemoglobin as a Therapeutic Tool for Postischemic Liver Dysfunction
Sub Title	ニトロシルヘモグロビン含有赤血球輸血による肝臓再灌流機能障害に対する治療効果の検討
Author	菅沼, 和弘
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.1 (2007. 3) ,p.4-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0004

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.

Erythrocytes with T-State-Stabilized Hemoglobin as a Therapeutic Tool for Postischemic Liver Dysfunction

(ニトロシルヘモグロビン含有赤血球輸血による肝臓再灌流機能障害に対する治療効果の検討)

菅 沼 和 弘

内容の要旨

論文審査の要旨

ヘモグロビン (Hb) のアロステリック制御物質による機能調節は赤血球の酸素運搬能や酸塩基平衡能を決定する重要なメカニズムであるが、その制御物質の多くは外因性に添加しても赤血球膜を通過しないため、赤血球機能を人為的に調節して病態制御に応用することは困難であった。YonetaniらはNOガスをHbの α サブユニットに結合させ、5配位・T構造で安定化させる技術を確立し、これが運搬する酸素量は少ないものの、酸素解離能が高いため優れた酸素運搬体となる可能性を提示した。本研究は α NOHb含有ヒト赤血球 (以下 α NO-hRBC) を調整し、体内に投与した際の組織における実際の酸素運搬動態を定量的に検証すると同時に、虚血性臓器障害の改善の有無を検証することを目的とした。

α NO-hRBCは十分に脱酸素化したヒト洗浄赤血球にthiolを含まないNOドナーであるFK409を添加し、ヘム濃度の半分量のNOが放出され結合する条件を設定し調整を行い、 α -subunitにNOが結合したことを電子スピン共鳴法により確認した。また血管内に α NO-hRBCを投与されたラットの末梢血を採取し、電子スピン共鳴法で解析した結果から、NO-hemeシグナルの生体内半減期が約60分であることが判明した。次に虚血性臓器機能障害モデルにおける効果を検討した。ラットの循環血液量40%を脱血し、20分後に α NO-hRBC, hRBC, CO-hRBCのいずれかを再灌流し、60分後に血液ガス分析、肝臓の胆汁分泌量などのパラメータの検討を行った。動脈血流は α NO-hRBC群で返血直後に脱血前の二倍の水準に回復後、緩徐に他群同等に脱血前の水準へと低下した。胆汁流量についても α NO-hRBC群で他の2群に比べて著明に上昇をした。本モデルでは生理的食塩水による再灌流により動脈血pHならびにbase excess低下を主体とする代謝性アシドーシスを認めたが、 α NO-hRBC群ではこれらのパラメーターの著明な改善が認められた。一方、hRBC, CO-hRBC群ではこれらのパラメーターの改善は認められたものの、その程度は α NO-hRBC群に及ばなかった。

最後に、Pdポルフィリン依存性りん光消滅速度計測による α NO-hRBC群, RBC群の肝微小血管内酸素分圧の比較を行った。再灌流直後の終末門脈枝領域では各群に差は認められなかったものの、中心静脈領域ではRBC群において酸素濃度がスパイク状に増加した後やや低下して高値を維持するのに対し、 α NO-hRBC群では再灌流直後から低値を維持し、60分に至ってRBC群と同等に並び、肝臓実質細胞の酸素消費の増強効果があることが示された。以上の結果から、 α NO-hRBCはRBCと同等の酸素運搬能を発揮できること、臓器酸素消費を向上させ利胆効果を発揮する効果があることが判明した。

NOをヘモグロビン (Hb) の α サブユニットのヘムに特異的に結合させ、酸素解離能の高いT-stateで安定化させた赤血球 (α NO-RBC) は1分子あたりが運搬できる酸素量は少ないものの、低酸素環境での酸素解離を増すことにより優れた酸素運搬体として利用できる可能性がある。本研究では虚血による代謝性アシドーシスや肝臓の胆汁分泌障害に対して、再灌流時 α NO-RBCを投与すると顕著な改善効果があることが確認された。審査では、まず投与したHbに結合したNOがどのように代謝されるのかについて質問がなされた。これに対してHbに結合したNOは無酸素状態では安定であるものの、血液中では酸素と反応してONOO型でヘムに結合し、ヘム鉄を酸化して自らは硝酸塩となり尿中に排泄されること、生じたmetHbは細胞内の酵素で還元され再利用されると回答された。また投与した赤血球とレシピエントの赤血球との間でNOのやりとりがある可能性についても質問されたが、NOがグロブリンのシステイン残基に移動し、さらに細胞内グルタチオンと複合体を形成して細胞外に分泌される可能性も提示されており、可能性は否定できないとの回答がなされた。また論文では α NO-RBCの酸素運搬量を門脈・中心静脈での酸素分圧のスポット測定と赤血球速度、血管径の評価から定量的に計測したが、その値が肝臓実質の酸素分圧を反映するかについて質問がなされた。これに対して、正常では肝細胞が主たる酸素消費の場であるが、虚血再灌流時でミトコンドリア機能の回復が十分でない場合には類洞内の酸素濃度が上がり、クッパー細胞などの活性酸素放出などに消費される可能性も否定できないと回答された。このことはRBC投与群で再灌流直後に中心静脈内酸素分圧が一過性にスパイクすること、酸素消費で支えられた胆汁分泌が著明に回復する α NO-RBC群においては酸素分圧のスパイクが消失する所見ともよく一致したとの考察がなされた。

また、審査では酸素運搬をしないはずのCO-RBCがRBCと同等の臓器機能改善効果を発揮する理由についても質問がなされた。RBCの投与は酸素運搬に関係なく血液粘度とずり応力を増加させ、血行動態を改善できること、CO-RBCは酸素供給能がないものの、一方で再灌流時に起こりうる急激な組織酸素化を抑制する一方、緩徐にCOがHbから解離してCO自身が臓器機能改善作用を発揮する可能性も検討されている旨回答がなされた。実際の臨床で本研究の技術をどのように利用しうるかについても質問がなされたが、低温保存で2,3-bisphosphoglycerateが欠乏した濃厚赤血球の機能をNO修飾で回復させ、投与する技術開発が極めて重要な応用になるとの回答がなされた。最後に α NO-RBCが肝臓実質の酸素消費を著明に改善する機構は現時点では明らかにされなかったが、低酸素環境で放出されるメディエーターの介在を今後詳細に検討していく必要があると指摘がなされた。

以上のように、本研究のようなガス分子を用いて人為的に赤血球機能を制御し応用する「付加価値赤血球製剤」は、体内製剤安定性に関する制約もあるものの、今後、更なる臨床応用に向けた研究を進めていくことが重要であり、非常に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 北島 政樹
内科学 池田 康夫 内科学 日比 紀文
外科学 小林 絃一
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11月21日