

人工酸素運搬体開発の現状と将来への展望

高折 益彦
東宝塚さとう病院

完全な人工血液を開発することはまず不可能と言える。少なくとも我々が現在期待しているものは赤血球、あるいは血小板に代わるものの開発である。今回はその赤血球の代替物、すなわち人工酸素運搬体についてのみ検討してみたい。

戦後、箕島¹⁾らのコバルト・ヒスチジン研究に始まった人工酸素運搬体開発はClarkらによるperfluorocarbonでの研究²⁾から旧ミドリ十字が引き継いで開発に努めた。そして“FluosolDA”を作成してわが国でも治験が行われ³⁾、アメリカ合衆国で商品化された。しかしその酸素運搬効果が少ないためその後販売停止となった。そこでKeipertのグループ⁴⁾は酸素運搬効果を改良したPerflubronを開発して、Spahnら⁵⁾によって欧州で臨床治験にまで進んだ。しかしこれも血小板減少症、頭痛・悪心などの合併症の発生から再び開発が中断された。一方、ヘモグロビン(Hb)を酸素運搬体とした製品の開発も進められてきた。すでに1930年代にAmberson⁶⁾がHbの膠質浸透圧と酸素運搬能とを利用して人工酸素運搬体とすることを試みたが、Hb単体では速やかに腎臓から排出されてその効果は得られなかった。そのためその後にはフマル酸を用いてHb分子内架橋を行う方法、あるいはglutaraldehydeでHbを重合させてHbサイズを大きくさせる試みがなされてきた。Baxter社はHb分子内架橋法によってHemAssistを開発し、これを用いて治験にまで進んだ⁷⁾。しかし対照とした生理食塩液に劣るとの結果を得て開発が中断された。一方、Biopure社はウシHbを重合させたHemopureTHを開発、それなりの治験結果も得た⁸⁾。その結果をもとに南アフリカ共和国では鎌状赤血球患者を対象として商品化さ

れ、また出血に対しての緊急処置用としての許可も得た。

またSangart社はHb分子をポリエチレングリコールの膜で被覆したHemospanTHを開発、欧州で治験を行った⁹⁾。ただし脊椎くも膜下麻酔時の血圧低下に対する効果を検討するものであった。しかるに2008年の4月、アメリカBethesdaにおいてFDAが主催した会議でこれらHb分子を用いた人工酸素運搬体の治験結果から冠灌流障害が発生する率が高くなること^{10),11)}での討論があり再び開発に水がさされた。一方、わが国においては早稲田大学高分子研究室の土田、慶応大学呼吸器外科の小林らが酸素運搬体としてはHbを利用するものの約3万個のHb分子を燐脂質のカプセル(liposome)内に封入したものを開発してきている¹²⁾。その前臨床治験作業は整っているが、その工業生産段階、臨床治験にまだまだ進んでいない。この講演ではこのような過去の研究経過もふまえ、とくにわが国での人工酸素運搬体の実情、問題点、臨床での利用方法、将来における発展性などについて述べる。

1) 人工酸素運搬体としてのPFC(perfluorocarbon)

すでにSloviter¹³⁾が血液を含まないFX-80(perfluorobutyltetrahydrofran)のみによる脳灌流を行わないなら脳機能に障害を残さなかった事実、あるいはKeipertら⁴⁾が動物でそのHtを10%にまで低下させた血液希釈実験でも対照群に比較して混合静脈血の酸素分圧を高く維持した(すなわち全身酸素供給を保ちうる)研究などからその人工酸素運搬体としての価値は認められていた。またHablerら¹⁴⁾はHb値を7g/dlとする血液希釈時にもPFC

の併用によって心筋収縮力を維持できること、Symonsら¹⁵⁾はPFC製剤の投与によって低灌流状態から心筋虚血を防ぐことができることを認めている。その他いくつかのPFCの酸素運搬効果の発表から上述したごとくSpahnら⁵⁾は欧州で第3相試験まで治験を行なった。たしかに手術患者への輸血量節減に関しては僅かながら効果が認められたが、表(1)のごとくPFCを使用した群においては血小板減少とそれともなう出血傾向が認められた。さらに追加して行なった治験¹⁶⁾ではhydroxyethyl starchを使用した対照群に比して死亡率が高くなった。またNoveckら

¹⁷⁾の健康人を対象とした研究ではPFC1.2g/kg、または1.8g/kgの投与にともない一過性に好中球、好酸球、リンパ球ともに減少して、表(2)のごとく投与量に比例してIL-6、CRPの上昇が認められ、被験者が頭痛、眩暈、悪心などのインフルエンザ症状を呈した。さらにHillら¹⁸⁾は自己血採血後の血液量補充にPFCを使用して体外循環を行なったところ脳梗塞が多発した。これらの臨床経験から人工酸素運搬体としてのPFCの開発は現在頓挫している。

しかしPFCは移植臓器の移植前保護、液体肺換気、局所抗炎症効果、遺伝子導入補助剤、

表 1

	Colloid n=38	Perfluburon 0.9g/kg n=38	Perfluburon 1.8g/kg n=36	Autologous Blood n=35
Platelet, Coagulation Disorders, Bleeding	2	4	10	2
Thrombocytopenia	0	2	4	0
Coagulation disorder	0	1	3	1
Hemorrhage NOS	2	0	2	0

表 2

Cytokine	Serum concentration (SEM)				
	Baseline	8 Hours	16 Hours	Day 1	Day 3
IL-6 pg/mL					
Control	8.31(0.97)	14.73 (5.09)	9.63(1.58)	8.36(1.75)	7.49(1.12)
P1.2	11.06(3.97)	28.63 (6.22)	11.44(1.61)	12.26(2.44)	10.60(1.81)
P1.8	7.73(2.05)	65.99(24.62)	10.99(2.45)	8.69(0.79)	7.73(0.92)
IL-2 pg/mL					
Control	8.63(0.83)	8.88(0.81)	14.19(1.27)	17.81(2.24)	12.09(2.03)
P1.2	7.5(0.00)	10.75(1.50)	13.25(2.52)	24.25(3.83)	15.23(2.30)
P1.8	9.63(1.58)	12.16(2.76)	14.38(3.02)	19.81(2.57)	13.53(2.38)
CRP µg/mL					
Control	2.15(0.97)	2.68(0.75)	2.24(0.79)	2.66 (1.03)	3.26(1.62)
P1.2	1.30v0.16)	2.29(0.32)	11.46(3.04)	18.03 (4.57)	6.05(1.27)
P1.8	0.90(0.25)	1.33(0.34)	21.83(7.70)	40.84(12.69)	8.29(1.85)

IL=interleukin; P1.2=1.2gPFC/kg, P1.8=1.8gPFC/kg, CRP=C-reactive protein, PFC=perfluorocarbon, From study OXHT-008 (n=8 per treatment group)

MRI画像エンハンサーとして利用されるなど注目されている。

2) Hbベース酸素運搬体

2007年時点でWinslow¹⁹⁾によってまとめられた Hbベース酸素運搬体の開発状態は表(3)のごとくで、いずれも一定の酸素運搬能を有し人工酸素運搬体として認められる。たとえばHemopureTHは鎌状赤血球症に対して南アフリカでは臨床に使用されている。また最近ではそれ以外の急性貧血にまで使用²⁰⁾されてきている。そしてHemospanTHは酸素運搬能を保持した血漿増量剤として臨床使用の一手前前にある。またこの表には提示されてはいないが早稲田大学理工学部の土田²¹⁾によって作成されたliposomeencapsulated hemoglobinは現在、工業生産への手前まで開発が進められている。しかし表(3)の中のいくつかの製品については投与にともなう合併症のために開発が中止されたものもある。

1) Hbベース酸素運搬体 (HbOC) の種類 - 図(1)

HbOCにはHb分子内のalphachain間をフマル酸で結合させ、腎からの排出を抑制し(註)、酸素結合能をpyridoxal5'リン酸で調整したHemeAssistTHがあった。しかし本製品は上述したごとく商品化されることが中止された。またHb分子にpolyethylene glycolを結合させ分子サイズを大きくし、循環血液内での貯留時間の延長を図ったPHPTH(味の素)、PEGTH(Enzon)があるがいずれも開発中止となっている。しかし最近開発されてきたHemospanTHは現在は商品化についてSangart社が検討中である。そしてglutaraldehydeでHb分子を結合させて分子サイズを大きくさせたHemolinkTH(ヒトHb)は開発が中止されているが、HemopureTH(ウシHb)は適応性に一部限定されてはいるものの南アフリカでは商品化されている。

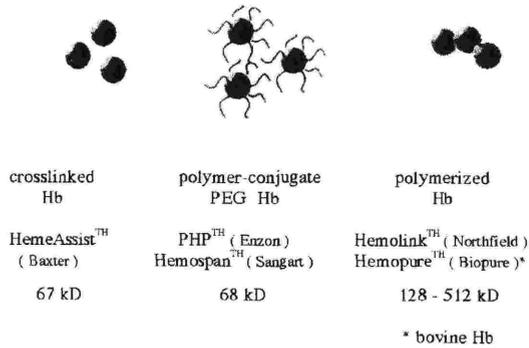
一方、1957年にChangが発案し、1987年にDjordjevic²²⁾の動物実験でその有効性が認

表3

Generation	Technology	Product	Company	Effects	Status
"First"	Red cell lysis	SFH	Academic Warner Lambert	Renal failure GI symptoms	Discontinued
"Second"	Polymerized Hb	PolyHeme	Northfield	?	Phase III trauma
		HemoLink	Hemosol	Cardiac events	Discontinued
		Hemopure	Biopure	Vasoconstriction	? Indication
"Third"	Intramolecular crosslink	aa-Hb	US Army	Vasoconstriction	Discontinued
		HemAssist	Baxter	Death (stroke, trauma)	Discontinued
		rHb1.1	Somatogen	Vasoconstriction	Discontinued
"Fourth"	PEG conjugation	PHP	Ajinomoto/Apex	Generally safe	Sepsis trials
	PEG conjugation	PEG hemoglobin	Enzon	Generally safe	Discontinued
	PEG conjugation	Hemospan	Sangart	Generally safe	Phase III elective surgery
	Zero-link	ZL-HbBv	Oxyvita	?	Preclinical

Abbreviations: SFH, stroma-free hemoglobin; PHP, pyridoxal phosphate hemoglobin polyethyleneglycol; ZL-HbBv, bovine hemoglobin polymerized with Zero-Link technology (see text); Hb, hemoglobin; PEG, polyethylene glycol; GI, gastrointestinal.

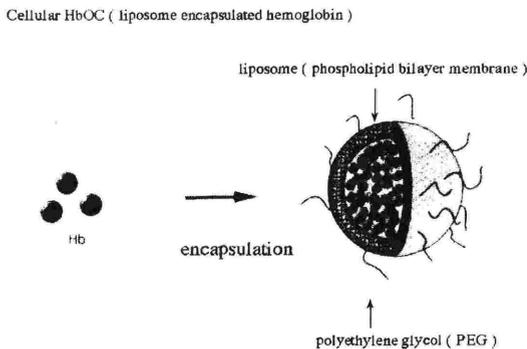
図 1



められたphospholipid膜 (liposome) 内に30数万個のHb分子を封入した細胞型HbOC - 図(2)がある。これは一時アメリカ合衆国でも開発が進められたが、製作経費の点から彼の地では開発が中断されている。しかしわが国では早稲田大学を中心に研究が進められ、テルモ株式会社が工業生産の基礎を作っている。いまだ治験は行われていないが早晚、テルモ社、ニプロ社において商品化にまで進展するものと思われる。

註：NO結合の抑制効果もある

図 2

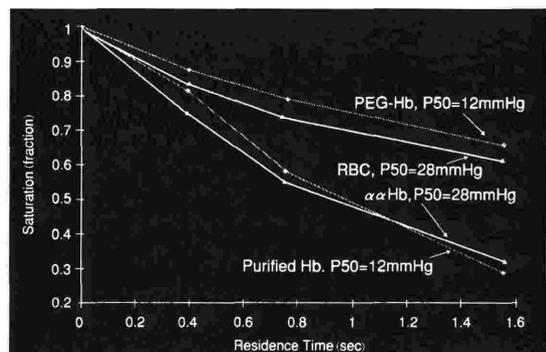


2) 非細胞型酸素運搬体の問題点

上記のようにHb分子に種々の加工を行なった最も大きな理由はHb分子が腎血管内皮細胞間隙を通過して容易に尿に排出され、循環血液中に留る時間が短く赤血球の代替とならないためであった。その循環血液中滞留半減時間は分子内架橋の修飾Hbで3時間²³⁾、また重合によって分子量を130kDとしたPolyHemeTH (HemolinkTH) でも

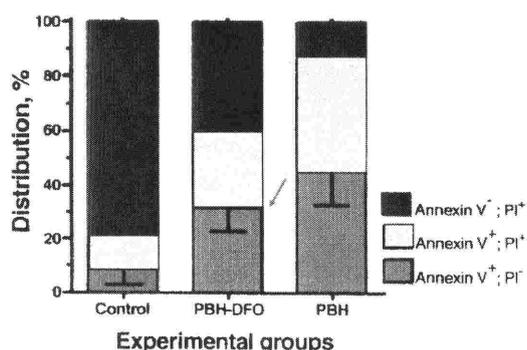
24時間である²⁴⁾。そのためWinslowら²⁵⁾はpolyethyleneglycolでHb分子を被覆し、中心のHb分子の500倍の容量、球形半径で約7倍とした修飾Hb、HemospanTHを作成した。これにより血液半減期を10-16時間に延長することが出来た。また中心のHbから表面までの距離が長くなったためHbからの酸素放出(拡散)速度が抑制され、図(3)のごとく生理的な赤血球なみの放出速度(酸素拡散速度)とすることが出来た。Smaniら²⁶⁾は修飾Hb分子(dextran-benzene-tetracarboxylate-Hb)を投与して17分後には血管内皮細胞間隙を通過するばかりか血管内皮細胞内にまで浸透し、細胞内に遊離されたHbがあることを認めた。そしてそれにともない動脈圧が上昇し、それが2時間も持続することを認めている。Cabralesら²⁷⁾は重合Hb(OxyglobinTH)でハムスターでその循環血液量の7%に相当する量の血液交換を行なったが、その際に重合Hbから遊離したと思われるHb分子を血管内皮細胞、間質結合組織細胞内に認めた。そして血液交換の8時間後にはそれらの細胞にapoptosis発生のマーカーを認めた。しかし血液交換時に鉄イオンのキレート薬であるdexeferoxamineを併用すると図(4)のごとくapoptosisのマーカーの発生を70%に減少させることが出来ることを認めた。さらに細動脈、細静脈の内径の縮小、血流量の減少も抑制することを認めた。現在まで開発されてきた修飾Hbを用いたHbOCは分子内架橋、分子重合によりHbによる一酸化窒素(NO)の補足を抑制して、血圧上昇を少なくするように作成されて

図 3



きた。しかしこれらHbOCの血管収縮作用はNOの補足²⁸⁾のみではなくて、その他、エンドセリン、アラキドン酸代謝、そして酸素フリーラジカルの関与も指摘されている。これらの点に関してはリポソーム包埋HbOCはそのサイズの点においても、またリポソームがHbと血管内皮細胞との直接接触を防ぐ点において理想的である。リポソーム包埋HbOCは36時間の血液中半減期で網内系に補足されるが、そこで分解には数日を要する²⁹⁾。このことは急速なフリーラジカルの放出が生じないためにより安全であると考えられる。

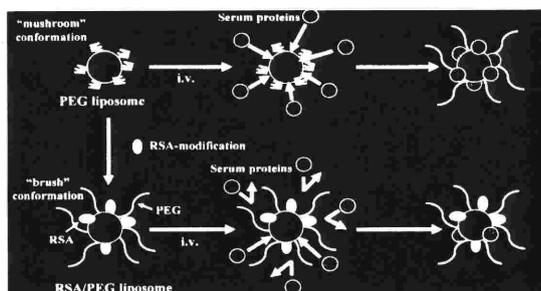
図 4



3) PEG化 (polyethylene glycol化, PEGylation)

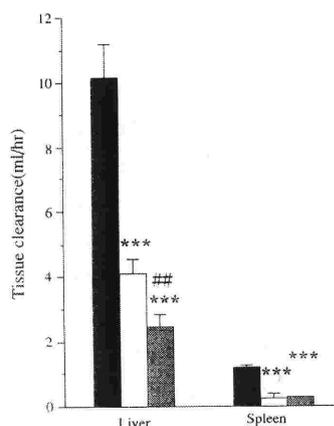
修飾Hbのサイズを大きくするためにPEGylationを行なう場合もあるが、リポソーム包埋HbOCではリポソーム粒子の集合 (aggregation) を防ぐためPEGylationを行なっている。そしてこのPEG化は網内系のリポソーム粒子の貪食を抑制する。さらにFurumotoら³⁰⁾は図 (5) のごとくり

図 5



ポソームのPEG化時にアルブミンを同時に添加するとリポソームへの血漿蛋白の結合が防がれ、それにともない網内系細胞の貪食が抑制されると考えた。事実、図 (6) のごとくPEG化は無添加のリポソームよりも肝臓、脾臓でのリポソームの捕捉を減少させるが、さらにアルブミン添加はその効果を増進させることを認めた。

図 6



Liver and spleen clearances of conventional (non-PEG), PEG and RSA/PEG liposomes. Results are expressed as the mean with a bar showing the S.D. of three experiments. (■) Non-PEG liposome; (□) PEG liposome; (▨) PEG/RSA liposome. *** $p < 0.001$, compared with non-PEG liposome; # $p < 0.01$, compared with PEG liposome.

4) Hbの酸化抑制

HbOCの血管内の滞留時間を延長させてもHb分子中の鉄イオンが2価から3価に酸化される、すなわちメトキシHb (methemoglobin) に転換されては酸素運搬能を失うこととなる。酒井ら³¹⁾によるとHbOCでのリポソーム型HbOCのHbのメトキシHbへの転換は24時間で約70%の割合で発生する。そのため武岡³²⁾はリポソーム内に還元酵素であるカタラーゼ、あるいは還元物質チロジンをを封入させるなど試みている。しかし前者については夾雑物のない製品を得ることの困難さがあり、後者については長時間の還元作用に期待がかけられないなどの問題点がある。一方、ヒト血液から一酸化炭素処理をすることなく得たHbに天然の還元酵素 (glutathion reductase) を共存させることができるが、Hbの高純度をえることが困難で

あり、またたとえ可能であってもリポソーム内での24-48時間以上の活性維持は困難である。この点今後の研究が必要である。

5) Hb酸素親和性

Sakiら³³⁾はHbOCを投与したモルモットの皮膚細動脈での観察で生理的な酸素親和性のHbを使用したHbOCでは細動脈レベルで酸素放出が行われ、それにとまう細動脈攣縮で末梢への血流が低下することを観察した。したがってこの脈管レベルで酸素放出が行われない、すなわち酸素親和性の高いHbをHbOCに使用することが望ましいと提唱した。しかし酸素親和性の高いHbをHbOCに使用した場合、組織酸素分圧の低下が生じない限りHbからの酸素の放出が行われない。それならばどの程度の低酸素分圧で生体の組織酸素代謝が維持できるかが問題となる。これに対してRichmondら³⁴⁾は組織酸素代謝を維持しうる最低酸素分圧は組織間液で 2.9 ± 0.5 mmHg, 細動脈レベルで 7.2 ± 1.5 mmHgであることを示した。この理論に基付けばHbのP50は10mmHgでも十分な組織酸素代謝が可能となる。事実、Cabralesら³⁵⁾はP50を5.4, 8.3, 8.6mmHgとしたHbを使用し、これにPEGylationを行なって、その分子量を5-10kDとしたHbOCを作成、これらを用いてヘマトクリット値が11%となる血液希釈を行なった。その結果は図(7)のごとくP50が5.4mmHgのものでは静脈血、組織内酸素

分圧は他のHbOC群やデキストラン使用群に比して低値であった。しかるに図(8)のごとく酸素運搬量, 酸素消費量は同等であった。

一方、酸素親和性が低いHbを使用した場合、たとえば $P50=38$ mmHg²⁷⁾, あるいは 54 mmHg³⁶⁾のHbを使用した場合には正常人でも酸素吸入を行なわないと肺での十分なHbOCの酸素化が得られない。しかしHbOCの投与を必要とする症例ではすでに酸素吸入

図8

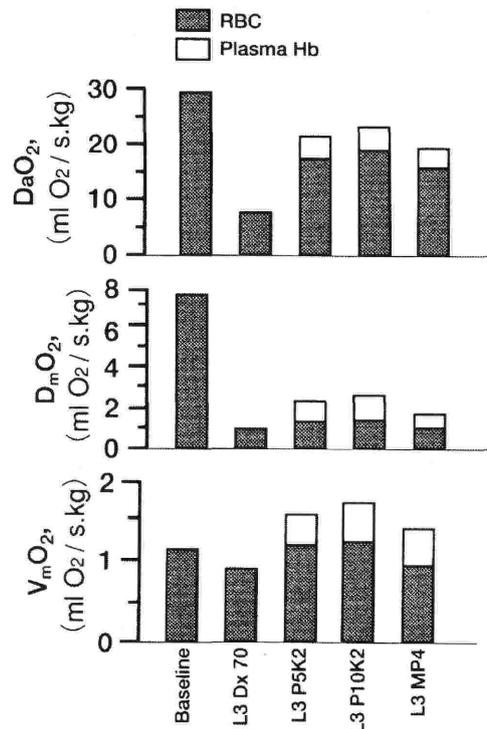
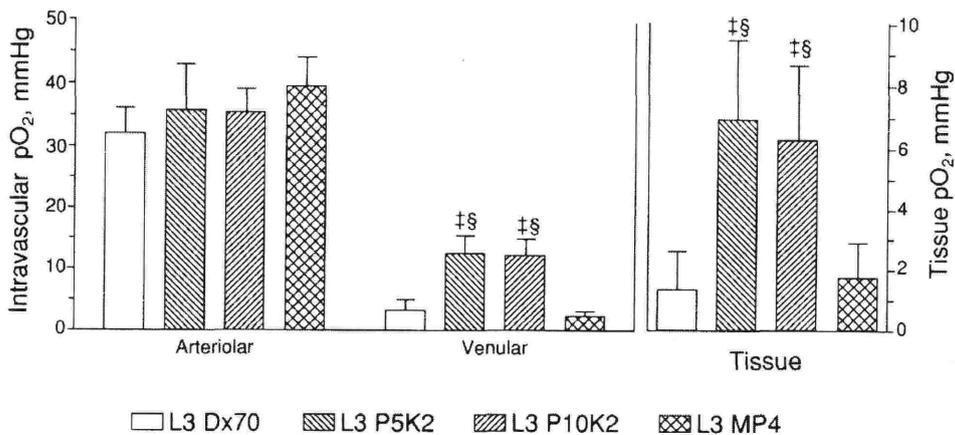


図7



などの処置が施されていて実際には問題とならない。ただSakaiら³³⁾が指摘する細動脈レベルでの早期酸素放出での攣縮に対する考慮が必要となるかも知れない。

6) 細胞型酸素運搬体の利点と今後での変化・改良

今年の4月にアメリカBethesdaにおいてFDAが主催した会議で問題となったHbのNO捕捉作用に関しては細胞型HbOC、すなわちリポソーム包埋Hb酸素運搬体で全く存在しないことはNogamiら³⁷⁾の研究で明らかになっている。また未だ十分な結論を得ていないがHbの酸化防止のための酵素、還元物質のリポソーム嚢内への封入が可能でありHbの活性維持を延長することが可能である。さらにその粒子が0.2-0.3mmサイズであることから血管内皮細胞間隙からの血管外移行は少ないことも特徴である。

しかし2週間にもおよぶ長期間血管内滞留も生体の赤血球新生の妨げとなり³⁸⁾好ましくない。リポソーム粒子もサイズの点に関しては将来的にはさらに大きなサイズ(たとえば2-3mm)の粒子作成も考えられる。これにより表(3)のように粒子の微小血管内での軸流を得ることが可能である。またこれにリポソーム膜の張力の低下から粒子に変形能が付加されよう。これにより網内系での貪食作用を抑制することにもなろう。またリポソーム構成フォスホリッピド量とHb量との比率が低下し、フォスホリッピド投与にともなう生体への影響を最小限に留めよう。そして大量のHbを含有させて単位当たりの酸素運搬量を増加させよう。さらに中心部から表面までの距離を大として緩徐な酸素拡散も可能としう。さらにその粒子を浮遊させた製品の液体粘度を上げることができ、さらに大きな粒子と血管内皮細胞との接触にともなうshear stressを増加し微小血管の拡張をもたらす。

7) もし細胞型酸素運搬体が臨床に用いるとしたら

現在の細胞型HbOCが臨床に応用される時

の使用量は20-25ml/kg(成人量として1,000-1500ml)になると思われる。このHbOCは電解質液に浮遊している。したがって膠質浸透圧が欠如している。これを補うためにアルブミンを使用しても凝固因子、とくにフィブリノゲンが含まれていないため血液希釈にともなう止血機能の低下は随伴する。また輸血赤血球よりは速やかに分解され、鉄イオンを遊離するため敗血症など感染症を合併する際の投与は慎重でなければならない。その主な用途はSpahnら¹⁶⁾が提唱するように同種血輸血回避、あるいは同種血輸血までの時間的ブリッジとして利用されると思われる。しかしショック時での使用には慎重でなければならない³⁸⁾。

おわりに

ウシHbの利用製品を除いて、多くのHbOCは献血として提供された血液のHb、あるいは廃棄されるべき血液のHbを利用している。しかし将来的に少子高齢化がさらに進めば献血量も著しく低下することとなろう。その時の対策として死体血液(cadaver blood)の活用も考えるべきであろう。血液から抽出されるHbの無菌化は非常に進歩して死体血液からのHbにも対応できる。このような観点から人工酸素運搬体の開発はわが国の医療にとって、また世界の医療にとって重要な問題と考える。ただいかに進歩した人工酸素運搬体が開発されても現行の同種血輸血、あるいは自己血輸血を無視することは出来ない。これら三者を巧みに組合せていくことが良い医療への道と考える。

本研究は厚生労働省科学研究補助金 政策創薬総合研究事業 分野 課題番号:H18-創薬一般-021血液製剤安定確保のための人工酸素運搬体を用いた救急医療への応用に関する研究 平成20年度交付金によって支援された。

引用文献

- 1) 箕島 高
人工血液
東京 医学書院 1968
- 2) Clark, L.C., Jr., Gollan, F.
Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure
Science 152 : 1755-1756, 1966
- 3) Honda, O., Hoahino, S., Shoji, M., Usuba, A., Motoki, R., Tsuboi, M., Inoue, H., Iwaya, F.
Clinical use of a blood substitute
New Engl. J. Med. 303 : 391-392, 1980
- 4) Keipert, P.E., Faithfull, N.S., Bradley, J.D., Hazard, D.Y., Hogan, J., Levisetti, M.S., Peters, R.M.
Oxygen delivery augmentation by low-dose perfluorochemical emulsion during profound normovolemic hemodilution
Adv. exp. med. Biol. 1994 ; 345 : 197-204.
- 5) Spahn, D.R., van Bremp, R., Theilmeier, G., Reibold, J.P., Welte, M., Heinzerling, H., Birck, K.M., Keipert, P.E., Messmer, K.
Perflubron emulsion delays blood transfusions in orthopedic surgery
Anesthesiology 91 : 1195-1208, 1999
- 6) Amberson, W.R., Flexner, J., Steggerda, F.R., Mulder, A.G., Tendler, M.J., Pankratz, D.S., Laug, E.P.
On the use of Ringer-Locke solution containing hemoglobin as a substitute for normal blood in mammals
J. Cell. comparative Physiol. 5 : 359-382, 1934
- 7) Sloan, E.P., Koenigsberg, M., Gens, D., Cipolle, M., Runge, J., Mallory, M.N., Rodman, G.
Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock : A randomized controlled efficacy trial
JAMA 282 : 1857-1864, 1999
- 8) Sprung, J., Kindscher, J.D., Wahr, J.A., Levy, J.H., Monk, T.G., Moritz, M.W., OHara, P.J.
The use of bovine hemoglobin glutamer-250 (Hemopure) in surgical patients : Results of a multicenter, randomized, single-blinded trial
Anesth. Analg. 94 : 799-808, 2002
- 9) Olofsson, C., Nygard, E.B., Ponzer, S., Fagrell, B., Przybelski, R., Keipert, P.E., Winslow, N., Winslow, R.M.
A randomized, single-blind, increasing dose safety trial of an oxygen-carrying plasma expander (HemospanTH) administered to orthopaedic surgery patients with spinal anaesthesia
Transfusion. Med. 18 : 28-39, 2008
- 10) Mayor, S.
Hemoglobin based blood substitutes may raise the risk of myocardial infarction
Br. med. J. 336 : 977, 2008
- 11) Natanson, C., Kern, S.J., Lurie, P., Banks, S.M., Wolfe, S.M.
Cell-free hemoglobin-base blood substitutes and risk of myocardial infarction and death-A meta-analysis
JAMA 299 : 2304-2312, 2008
- 12) Tsuchida, E. Takeoka, S.
Stabilized hemoglobin vesicles
Artificial Red Cells Ed Tsuchida, E
John Wiley New York 1995 p : 35-64
- 13) Sloviter, H.A., Kamimoto, T.
Erythrocyte substitute for perfusion of brain
Nature 216 : 458-460, 1967
- 14) Habler, O.P., Kleen, M.S., Hutter, J.W., Podtschaske, A.H. Tiede, M., Kemming, G.I., Welte, M.V., Corso, C.O., Batra, S., Keipert, P.E., Faithfull, A.N.S., Messman, K.F.W.
Hemodilution and intravenous perflubron emulsion as an alternative

- to blood transfusion : Effects on tissue oxygenation during profound hemodilution in anesthetized dogs
Transfusion 38 : 145-155, 1998
- 15) Symons, J.D., Sun, X., Flaim, S.F., del Balzo, U.
Perflubron emulsion improves tolerance to low-flow ischemia in isolated rabbit hearts Perflubron emulsion improves tolerance to low-flow ischemia in isolated rabbit hearts
J. cardiovasc. Pharmacol. 34 : 108-115, 1999
- 16) Spahn, D.R., Waschke, K.F., Standl, T., Motsch, J., Van Huynegem, L., Weite, M., Gombotz, H., Coriat, P., Verkh, L., Faithfull, S., Keipert, P., The European Perflubron in Non-cardiac Surgery Study Group
Use of perflubron emulsion to decrease allogeneic blood transfusion in high-blood-loss non-cardiac surgery-Results of a European phase 3 study
Anesthesiology 97 : 1338-1349, 2002
- 17) Noveck, R.J., Shannon, E.J., Leese, P.T., Shorr, J.S., Flaim, K.E., Keipert, P.E., Woods, C.M.
Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion II. Effects on immune function in healthy volunteers
Anesth. Analg. 91 : 812-822, 2000
- 18) Hill, S.E., Grocott, H.P., Leone, B.J., White, W.D., Newman, M.F.
Cerebral physiology of cardiac surgical patients treated with the perfluorocarbon emulsion, AF0144
Ann. thorac. Surg. 80 : 1401-1407, 2005
- 19) Winslow, R.M.
Red cell substitutes
Semin. Hematol. 44 : 51-59, 2007
- 20) Levien, L.J., Hodgson, R. E., James, M.F.M.
Hemoglobin-base blood substitutes and risk of myocardial infarction and death
To the Editor
JAMA 300 : 1295, 2008
- 21) Tsuchida, E.
synthesis and characterization of artificial red cell (ARC)
Biomater. artif. Cells Immunobiol. Biotechnol. 20 : 337-344, 1992
- 22) Djordjevich, L. Mayoral, J., Miller, I.F., Ivankovich, A.D.
Cardiorespiratory effects of exchange transfusions with synthetic red cells in rats
Crit. Care Med. 15 : 318-323, 1987
- 23) Matheson, B., Razynska, A., Kiwansa, H. Bucci, E.
Appearance of dissociable and cross-linked hemoglobin in the hilar lymph
J. Lab. cli. Med. 135 : 459-464, 2000
- 24) Sampei, K., Ulatowski, J.A., Asano, Y., Kwansa, H., Bucci, E.,
Role of nitric oxide scavenging in vascular response to cell-free hemoglobin transfusion
Am. J. Physiol. 289 : H1191-H1201, 2005
- 25) Winslow, R.M.
Red cell substitutes
Semin. Hematol. 44 : 51-59, 2007
- 26) Smani, Y., Faivre, B., Ausonnet-Blaise, S., Labrude, P., Vigneron, C.
Hemoglobin-based oxygen carrier distribution inside vascular wall and arterial pressure evolution : Is there relationship ?
Eur. surg. Res. 37 : 1-8, 2005
- 27) Cabrales, P., Tsai, A.G., Intaglietta, M.
Deferoxamine lowers tissue damage after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin
Antioxid. Redox Signal. 9 : 375-388, 2007
- 38) Gibson, Q.H.
'The kinetics of reactions between haemoglobin and gases' in Progress in

- biophysics and biophysical chemistry
Ed. by Butler, J.A.V., Katz, B
Progress in Chemistry Ed. by Butler,
J.A.V., Katz, B Pergamon Press New
York 1959 p : 1-54
- 29) Sakai, H., Horinouchi, H., Yamamoto, M.,
Ikeda, E., Takeoka, S., Takaori, M.,
Tsuchida, E., Kobayashi, K.
Acute 40% exchange-transfusion
with Hb-vesicle (HbV) suspended in
recombinant human serum albumin
solution : Degradation of HbV and
erythropoiesis in a rat spleen for 2
weeks
Transfusion 46 : 339-347, 2006
- 30) Furumoto, K., Yokoe, J.I., Ogawa, K.,
Amano, S., Takeuchi, M., Jigaki, K., Kai,
T., Kimura, T.
Effect of coupling of albumin onto
surface of PEG liposome on its in vivo
disposition
Int. J. Pharm. 329 : 110-116, 2007
- 31) 酒井宏水, 武岡真司, 土田英俊
平成14年度厚生労働省科学研究 臨床応
用可能な人工赤血球の創製に関する研究
(H12-医薬-009) 研究班会議 平成14年
4月25日
- 32) 武岡真司 分子集合科学を利用した人工
血液の創製 人工血液 13 : 136-147, 2006
- 33) Sakai, H., Cabrales, P., Tsai, A.G.,
Tsuchida, E., Intaglietta, M.
Oxygen release from low and normal
P-50 vesicles in transiently occluded
arterioles of the hamster window model
Am. J. Physiol. 288 : H2897-H2903, 2005
- 34) Richmond, K.N., Shonat, R.D., Lynch,
R.M., Johnson, P.C.
Critical PO₂ of skeletal muscle in vivo
Am. J. Physiol. 277 : H1831-H1840, 1999
- 35) Cabrales, P., Kanika, N.D., Manjula, B.N.,
Tsai, A.G., Acharya, S.A., Intaglietta, M.
Microvascular P-O₂ during extreme
hemodilution with hemoglobin site
specifically PEGylated at Cys-93
(beta) in hamster window chamber
Am. J. Physiol. 287 : H160-H1617, 2004
- 36) Moore, E.E.
Blood substitutes : The future is now
J. Am. Coll. Surgeons 135 : 459-464,
2003
- 37) Nogami, Y., Kinoshita, M., Takase,
B.Ogata, Y., Saitoh, D., Kikuchi, M.,
Ishihara, M., Maehara, T.
Liposome-encapsulated hemoglobin
transfusion rescues rats undergoing
progressive hemodilution from lethal
organ hypoxia without scavenging
nitric oxide
Ann. Surg. 248 : 310-319, 2008
- 38) Manalo, D.J., Buehler, P.W., Baek, J.H.,
Butt, O., D'Agnillo, F., Alaysh, A.I.
Acellular haemoglobin attenuates
hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-
1alpha) and its target genes in
haemodiluted rats
Biochem. J. 414 : 461-470, 2008