

I. 人工血液研究の過去と未来

光野 孝雄* 大柳 治正**

はじめに

血液は多様の物質を含んでおり、その機能も複雑である。この複雑な機能の一部を代用するものとして電解質輸液、栄養輸液、血漿増量剤などがあるが、これらは酸素運搬能がないので、大量出血に際しての救命効果には自ら限界がある。人工血液は、血液が果たしている機能のうち生命維持にもっとも重要な酸素運搬能を有している人工的血液代替液につけられた輸液剤のことである。したがって、人工血液は人工赤血球液とも呼ばれている。そこで人工血液は、酸素を十分末梢組織に運搬して末梢組織はこれを利用し、そこで発生した炭酸ガスを運び去る作用を有し、しかも血液同様に大量注射しても副作用がなく、また血液ガス運搬の役割を果たしたあとはできるだけ早く排泄され、長期間体内に残るものでないものでなければならぬ。

人工血液研究の歴史

1. ヘモグロビン (Hb) あるいはその類似物質の合成

いわゆる人工血液の研究は1946年 Burk¹⁾にはじまる。彼らは cobalt histidine complex を検討したが、その後 Corwin²⁾や Wang³⁾らが heme-imidazole complex について研究した。その後わが国においても篠島や豊田⁴⁾はこれらを詳細に検討した。すなわち、とくに前者は cobalt-histidine complex、後者は heme-imidazole complex

のうち 1-(2-phenylethyl)-imidazole heme complex および 1-vinyl-2-methylimidazole heme complex について研究したが、動物の出血性ショックを救うだけの十分な酸素運搬能は到底見出されず、最近では Hb あるいはその類似物質の合成はほとんど不可能のようになされてきた。

2. 天然のヘモグロビン、あるいは赤血球のマイクロカプセル化

これは天然の Hb をそのまま利用する試みで、Hb をマイクロカプセル化して人工的に赤血球を作りあるいは動物やヒトの赤血球を薄膜で覆ってその異種蛋白としての反応を抑えようとしたものである。これは、まず1960年大村⁵⁾の研究にはじまる。彼はヒト赤血球を10%にエタノールを含む保存液に低温保存し、赤血球膜をアルコールで軽度凝固固定保存したが、異種赤血球についてまで研究は及ばなかった。

ついで1964年頃より Chang⁶⁾は Hb をナイロンカプセルの試みを発表し、人工細胞 (artificial cell) と呼んだ。また時を同じくして東大木本外科で同様の研究が盛んに行われたが、関口⁷⁾らによる赤血球の TDI (toluylene-di-isocyanate) 処理によりもっともよいといわれているマイクロカプセル化でも、細胞内に取り込まれて TDI がはずれるとやはり異物反応が出るうえに、膜が厚いと酸素運搬能もなくなり、これも成功しなかった。

3. Perfluorochemical (PFC) 乳剤

オランダの Kylsta⁸⁾は1962年に発表した“of mice as fish”という論文のなかで、マウスを高圧酸素環境下(8気圧)で生理食塩水中に浸けて魚のように泳がせたが、マウスは溺れることなく

* 国立神戸病院

** 神戸大学医学部第一外科

18時間まで生存しうることを述べた。

これと同様のことが、酸素易溶性の液体である perfluorochemical (通称 fluorocarbon, FCと略) のなかに1気圧下でマウスを浸してもマウスは長時間この液体呼吸で生存しうることを見出したのは1966年 Clarkら⁹⁾である。彼らは酸素易溶性のシリコン油でも同様のことを見出したが、両者を比較して、シリコン油では空気呼吸に戻したあとマウスは短時間内に死亡したのに対して、PFCでは数週間生存し、PFCがシリコン油より優れていることを述べた。

ついで1967年には Slovirer ら¹⁰⁾は、ウシ、アルブミンで安定化した PFC の一種 perfluorobutyl-tetrahydrofuran (FX80) の乳剤を用いてラットの脳灌流に成功し、脳波が血液による灌流と同等に続くのを認め、これを人工赤血球と称した。さらに1968年には Geyer ら¹¹⁾が、Pluronic で乳化した PFC 乳剤でラットの全血交換に成功した。この実験で、FX 80 は乳化が容易ではあるが、乳剤注射 4-5 時間後ラットは肺浮腫で死亡したのに対して、perfluorotributylamine (FC 43) 乳剤による全血交換では、ラットは純酸素呼吸下で8時間まで生きていたといい、PFC 乳剤の人工血液としての利用可能性を示唆した。

著者ら¹²⁾も1968年より研究を開始し、1970年にはイヌの全血交換を行い、その後正常に1年以上生かし続けたが、これはイヌなど大動物における最初の成功である。以来ミドリ十字中央研究所などと共同して本格的な研究にとりかかった。

そして研究当初は、PFC 乳剤が血液ガス運搬能を十分有しており、人工血液として有効であるということの証明に当り、後半は副作用が可及的僅少なものの開発に向けて研究を進めた。その結果、当初使用した FC 43 乳剤は、粒子の安定性がよくてラットの急性毒性実験ではきわめて良好な成績がえられたが、これは注射後2カ月経っても注射量の40%以上が肝、脾を主とする臓器内に蓄積残留することが分かったので、人工血液として全身への臨床使用は不相当と考えられた。

そこで臓器内蓄積の少ないものとして見出されたのが、perfluorodecalin (FDC) であるが、これは乳剤の安定性が悪く、毒性実験の成績も悪かった。ついで FDC と perfluorotripropylamine

(FTPA) とを7対3の割合で作った混合乳剤、Fluosol-DA (FDA) は、臓器蓄積、粒子の安定性ともにもっとも優れており、これによるサル全血交換実験 (Ht 1%) も技術的ミスのない限りほとんど全例生存し¹³⁾、良好な成績がえられた。そこで著者らはこれを人工血液の最終候補とし、一応人工血液の開発を完成させた¹⁴⁻¹⁶⁾。これが1977年である。

人工血液の将来

1. Fluosol-DA の問題点と対策

FDA は、有効性は勿論安全性もほとんど立証され¹⁴⁻¹⁸⁾、共同研究者を用いた第1相試験以来¹⁹⁾、臨床においても300例以上に使用されており、適応症例に一定量使用するには特記すべき問題点はないと思われる²⁰⁻²³⁾。しかし天然赤血球と同程度の機能と安全性を人工血液の理想とするならば、FDA はまだ問題点は多いといわなければならない。以下にその主要な問題点と対策を述べる。

まず FDA は天然赤血球にくらべて酸素運搬能が少ないことである。したがって人工血液として十分な機能を発揮させるためには高い酸素分圧下での呼吸管理が必要となる。現状の 20w/v% FDA なら注入量は出血量の約 1.5 倍で、 FiO_2 は 0.5~0.6 が必要となり、大量出血で長期間人工血液だけで管理しなければならない場合は、FDA の投与量と酸素中毒出現の可能性が問題となる。投与水分量を少なくするためには濃度を上げるのもひとつの解決法であり、現在 35w/v% も製造中であるが、その安全性はまだ完全には確立されていない。

また酸素中毒出現の可能性は、空気管理でも十分に酸素を運びうる人工血液が出現しない限り、いつも問題になるが、現状の FDA 使用例でもそれについての副作用は全く報告されていないので、作用期間中 FiO_2 を 0.5 前後に管理しても問題はないと考えられる。

つぎに FDA で問題になるのは体内蓄積性である。FDA は現在考えられるもっとも安定したしかも蓄積性の少ない乳剤ではあるが、やはり異物であるので、血中からの消失後は可及的速やかに体外に排泄されることが望ましい。この意味で現在の FDA は投与量が 1,500 ml 前後まで、また

反復投与はできるだけ避けるという制限が出てくるので、体外排泄性のよりよい乳剤の出現が必要と思われる。

2. Fluosol-DA に続く乳剤の将来への展望

FDA の問題点を解決するために、すなわち酸素運搬能がより大きく、体外排泄性がよい物質を求めて現在も多くの PFC の素材を研究している。

PFC 乳剤の酸素溶解性は乳剤粒子径の大きさには無関係で、PFC の内部構造とくに C-F 結合によるものと考えられているが、いくつかの C-F 結合がよくて、どの構造式がもっとも優れているかはまだ分かっていない。しかし、私どもが今まで研究してきた PFC の酸素溶解能はほとんどが 40vol% 前後であるので、PFC を人工血液の素材にする限り、 FiO_2 はやはり 0.5 前後が必要のように思われる。

一方 PFC 乳剤投与後の体内半減期は、通常量の 4g/体重 kg すなわち 20 ml/kg 投与で FC43 では約 900 日、FDC では 7 日であるように、PFC の体外排泄性は種類によって大きく異なる¹⁶⁾ので、FDA により現在臨床応用可能になった人工血液もまだ改良の余地があると思われる。

私どもは FDA における 20-30ml/体重 kg という現時点における投与量制限をとり除くべく、主として排泄性と乳剤安定性という面より、人工血液素材の開発、改良の研究を行い、perfluorodimethylcyclohexane, perfluorotrimethylcyclohexane, perfluoro-n-propylcyclohexane, perfluorobicyclononane, perfluorooxadecalin, perfluoro-adamantane などを検討しているが、現状は FDC より優れた素材は見出させていない。しかし人工血液開発の過程を振り返るとき、FDA より排泄性の優れた物質が出来ないという結論を出すのは早過ぎるかと考えている。したがって、もっと多くの量を投与しても体内蓄積性が問題にならない乳剤が出来ることを夢みて研究を続けている。

さらに将来の人工血液は、室温保存でも粒子径の変わらない安定した乳剤が望ましいので、界面活性剤などの改良により、現在よりもっと保存の容易な乳剤も製造可能になるであろう。

文 献

- 1) Burk, D., Hearon, J., Caroline, L. and Schade, A. L. : Reversible complexes of cobalt, histidine and oxygen gas. *J. Biol. Chem.* **165**: 723-724, 1946.
- 2) Corwin, A. H. : Properties of proto- and mesoheme imidazole complexes. *J. Amer. Chem. Soc.* **80**: 4736, 1958.
- 3) Wang, J. H. : A synthetic material with hemoglobin-like property. *J. Amer. Chem. Soc.* **80**: 3168, 1958.
- 4) 豊田忠之 : 人工血液の基礎的研究, 日外会誌 **67**: 36-57, 1966.
- 5) 大村泰男 : 人工血液, 医学シンポジウム 第25輯 : 人工臓器. 診断と治療社, 東京, 1-30, 1960.
- 6) Chang, J. M. S., MacIntosh, F. C. and Mason, S. G. : Semipermeable aqueous microcapsules. I. Preparation and properties. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **44**: 115-128, 1966.
- 7) 関口 弥 : 人工血液——研究の現況とその問題点. 呼と盲 **19**: 903-908, 1971.
- 8) Kylsta, J. A., Tissing, M. O. and van der Maën, A. : Of mice as fish. *Trans. Am. Soc. Artificial Internal Organs* **8**: 378-382, 1962.
- 9) Clark, L. C. and Gollan, F. : Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* **152**: 1755-1756, 1966.
- 10) Sloviter, H. A. and Kamimoto, T. : Erythrocyte substitute for perfusion of brain. *Nature* **216**: 458-460, 1967.
- 11) Geyer, R. P., Monroe, R. G. and Taylor, K. : Survival of rats totally perfused with a fluorocarbon-detergent preparation. *Organ Perfusion and Preservation*: edited by Norman, J. C., Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 85-96, 1968.
- 12) 光野孝雄, 藤田忠義, 杉本利一郎, 松本邦彦, 松本義信, 大柳治正, 杉原俊一, 山下修一, 関田幹雄, 弘中敏雄, 太田威彦 : 人工血液としての fluorocarbon-emulsion. 医学のあゆみ **75**: 637-641, 1970.
- 13) Ohyanagi, H., Sekita, M., Toshima, K., Kawa, Y. and Mitsuno, T. : Exchange transfusion of blood for perfluorochemical emulsion (Fluosol-DA) in monkeys. Proc. HS Symposium: Research on Perfluorochemicals in Medicine and Biology, Karolinska Institute Research Center, Stockholm, 280-300, 1977.
- 14) 光野孝雄 : 人工血液研究の現状と臨床応用への期待. 治療 **60**: 109-117, 1978.
- 15) 光野孝雄, 大柳治正 : 人工血液——血液ガス運搬体としての PFC 乳剤. 医学のあゆみ **105**: 553-561, 1978.
- 16) Naito, R. and Yokoyama, K. : Perfluorochemical Blood Substitutes. Fluosol-43, Fluosol-DA 20% and 35%. Technical Information Series No. 5. The Green Cross Corporation, 1-177, June 30, 1978.
- 17) Ohyanagi, H., Sekita, M., Yokoyama, K., Itoh, T., Toshima, K., Okamoto, M., Kawa, Y. and Mitsuno, T. : Studies on perfluorochemical emulsion (Fluosol-DA) as artificial blood in exchange transfusion and emergency use in monkeys. Proc. the IV th International Symposium on Perfluorochemical Blood

- Substitutes. *Excerpta Medica*, Amsterdam, 373~389, 1978.
- 18) 大柳治正, 横山和正, 関田幹雄, 岡本光人, 伊藤努, 戸嶋和彦, 奥村修一, 光野孝雄: 人工血液——その研究の現状と臨床応用について. *医学のあゆみ* **110**: 453~463, 1979.
- 19) Ohyanagi, H., Toshima, K., Sekita, M., Okamoto, M., Itoh, T., Mitsuno, T., Naito, R., Suyama, T. and Yokoyama, K. : Clinical studies of perfluorochemical whole blood substitutes: Safety of Fluosol-DA (20%) in normal human volunteers. *Clinical Therapeutics* **2**: 306~312, 1979.
- 20) 大柳治正, 斉藤洋一: 人工血液——perfluorochemical 乳剤による血液ガス運搬体, *治療学* **5**: 519~527, 1980.
- 21) 大柳治正, 戸嶋和彦, 奥村修一, 関田幹雄, 高木晴幸, 丸川征四郎, 岩井誠三: 血液ガス運搬体としての perfluorochemical 乳剤 (Fluosol-DA) の臨床使用経験. *医学のあゆみ* **115**: 943~949, 1980.
- 22) Mitsuno, T., Kawa, Y., Kita, A. and Kohno, N. : Success in the radical resection of esophageal cancer with artificial blood infusion: Case report. *Int. Surg.* **66**: 355~358, 1981.
- 23) Mitsuno, T., Ohyanagi, H. and Naito, R. : Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA)—Summary of 186 cases. *Ann. Surg.* **195**: 60~69, 1982.