

## II. PFC 乳剤の基礎

### 1. PFC 乳剤開発の歴史と問題点

大柳 治正\* 齊藤 洋一\* 光野 孝雄\*\*

#### 1) はじめに

血液にかわって酸素を末梢組織まで運搬することができる輸液剤、いわゆる人工血液の開発において、酸素易溶物質である perfluorochemicals (PFC) が注目されるようになったのは1960年代後半になってからである<sup>1-4)</sup>。1968年われわれが研究を開始して以来<sup>5)</sup>、1970年代は主としてわが国で研究、開発されてきた PFC 乳剤は、われわれとミドリ十字との共同研究のもとに世界で先がけて臨床応用可能なところまできた<sup>6-23)</sup>。ここでは PFC 乳剤開発の歴史とその時々の問題点を述べ、現在臨床使用されている乳剤の性状と限界を明らかにする。

#### 2) PFC 乳剤有効性の証明

元来冷媒などの工業用に合成された PFC の酸素溶解能に注目し、生物界への応用を考えたのはシンシナチ大学のクラークら<sup>1)</sup>、ペンシルバニア大学のスロピターら<sup>2, 4)</sup>、ハーバード大学のガイヤーら<sup>3)</sup>である。彼らはいずれも自身の PFC 乳剤の有効性を一応証明しているが、血液ガス分析や循環動態測定を行い、末梢組織の酸素消費量などより PFC 乳剤の酸素運搬能を直接検討するまでにはいたらなかった。

われわれは PFC 乳剤開発の各段階において、それぞれの乳剤を用い電解質液や plasma expander を対照に、各臓器灌流と全血交換動物でその有効性を検討した。すなわち、各臓器灌流実験においては affluent と effluent の酸素含有量

較差や灌流速度より酸素消費量を検討するとともに、脳灌流では脳波の有意な持続を、肝灌流ではカリウムの細胞内への再取り込みや GOT, GPT の漏出防止<sup>10)</sup>、腎灌流では72時間低温灌流後に移植し、その生着状況などを検討し<sup>15)</sup>、PFC 乳剤が血液ガスを十分に運搬し、各臓器が正常に機能しうることを証明した。

さらに全血交換動物（正確には Ht 1~2% 以下）を作成し、PFC が血液ガス運搬能においては赤血球の代わりをしうるのかどうかを、血液ガスの変動と循環動態より検討した<sup>5-10)</sup>。ネズミ、ウサギ、イヌ、サルを用いた交換輸血はいずれも高濃度の酸素呼吸管理下という条件はつくが、PFC 乳剤は末梢組織の必要なだけの酸素を運びうるということが立証できた(表1)。また交換輸血における生存率も初期で乳剤作成法が完成せず粒子径が大きかったときを除けば、いずれも PFC 乳剤を用いたときの方が著明によかった。

PFC 乳剤有効性の証明は研究の最初はもちろん、乳剤が開発、改良されるごとに繰り返し行われたが、途中より PFC 量や酸素量がガスクロにより定量できるようになってから、正確にしかも容易になった<sup>5, 10)</sup>。

また血液ガス運搬体としての PFC 乳剤の有効性に問題があるとすれば、PFC 乳剤が作用している期間は、全血交換のような動物実験では  $FiO_2$  が0.8以上、臨床例においては0.5~0.6と高濃度の酸素で呼吸管理しなければならないことと、PFC 乳剤の炭酸ガス運搬能が低いことである<sup>20-23)</sup>。高濃度の酸素呼吸による酸素中毒は短期間に生ず

\* 神戸大学医学部第一外科

\*\* 国立神戸病院

表 1. Changes of blood gas and hemodynamics in Monkeys of Exchange Transfusion

		Exchange Transfusion						
Pre Treatment		After Completion of Exchange Transfusion				6 Hours Later		
		PFC		HES		PFC		HES
Ht	*	33.3±2.9	1.7±0.5	5	1	1.1±0.5	5	1▲
P <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	**	535.2±41.5	551.2±67.0	525	560	537.5±51.7	570	473▲
(C <sub>A</sub> -C <sub>V</sub> )O <sub>2</sub>	***	5.7±1.2	3.9±0.6	1.6	1.6	3.5±0.6	1.9	1.5▲
Cardiac Output °		195.7±57.5	273.5±33.5	285	315	323±46.5	300	451▲
O <sub>2</sub> Consumption °°		10.5±0.9	10.7±0.9	5.0	4.6	11.2±1.8	6.8	5.7▲

\*: %    \*\*: mmHg    \*\*\*: Oxygen ml/dl    °: ml/min/kg    °°: O<sub>2</sub>ml/min/kg    ▲: 5Hrs.

るといわれている。われわれの動物実験<sup>5,16,17)</sup>でも臨床例<sup>21,22)</sup>でもそれによると思われる症状を経験しなかったが、注意しなければならないと考えている。

一方、PFC 乳剤の炭酸ガス運搬能の低さは、全血交換動物で調節呼吸すれば PCO<sub>2</sub> が上昇すると報告され<sup>24)</sup>、われわれもサルの一部の実験で経験しているが、いずれも過呼吸を行えば消失する程度のものであり<sup>16)</sup>、臨床例のようにある程度以上の赤血球があり carbonic anhydrase が十分に存在すれば組織の産生する炭酸ガスは血漿中への化学的溶解でも十分に処理可能である<sup>13)</sup>。したがって、臨床的には全血交換でない限り、PFC 乳剤の炭酸ガス溶解能の低さは問題にならないと思われる。

3) 粒子径の測定と乳化法の改良

われわれは研究の最初より PFC 乳剤の有効性の証明と平行して乳剤の開発、改良に着手した。しかし、初期には疎水性で比重 1.8 前後の液体である PFC を血管内に入れて作用させるためには、毛細血管を通過する大きさにしなければならないことは分かっているが、乳化法は超音波のみであったし、安全な粒子径の決定を行おうとしても、粒子径の測定法も分からなかった。幸い、1970年よりわれわれ神戸大学第一外科とミドリ十字中央研究所の共同研究が始まり、PFC の乳化法に脂肪乳剤作成の高圧プレス法が応用できるようになった。

一方、粒子径は光顕下での赤血球直径との比較あるいはミリポアフィルターの通過

状態より推測していたが、正確な粒子径が分かるようになったのは、われわれがガスクロマトグラフィーで PFC の定量ができるようになり、それと遠心沈降法の原理を組み合わせることで粒子径分布を定量できるようになったからである<sup>10)</sup>。

この乳化法と粒子径分布測定法の確立により、粒子径の大きさが急性副作用や血中滞留時間に関係することが分かり (図 1)、平均粒子径が 0.1 μ

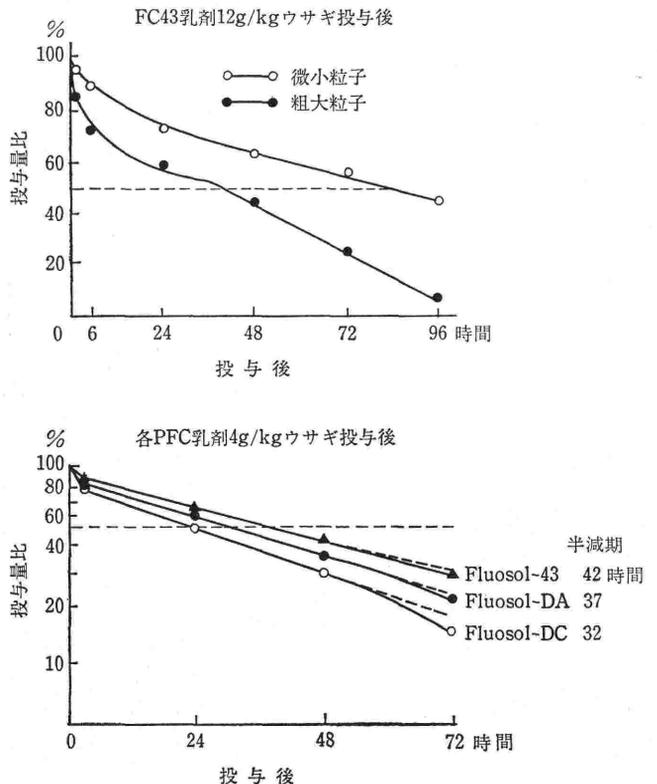


図 1. PFC 乳剤の血中半減期

クロン前後で最大でも 0.4 ミクロン以下ならばほとんど副作用のないことが証明できるようになったので、この2つの研究成果が以後の人工血液開発の基盤となったといえよう。

さらに PFC 乳剤開発の歴史を乳剤粒子径の観点よりみれば、初期の乳剤は超音波処理で平均粒子径が 1 ミクロン以上であり、ときに赤血球より大きな粒子が少数混在し、それが栓塞をきたし、急性毒性が強い原因となった<sup>8)</sup>。

また高圧プレス法導入後も界面活性剤との相関において乳化しやすい PFC と、乳化しにくいものが存在し、後述の体外排泄性ではもっともよい素材と思われる perfluorodecalin (FDC) は乳化性と粒子の安定性の点で多くの難問があった。すなわち、乳化直後の FDC 乳剤は粒子径が小さく毒性もほとんどないが、少し時間が経つと粒子径が大きくなり毒性も強くなった<sup>23)</sup>。しかし、この FDC 乳化の問題は PFC の相互溶解性を利用し、もっとも排泄性のよい FDC と比較的排泄性のよい perfluorotripropylamine (FTPA) を 7 : 3 の割合で混ぜ、2つの界面活性剤を使えば安定な、しかも排泄性のよい乳剤ができることが分かった<sup>23)</sup>。したがって、現在の乳剤は毒性のほとんどない安定した乳剤であるが、長期間安定した粒子径を保つためには冷凍保存しなければならず、将来 PFC 素材や界面活性剤の開発・改良も必要と思われる。

4) 体外排泄と体内蓄積性

PFC は化学的にも生物学的にも不活性な物質ではあるが、生体にとっては異物であるので、PFC 乳剤研究の最初から体内蓄積性は問題になっていた。

Perfluorotriethylamine (FC 43) の乳剤はクラークら<sup>1)</sup>やガイヤーら<sup>3)</sup>も使い、非常に安定した乳剤であるが、体内からの排泄が非常に遅いことが病理所見より想像されていた。しかし、当時は PFC の体外排泄機構が不明であるだけでなく PFC の体内蓄積量の定量法すら分からなかった。

まず体内に蓄積した PFC を定量的に測定できるようにすることが研究の第一歩であったが、これは組織の homogenate から PFC を trichlorotrifluoroethane で抽出し、別の PFC を internal standard に用いガスクロで定量することで解決

した<sup>8, 23)</sup>。

血管内に注射された PFC 乳剤がどのようにして体外に排泄されるかについては、今も不詳な点は残っているが、PFC の相互溶解性とガスクロによる定量法が明らかになった時点で、呼気中排泄が大部分であることが分かった<sup>8)</sup>。また投与前の PFC 乳剤と臓器内の PFC と呼気中に排泄された PFC をマススペクトログラフィーで測定し、PFC は体内で全く代謝されずに排泄されることも明らかにした<sup>23)</sup>。この PFC の非代謝性は臓器や呼気に遊離フッ素イオンの増加しないことでも確認された。さらに病理学的には投与された PFC 粒子は全身の網内系細胞に取り込まれるが、とくに肝の Kupffer や脾の macrophage に多く、一部は肝細胞にも取り込まれ phagolysosome の形になるとともに bile canaliculi を通じて胆汁中へも排泄されうること、網内系とくに macrophage に取り込まれた PFC は macrophage がこわれたときに血中に排泄され monocyte に食食され肺へ運ばれ、肺胞腔へ排泄される可能性が考えられることなどが明らかになった<sup>23)</sup>。

つぎに PFC 乳剤開発、改良の観点より、PFC 乳剤の体外排泄性、いいかえれば体内蓄積性を検討すると、呼気中排泄は PFC の蒸気圧に大きく左右されるが、perfluorobutyltetrahydrofuran (FX80) のようにあまり蒸気圧が高すぎると逆に肺胞そのものを破壊し、すぐに呼気排泄は障害されること、肺に障害を与えることなく可及的速や

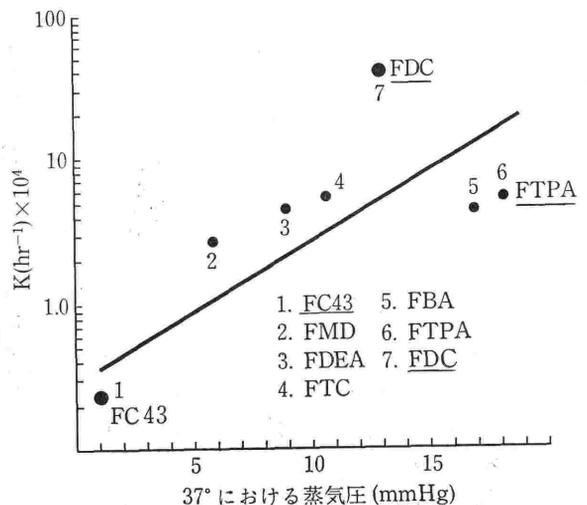


図 2. PFC の蒸気圧と呼気中排泄率

表 2. Expiratory elimination rate constant, K, and calculated half-life in bodies of rats given 4g of PFCs per kg body weight and vapor pressures at 37°C

PFC	Vapor pressure at 37°C	K	Half life
FC-43	1.14 mmHg	$0.32 \times 10^{-4} \text{hr}^{-1}$	895.2 days
FMD	4.8	$2.65 \times 10^{-4}$	190.0
FDEA	8.7	$4.63 \times 10^{-4}$	62.4
FTC	9.9	$7.55 \times 10^{-4}$	38.2
FDC	12.7	$40.30 \times 10^{-4}$	7.2
<i>cis</i> -isomer	10.1	$47.9 \times 10^{-4}$	6.0
<i>trans</i> -isomer	11.6	$37.65 \times 10^{-4}$	7.7
FBA	16.0	$3.90 \times 10^{-4}$	74.0
ETPA	18.5	$4.46 \times 10^{-4}$	64.7

かに排泄されるためには蒸気圧が 10~15 mmHg 程度であることなどが、しだいに明らかになってきた(図 2)。すなわち、ラット体重 kg あたり 4g PFC を投与したときの体内半減期をみると、蒸気圧 1.14 と低い FC 43 は約 900 日であるのに反し、蒸気圧 12.7 の FDC のそれは約 7 日であった<sup>23)</sup>(表 2)。以上のような研究より FDC を乳剤の主成分に決定したが、前述のように乳化性に問題があることより、排泄性の劣る FTPA との混合乳剤となったので、今後も乳剤の改善、改良のためには体外排泄性のよい PFC の検索が必要と思われる。

### 5) PFC 乳剤投与後の形態学的変化

PFC 乳剤投与後の形態学的変化の検討は、研究初期には投与された PFC 粒子の生体内での消息を知る唯一の手段であり、ガスクロによる量的追跡ができるようになった現在でも、PFC 粒子の細胞内での動向や生体への病理学的影響を知るうえでは不可欠の手段である。

PFC 乳剤投与後は PFC の種類にかかわらず全

身の網内系細胞、とくに肝と脾に多くの foam cell が出現する(図 3, 4)。この foam cell の vesicle は脂肪染色や他の染色法で全く染まらず、acid phosphatase で周囲の膜が染まること、電顕所見で一部は phagolysosome の形でみられることなどより、投与された PFC 粒子そのものであることが同定できた<sup>10)</sup>。したがって、PFC 投与後には数日目をピークにして foam cell が多数出現し、その程度は PFC の体内蓄積程度に比例し、排泄の悪い初期の PFC 乳剤、あるいは現在の乳剤でも大量に投与した場合は foam cell が非常に多くなり、またその期間も体外排泄性の悪い乳剤のときは長く続いた<sup>10, 15, 23)</sup>。

また、これらの変化を電顕で観察すると、PFC を取り込んだ細胞でも organelle は全く正常であり(図 5)、PFC 投与後の病理学的変化は PFC の不活性のためにあまり問題にならないと思われた。さらに細胞内に取り込まれた PFC 粒子は phagolysosome の形になり限界膜を与えられて再び reverse pinocytosis の形で細胞外へ出されて

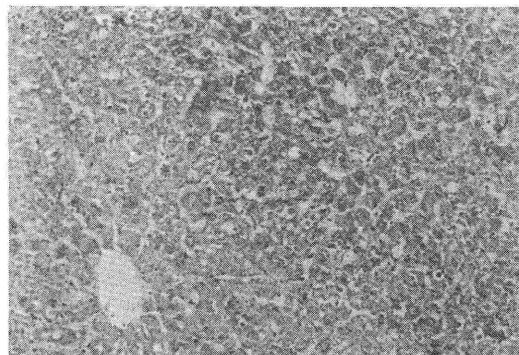


図 3.

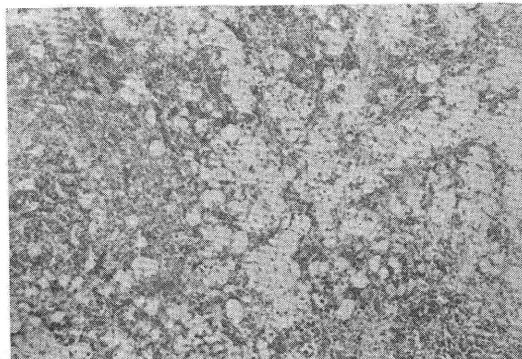


図 4.

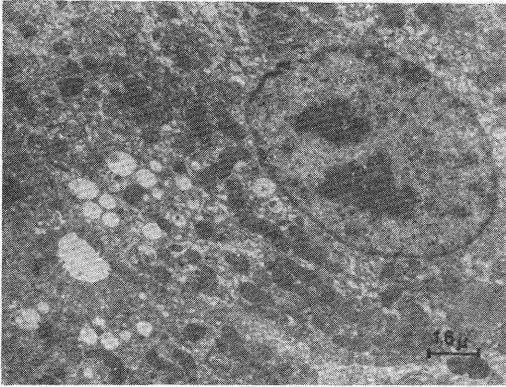


図 5.

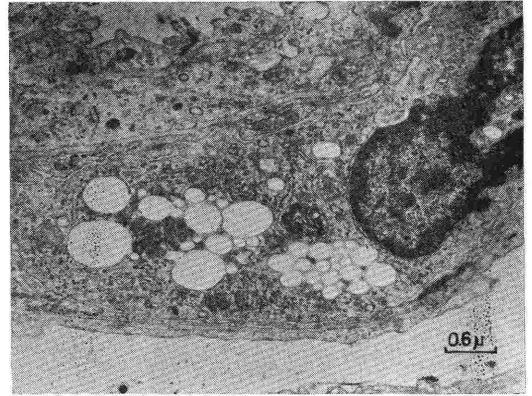


図 6.

血管内へ入ると思われた<sup>10,25)</sup>。

一方、PFC 乳剤投与後の体外排泄性という観点から形態学的変化を検討すると、その主変化は前項で述べたように macrophage と思われる。肝における Kupffer とともに各組織内の macrophage、とくに脾における macrophage は積極的に PFC 粒子を取り込み、限界膜を与えとともに自身はやがて壊れ、PFC を血中に放り出す。そしてその一部を血中の monocyte が貪食し、肺へ流れてゆき、そこで肺胞腔へ PFC を排出していると考えられる(図 6)。また、このような macrophage 系の変化を呈する臓器ではその実質細胞の変性や壊死、間質の細胞浸潤や線維化、あるいは組織構築の変化等の所見はとくにみられず、経時的にもそのような組織学所見はみられなかった<sup>25)</sup>。

したがって形態学的には生物学的に不活性な PFC 粒子が細胞内に取り込まれて foam cell の形になるだけで、他の細胞構築にも変化は生じないと考えられるが、foam cell の出現そのものが何らかの問題を提するとするならば、可及的排泄性のよいもの、すなわち、体内蓄積性の少ない PFC 粒子の開発、改良を絶えず考慮すべきであり、それまでのあいだは現在の PFC 乳剤であっても組織学的変化の軽度でしかも速く正常に復する 30 ml/kg 以内の投与量にとどめるべきであると思われる。

#### 6) 網内系への影響

PFC 乳剤投与後の網内系機能の変化については本シリーズの別論文で詳細に報告<sup>26)</sup>するので、乳剤開発、改良の研究の歴史においても大きな問題ではあったが、以下簡単に述べる。

初期はコンゴレッド法で検討したが、FC 43 乳剤 10 ml/kg 投与後 24 時間で、粒子径が粗大な乳剤の場合は 25%、微小の乳剤の場合は 5% の抑制がみられたが、FC 43 乳剤が少量の場合は 72 時間でほとんど正常に復していた。しかし、FC 43 乳剤は微小な粒子径であっても、20 ml/kg 以上で数回の連続投与や、中等量以上を 1 回で投与すると、網内系機能が正常に回復するのに約 1 ヶ月を要した<sup>8)</sup>。

また、ヒツジ赤血球に対する抗体産生能を検討しても、FC 43 乳剤の場合は少量投与で約 10 日間の一過性で軽度の抑制がみられた<sup>8)</sup>。

一方、臨床応用されている Fluosol DA を用い網内系機能と抗体産生能をそれらと投与量の関係より検討した。

まず、網内系機能と墨粒クレアラレス法で、Fluosol DA を 5, 10, 20, 40, 60 ml/kg 投与で検討すると、5 ml/kg 群は生食群と同様全く変化しなかったが、他は投与 1 時間後は 10~20% の抑制があり、その後は投与量の少ない順に速く正常に回復し、ついで機能亢進がみられた。すなわち、24 時間後には 10 ml/kg は正常にもどり、20 ml/kg ではむしろ 11.5% と亢進し、40 と 60 ml/kg 群が 20% 程度の抑制が続いた。72 時間後は 20 ml/kg では 160% と亢進し、40 ml/kg でも 132% になり、60 ml/kg で正常になっていた。1 週後では 20 ml/kg は 210% になり、40 ml/kg は 158%、60 ml/kg は 107% に亢進し、2 週後では 20 ml/kg は正常にもどったが、40 ml/kg はまだ 132%、60 ml/kg は 126% であった。

組織学的に carbon 粒子を調べると、網内系貪

食能の抑制時には、PFC を取り込んだためにもはや carbon 粒子を取り込まない Kupffer もみられたが、機能亢進時にはすでに PFC 粒子を取り込んでいた Kupffer 細胞も carbon 粒子を取り込んでいた。

またエンドトキシン投与による生存率より検討すると、Fluosol DA 投与24時間後においては20、40および 60ml/kg 投与で生食群より低い生存率となったが、72時間後では20および 40ml/kg は完全に回復した。しかし 60ml/kg 投与群は2週後にも完全には回復しなかった。

つぎに抗体産生能を胸腺依存性抗原としてヒツジ赤血球、胸腺非依存性抗原として *E. coli* lipopolysaccharide をラットに免疫し、ラット脾臓中の plaque foaming cell 数および血清中の赤血球凝集価より検討した。Fluosol DA は免疫後に投与すると抗体産生増強作用が、免疫前に投与すると抗体産生遅延作用が認められるが、これらの作用は 10ml/kg では認められず、20ml/kg 以上の投与量で認められた。

したがって、Fluosol DA 投与量と網内系や免疫能の関係をみれば、10ml/kg は全く影響が出ず、20ml/kg では軽度でしかもごく短時間の抑制が、40ml/kg では軽度だが数日間の抑制が、60ml/kg では中等度でしかも1週間以上の抑制があり、40 ml/kg までは安全と思われるが、20ml/kg にとどめておけば無難であろう。

### 7) PFC 乳剤のその他の生体への影響

研究初期に PFC 乳剤をイヌに注射すると、その直後にショックが生ずるので<sup>6,8-10)</sup>、PFC 乳剤は人工血液としては不相当といわれてきた。われわれはこのショック時にはヒスタミンや、コーチゾール、セロトニンなどが上昇すること、乳剤の界面活性剤を Pluronic F 68 からレンチンに代えるか、抗ヒスタミン剤を前投与しておけば予防できること、イヌでは生ずるが他の動物では生じないという動物種差のあることなどを明らかにした<sup>10)</sup>。さらに現在の Fluosol DA も界面活性剤に Pluronic F 68 も使用しているが、自発志願者による第1相試験はもとより第2、第3相試験でも血圧降下は生じていないので、人工血液として使用するのに支障にはならないと思われる<sup>18-22)</sup>。しかし現在の第3相試験で非出血時に PFC 乳剤を投与

すると、投与後数分間に白血球や血小板の一過性減少を認めているので、患者にとっては短時間しかも一過性の変化で副作用とはならないかも知れないが、何らかの反応が生じているのであり、今後とも検討しなければならない問題と思われる。

つぎに、PFC 乳剤投与後骨髄機能の変化をみると、FC 43 乳剤のように体外排泄性の悪いときは骨髄機能の抑制もみられたが、Fluosol DA になってからは 50ml/kg 以上の大量投与にならない限り、骨髄機能は全く抑制されていなかった<sup>23)</sup>。

最後に副作用として問題になるのは催奇形性と発癌性であると思われる。臨床応用する限り、この問題の長期にわたる完全な否定が必要であるが、現時点では考えられるスクリーニングテストはほぼ合格した<sup>23)</sup>。すなわち、骨髄細胞の染色体異常出現率は生食とほぼ同じであった<sup>10)</sup>。また妊娠ラットに連続投与しても奇形児は生まれず、PFC 乳剤静注によってマウスの腹腔内に入れられた細菌の培養に突然変異はみられなかった<sup>23)</sup> (表3)。

したがって、Fluosol DA は臨床問題になるような副作用はほとんど有せず、投与量を 30ml/kg 前後以内に守れば、安全な乳剤といえると思われる。しかし、発癌性や催奇形性の問題は長期観察が必要であり常に念頭に置き、当分のあいだは絶対適応例のみで症例を重ねるべきであろう。

### 8) おわりに

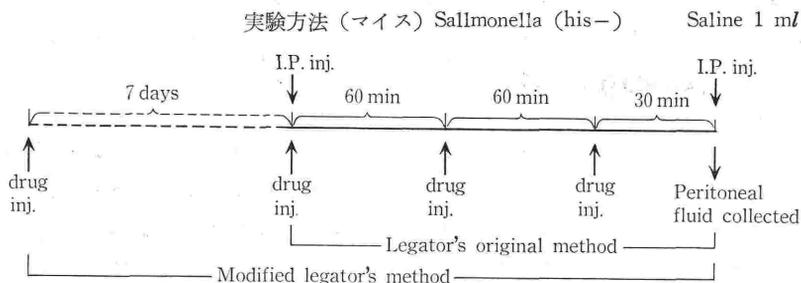
人工血液としての PFC 乳剤開発の歴史を各項目別に分け、それらの各時点における問題点と現在の乳剤の限界について述べた。

PFC 乳剤は吸入酸素濃度を上げれば全血交換でも動物を生存させることは可能であり、血液ガス運搬体としては有効であるが、炭酸ガス運搬能はあまり大きくない。また臨床例においても PFC 乳剤作動中は  $\text{FiO}_2$  を 0.5~0.6 に保っているので、長期にわたる場合は肺機能に注意しなければならない。

現在の PFC 乳剤の粒子径は臨床的に満足できるが、保存には $-20^{\circ}\text{C}$ 前後の低温が必要であり、手軽さという点では問題がある。

PFC の体外排泄と蓄積は乳剤開発の歴史のなかで最大の問題点であり、現在の乳剤は一応臨床応用も可能となったが、大量に使用する場合は未だ体外排泄性が問題であり、40ml/kg までは安全

表 3. 宿主経由法による PFC 乳剤発癌性試験



original method (Effect of chemicals on mutant frequency of S. typhimurium G-46 (his-) in mice) Mouse used: ddy strain 20g

Drugs or chemicals	Dose ml/kg × 3	Mutant cells	Total cells	Mutant frequency (MF)	MFt/MFc*	Results**
Fluosol-DA (20%)	20	74	1,200 × 10 <sup>8</sup>	6.2 × 10 <sup>-8</sup>	1.4	-
Pluronic F68 (10.5%)	20	99	1,600 × 10 <sup>8</sup>	6.2 × 10 <sup>-8</sup>	1.4	-
Yolk phospholipid (10%)	20	93	2,000 × 10 <sup>8</sup>	4.7 × 10 <sup>-8</sup>	1.0	-
DMNA (10%)	2	240 × 10 <sup>1</sup>	1,300 × 10 <sup>8</sup>	1.8 × 10 <sup>-6</sup>	40.0	+
NNG (10%)	2	1,600 × 10 <sup>1</sup>	3,800 × 10 <sup>8</sup>	4.2 × 10 <sup>-5</sup>	933.3	+
Saline	20	74	1.6 × 10 <sup>9</sup>	4.5 × 10 <sup>-8</sup>	/	/

\* MFt: Mutant frequency in treated mice  
 MFc: Mutant frequency in saline control mice

\*\* (-) No significant increase in mutant frequency  
 (+) More than 10-fold increase

modified method

Drugs or chemicals	Dose ml/kg × 4	Mutant frequency (MF)	MFt/MFc	Results*
Fluosol-DA (20%)	20	5.2 × 10 <sup>-8</sup>	1.11	-
Pluronic F68 (10.5%)	20	6.3 × 10 <sup>-8</sup>	1.34	-
Yolk phospholipid (10%)	20	4.9 × 10 <sup>-8</sup>	1.04	-
DNMA (10%)	2	1.54 × 10 <sup>-6</sup>	32.7	+
NNG (10%)	2	4.5 × 10 <sup>-5</sup>	957.4	+
Saline	20	4.7 × 10 <sup>-8</sup>	/	/

\* (-) No significant increase in mutant frequency  
 (+) More than 10-fold increase

域と思われるが、可能なら20ml/kg以下であることが望ましい。

催奇形性や発癌性も含めた副作用についても一応はないと考えられるまで、動物実験や臨床試験は終了しているが、なお安全を期して絶対適応にのみ投与されているのが現状である。

1755, 1966.  
 2) Sloviter, H. A. and Kamimoto, T. : *Nature* **216**: 458, 1967.  
 3) Geyer, R. P. *et al.* : *Organ Perfusion and Preservation*, Appleton, Century-Crofts, New York, p. 85, 1968.  
 4) Sloviter, H. A. *et al.* : *J. Appl. Physiol.* **27**: 666, 1969.  
 5) 光野孝雄ほか : 医学のあゆみ **75**: 637, 1970.  
 6) 大柳治正ほか : 外科 **33**: 1085, 1971.  
 7) Sekita, M. : *Jap J. Surg.* **3**: 184, 1973.  
 8) 大柳治正ほか : 呼と循 **22**: 200, **22**: 380, **22**: 468, 1974.  
 9) 大柳治正ほか : 医学のあゆみ **93**: 569, 1975.

文献

1) Clark, L. C. Jr. and Gollan, F. : *Science* **152**:

- 10) Ohyanagi, H. and Mitsuno, T. : Proc. Xth International Congr. Nutritum Symposium on PFC Artificial Blood, Kyoto, p.21, 1975.
- 11) Yokoyama, K. *et al.* : *Fed. Proc.* **43** : 1478, 1975.
- 12) 光野孝雄 : 外科治療 **34** : 75, 1976.
- 13) Ohyanagi, H. *et al.* : *Artif. Organ* **2** (Suppl.) : p. 90, 97, 1978.
- 14) 光野孝雄 : 治療 **60** : 109, 1978.
- 15) 光野孝雄, 大柳治正 : 医学のあゆみ **105** : 553, 1978.
- 16) Ohyanagi, H. *et al.* : Proc. Nth International Symposium on Perfluorochemical Blood Substitutes, Kyoto, Japan, Excerpta Medica, Amsterdam, p. 373, 1978.
- 17) 大柳治正ほか : 医学のあゆみ **110** : 453, 1979.
- 18) Ohyanagi, H. *et al.* : *Clin. Therap.* **2** : 306, 1979.
- 19) 大柳治正ほか : 日本臨床 **38** : 1966, 1980.
- 20) 大柳治正, 齊藤洋一 : 治療学 **5** : 519, 1980.
- 21) 大柳治正ほか : 医学のあゆみ. **115** : 943, 1981.
- 22) Mitsuno, T. *et al.* : *Ann. Surg.* (in press).
- 23) Fluosol DA : Technical Information Ser. No. 6, Green Cross, 1980.
- 24) 小杉 功ほか : 麻酔 **25** : 293, 1976.
- 25) 釜江省吾 : 神大医紀要 **40** : 105, 1979.
- 26) 大柳治正ほか : 循環制御 (印刷中).