

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09170

研究課題名(和文)呼吸器外科手術への人工酸素運搬体ヘモアクトの応用

研究課題名(英文)Study on application of artificial oxygen carriers to thoracic surgery

研究代表者

河野 光智 (Kohno, Mitsutomo)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：10276272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：人工酸素運搬体として開発されたヘモアクトは約8nmと小さく、赤血球の1/1000ほどで、狭窄した毛細血管にも入り込んで酸素を運ぶことができる。ラットの出血性ショックモデルで(ヘモグロビン-アルブミン)クラスター(ヘモアクトHb-HSA3)溶液を投与することで蘇生を行った。Hb-HSA3群と返血群では6時間後まで全例が生じたのに対し、乳酸リンゲル液RL群は4時間以内に全例が死亡した。平均動脈血はHb-HSA3溶液投与により初期値まで回復した。蘇生7日後までの観察で一般状態に異常は認められず、全例が生じた。臓器への影響は一次的で、Hb-HSA3の赤血球代替物としての有効性が実証された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヘモグロビン分子に3個のヒト血清アルブミンを結合した構造の(ヘモグロビン-アルブミン)クラスター(製剤名：ヘモアクト)は人工酸素運搬体(人工赤血球)として開発された。ヘモグロビンとアルブミンの性質を併せ持ち、長期保存が可能で、血液型に関係なく使用でき、感染症のおそれもない。救急現場での出血性ショックに対する臨床応用が期待されるほか、待機的手術での大量出血に対する使用が見込まれる。ラットの出血性ショックモデルにおいて、ヘモアクト投与の安全性と有効性が確認された。また、肺切除或いは肺移植実験ではスワンガンツカテーテルを用い、循環動態、血液や組織の酸素化、酸素運搬の詳細な解析を行うモデルを確立した。

研究成果の概要(英文)：Hemoglobin-albumin cluster designated as HemoAct is an artificial oxygen carrier, Hemoact has small diameter (about 8 nm), and can perfuses narrowed capillaries and carry oxygen. Resuscitation was performed in a rat hemorrhagic shock model by administering HemoAct (Hb-HSA3) solution; all rats in the Hb-HSA3 and red blood cell groups survived until 6 h, whereas all rats in the lactate Ringer's solution group died within 4 h. Mean arterial blood recovered to initial values after administration of Hb-HSA3 solution. No abnormalities in general condition were observed up to 7 days after resuscitation and all rats survived. The effects on organs were temporally, and the effectiveness of administration of Hb-HSA3 as a red blood cell substitute was demonstrated.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：人工赤血球 出血性ショック 肺切除 肺移植

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本赤十字社の推計によると 2027 年には年間献血者約 85 万人の輸血液が不足すると予想されている。少子高齢化に伴う献血者層人口の減少や、赤血球製剤の短い保存期限が原因とされており、安全で長期間保存可能な人工酸素運搬体(人工赤血球)の実用化が強く望まれている。人工血液開発の歴史は古く、1970 年代末にはパーフルオロカーボン乳剤が注目を集め、1980 年代になるとヘモグロビンを用いた、いわゆる修飾ヘモグロビン製剤が研究の主流となった。米国では第三相臨床試験まで進むものがあったが、副作用(血圧上昇)や有効性に問題があり、実用化には至っていない。長年、人工赤血球の開発に携わる中央大学理工学部応用科学科 小松晃之教授は血液中に存在するアルブミンをヘモグロビンに結合させれば安全性の高い人工酸素運搬体ができるのではと考え、ヘモグロビンのまわりに 3 個のアルブミンを結合したコア - シェル型の(ヘモグロビン - アルブミン)クラスターを開発し、2013 年に発表した(Tomita D, Biomacromolecules. 2013)。ヘモグロビンとアルブミンがぶどうの房(クラスター)のようにつながっている形をしており、この製剤をヘモアクト(HemoAct)と名付けた(図 1)。

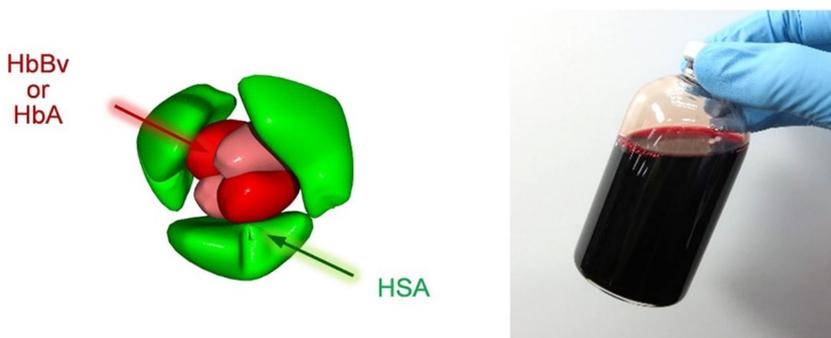


図1

研究代表者らとチームを組んで、人工赤血球としての評価を行い、ヘモアクトの表面はアルブミンで覆われているため、生体はこれを安全な物質として認識すること、実際にヘモアクトをラットに投与すると、血中滞留時間は長く、副作用もないことを確認した(Haruki H. Sci Rep. 2015)。ヘモアクトの大きさは約 8nm と小さく、赤血球(8 $\mu$ m)の 1/1000 ほどで、血管が詰まった部位にも入り込んで酸素を運ぶことができる。また、ヘモアクト溶液は血液型がなく、長期間保存が可能、凍結乾燥粉末として保管することも可能で、既存製剤で指摘されている欠点を一切持たない新しい人工赤血球である。輸血の頻度が高い手術中の大量出血に対しても、将来、人工酸素運搬体を投与することが見込まれるが、このような人工酸素運搬体の投与が有効か、術後の回復へ悪影響を与えるか否かに関しては検討が行われていない。

### 2. 研究の目的

動物モデルを用い、外科手術時の大量出血に対するヘモアクト投与の即時効果と、長期的な回復過程や創傷治癒への影響の検証を行い、将来の第 Ⅲ 相試験に必要なデータを収集する。肺切除術だけではなく、肺移植や気管移植などの臓器移植モデルでの検証もを行い、外科手術をより安全に行う手段として人工赤血球を使用するために必要な実験も行う。肺移植においては虚血後再灌流障害により肺泡毛細血管径の減少や機能的肺毛細血管密度の減少が生じていることが知られている。細く収縮した毛細血管では、酸素交換が不良となり、血流シャントも生じ、移植肺グラフト不全を悪化させる一因になると考えられている。そこで研究代表者らは、粒子径が赤血球よりも小さいヘモアクトを投与することにより、肺移植後のグラフト不全を予防できるのではな

いかと考えている。

### 3. 研究の方法

#### (1) 周術期出血モデル

ラット或いはマウスを麻酔後、頸動脈にカテーテルを挿入し、循環血液量の 40% を脱血する。人工呼吸器管理下に輸血、輸液を替え(1)Lactate Ringer 群、(2) 保存血液群、(3) ヘモアクト群を作成する。ラットを用いた急性期実験では循環動態の解析、血液ガス分析を行い、ヘモアクトの有効性や安全性を評価する。小動物での検討結果を得た後、より臨床に近いイヌを用いた肺切除周術期出血モデルでの検討を行う。スワンガンツカテーテルを用い、より詳細な循環動態の解析、酸素消費に関するデータを解析する。

#### (2) 肺切除、肺移植モデル

イヌに全身麻酔をかけ、人工呼吸器管理下に左開胸し、イヌ肺切除或いは肺移植モデルでは大腿動脈カテーテル、Swan-Ganz カテーテル、左房カテーテルを挿入し、肺動脈圧、肺血管抵抗、動脈血酸素分圧等を測定するモデルを作成する。

### 4. 研究成果

人工酸素運搬体として開発されたヘモアクトは約 8nm と小さく、赤血球の 1/1000 ほどで、狭窄した毛細血管にも入り込んで酸素を運ぶことができる。血液型がなく、長期間保存が可能で、既存製品で指摘されている欠点を一切持たない新しい人工赤血球である。ラットの出血性ショックモデルで(ヘモグロビン アルブミン) クラスター(ヘモアクト Hb-HSA3) 溶液を投与することで蘇生を行った。Hb-HSA3 群と返血群では 6 時間後まで全例が生存したのに対し、乳酸リンゲル液 RL 群は 4 時間以内に全例が死亡した。平均動脈血は Hb-HSA3 溶液投与により初期値まで回復した(図 2)。

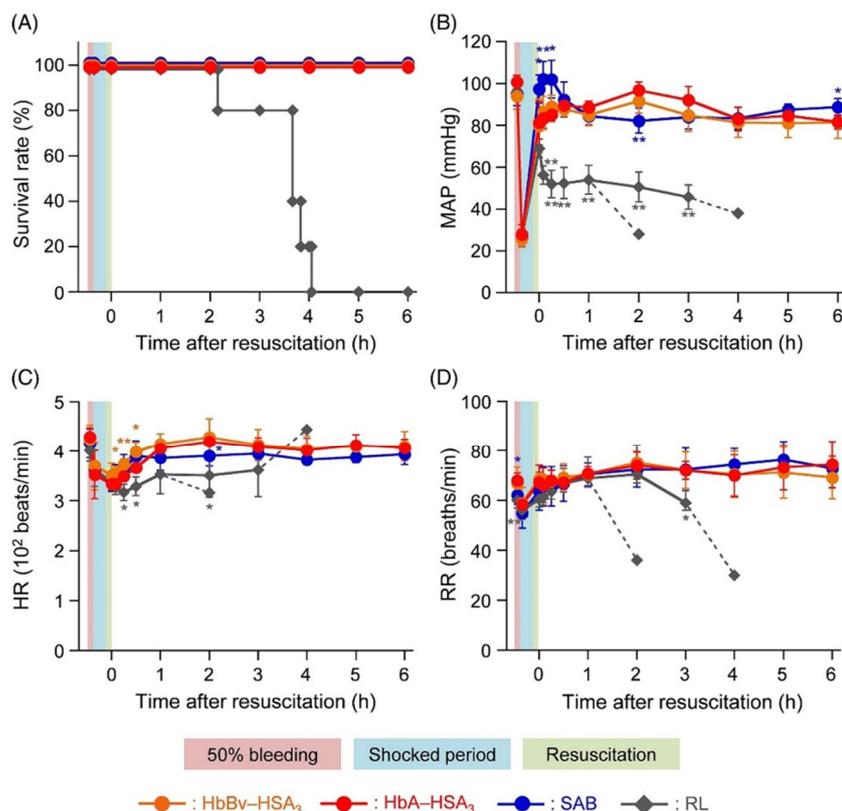


図2

血液ガス分析では Hb-HSA3 群と返血群では同等の成績であった (図 3)。肝機能への影響が一時的であることを証明するために Hb-HSA 溶液投与による蘇生 7 日後まで観察した。一般状態に異常は認められず、全例が生じた。AST、ALT は初期値と同程度まで低下した。病理検査では形態変化は認められなかった。臓器への影響は一次的であった。

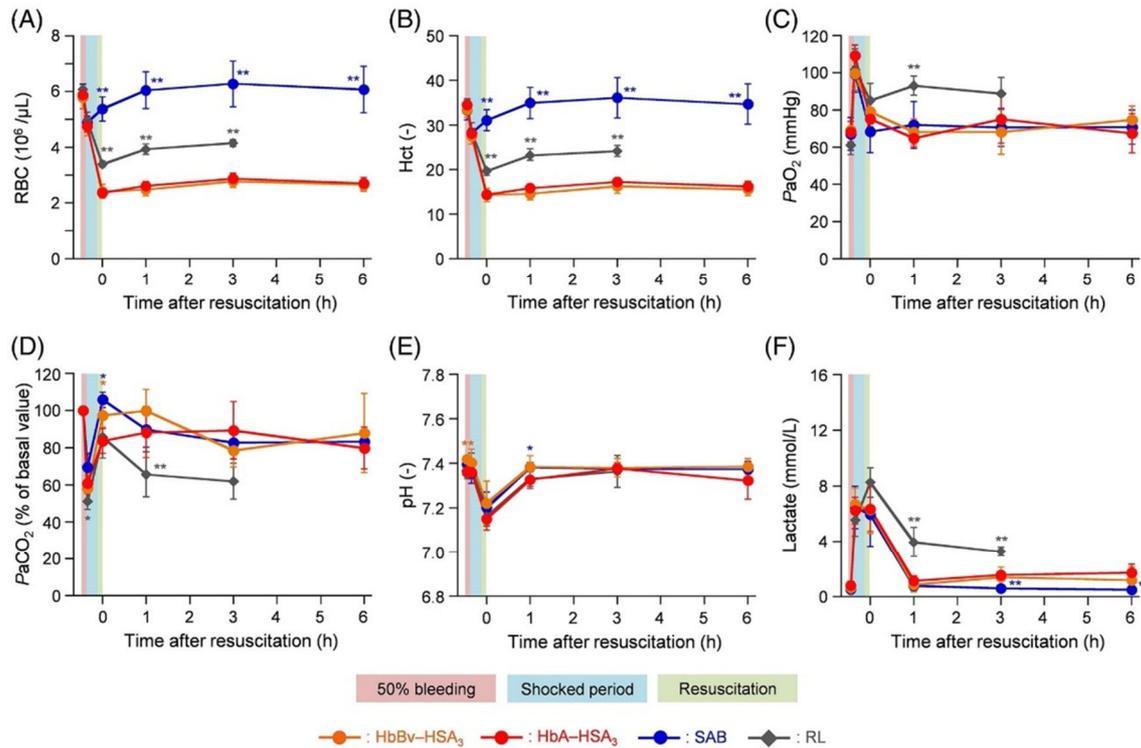


図3

以上より、Hb-HSA3 の赤血球代替物としての有効性が実証された。イヌ自家肺葉移植を行い、同時に出血性ショックを生じさせ、その後の呼吸循環動態を解析するモデルを作成した。ビーグル犬に人工呼吸器管理のもと、手術を行う。右大腿動脈ラインで血圧を持続的に計測し、右大腿静脈からはスワンガンツカテーテルを挿入し心拍出量を計測する。肋間開胸して左肺全摘術を行う。同時に循環血液量の 30% (250ml) の血液を動脈ラインから脱血し、その後輸液を行う。摘出した肺の上葉部分は切除し、下葉気管支を主気管支に、下肺静脈 カフを上肺静脈根部の左房に、下葉肺動脈を主肺動脈にそれぞれ吻合して左肺下葉を自家移植する。左肺全摘及び 30%脱血後に平均血圧は加刀前の 25%までに低下し、ショック状態となった。その後、5%アルブミンの等量投与で血圧は上昇し、グラフト再灌流開始直後から 5 時間後までデータを取ることが可能であった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okamoto Wataru, Hasegawa Mai, Usui Tomone, Kashima Tomonori, Sakata Sho, Hamano Tatsuhiko, Onozawa Hiroto, Hashimoto Ryo, Iwazaki Masayuki, Kohno Mitsutomo, Komatsu Teruyuki	4. 巻 110
2. 論文標題 Hemoglobin-albumin clusters as an artificial O2 carrier: Physicochemical properties and resuscitation from hemorrhagic shock in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 1827 ~ 1838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.35040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Okamoto Wataru, Hasegawa Mai, Kohyama Natsumi, Kobayashi Tatsuhiro, Usui Tomone, Onozawa Hiroto, Hashimoto Ryo, Iwazaki Masayuki, Kohno Mitsutomo, Georgieva Radostina, Baumler Hans, Komatsu Teruyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Core-Shell Structured Hemoglobin Nanoparticles as Artificial O2 Carriers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 5844 ~ 5853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbm.2c00813	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okamoto Wataru, Usui Tomone, Hasegawa Mai, Kobayashi Tatsuhiro, Fujisawa Junya, Taguchi Kazuaki, Matsumoto Kazuaki, Kohno Mitsutomo, Iwazaki Masayuki, Shimano Shotaro, Nagao Itsuma, Toyoda Hiroto, Matsumura Naoki, Tomiyasu Hirotaka, Tochinai Ryota, Komatsu Teruyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Polyoxazoline-conjugated porcine serum albumin as an artificial plasma expander for dogs	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-35999-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Okamoto Wataru, Hiwatahi Yuuki, Kobayashi Tatsuhiro, Morita Yoshitsugu, Onozawa Hiroto, Iwazaki Masayuki, Kohno Mitsutomo, Tomiyasu Hirotaka, Tochinai Ryota, Georgieva Radostina, Baumler Hans, Komatsu Teruyuki	4. 巻 6
2. 論文標題 Poly(2-ethyl-2-oxazoline)-Conjugated Hemoglobins as a Red Blood Cell Substitute	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 3330 ~ 3340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbm.3c00392	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡本航、臼井朝音、橋本諒、小野沢博登、岩崎正之、河野光智、小松晃之
2. 発表標題 ポリオキサゾリン修飾ヘモグロビン"Hemoxa"の有効性評価
3. 学会等名 第29回日本血液代替物学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本 航、長谷川舞、臼井朝音、橋本 諒、小野沢博登、岩崎正之、河野光智、小松晃之
2. 発表標題 HemoAct™の安全性・有効性評価（50%出血性ショックラットの蘇生試験）
3. 学会等名 第28回日本血液代替物学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本 航、鹿島知周、濱野辰彦、橋本 諒、小野沢博登、河野光智、岩崎正之、小松晃之
2. 発表標題 出血性ショックラットを用いたHemoActの有効性評価
3. 学会等名 第27回 日本血液代替物学会年次大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩崎 正之  (Iwazaki Masayuki)  (90223388)	東海大学・医学部・教授    (32644)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小松 晃之  (Komatsu Teruyuki)  (30298187)	中央大学・理工学部・教授    (32641)	
研究分担者	増田 良太  (Masuda Ryota)  (10408057)	東海大学・医学部・教授    (32644)	
研究分担者	生駒 陽一郎  (Ikoma Yoichiro)  (40631792)	東海大学・医学部・講師    (32644)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関