

人工赤血球に関する研究

1. 被膜微細粒子の試作について

東京女子医科大学第一生理学教室 (主任 簗島 高教授)

教授 簗島 高・小田 輝 子
ミノ シマ タカシ オダ ヒテル コ

(受付 昭和 35 年 10 月 27 日)

I 緒言

出血、ショック等に際して各種血液代用物を輸血して生命の保全をはかることは、現在殆んど何らの危険もなく行われ、多少の欠点をもちながらも全血輸血が最も優れていることについては異論がないのであるが、輸血における多少の欠点を指摘すれば、保存期間の問題、供給量とこれにともなう経費の問題、血液型及び Rh 因子の問題、更に伝染病の感染の可能性等があげられる。このような種々の欠点を補い、かつ血液のもつ利点を有する補給液を得たいものとの目的で研究されているのが著者らのいう人工血液であり、その成分および調製法に関しては簗島¹⁾が詳細に報告している。

こゝで諸種の代用液の中で全血輸血に比べはるかに及ばない点は、周知のようにヘモグロビンのもつ酸素運搬作用である。

簗島はこの酸素補給力をヘモグロビンの Fe⁺⁺ の代りに Co⁺⁺ を中心金属イオンとするコバルトキレート化合物²⁾のうちのコバルト・ヒスチジン²⁾で代行しようと人工血液にこれを加えて研究を試み、谷内³⁾によれば anoxia に対して有効であることが認められ、その後当教室における心電図、脳波、生存時間等を指標にした動物実験でも有効であることがしられた。また小田⁴⁾の in vitro 15°C の実験においても酸素運搬の有効性と応用時の一条件がはっきりとされた。

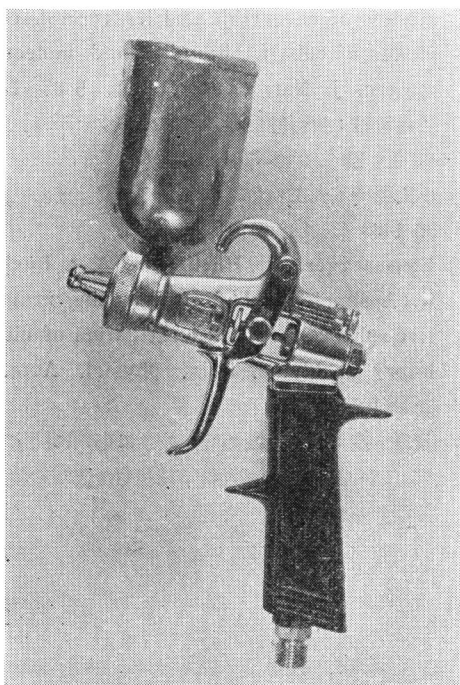
しかしこのような酸素運搬体は分子量も小さく水溶性であるためそのまま生体に用いることは排泄時間もはやく、毒性の点からもその使用量に限

度があつて赤血球代用物として充分ではない。

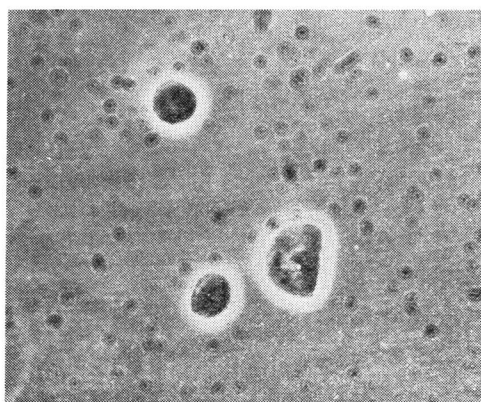
そこで著者らはこのような酸素運搬体を中核とし、それを非水溶性、ガス透過性膜で被覆した赤血球大の粒子に調製することを試み、10~100 μ 大の粒子を得たのでこゝに今後の粒子調製の一段階として報告する。

II 実験方法並びに成績

中核となるコバルト・ヒスチジン溶液は、酸素補給能の点からみると高濃度の方がよい。著者らは 1 M 塩酸ヒスチジン (C₆H₉N₃O₂·HCl·H₂O) と 0.5 M 塩化コバルト (CoCl₂·6H₂O) を等量混じり 1 N NaOH で東洋理化学 G A-S 型 pH メーターを用いて、pH を 7.7 に空気中で調製した溶液を原液とし、これに 5% の割合にグラチンを加え、岩田塗装機製 S-I 型 (口径 5 mm) のスプレーガン (第 1 図) の試料カップにとりこれを加温しつつ、約 70 Psi (pound/square inch) の圧力でエタノール (99%) 中に噴出すると直径 10~100 μ のコバルト・ヒスチジン・グラチン混和粒子が得られる。この際エタノールの容器の周囲に附着した凝塊およびエタノール中でも凝塊をなしたものは用いられない。つまりスプレーの噴射口につまるような状態のものは溶液よりとりのぞく。エタノール中に浮遊する粒子はその色調からあきらかにコバルト・ヒスチジンを含むものと考えられる。この粒子を含むエタノール溶液 3 に対しエーテル 1 を加え、これに局方コロジオンを 1% になるように加えた溶液を、さらにスプレーにて約 1.5 m の間隔をおいた水槽内に同様に 70 psi 前後の圧力で噴出すると、エタノール、エーテルが蒸発してコバルト・ヒスチジン・グラチン・コロジウムの粒子が水の表面に浮遊して得られる。この際噴射距離が近いと、圧力が弱くと膜状をなし粒子は出来ない。千代田位相差顕微鏡 R-1bp (DM) を用いてこの



第1図, S-I型スプレーガン

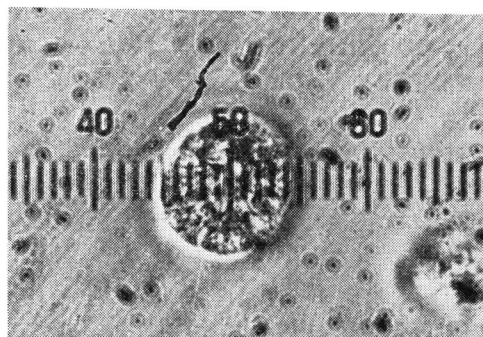


第2図 (説明本文)

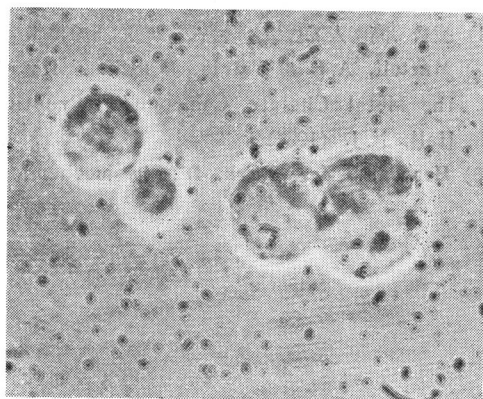
粒子を鏡検したものを第2図(拡大210倍)第3図, 第4図(何れも420倍)に示す。第3図の目盛は1目盛 2μ を示し粒子の直径は 20μ である。従つて第4図の4コの粒子のうち最小のものは約 10μ を示す。粒子の表面や, 視野中に散在する黒い点状物は封入剤として用いた水中の微生物, ごみその他の異物である。

III 考 按

微細粒子を調製することは, さきに Emmenger⁶⁾らがカルナウバワックスとリン酸モノセチールエステルとの混合物より成る直径 $1\sim 120\mu$ にわたる粒子をスプレーで調製しているのに着目し, 著者らもスプレーによる粒子の調製を試み, 初期においてはカルナウバワックスを熔融し前記スプレーから熔融状態で水中に噴出して微細粒子を得て, これを酸素運搬作用を有するコバルトキレ



第3図 (説明本文)



第4図 (説明本文)

ート化合物のうちの有機溶媒溶性の Bis- γ (Salicylidene iminopropyl) amine-cobalt⁷⁾ のトルエン溶液中に浮遊させてこれを濾紙上に拡げ, 風乾によつて溶媒を除いて得られた粒子に非水溶性, ガス透過性のポリエチレンを被覆しようとしたがその操作上, ポリエチレンを $70\sim 80^\circ\text{C}$ に熱処理するためワックスを粒子状に保つことができず, 比重の点からも不適當であり不可能であつた。

次に実験方法に記したように水溶性のコバルトヒスチジンを核に選んだのである。調製した粒子は前述したように第2図, 第3図, 第4図に示したが, 位相差鏡検のみでは明確な性状をとらえることはできず, 染色性等の点から被覆の状態についてはさらに検討されなければならない。しかしコロジオンを通す前のコバルト・ヒスチジン・グラチンの粒子と, コロジオン被覆後の粒子とを同一条件で鏡検比較すると, 図に示した粒子は前者より透明さを欠く。被膜の厚さもコロジオン液の濃度に左右されるし, 溶媒の蒸発状態も噴射距離とのかね合いがあり, これらの事項も今後各々条件づけられねばならない点である。

コロジオン膜は多くの文献によると, 一定以下の厚さにおいて O_2 , CO_2 を透過するので被覆材として適當ではあるが, 必ずしも最適とはいえず現段階ではモデル実験の範囲にとどまるものであり, 今後一連の高分子化吟

物の中からより適当な被覆材料が選ばれるならば、粒子状の酸素運搬体の調製もより一層効果的となるであろう。

また粒子の大きさを $4\sim 5\mu$ に揃えること、比重を赤血球比重 (約 1,097) に近くすること、粒子の酸素運搬能の測定および動物試験等は今後まだ研究されなければならない。

IV 結 語

水溶性酸素運搬体の粒子化に対する試みについて述べ今後の方針について言及した。

文 献

- 1) 箕島 高：人工血液。外科研の進歩 5 246(昭32)
- 2) Martell, A.E & Calvin, M : Chemistry of the Metal Chelate Compounds. Prentice-Hall, N. J. (1956) p.337
- 3) Hearon, J.Z & Burk, D : Physicochemical

studies of reversible and irreversible complexes of cobalt, histidine and molecular oxygen. J. Nat. Cancer. Inst. 9 337(1949)

- 4) 谷内敏雄：蛋白性酸素運搬体に関する研究。北海道医誌 28 239 (昭28)
- 5) 小田輝子：人工血色素に関する研究。東女医大誌 30 1433 (昭35)
- 6) Emmenegger, H., Hürlimann, A. & Bucher, K. : A simple method of producing radioactive spheres for the investigation of circulatory problems. Helv. physiol. Acta. 9 254 (1951)
- 7) 箕島 高：人工血液の製造並びに応用に関する研究 (昭和31年度文部省科学試験研究費補助金による研究報告)