

論文内容の要旨

報告番号		氏名	久禮 智子
Preparation of Artificial Red Blood Cells (Hemoglobin Vesicles) Using the Rotation-Revolution Mixer for High Encapsulation Efficiency (和訳) 自転-公転ミキサーを用いた人工赤血球(ヘモグロビンベシクル)の 高いカプセル化効率のための調製法			

論文内容の要旨

【背景】 献血-輸血システムは現在の医療に必要不可欠な技術として確立されている。しかし、輸血用血液は保存期間が短く備蓄が困難であることから、夜間救急や産科、あるいはへき地医療などで輸血治療が間に合わない危機的状況が存在する。このような背景から、血液代替物、特に赤血球代替物の早急な実現が望まれている。赤血球を模倣したカプセル型の人工赤血球であるヘモグロビンベシクル(Hb-V)は、リン脂質DPPCを主成分とするリポソームに高濃度のヘモグロビン(Hb)を封入した微粒子で、感染源を含まず血液型がなく、近年輸血代替としての有効性や安全性が明らかにされつつある。その製造法について、従来エクストルージョン法が使用されたが、十分なHbカプセル化効率を得られないことや(20%程度)、処理の煩雑さなどが問題であり、その改善が必要とされた。

【目的と方法】 本研究では、従来法に代えて、自転-公転ミキサーを用いた混錬法によるHb-Vの調製を試み、高いカプセル化効率でHb-Vを得るため混錬条件の最適化を行った。期限切れヒト赤血球から単離・精製し一酸化炭素付加したHbCO溶液と、脂質粉末(DPPC/コレステロール/DHSG/DSPE-PEG)を混錬操作により混合した。このときの脂質成分比、脂質添加量、仕込みのHb濃度、混錬時間の各項目について検討した。得られたHb-Vについて、Hb濃度および脂質濃度、Hb/脂質比、粒径を比較し評価した。

【結果と考察】 混錬法では、高濃度のHbCO溶液(40g/dL)と大量の脂質粉末をわずか10分の処理で均一化でき、脂質添加量が最も多い条件(50wt%)では、Hbカプセル化効率は74.2%と、エクストルージョン法に比べて飛躍的に向上することがわかった。ペースト状の混合物の粘度は極めて高く(約 10^3 - 10^5 cP)、混錬による摩擦熱を誘発し、混合物の温度を約60℃にまで上昇させ、脂質の分散とリポソームの形成を促進することが示唆された。また、安定なHbCO溶液を用いることで、混錬操作中のHbの変性が抑制された。この方法で作製したHb-Vについて脱酸素後室温保存し品質を2年間追跡したところ、Hbの漏出率や変性率等の物性値に著しい変化は認められなかった。

【結論】 自転-公転ミキサーを用いた混錬法によるHb-Vの調製法について、条件検討を行い最適化した。その結果、高濃度Hbと大量の脂質粉末を短い処理時間で攪拌して効率よくHb-Vを調製でき、Hbカプセル化効率は74.2%にまで向上した。さらに、混錬法により調製したHb-Vは室温で2年間の保存が可能であると判断した。現在、本研究での知見をもとにGMP製造したHb-Vを用いて、第I相臨床試験を実施中である。