



2021年9月3日

報道関係者各位

慶應義塾大学薬学部
奈良県立医科大学
崇城大学 DDS 研究所

人工赤血球から新規シアン中毒解毒剤を開発

—即効性と汎用性を併せ持つ、シアン中毒の治療に有効性が期待—

慶應義塾大学薬学部、奈良県立医科大学、崇城大学 DDS 研究所の研究グループは、メトヘモグロビン（注 1）を脂質膜で被覆したリポソーム型（注 2）シアン中毒解毒剤を開発しました。本研究は慶應義塾大学薬学研究科博士課程 1 年の鈴木悠斗（すずき ゆうと）、同薬学部の田口和明（たぐち かずあき）准教授、松元一明（まつもと かずあき）教授、奈良県立医科大学の酒井宏水（さかい ひろみ）教授、崇城大学 DDS 研究所の小田切優樹（おたぎりまさき）特任教授を中心とする研究グループの成果です。

シアン化合物（青酸化合物）は、金属メッキ加工用品や殺虫剤、農薬、断熱材（合成樹脂）などの日常用品に含まれています。一方で、シアン化合物は大量に吸入または服用すると致死性の中毒症状を呈する猛毒であり、火災時に建物が燃焼する際に発生するシアンガス含有煙の吸入や誤飲などの事故、自殺など、国内外の様々な状況下でシアン中毒は発生しています。現在、シアン中毒解毒剤として亜硝酸化合物（注 3）が承認されていますが、赤血球中のヘモグロビンをメト化（注 4）することにより解毒作用を示す亜硝酸化合物は、解毒効果を発揮するまでに時間を要することから迅速な解毒作用が得られません。また、ヘモグロビンがメト化した赤血球では酸素運搬能が低下するため、亜硝酸化合物は火災で発生した（一酸化炭素中毒を併発した）シアン中毒には使用出来ません。そのため、亜硝酸化合物によるシアン中毒の解毒には即効性と汎用性の改善が望まれます。

本研究では、人工赤血球製剤であるヘモグロビン小胞体（注 5）に内包されているヘモグロビンをメトヘモグロビンに酸化したメトヘモグロビン小胞体（metHb@Lipo）を新規シアン中毒解毒剤として創製しました。この metHb@Lipo は、赤血球内のヘモグロビンをメトヘモグロビンに酸化することで生体内のシアンを捕捉して解毒効果を発揮する亜硝酸化合物の解毒機序を人工的に再現するコンセプトを基に設計しました。実際に、metHb@Lipo はシアンに対して高い結合力を有し、致死シアン中毒モデルマウスの生存率を上昇させました。また、metHb@Lipo は、亜硝酸化合物よりも致死シアン中毒モデルマウスを延命させるとともに、迅速な解毒効果と組織低酸素症を改善しました。

以上のことから、metHb@Lipo はシアン中毒に対して亜硝酸化合物より強力かつ迅速で汎用性の高い解毒剤であることが示されました。これは、metHb@Lipo がヘモグロビンのメト化に時間を必要とすることなくシアンを捕捉することで迅速に解毒が行えたためと考えられます。また、metHb@Lipo は赤血球中のヘモグロビンをメト化しないため、赤血球の酸素運搬能が維持されて低酸素症を抑制したと考えられます。そのため、metHb@Lipo は火災などの亜硝酸化合物の使用が困難な状況下で引き起こされたシアン中毒においても使用することが可能であり、シアン中毒治療の裾野を広げる新たなシアン中毒解毒剤として臨床使用されることが期待されます。

本研究成果は、国際学術誌『Journal of Controlled Release』2021年9月号に掲載されます（電子版は7月15日に掲載済み）。

1. 本研究のポイント

- メトヘモグロビンを脂質膜で包んだメトヘモグロビン小胞体 (metHb@Lipo) を作製した。
- metHb@Lipo は、既存薬である亜硝酸化合物の解毒機構を人工的に再現した。
- 致死シアン中毒モデルマウスにおいて、metHb@Lipo の投与は生存率を劇的に上昇させ、その効果は既存薬である亜硝酸化合物より高かった。
- metHb@Lipo の解毒効果は亜硝酸化合物より高い即効性を示した。
- metHb@Lipo 投与は低酸素症を引き起こさずにシアン中毒に対して解毒効果を示した。

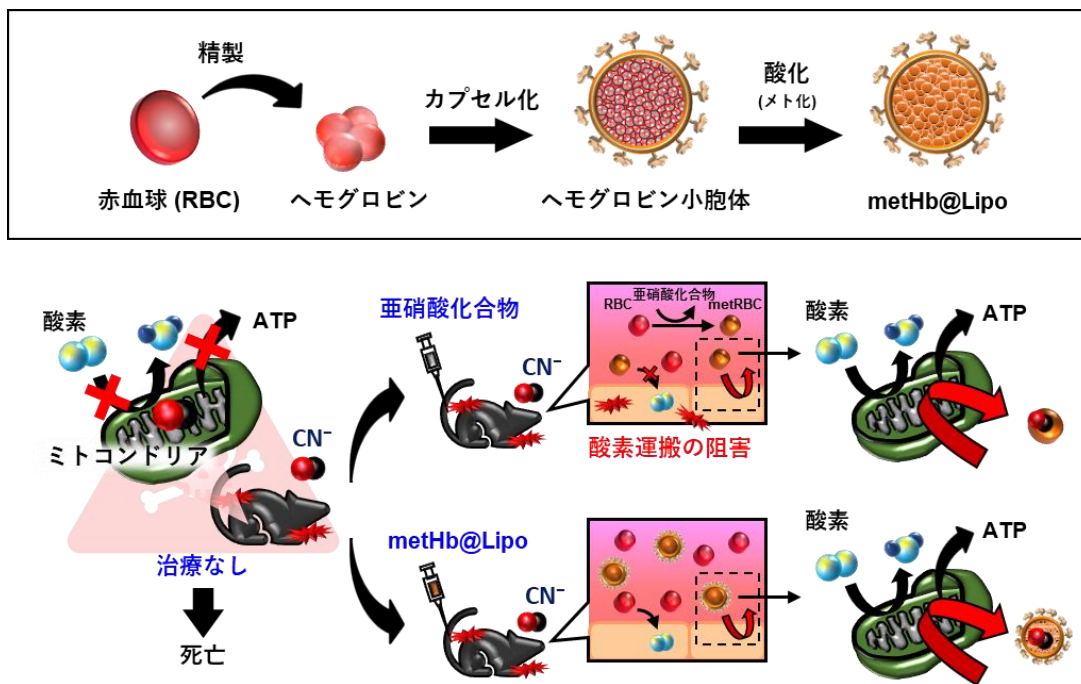


図 1. 本研究の概念図

シアンは細胞内ミトコンドリア内のチトクロームオキシダーゼ酵素と結合し、ミトコンドリアの呼吸機能を阻害する。亜硝酸化合物で酸化された赤血球 (メトヘモグロビン) はミトコンドリアよりシアンを引き抜いてミトコンドリアの呼吸機能を回復させる効果があるが、酸素運搬能が低下するなどの問題点も認められている。

ヒト廃棄血から得たヘモグロビンを脂質膜でカプセル化した人工赤血球 (ヘモグロビン小胞体) に亜硝酸化合物を添加し、内包したヘモグロビンをシアンイオンと結合力の高いメトヘモグロビンに酸化した metHb@Lipo を作製した。metHb@Lipo は亜硝酸化合物と同様にシアン中毒発症機序の中心であるミトコンドリア機能を回復することで中毒症状を改善するだけでなく、亜硝酸化合物により引き起こされる低酸素症の発症を抑制する。

2. 研究の背景

シアン化合物は我々が日常生活を営む上で必要不可欠ですが、大量に吸入または服用すると致死性のシアン中毒を引き起こす猛毒でもあります。毎年、国内外で多くのシアン中毒事例が報告されており、自殺や誤飲などの事故、殺戮を目的とした事件、さらには新建材である合成樹脂由来の断熱材が火災で燃焼する際に発生するシアンガスの吸入によるシアン中毒など、様々な状況下で発生しています。シアン中毒に罹患した場合は解毒剤による素早い治療が求められますが、

現在解毒剤として使用されている亜硝酸化合物は即効性が期待できません。これは、亜硝酸化合物が血液中に存在する赤血球内のヘモグロビンを酸化してシアン結合性の高いメトヘモグロビンに変換（メト化）することで解毒作用を発揮するため、解毒作用の本質であるメトヘモグロビンの生成に時間を要するためです。さらに、赤血球中のヘモグロビンのメト化はヘモグロビン本来の機能である酸素を運搬できなくするため、一酸化炭素中毒の併発が懸念される火災現場で発生したシアン中毒には使用できないといった制限が存在します。

本研究では、亜硝酸化合物の臨床使用上の問題点を克服したシアン中毒解毒剤の開発を目指し、実験を開始しました。この目的を達成するための戦略として、人工赤血球であるヘモグロビン小胞体に内包されているヘモグロビンをメト化したメトヘモグロビン小胞体 (metHb@Lipo) を投与することで、赤血球をメト化せずに亜硝酸化合物のシアン解毒を模倣できると考えました。

3. 研究の内容・結果

まず、ヒト廃棄血から精製したヘモグロビンを脂質二重膜でカプセル化したヘモグロビン小胞体 (人工血液) に亜硝酸ナトリウムを添加することで、内包されたヘモグロビンを酸化して metHb@Lipo を作製しました。その結果、metHb@Lipo は平均粒子径が約 220 nm、粒子表面が負に帯電した均一なナノ粒子となりました (図 2)。

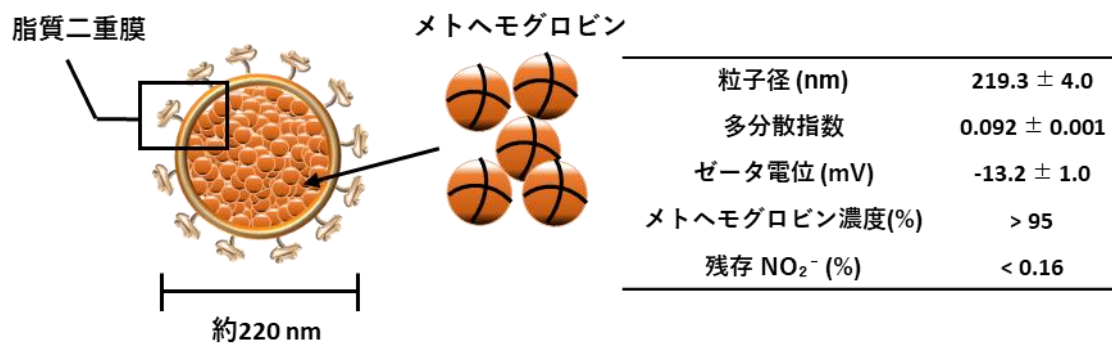


図 2. metHb@Lipo の構造

metHb@Lipo は高濃度のメトヘモグロビンを脂質二重膜でカプセル化したナノ粒子構造を呈する。

次に、metHb@Lipo のシアンイオン結合親和性について検証するため、metHb@Lipo にシアン化ナトリウムを添加したときの吸収スペクトル変化を測定しました。その結果、シアン化ナトリウムを添加すると metHb@Lipo 由来の吸収スペクトルからシアン結合型 metHb@Lipo 由来の吸収スペクトルへ速やかにスペクトルが変化しました。また、シアン化ナトリウムを投与したマウスの血液中に存在する全シアン濃度を評価したところ、生理食塩水を投与した群と比較して metHb@Lipo を投与すると高い割合でシアンを血中に保持していました。この結果は、metHb@Lipo がシアンと結合することで組織中ミトコンドリアのシトクローム c オキシダーゼに移行したシアンを血中に引き戻した、または血液中に存在するシアンが組織中ミトコンドリアのシトクローム c オキシダーゼに移行するのを防いでいると考えられました (図 3)。

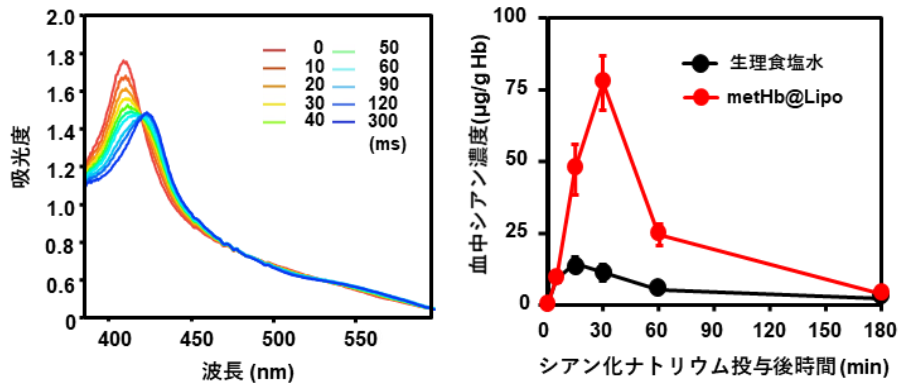


図 3. metHb@Lipo のシアン結合親和性

metHb@Lipo は in vitro (左)、in vivo (右) において速やかにシアンイオンと結合する。

metHb@Lipo のシアン中毒に対する解毒効果を評価するため、致死量のシアン化ナトリウムを投与した 10 分後のマウスに「metHb@Lipo 治療」、「亜硝酸ナトリウム単独治療」、または「亜硝酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウム併用治療」を施して生存率を比較しました。その結果、既存のシアン中毒解毒剤である「亜硝酸ナトリウム単独治療」、「亜硝酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウム併用治療」と比較して「metHb@Lipo 治療」を施したシアン中毒モデルマウスで高い生存率を示しました。また、昏睡状態からの回復時間も早く、metHb@Lipo は即効性が高いことも確認されました (図 4)。

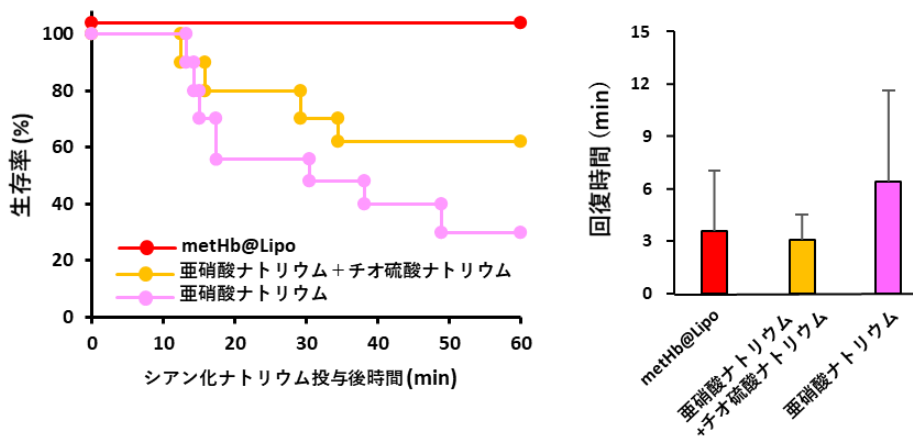


図 4. 致死量的シアン中毒マウスにおける metHb@Lipo の解毒効果の評価

致死量的シアン中毒モデルマウスに metHb@Lipo を投与することにより、既存薬治療群 (亜硝酸ナトリウム単独治療、亜硝酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウム併用治療) と比較して高い生存を示した (左)。また、生存したマウスの昏睡状態からの回復時間を評価したところ、速やかな回復傾向が確認された (右)。

シアン中毒の原因であるミトコンドリア内のシトクローム *c* オキシダーゼ機能を経時的に評価するため、「metHb@Lipo 治療」または「亜硝酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウム併用治療」を施したシアン中毒モデルマウスのシトクローム *c* オキシダーゼ活性を測定したところ、シアン投与により低下した活性が metHb@Lipo 治療によって速やかに回復しました。また、シアン中毒症状の一つである組織低酸素状態によって誘発されるアシドーシスも metHb@Lipo で治療することで速やかに回復しました (図 5)。

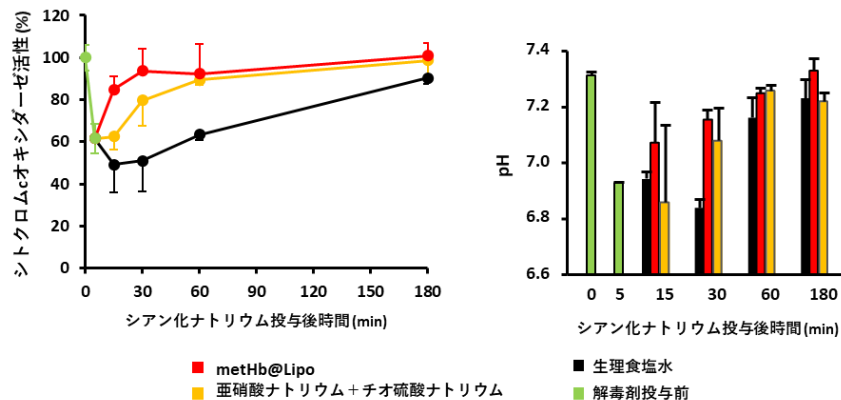


図 5.シアン中毒マウスにおける metHb@Lipo の解毒作用機序

シアン中毒状態マウスに metHb@Lipo を投与すると既存薬治療群 (亜硝酸ナトリウム単独治療、亜硝酸ナトリウムとチオ硫酸ナトリウム併用治療) と比較して速やかにシトクローム *c* オキシダーゼ活性が回復しました (左)。また、シアン中毒によって誘発された血中 pH の低下 (アシドーシス) についても素早く回復しました (右)。

4. 結論

本研究より、metHb@Lipo はシアン中毒に対して既存薬である亜硝酸化合物より優れた解毒効果と即効性を有することが示されました。また、metHb@Lipo 投与は赤血球の酸素運搬を阻害しないため、組織の低酸素も素早く改善 (アシドーシスの改善) していた。したがって、metHb@Lipo は火災などの亜硝酸化合物による解毒が困難な状況下で引き起こされたシアン中毒においても使用することもでき、シアン中毒治療の裾野を広げる新たなシアン中毒解毒剤として臨床使用されることが期待されます。

5. 論文情報

- 〈タイトル〉 Liposome-encapsulated methemoglobin as an antidote against cyanide poisoning
- 〈著者名〉 Yuto Suzuki, Kazuaki Taguchi, Tomoko Kure, Hiromi Sakai, Yuki Enoki, Masaki Otagiri and Kazuaki Matsumoto
- 〈雑誌〉 『Journal of Controlled Release』 (電子版)
- 〈DOI〉 10.1016/j.jconrel.2021.07.015

〈用語説明〉

- (注1) メトヘモグロビン：メトヘモグロビンは赤血球内のヘモグロビンが有するヘム鉄が2価の状態から酸化されて3価の鉄の状態になったもの。ヘム鉄が2価の状態では酸素と結合し、各組織へ運搬する能力を有するが、3価の状態のメトヘモグロビンは酸素運搬能力が失われた状態になる。
- (注2) リポソーム製剤：リポソーム製剤は、薬物を標的の部位に効率よく送達することを目的として開発された技術。細胞膜などの生体膜構成を模倣した脂質でカプセル化（リポソーム）し、薬剤などを内包した製剤。これにより、生体内の血中での薬剤の安定性を向上させることもできる。
- (注3) 亜硝酸化合物：亜硝酸化合物はハムやソーセージなどの発色剤として利用されている物質。一方で酸化作用も有することから、赤血球中ヘモグロビンの酸化剤としてシアン中毒の解毒に用いられている。
- (注4) ヘモグロビンのメト化：ヘモグロビンを構成するヘム鉄が2価から酸化されて3価の鉄イオンの状態になること。
- (注5) ヘモグロビン小胞体：ヘモグロビン小胞体はヒト廃棄血より取り出したヘモグロビンをリン脂質二重膜に封入しカプセル化した人工赤血球製剤であり、少子高齢化により懸念される輸血不足などの重要課題を解消することが期待されている。

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）革新的医療技術創出拠点プロジェクトの橋渡し研究戦略的推進プログラムの支援（慶應拠点シーズA）（課題名：ヘモグロビン内封リポソームを用いたシアン化合物中毒解毒剤の開発）を受けて実施した研究です。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、奈良県政・経済記者クラブ、橿原市政記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブ、各社科学部に送信させていただいております。

〈研究内容についてのお問い合わせ先〉

慶應義塾大学薬学部 薬効解析学講座
准教授 田口 和明（たぐち かずあき）
TEL：03-5400-2656
E-mail：taguchi-kz@pha.keio.ac.jp

奈良県立医科大学 医学部化学教室
教授 酒井 宏水（さかい ひろみ）
TEL：0744-29-8810
E-mail：hirosakai@naramed-u.ac.jp

崇城大学 DDS 研究所
特任教授 小田切 優樹（おたぎり まさき）
TEL：096-326-3887
E-mail：otagirim@ph.sojo-u.ac.jp

〈本リリースの配信元〉
慶應義塾 広報室（若原）
TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640
E-mail : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>

奈良県立医科大学
研究推進課 産学連携推進係（武居）
TEL : 0744-22-3051 FAX : 0744-29-8021
E-mail : sangaku@naramed-u.ac.jp

崇城大学 地域共創センター（本山）
TEL : 096-326-3111(代表)／096-326-3418(直通)
FAX : 096-326-3418
E-mail : ken-sien@ofc.sojo-u.ac.jp