

紅血球代替品

——人造血液

蔡振寧

前言

血液對於人體的重要性，猶如一具複雜機械的能源供應一樣，只要稍有缺失，就會造成嚴重的問題。尤其在臨床醫學上，血液的需求量更是大。在正常的情況下，除了少數買賣行為外，大多數的血液來源，均需仰賴一般民衆的慷慨捐獻，然而這種來源的數量畢竟有限，一旦遇到戰爭或是重大災害等突發事件時，血液一袋難求的情形，便層出不窮了。

除了來源的問題外，人類血液在臨床使用上，還有很多缺點，譬如說輸血前的血型鑑別，交叉試驗，不但耗費時間，而且只要一出錯，對於受血的病人，一定會有很嚴重的後果。血液成分的分離、處理與保存更是煞費周章。血液的費用更是病人與家屬的一個難以消受的負擔。最近又發現許多人類血液是傳染病的媒介物如B型肝炎病毒、及大家談虎色變的愛死病毒（HTLV-III）等。如此一來，不但使大衆對血液的品質感到懷疑，也為繁忙的血庫工作人員增加許多工作的負擔。

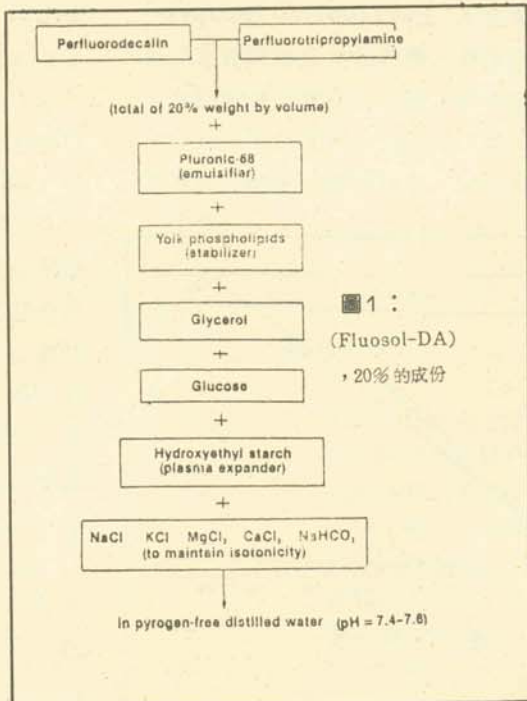
基於上述的種種理由，我們曉得發展出一種無抗原性、無傳染之虞的人造血液，已是刻不容緩的事。雖然到目前為止，尚無任何一種真正符合臨床需求的人造血液問世，但是在過去數十年間，人造血液的發展已有長成的進步。下面介紹的是人造血液中，最重要的紅血球部份（或稱紅血球代替品）之發展情形。

過氟化合物(Perfluorochemicals,

簡稱PFCs)

過氟化合物為一類以高活性氟原子取代氫原子所形成的大型有機化合物）由於氟原子存在的緣故，PFCs 幾乎為化學不活性，在人體中也不被代謝。PFCs 攜帶氧氣的方式與其它類血液替代品均不同，它是經由氧氣在PFCs 中的高溶解度所達成的，而正常血紅素則以化學鍵結合的形式來攜帶氧。大約每單位體積的PFCs 可以溶解40%至70%的氧氣，為正常血液攜帶氧量的三倍，水的二十倍(1)

純粹的PFCs 和血液是不相混合的，必須使用乳化劑製成乳液，才能產生實際的效果。事實上，乳液的製備方式與成份對PFCs



的使用有很重要的影響。一般最常用的乳化劑為 Pluronic F68 (BASF Wyandotte Corp, Wyandotte, Mich)，它是一種非離子性的清潔劑。加入乳化劑的 PFCs' 乳液，看起來像是稀釋過的牛乳懸浮液，而其中懸浮的 PFCs' 粒子大小必須維持在 0.1~0.2 microns 間，否則便會使 PFCs' 呈現不穩定的狀態，對於人體也會產生一些副作用。較大型的 PFCs' 粒子比較容易排出人體之外，但是也比較不容易配製成穩定的乳液，甚至可能聚集起使阻塞微血管，而大量堆積在肝、脾內。過度的聚集作用，也會因為減少了 PFCs' 粒子與氧接觸的表面積，因而大大降低其攜氧能力。(1, 2)

目前公認最有效的 PFCs' 是 Perfluorodecalin，不過單獨使用 Perfluorodecalin，並不足以真正取代紅血球的作用，有效的 PFCs' 乳液還含有一些其它成分。在 PFCs' 乳液衆多的產品中，被評為最成功的配法是，日本大阪綠十字公司所產的 Fluosol-DA (Green Cross Corp, Osaka, Japan, 20% (wt/vol)) 其主成分組成見圖 1。其中的 PFCs'；除了 Perfluorodecalin，還加入 Perfluorotripropylamine，前期在人體內的半衰期只有 6.5 日，乳化能力並不強，後者的半衰期長達 65 日，且有很強乳化能力。因此加入 Perfluorotripropylamine 不但可增加整個乳液在人

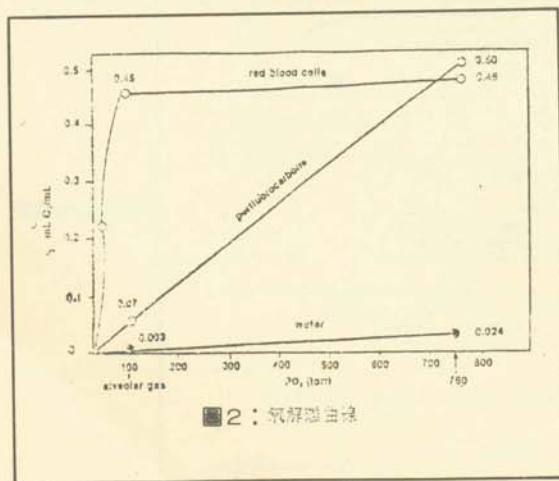


圖 2：氧解離曲線

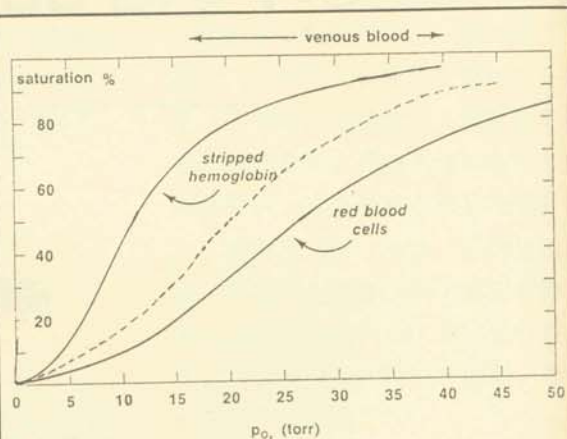


圖 3：

為氧結合曲線。stripped Hb 代表血紅素溶液，其 P_{50} 約 11 torr，表示其氧親合力很高。虛線為聚合後的吡哆醇化血紅素之曲線， P_{50} 約 20 torr，顯然已降低其對氧之親合力。Red Blood Cells 為實際紅血球中的血紅素結合氧之情形， P_{50} 為 26 torr。

體滯留的時間，也有助於整個乳液的穩定。加入卵黃磷脂 (Yolk phospholipids) 的目的，在促使 PFCs' 粒子外形成一圈負電環區，使 PFCs' 彼此排斥，而不互相聚集，而有安定的作用。氫氧乙基澱粉 (hydroxy ethyl starch) 除了充當血漿擴張劑 (plasma expander) 以維持血液體積外，也可以增加乳液的流動性。(3) Fluosol-DA 經過臨床實驗，顯示其循環半衰期為 13 小時。而組織半衰期為 9 日。(4)

PFCs' 的優點很多，由於完全的化學不活性及無抗原性，在臨床使用上，血型鑑別及大小交叉試驗，幾乎不需要，其來源供應更不必擔心。除此之外，由於 PFCs' 不會溶解一氧化碳，因此可供用來治療一氧化碳中毒的病人。PFCs' 乳液中懸浮的微小粒子，更可以通過某些閉塞血管，而達成其特殊療效。(如腦中風及心肌梗塞病人的血管)。

雖然如此，PFCs' 的實際臨床應用，仍有許多困難。前面提過 PFCs' 對氧有高溶解性，但在正常的大氣氧分壓下，PFCs' 攜氧的能力，只有血液的 25% 至 35% (見圖 2) 要

發揮 PFC's 的功用，必須在100%氧氣或是高氧氣供應的環境下^(1,2)。而實際上，長期暴露在高氧氣環境下，會對病人產生傷害（尤其在含70%氧氣以上用氣體中不得超過24小時）⁽⁵⁾。

高壓氧氣供應與設備的，使用也大大地限制了 Fluosol-DA 的運用範圍。

由於 PFCs' 乳液本身並不穩定，因此必須採用冷藏方式來貯存，改良乳化劑的成分，也許能製成在室溫下就安定的 PFCs'。如前面所提的，有時 PFCs' 會滯留在肝、脾中，這時人體便必須動用到網狀內皮系統（RES' Reticuloendothelial System）來清除他們。網狀內皮系統的過度飽合，將會導致人體免疫抵抗力降低，對本已情況不佳的輸血病人來說，恐有不良的後果。⁽⁶⁾臨床上較常見的副作用，多在於肺部的併發症，由於 PFCs' 本身的物理性質使然，血小板及血漿蛋白質常常會受影響而引起補體系統的活化，最後使肺部巨噬細胞過度聚集，而產生肺鬱血（Pulmonary Congestion）等症狀。⁽⁷⁾

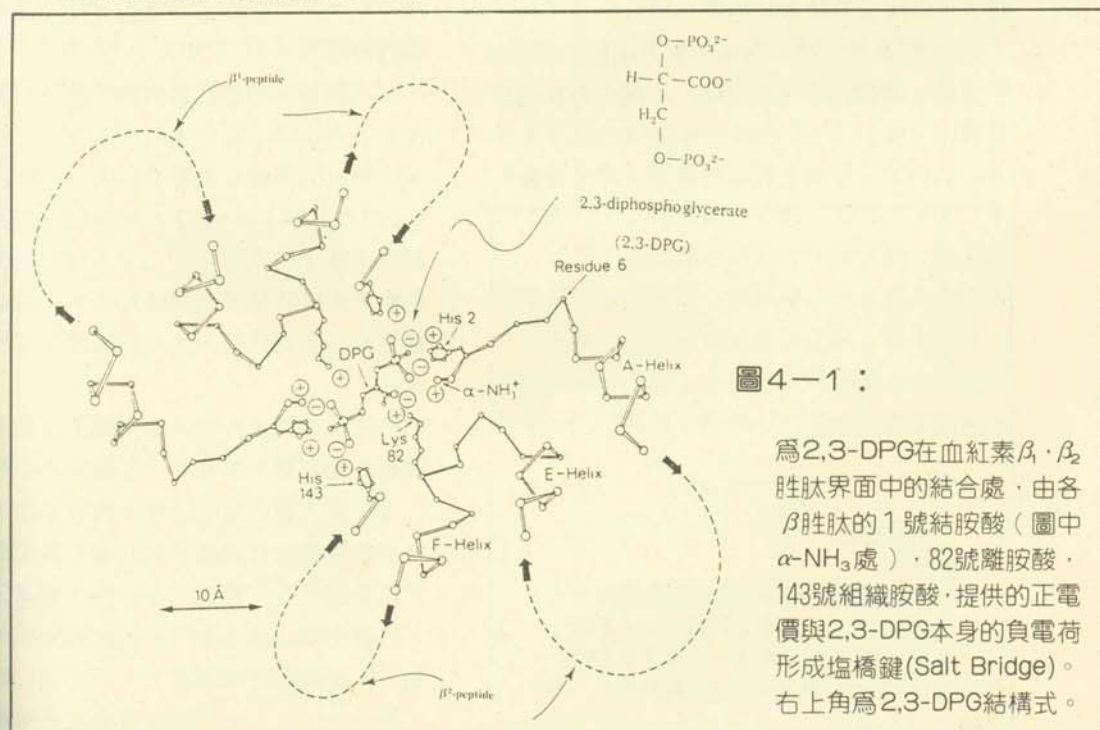
由於上面各種特點的得失，除了日本及加

拿大某些地方能合法地使用 Fluosol-DA 的時機，還是僅限於研究上。尤其美國食品及藥物管理局（FDA, Food and Drug Administration）在1983年的血液產品諮詢委員會會議上，就不贊成在目前的情況下，將 Fluosol-DA 使用在人體上。除非上述問題能有效地解決，否則 PFCs' 的發展前途實在令人憂慮。

血紅素溶液(Hemoglobin Solution)

血紅素溶液大概是所有的紅血球代替品中，最早開始研究的一類物質。早期由過期紅血球中所純化的血紅素，在臨床使用上，往往無法令人滿意，原因是囿於當時的提煉技術，這些粗製的血紅素，均帶有紅血球膜上具抗原性的基質（Stroma），將使輸血者發生凝血及腎方面的病變。⁽⁸⁾

隨著純化方式的進步，幾乎無基質（Stroma-free）的血紅素已可製得，現在



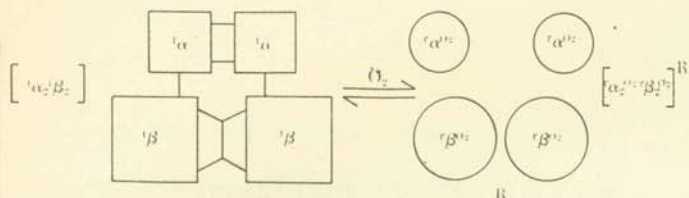


圖 4-2：

爲血紅素與氧結合前後，其四級之構造變化。圖中所有的t, T代表Tense (即未結合氧之血紅素構造)；所有的r, R代表Relaxed (即氧合血紅素之構造)，未結合氧血紅素(T)構造中的直線，代表維繫其穩定的各塩橋鍵，其中在 β 與 β 間之“Y”代表2,3-DPG的結合處，對於未合氧的血紅素有穩定其構造的作用，因此可以調節血紅素對氧的親合力。值得注意的是，當氧合血紅素形成時，所有的塩橋均斷裂，2,3-DPG也脫離其結合處，這是因爲其立體結構上的改變，使 β_1 , β_2 胛肽間面積縮小，在圖4-1中的結合處，空間變小無法再容納2,3-DPG。

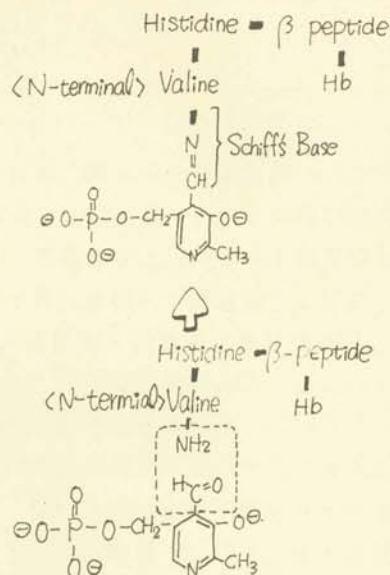


圖 4-3：

Pyridoxal-5'-phosphate與 β 胛肽N端的羧酸結合後，可以利用其身上的其餘負電價，與離胺酸、組織胺酸結合，穩定未結合氧的血紅素構造。不過當氧結合至血紅素， β_1 , β_2 胛肽界面結合處，由於Pyridoxal-5'-phosphate還存在血紅素上(共價結合)， β_1 , β_2 胛肽界面無法縮得很小，會影響其氧合血紅素的穩定結構，因此對氧之親合力較普通血紅素爲小。

最常用的提煉技術，乃是將洗滌過的紅血球，經過多孔過濾器 ($1.2\mu\text{m}$ 及 $0.2\mu\text{m}$)來除去雜質。(2)或者經由透析的方式使血紅素結晶出來，以除去可溶性的雜質。(9)

血紅素溶液結合氧氣的能力與紅血球相仿，也是 $1.34\text{ml O}_2/\text{gHb}$ 不過因爲在純化過程中，喪失了2, 3-二磷基甘油酸 (2, 3-DPG)，使得血紅素溶液的氧解離曲線左

移，增加了氧和血紅素的親合力 (見圖3)。在正常紅血球內的血紅素 $P_{50} = 27\text{ torr}$ ，而血紅素溶液 P_{50} 只有 $12\sim 24\text{ torr}$ 。(2)，如此一來，在血紅素上的氧分子將不易釋放到周圍的組織內。

一般製成的血紅素溶液，濃度約在 18 g/dl 左右，但是爲了要在人體使用時，得到與血漿蛋白相似的膠體滲透壓 (Colloidal Osmotic Pressure)，只能以約 7 g/dl 的濃度來輸予病人。(1, 2)這樣低濃度的血紅素溶液與等量的血液比起來，則攜氧能力，簡直是小巫見大巫，並不能實際地運用在臨床。

除了高氧結合能力及滲透壓造成的問題外，游離的血紅素，本身的分子量過小 (約1萬6仟)，在人體內會迅速地由腎臟排空，無法長期滯留體內執行其輸氧的功能 (其血管內滯留半生期僅3.5小時而已)。爲了解決上述問題，已經開發了許多改良的血紅素溶液，其中一個方式是將血紅素連接至大分子上 (如糖糊精, Dextran)，結果發現血紅素滯留的時間

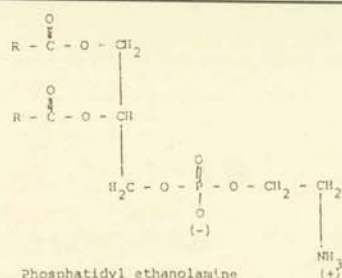
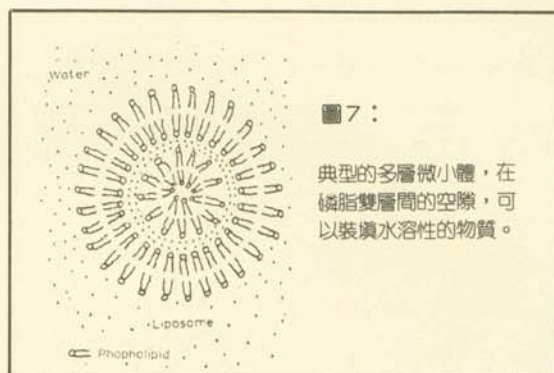
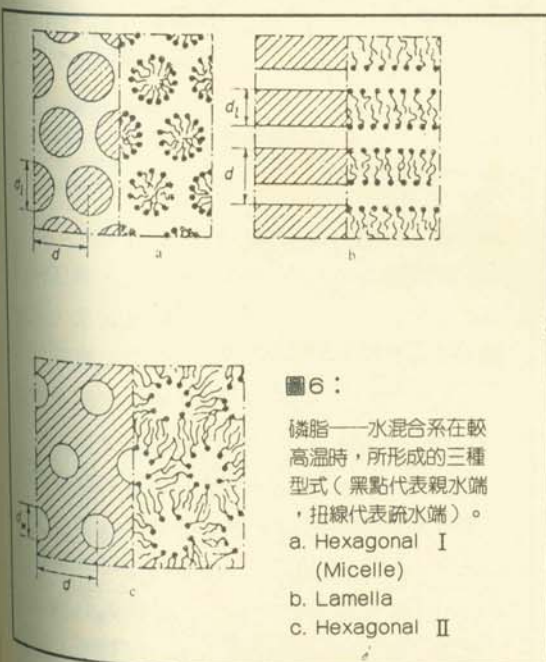


圖 5：

天然磷脂類之基本結構以甘油作骨架，前二個碳與高級脂肪酸以酯鍵相接，是屬於疏水端 (親脂端)。最後一個碳連接的官能基，則含有正負極，是屬於親水端。

增長，不過這種複合物由於具高黏滯性，必須限制其使用的量。(10, 11) 另一個改良方式是使用連接劑 (Cross-linker) 將血紅素分子進行分子內或分子間聚合，常用的連接劑有 *glyceraldehyde* 及 *3,5-dibromosalicyl-bis-fumarate* (1)。最近發展出的最佳血紅素改良法，乃是使血紅素先經吡哆醛反應 *Pyridoxylation* 後，再行分子聚合 (12)。吡哆醛反應是利用 *pyridoxal-5-phosphate* (一種和 2, 3-DPG 頗相似的化合物)，使之連接到血紅素 β chain 上，N 端的羧胺酸 (Valine) 上，兩者可形成 *Schiff base*，以降低血紅素的高氧親合力。這種血紅素經聚合後，不但有較長的人體滯留時間 (體外試驗，血漿中半衰期為 25 小時)， P_{50} 也較接近紅血球內血紅素的數值 (大約是 16—22 torr，正常為 27 torr 左右)。(圖 4)

在動物實驗中，輸入血紅素溶液，往往對實驗動物產生許多不同的反應，有的會造成凝血方面問題，而導致散播性血管內凝血 (DIC, *Disseminated Intravascular Coagulation*)，有的卻會活化補體系統，(1) 最近學者們也開始對血紅素溶液影響下的腎，網狀



內皮系統，免疫系統反應，著手研究。有人認為血紅素是熱原性的 (*Pyrogenic*)，而且也可能傳染 B 型肝炎病毒。(2)

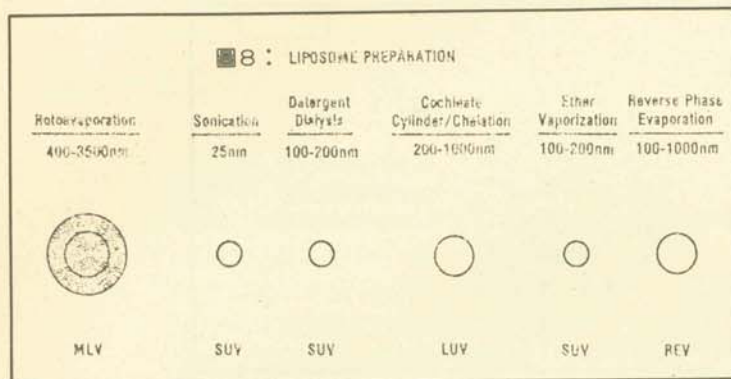
目前使用的血紅素溶液，多由過期人類血液中精製來源及成本，安全性均需顧慮。在歐美已維有人嘗試使用牛的血紅素來代替，研究發現不但其滯留時間與人相似， P_{50} 也比人的血紅素好 (14)，在我國也許使用豬血更為恰當，因為在生物血緣關係上，豬比牛更接近於人，而且豬血的供應是幾近無限的，如果能真如此，則人造血在我國發展的遠景將是輝煌燦爛的。(3)

血紅素溶液的貯存，也是另一個傷腦筋的問題。研究指出，在 4℃ 溫度下血紅素溶液可維持一年的活性，不過在此期間會有大量的變性血紅素 (*Methemoglobin*) 形成。純化的血紅素在乾燥狀態下貯藏，並不穩定，必須加入某些安定劑才能避免其破壞分解。(15)

比較了血紅素溶液的許多優劣點，我們認為如果血紅素溶液不能再進一步改良其半衰期 (吡哆醇化的聚合血紅素也才只有 26 小時)，則在臨床使用時，由於必須反覆輸血才能得到效果，因此其使用範圍可能僅限於急診病患。

人造紅血球 (Artificial Red Cells)

其實將這類紅血球代替物稱之為人造紅血球，似有誇大之嫌，因為它只是上述血紅素溶液的改良法，通常是利用人造膜的技術，將純化的血紅素溶液包裹起來，成為較像紅血球模



式的一類物質。

最常使用的人造膜技術，乃是脂小體 (Liposome) 技術。利用磷酸脂類 (見圖5)，中性脂肪 (如胆固醇) 作材料，再使用超音波或機械振盪，便可以製成單層或多層的脂小體。磷脂類為一同時兼具極性 (親水性) 及非極性 (厭水性) 的分子 (Amphiphiles) 因此不同此例的磷脂—水混合液系統，會有不同的結構出現 (見圖6) 在適當溫度，及適當磷脂—水混合液的比例下，經由超音波或機械振盪，使磷脂重組便能形成脂小體 (見圖7)。

脂小體的性質，依照製造方式的不同而有所不同。(見圖8) 通常脂小體可分成三種 MLV (Multilamellar Vesicle 多層脂小體)，LUV (Large Unilamellar Vesicle 大型單層脂小體)，SUV (Small Unilamellar Vesicle, 小型單層脂小體)，後二者較適合作為單位膜的研究，前者由於容納體積大，較適合用來作為藥物攜帶者 (Drug Carrier) 的研究。

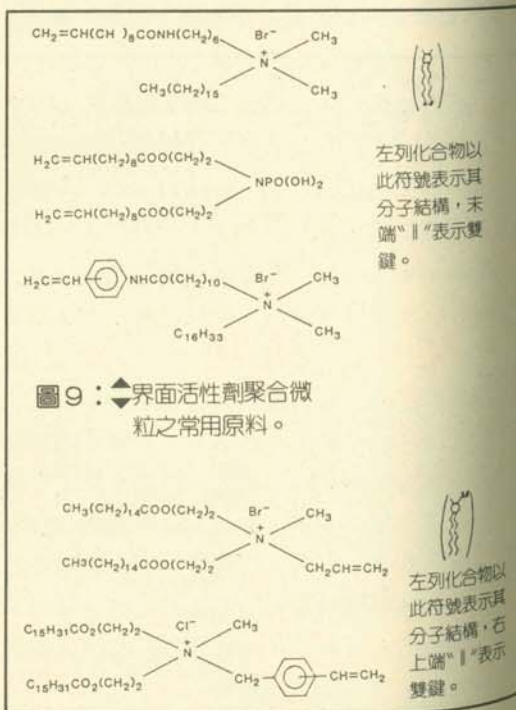
早期脂小體多用來作為單位膜及藥物攜帶之研究，將血紅素裝入脂小體，成為人造紅血球是近幾年的事，實驗發表的不多，但是結果卻讓人感到興奮，因為其氧解離曲線與人類全血相仿， P_{50} 也相當接近，大約在24~26 torr 間(17)，這大概也是所有紅血球代替品中，人造紅血球最優越的地方。

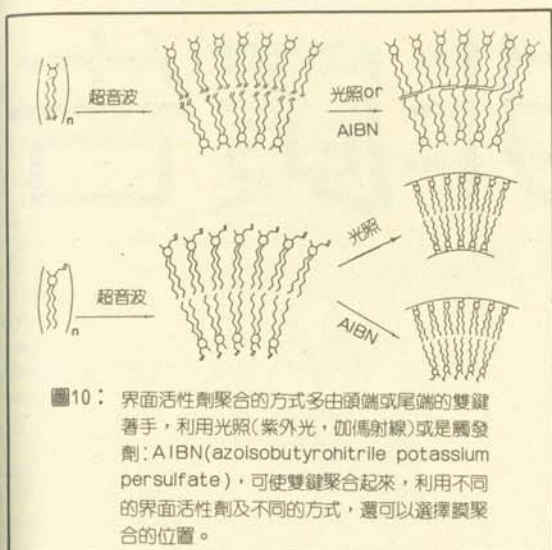
脂小體的組成材料磷脂及胆固醇，為天然細胞膜的主要成分，因為不含蛋白質成分，所

以幾乎無抗原性，病人無免疫反應之虞。為了使循環在血流中的人造紅血球外膜 (脂小體部分)，免受氧化分解的影響，製造過程中還常加入一些抗氧化劑 (如 Vit-E, Vit-C 等) (16, 17)。或是某些酵素 (如去除 H_2O_2 的 catalase 或 glutathione / peroxidase) (16)。在一般製造過程中，脂小體的大小往往分佈的很不均勻，常常會影響到使用效果。現在利用一定膜孔大小的聚碳膜 (Polycarbonate Membrane)，使脂小體通過透析，來控制大小的一致性 (Homogeneous Size distribution)，已經大大改善了脂小體的使用範圍。(19)

臨床的體內試驗 (以老鼠為例)，其半衰期約只有5.8小時。進行50%換血的老鼠，經分析其30天內的血液及內臟，發現並無明顯的病理變化。95%換血的老鼠，則至少可以存活至18小時以上。(17)

雖然臨床試驗的結果，十分令人興奮，但是半衰期過短的情形還是出現了。實驗指出肝是脂小體在人體滯留最久的地方，因此清除脂小體的工作，又必須牽涉到網狀內皮系統 (





RES')。如果給予病人過多的脂小體(譬如輸換大量人造紅血球)，可能也會間接影響到病人的免疫系統，造成抵抗力的降低。最近有人研究，將較不具抗原性的醣類連接至脂小體表面，結果使得網狀內皮系統對脂小體清除力的減少，也間接延長了脂小體的滯留時間。(1)除了脂小體的人造膜技術外，還有一種界面活性劑聚合 (Polymerized Surfactant Vesicles)，也相當具有發展潛力。這種小囊可經由聚合作用而穩定，並可以安貯存達數月之久。其尺寸大小，及膜的通透性均可依需求而作出，(見圖9, 10)不過這方面的研究，才剛剛起來不久，近期內想難有突破性的發展。(20)

結語

上面敘述僅是人造血液中的紅血球部分，其它像人造血小板、白血球、血漿發展亦很迅速，尤其遺傳工程的重組DNA技術，已經使血漿蛋白質的合成，邁入一個新的境界。有興趣者可參閱Reference (1)。

由於國內的這方面技術猶在萌芽階段，國防醫學院曾經實驗過人造紅血球，脂小體的研究也曾短期地出現在榮總醫研部及成大醫學院的某些研究計畫裏。所以說在國內短期中還無法有血液代替品出現的情況下，還是提醒醒大家，踴躍捐出自己的熱血，以便救人救己。

References

- (1) Kahn RA, Allen RW
Baldassare J: Blood
66 (1): 1-2, 1985
- (2) Herbert Silver:
A Continuing Search
Medilab, Apr/May.
1985
- (3) Makowski H, Tentschev
P, etc: Amsterdam,
Excepta Medica,
1978, pp47-53
- (4) Geyer RP, Taylor K,
etc: Fed Proc 32:
927, 1973
- (5) Frank L, Massaro D:
Am J Med 69: 117,
1980
- (6) Lutz J, Barthel U,
etc: Circ Shock 9:
99, 1982
- (7) Vercellotti GM,
Hammerschmidt DE
, etc: Blood 59: 1299,
1982
- (8) Cochlin A, etc: Surg
Forum 23: 19, 1972
- (9) DeVenuto F, Zuck T.
F., etc: J. Lab Clin
Med 89(3): 509,
1977
- (10) Tarn Sc, Blumenstein
J, etc: Proc Natl
Acad Sci USA 73:
2128, 1976
- (11) Cerny LC, Cerny EL,
etc: Crit Care Med.
11: 739, 1983
- (12) De Venuto F., Zegna
A.J. Surg Res 34:
205, 1983
- (13) 莊以寬: 榮民總醫院
檢驗報告雜誌. 3 (4)
: 4, 1985
- (14) De Venuto F, Zegna AI
: New York, Liss, 1983
, pp29-40
- (15) De Venuto F, Friedman
Hi, etc: Surg Gynecol
Obstet 149: 417,
1979
- (16) Szebeni J, Winterbourn
CC, etc: Biochem J
220: 685, 1984
- (17) Hunt CA, Burnette RR
, etc: Science 230:
1165, 1985
- (18) Farmer MC, Gaber BP
: Biophys J 45: 201a
, 1984 (abstr)
- (19) Bosworth ME, Hunt
CA, etc: J Pharm
Sci 71(7): 806,
1982
- (20) Fendler JH: Poly-
merized Surfactant
Vesicles: Science
223: 888, 1984
- (21) Gregoriadis G (eds)
: Liposome Technology
: CRC press 1984
- (22) Knight Cg (eds):
Liposome Elsevier/
North-Holland Bio-
medical Press, 1981