遺伝子組換えヒトエリスロポエチン KRN5702週1回

皮下投与を併用する貯血式自己血輸血法

—多施設共同初期第II相試験—

脇本 信博¹⁾ 黒川 高秀¹⁾ 杉岡 洋一²⁾ 高久 史麿³⁾
金田 清志⁴⁾ 浅野 聡⁴⁾ 守屋 秀繁⁵⁾ 南 昌平⁵⁾
森本 修平¹⁾ 十字 猛夫⁶⁾ 高橋 孝喜⁶⁾ 矢部 裕⁷⁾
坂巻 豊教⁷⁾ 池田 康夫⁸⁾ 半田 誠⁹⁾ 河端 正也¹⁰⁾
立花新太郎¹⁰⁾ 柴田 洋一¹¹⁾ 荻野 幹夫¹²⁾ 斎藤 隆¹²⁾
松本 光弘¹²⁾ 松本 仁志¹²⁾ 田中 秀¹³⁾ 佛淵 孝夫²⁾
筒井 秀樹²⁾ 犀川 勲²⁾ 稲葉 頌一¹⁴⁾

¹⁾東京大学医学部整形外科, ²⁾九州大学医学部整形外科, ³⁾国立病院医療センター

⁴⁾北海道大学医学部整形外科, ⁵⁾千葉大学医学部整形外科, ⁶⁾東京大学医学部付属病院輸血部

⁷⁾慶應義塾大学医学部整形外科, ⁸⁾慶應義塾大学医学部内科, ⁹⁾慶應義塾大学医学部輸血センター

¹⁰⁾虎の門病院整形外科, ¹¹⁾虎の門病院輸血部, ¹²⁾国立病院医療センター整形外科

¹³⁾都立府中病院整形外科, ¹⁴⁾九州大学医学部付属病院輸血部

(平成4年11月6日受付)

ONCE A WEEK SUBCUTANEOUS ADMINISTRATION OF RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN (KRN5702) FOR PREDEPOSIT AUTOLOGOUS BLOOD DONATION

A Multi-Institutional Early Phase II Study

Nobuhiro Wakimoto¹⁾, Takahide Kurokawa¹⁾, Yoichi Sugioka²⁾, Fumimaro Takaku³⁾,
Kiyoshi Kaneda⁴⁾, Satoshi Asano⁴⁾, Hideshige Moriya⁵⁾, Shohei Minami⁵⁾,
Syuei Morimoto¹⁾, Takeo Juji⁶⁾, Koki Takahashi⁶⁾, Yutaka Yabe⁷⁾,
Toyonori Sakamaki⁷⁾, Yasuo Ikeda⁸⁾, Makoto Handa⁹⁾, Masaya Kawabata¹⁰⁾,
Shintaro Tachibana¹⁰⁾, Yoichi Shibata¹¹⁾, Mikio Ogino¹²⁾,
Takashi Saito¹²⁾, Mitsuhiro Matsumoto¹²⁾, Hitoshi Matsumoto¹²⁾,
Shigeru Tanaka¹³⁾, Takao Hotokebuchi²⁾, Hideki Tsutsui²⁾,
Isao Saikawa²⁾ and Shoichi Inaba¹⁴⁾

¹⁾Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, University of Tokyo

²⁾Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyushu University

³⁾National Medical Center

⁴⁾Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Hokkaido University

⁵⁾Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Chiba University

⁶⁾Department of Transfusion Medicine and Immunohematology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

⁷⁾Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Keio University

⁸⁾Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University

⁹⁾Blood Center, Keio University Hospital

¹⁰⁾Department of Orthopaedic Surgery, Toranomon Hospital

¹¹⁾Department of Immunohematology, Toranomon Hospital

¹²⁾Department of Orthopaedic Surgery, National Medical Center

¹³⁾Department of Orthopaedic Surgery, Tokyo Metropolitan Fuchu Hospital

¹⁴⁾Blood Transfusion Service, Kyushu University Hospital

Forty-seven orthopaedic donor-patients in eight different institutions were evaluated as an early phase II open study to determine the efficacy and safety of once a week subcutaneous (SC) administration of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) for weekly blood collection of 400 ml. Of the 47 patients, 10 were excluded from efficacy evaluation for not meeting age (7) or hemoglobin (Hb) (2) criteria, or rHuEPO administration schedule (1). The remaining 37 patients, aged between 38 and 75, were divided into three groups by weekly SC dosage; 200 IU/kg (12), 400 IU/kg (13) and 600 IU/kg (12). Weekly blood collection of 400 ml began one week after an initial SC administration.

The 37 patients were able to donate autologous blood of 800 ml/2 wks or 1200 ml/3 wks and required no homologous blood during or after operation. At the time of the first phlebotomy, Hb was significantly increased in all three SC groups. One week after the second phlebotomy, Hb was not significantly decreased in the 600 group ($101 \pm 6\%$), while it was decreased significantly in both the 200 group ($96 \pm 6\%$) and the 400 group ($97 \pm 4\%$) against the preadministration level. The Hb decrease in the 400 group was smaller than that in the 200 group, and it was clinically acceptable. Compared to previous studies at two institutions, equal dosages of rHuEPO at equal frequencies appeared to be more effective with SC administration than with intravenous (IV).

None of the 47 patients showed any adverse effects or abnormal laboratory data attributable to rHuEPO administration.

Our results indicated that a once a week SC administration of rHuEPO at a dose level of 400 IU/kg or more could improve post-phlebotomy anemia as effectively as higher frequency IV administration.

結 言

自己血輸血法は、輸血感染症の伝播¹⁾や移植片対宿主病 (GVHD)²⁾などの同種血輸血に伴う輸血副作用を防止する方法として極めて有用である。術前に貧血例が少ない整形外科予定手術は、特に適応が大きい。

ところが現在一般に行われている術前貯血法 (液状保存法)は、1週に1回だけ、しかも血中ヘモグロビン (以下 Hb) 値が11g/dl 以上ある場合にのみ採血できる³⁾という制約があるために、術前の限られた期間内に必要量を貯血できない場合もある。必要量を貯血できない場合には手術が延期されることもあり、患者の負担は大きくなる。

近年開発された遺伝子組換えヒトエリスロポエチン⁴⁾ (Recombinant human erythropoietin, 以下 rHuEPO) は、内因性エリスロポエチン欠乏が原因である腎性貧血を改善することが確認され^{5)~7)}、透析患者の腎性貧血の治療薬として現在広く使用されている。この rHuEPO を静脈内投与することにより自己血採血後の貧血も改善され

ることが明らかになった^{8)~10)}。しかし、rHuEPO 週1回静脈内投与では Hb 値の回復が不十分なため週2~3回の投与を必要とし、自己血貯血のために週1回来院する患者にさらに負担を強いることになる¹¹⁾。

一方皮下投与は、透析患者に対する使用例^{12)~15)}や KRN5702 第 I 相試験の結果¹⁶⁾から静脈内投与と同等以上の造血効果を有することが判明した。そこで、皮下投与ならば週1回の投与だけで、自己血採血後の貧血を改善できるかどうか、多施設共同臨床試験により検討したので報告する。

対象および試験方法

1. 対象

KRN5702研究会に参加した全国8施設 (表1) において、800ml 又は1200ml の貯血で手術時出血に対応できる整形外科予定手術患者49例が試験に参加した。参加者の中で rHuEPO の反応が健康人と異なると考えられる慢性関節リウマチ¹⁷⁾、全身性エリテマトーデスの各1例を除く男性7例、女性40例の計47例を対象とした。47例には、

表1 試験実施施設

北海道大学医学部	整形外科
千葉大学医学部	整形外科
東京大学医学部	整形外科, 輸血部
慶應義塾大学医学部	整形外科, 内科, 輸血センター
虎の門病院	整形外科, 輸血部
国立病院医療センター	整形外科
都立府中病院	整形外科
九州大学医学部	整形外科, 輸血部

試験除外基準に定められた薬剤による管理困難な高血圧症患者, 呼吸器, 循環器, 肝, 腎などに重篤な合併症を有する者, 脳血管障害の疑いがある者はなかった. 試験実施期間は1990年10月から1991年5月であった.

試験の参加に際しては, 本試験の目的, 方法, 予期される効果ならびに副作用について, その内容を患者に十分説明し, 患者の自由意志による試験参加の同意を原則として文書で得た.

2. 試験薬

キリンビール株式会社で生産された rHuEPO 48,000IU を 1 バイアル (1ml) 中に含有する製剤 KRN5702 を試験薬として用いた.

3. 試験方法 (図1)

1) 試験薬投与: KRN5702は初回採血 1週間前

図1 試験スケジュール.

KRN5702は手術3～4週間前から週1回合計3～4回皮下投与. 鉄剤は, KRN5702投与時から術直前まで経口投与. 自己血採血は KRN5702投与1週間後から開始, 1週に1回の割合で合計3～4回採血.

から手術1週間前まで週1回皮下投与した. 初回投与日は検査終了後に投与し, 採血日は検査および採血終了後に投与した.

KRN5702は200IU/kg から投与を開始し, Hb 値の過度の上昇や合併症などの安全性に問題がないことを確認後, 400, 600IU/kg に順次移行し, 200IU/kg (200SC) 群, 400IU/kg (400SC) 群, 600IU/kg (600SC) 群の3群間の非盲検比較試験を行った.

なお, KRN5702投与期間中に Hb 値が16g/dl 以上になった場合や重篤な副作用の発現または臨床検査値の異常を認めた場合は, 試験担当医師の

表2 検査スケジュール

項 目 \ 時 期	投与開始日	投与後1週	投与後2週	投与後3週	術直前	術直後	術後1週	術後2週
KRN 5702 投与	○	○	○	○				
鉄剤 (経口) 投与	連 日							
採 血		400 ml	400 ml	400 ml				
末梢血液検査	○	○	○	○	○	○	○	○
血液生化学検査 (Fe, UIBC, Ferritin, TP, Alb)	○	○	○	○	○	○	○	○
血液生化学検査 (その他)	○				○			○
血液凝固系検査	○				○			○
血漿エリスロポエチン濃度	○	○	○	○	○			
抗エリスロポエチン抗体	○				○			
バイタルサイン	○	○	○	○	○	○	○	○
自他覚所見	○	○§§	○§§	○§§	○			

§: 800 ml 貯血群では投与後3週の検査なし

§§: 採血日は採血前と採血後30分で観察

判断により KRN5702の投与を中止した。

2) 鉄剤投与：KRN5702投与開始日から手術前日まで原則として1日200mgの経口鉄剤を連日投与した。

3) 自己血採血：自己血採血は、KRN5702投与開始1週間後から開始し、Hb値が11g/dl以上であることを確認後、1回に400ml採血を行った。その後1週に1回の割合で採血し、術式に応じて2回(800ml貯血スケジュール)または3回採血(1,200ml貯血スケジュール)した。

4. 検査項目(表2)

KRN5702投与前または自己血採血前に以下の検査を実施した。

(1) 臨床血液検査

① 末梢血液検査；血色素量 Hb 値，赤血球数 RBC，ヘマトクリット値 Ht，網赤血球 RET，白血球数 WBC，平均赤血球容積 MCV，平均赤血球血色素量 MCH，平均赤血球血色素濃度 MCHC，血小板数 PLT。

② 血液生化学検査；(i) 血清鉄 Fe，不飽和鉄結合能 UIBC，フェリチン値 FER，総蛋白量 TP，アルブミン量 Alb. (ii) その他；GOT，GPT，LDH，Al-p， γ -GTP，総ビリルビン，BUN，クレアチニン，尿酸，Na，K，Cl，P。

③ 血液凝固系検査；プロトロンビン時間 PT，活性化部分トロンボプラスチン時間 APTT，Fibrinogen。

④ 血漿エリスロポエチン濃度(以下血漿 EPO 濃度)，抗エリスロポエチン抗体(以下抗 EPO 抗体)；血漿 EPO 濃度，抗 EPO 抗体は血漿として1ml採取し，-20℃以下で冷凍保存後，(株) エスアールエルで RIA 法¹⁸⁾にて集中測定した。

(2) バイタルサイン；血圧，脈拍

5. 貧血回復率¹⁹⁾(anemia recovery rate ARR)

本試験の採血量は一律1回400mlであったが，体重の分散があるため採血後の Hb 値の変化だけでは群間の比較が困難であると考えられた。そこで，採血1週間後に Hb 値の回復がないと仮定した場合の予測 Hb 低下量と実際の低下量の差(Hb回復量)を KRN5702投与前 Hb 値(初期 Hb 値)と比較することにより ARR を求めた。

$$ARR(\%)$$

$$= \frac{\text{総予測低下量} - \text{実際の低下量}}{\text{初期 Hb 値} \times \text{採血回数}} \times 100$$

ここで

1 回採血あたりの予測 Hb 低下量

$$= \frac{\text{採血量} \times \text{採血直前の Hb 値}}{\text{総循環血液量(TBV)}}$$

実際の低下量 = 初期値 - 手術直前値

尚，本試験では TBV は体重の1/13とした。

6. 術中，術後の出血量，輸血量

術中，術後に輸血した場合には，輸血の種類(自己血か同種血か)，輸血量および輸血時期を記録した。

7. 合併症，臨床検査値異常

合併症や臨床検査異常が発現した場合は，その症状，程度，発現日，持続時間，処置，経過ならびに試験薬との因果関係について調べた。

8. 総合評価

有効性は貯血量，Hb 値の変化から4段階で，概括安全度は副作用，臨床検査値異常から4段階で，有用性は有効性，概括安全度を総合して5段階で評価した。

9. 脱落，中止例の取扱い

脱落，中止した症例は，その月日，理由，ならびにその後の処理，経過などを記録し，その時点で可能な限り評価した。

10. 皮下投与後体内動態試験

対象の中で患者の同意が得られた症例で，KRN5702の200IU/kg，400IU/kg，600IU/kgを単回投与した後の血漿 EPO 濃度の変化を検討した。KRN5702投与直前および投与開始後6，12，24，48，96，168時間の合計7時点の EPO 濃度を測定した。

11. 解析

統計解析は，800ml貯血が25例，1,200ml貯血が12例であったため，投与後3週間までの解析を行った。すべて Statistical Analysis System (SAS)²⁰⁾で行い，くりかえし検定のある場合には分散分析(ANOVA)を用いた。

(1) 背景因子の比較

① 性別などの分類変数；Chi-Square Test で解析した。

② 年齢，体重，初期値などの連続量；Kruskal-

Wallis Test で比較した。

(2) Hb 値の解析

① 初回採血前の Hb 値の上昇；KRN5702投与開始時の初期 Hb 値と投与 1 週後の値との比較を paired T-test で行った。

② 採血後の Hb 値の変化；KRN5702投与 2 週後と 3 週後の 2 時点の値の初期値に対する ratio を対数変換後、解析した。2 時点で測定されていなかった症例および測定された場合でも採血後 5 ～ 9 日の範囲内に測定されなかった症例は統計解析から除外した。

2 時点全体の経時的変化の解析 (time difference) および群間差検定 (dose difference) は多重性を考慮に入れ ANOVA (分散分析) で行った。

(3) その他の検査

KRN5702投与 1 週後、2 週後、3 週後の 3 時点の値の初期値に対する ratio を対数変換後、解析した。Hb 値と同様に経時的変化の分析 (time difference) および群間差検定 (dose difference) を行った。その際、分散構造に問題がなければ投与後 1 または 2 週の内の 1 時点だけが欠けている症例は解析に加えた。

結 果

1. 有効性評価対象症例

対象となった47例は、14～75歳の男性 7 例、女性40例であった。200SC 群15例、400SC 群18例、600SC 群14例の背景因子は手術時出血量を除き、年齢、体重、初期 Hb 値、疾患、貯血量などに有意差がなかった。

しかし、若年者は採血後の貧血からの回復が良好なこと²¹⁾、Hb 値の高い症例は rHuEPO を用いなくとも1,200ml 程度の貯血は可能であること、腎性貧血例で Hb 値の過度の上昇により血栓症が認められた⁵⁾²²⁾ことから、30歳以下の 7 例 (200SC 群の 17, 23, 30歳の 3 例、400SC 群の 14, 18, 27歳の 3 例、600SC 群の 20歳の 1 例) と KRN5702初回投与時の Hb 値が15.0g/dl 以上の 2 例 (400SC 群の 15.8と16.2g/dl の 2 例) および自己血採血後から KRN5702の投与を開始したスケジュール違反の 600SC 群の 1 例の合計10例を除外し、37例を

有効性評価対象とした。なお、安全性評価は47例で行った。

2. 対象症例の背景因子 (表 3)

有効性評価対象の37例は、38～75歳の男性 5 例、女性32例であった。各群の症例数はそれぞれ200 SC 群12例、400SC 群13例、600SC 群12例で、性、年齢、体重、初期値、疾患などの背景因子の分散は、400SC 群の TP が低い ($p < 0.05$) 点を除けば有意差はなかった。

3. 自己血貯血量、出血量 (表 4)

手術が中止となった200SC 群の 1 例を除き、実

表 3 有効評価対象症例の背景因子

	200 SC 群 (N=12)	400 SC 群 (N=13)	600 SC 群 (N=12)	群間差
性 (M/F)	0/12	3/10	2/10	N.S.
年 齢	59±12	55±10	54±11	N.S.
体 重 (kg)	55.1±8.8	55.4±4.6	55.4±10.0	N.S.
TBV (ml)	3650±550	3700±310	3660±690	N.S.
Hb (g/dl)	13.1±1.3	13.0±0.8	12.6±1.0	N.S.
RET (%)	14.1±5.9	15.7±10.9	17.9±6.3	N.S.
MCH (pg)	30.3±1.4	31.2±1.2	31.5±1.5	N.S.
PLT ($10^4/\text{mm}^3$)	28.9±6.0	24.7±8.0	27.0±7.3	N.S.
TP (g/dl)	7.2±0.5	6.8±0.6	7.4±0.5	*
FER (ng/ml)	57±40	73±42	47±31	N.S.
Fe ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	133±63	94±23	95±43	N.S.
EPO (mU/ml)	24.0±7.6	26.3±7.9	19.0±6.1	N.S.
変形性股関節症	10	11	10	N.S.
特発性大腿骨頭壊死	0	0	1	
変形性膝関節症	2	0	1	
脊椎疾患	0	2	0	

* : 群間差あり ($p < 0.05$), N.S. : 群間差なし (Mean±S.D.)

表 4 有効評価対象症例の手術時出血量と貯血量

	200 SC 群 (N=11) [§]	400 SC 群 (N=13)	600 SC 群 (N=12)	群間差
人工股関節置換術	7	11	8	N.S.
骨盤骨切り術	1	0	2	
大腿骨骨切り術	1	0	1	
人工膝関節置換術	2	0	1	
脊椎手術	0	2	0	
出 術 中	500±380	910±490	740±590	N.S.
術 後	480±220	730±510	560±350	N.S.
血 量 総 量	980±470	1640±850	1300±660	N.S.
貯 貯 血 量 (ml)	1100±300 ^{§§}	1090±330	1130±240	N.S.
血 1回採血あたりの貯血量 (ml/kg)	7.4±1.2	7.3±0.6	7.4±1.3	N.S.

§ : 200 SC 群の手術中止の 1 例を除く11例で検討, (Mean±S.D.)

§§ : 200 SC 群の貯血量は12例で検討

N.S. : 群間差なし

施した手術は3群間に有意の差がなく、貯血した自己血液量にも差がなかった。出血量は400SC群の総出血量が多かった($p=0.0632$)が、36例全例同種血輸血を回避できた。

4. 末梢血液像の推移。

(1) Hb 値

① 初回採血前の変化(表5)

統計解析を行った36例(200SC群11例, 400SC群13例, 600SC群12例)のHb値は初期値に比し

有意に上昇し, 200SC群は $0.4 \pm 0.6 \text{ g/dl}$ (初期値の $3 \pm 5\%$), 400SC群は $0.9 \pm 0.6 \text{ g/dl}$ ($7 \pm 4\%$), 600SC群は $0.5 \pm 0.6 \text{ g/dl}$ ($4 \pm 5\%$)上昇した。これらのHb値の上昇は、群間に差がなかった。

② 採血開始後の変化(表6, 図2)

統計解析は32例(200SC群11例, 400SC群11例, 600SC群10例)で行った。400ml採血1週後(投与開始2週後)には200SC群と400SC群のHb値は低下したが、600SC群は逆に初期値よりも有意

表5 検査値の推移(欠測例を含む)

項目	200 SC 群					400 SC 群					600 SC 群				
	0週	1週	2週	3週	4週	0週	1週	2週	3週	4週	0週	1週	2週	3週	4週
Hb (g/dl)	13.1±1.3 [*] (12)	13.5±1.1 (11)	12.7±1.0 (12)	12.3±1.0 (11)	12.3±0.4 (5)	13.0±0.9 (13)	13.9±1.1 (13)	12.9±0.8 (12)	12.8±1.0 (12)	13.0±0.9 (2)	12.6±1.0 (12)	13.1±0.9 (12)	13.0±1.2 (11)	12.7±1.1 (11)	12.9±1.2 (5)
RET (%)	14.1±5.9 (11)	30.8±6.9 (10)	33.7±12.3 (11)	44.6±17.8 (10)	43.4±15.3 (5)	15.7±10.9 (10)	29.7±10.3 (11)	37.8±18.3 (9)	38.7±16.0 (9)	31.0±5.7 (2)	17.9±6.3 (8)	47±19.2 (9)	63.7±24.4 (10)	55.4±20.2 (9)	65.7±35.0 (3)
MCV (fl)	90.6±4.3 (12)	91.1±3.3 (11)	93.5±3.5 (12)	94.6±4.9 (11)	97.1±5.7 (5)	93.4±3.5 (13)	94.3±4.1 (13)	94.4±3.9 (12)	95.3±4.1 (12)	95.7±2.8 (2)	93.8±4.8 (12)	94.4±5.0 (12)	96.3±4.3 (11)	96.5±4.1 (11)	94.7±2.9 (5)
MCH (pg)	30.3±1.4 (12)	30.6±1.5 (11)	31.1±1.9 (12)	31.2±1.6 (11)	31.5±2.0 (5)	31.2±1.2 (13)	31.0±1.2 (13)	31.1±1.3 (12)	31.2±1.2 (12)	31.3±0.7 (2)	31.5±1.5 (12)	31.5±1.4 (12)	31.6±1.4 (11)	31.1±1.3 (11)	30.9±0.8 (5)
MCHC (%)	33.5±0.9 (12)	33.6±0.8 (11)	33.3±1.1 (12)	33.0±0.7 (11)	32.6±0.6 (5)	33.4±0.8 (13)	32.9±0.6 (13)	33.0±1.3 (12)	32.7±0.8 (12)	32.7±0.3 (2)	33.5±1.0 (12)	33.8±0.9 (12)	32.8±0.8 (11)	32.3±1.0 (11)	32.6±0.6 (5)
PLT ($10^4/\text{mm}^3$)	28.9±6.0 (12)	31.5±8.1 (11)	30.9±7.3 (12)	33.3±7.1 (11)	28.5±7.3 (5)	24.7±8.0 (13)	26.8±8.8 (13)	29.7±10.1 (12)	30.7±10.0 (12)	28.9±10.6 (2)	27.0±7.3 (12)	28.0±6.6 (12)	30.0±7.2 (11)	33.7±5.6 (11)	33.8±4.7 (5)
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	62±17 (12)	57±13 (11)	53±16 (12)	56±15 (11)	43±6 (5)	53±12 (13)	53±11 (13)	52±15 (12)	46±9 (12)	46±3 (2)	59±18 (12)	52±8 (12)	50±9 (11)	50±9 (11)	49±16 (5)
TP (g/dl)	7.3±0.5 (11)	7.4±0.4 (9)	7.1±0.5 (11)	7.0±0.4 (9)	6.8±0.4 (5)	6.8±0.6 (10)	7.4±0.6 (9)	6.7±0.5 (11)	6.9±0.6 (9)	6.7±0.5 (2)	7.4±0.5 (11)	7.4±0.4 (10)	7.3±0.6 (9)	7.0±0.4 (9)	7.3±0.6 (5)
Alb (g/dl)	4.2±0.3 (11)	4.3±0.3 (9)	4.2±0.4 (11)	4.3±0.3 (9)	4.2±0.4 (5)	4.1±0.3 (10)	4.5±0.2 (8)	4.0±0.4 (11)	4.1±0.4 (10)	4.0±0.1 (2)	4.3±0.4 (10)	4.4±0.3 (11)	4.2±0.4 (9)	4.2±0.3 (9)	4.4±0.4 (5)
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	133±63 (11)	92±62 (9)	95±64 (10)	72±47 (10)	62±49 (4)	94±23 (11)	94±75 (12)	67±30 (11)	66±34 (10)	48 (2)	95±43 (10)	70±50 (11)	83±43 (10)	91±61 (11)	30±7 (5)
UIBC ($\mu\text{g/dl}$)	220±76 (11)	240±73 (9)	244±42 (10)	263±58 (10)	237±56 (3)	223±33 (10)	237±82 (12)	262±64 (10)	244±37 (9)	318 (2)	187±66 (9)	238±45 (10)	239±49 (11)	227±54 (11)	276±31 (4)
FER (ng/ml)	57±40 (9)	30±12 (6)	40±30 (10)	49±39 (10)	77±49 (4)	73±42 (9)	51±25 (10)	49±20 (8)	55±63 (9)	26±4 (2)	47±31 (10)	32±18 (10)	26±13 (10)	24±12 (8)	17±0 (2)
EPO (mU/ml)	24.0±7.6 (9)	22.8±5.3 (6)	29.2±9.5 (6)	37.8±9.4 (5)	31.7±9.8 (3)	26.3±7.9 (9)	25.7±8.8 (9)	31.0±11.4 (11)	28.0±8.4 (9)	24.8±12.2 (2)	19.0±6.1 (8)	34.1±12.9 (10)	36.7±16.9 (6)	29.1±8.6 (3)	22.8 (1)

※: 初回採血前のHb値の上昇は本表から解析した。200SC群は投与開始1週後の欠測例を除いた11例で解析した。

(Mean±S.D.)

表6 検査値の推移(欠測例を除外)

項目	200 SC 群					400 SC 群					600 SC 群				
	0週	1週	2週	3週	(N)	0週	1週	2週	3週	(N)	0週	1週	2週	3週	(N)
Hb (g/dl)	12.9±1.2	13.5±1.1 [*]	12.7±1.0	12.3±1.0 [*]	(11)	13.1±0.8	14.0±1.1 ^{**}	13.0±0.8	12.6±0.9 [*]	(11)	12.7±1.0	13.3±0.9 [*]	13.2±1.1 [*]	12.9±1.1	(10)
RET (%)	14.4±6.1	31.0±7.2 [*]	34.4±12.7 [*]	44.6±17.8 [*]	(10)	15.5±11.5	31.4±11.8 [*]	44.3±19.3 [*]	40.4±16.2 ^{**}	(8)	17.9±6.8	51.7±19.4 [*]	68.7±22.6 [*]	58.3±21.3 [*]	(7)
MCV (fl)	90.2±4.2	90.8±3.3 ^{**}	93.3±3.6 ^{**}	94.6±4.9 ^{**}	(11)	92.9±3.0	93.9±4.1	94.1±3.9 [*]	95.3±4.0 [*]	(12)	93.0±4.1	93.5±4.2	95.5±3.6 ^{**}	96.5±4.1 ^{**}	(11)
MCH (pg)	30.2±1.4	30.5±1.6	31.2±2.0 [*]	31.2±1.6 [*]	(11)	31.1±1.2	31.0±1.2	31.1±1.3	31.2±1.2	(12)	31.2±1.2	31.3±1.3	31.4±1.3	31.1±1.3	(11)
MCHC (%)	33.6±0.9	33.6±0.9	33.4±1.1	33.0±0.7	(11)	33.5±0.8	33.0±0.6 [*]	33.1±1.2	32.7±0.8 ^{**}	(12)	33.5±1.0	33.5±0.9	32.9±0.8	32.3±1.0 ^{**}	(11)
PLT ($10^4/\text{mm}^3$)	29.4±6.0	32.2±8.1	31.8±6.9	33.3±7.1 [*]	(11)	25.0±8.2	26.8±9.2 [*]	29.2±10.4 [*]	30.7±10.0 [*]	(12)	28.4±5.9	29.1±5.6	31.6±5.0 [*]	33.7±5.6 [*]	(11)
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	62±17	59±13	55±15	56±15	(11)	52±12	54±11	52±16	46±9	(12)	60±18	52±9	51±9	50±9	(11)
TP (g/dl)	7.2±0.4	7.4±0.4	7.1±0.5	7.0±0.4	(9)	7.0±0.7	7.4±0.7	6.6±0.5	6.9±0.7	(7)	7.4±0.5	7.4±0.4	7.3±0.6	7.0±0.4 ^{**}	(9)
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	137±65	94±66 [*]	95±64 [*]	72±47 ^{**}	(10)	93±23	116±88	76±30	69±36	(8)	96±45	66±51	74±41	72±46	(9)
UIBC ($\mu\text{g/dl}$)	220±80	245±77	244±42	263±58	(10)	234±11	216±82	233±26	235±29	(7)	180±68	233±46	242±55	239±51	(8)
FER (ng/ml)	59±43	30±12	44±30	46±34	(8)	80±45	56±26	45±19 ^{**}	34±13 ^{**}	(7)	56±34	35±20 ^{**}	28±15 ^{***}	24±13 ^{**}	(7)
EPO (mU/ml)	24.6±10.6	22.3±5.8	29.8±10.5	37.8±9.4 [*]	(5)	22.4±5.7	25.7±6.6	35.1±9.9	26.1±9.5	(6)	23.8±4.5	26.5±2.6	29.9±6.4 [*]	29.1±8.6	(3)

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

(Mean±S.D.)

採血開始後のHb値の変化および全試験期間中の他の検査値の変化を解析した。

図2 KRN5702投与開始後のHb ratioの変化(各群の初期値との比較)

□: 200SC 群 (11例), △: 400SC 群 (11例), ○: 600SC 群 (10例), *: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$

図3 網赤血球 (RET) の初期値との比較

□: 200SC 群 (10例), △: 400SC 群 (8例), ○: 600SC 群 (7例), *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

に ($p < 0.05$) 上昇した。800m/ 採血 1 週後 (投与開始 3 週後) には 200SC 群と 400SC 群はそれぞれ初期値の $96 \pm 6\%$, $97 \pm 4\%$ へ有意に低下したが, 600SC 群は初期値を維持した。

これらの Hb 値の変化は群間に有意の差があり (dose difference, $p = 0.0485$), 200SC 群および 400SC 群はそれぞれ 600SC 群と比較し低下量が大きかった ($p < 0.05$)。一方, 200SC 群と 400SC 群とでは, 400SC 群が各時点とも高値を推移したが 2 群間には有意の差がなかった。

(2) 網赤血球数 RET (表 6, 図 3)

KRN5702 投与 1 週後から RET は 3 群ともに有意に増加した。600SC 群の上昇が高い傾向にあったが, 群間に有意の差はなかった。

(3) その他の検査値 (表 6)

MCV, 血小板数は経時的に増加した (time difference, $p < 0.0001$) が, 群間に差はなかった。

MCH は, 200SC 群のみ初回投与後 2 および 3 週で有意に増加したが, 400 や 600SC 群は有意な変化がなかった。

MCHC は全体として経時的に低下し ($p < 0.0001$), 特に 400SC 群の 1, 3 週および 600SC 群の 3 週で初期値よりも有意に低下した。

白血球数は軽度の減少が認められたが ($p = 0.0528$), 3 群間で差はなかった。

5. 血液生化学検査値の推移 (表 6)

血清鉄値は全体として経時的に低下傾向があり, 中でも 200SC 群は有意に低下した。しかし, 群間には差がなかった。

UIBC は全体として増加傾向を示したが, 群間には有意の差がなかった。

フェリチンも経時的に低下し, 特に 400SC 群と 600SC 群が有意に低下したが, 群間に有意な差はなかった。

総蛋白量は全体として経時的に有意に ($p = 0.0004$) 低下したが 3 群間に有意の差はなかった。

6. 血漿 EPO 濃度 (表 6)

全体として経時的に増加 ($p = 0.0075$) し, 特に 200SC 群の投与後 3 週では有意に ($p < 0.05$) 増加した。

7. 貧血回復率 ARR

200SC 群は $7.6 \pm 4.5\%$ 、400SC 群は $8.6 \pm 2.9\%$ 、600SC 群は $10.2 \pm 2.7\%$ であった。200SC 群は600SC 群よりも低値 ($p=0.0844$) であった。

8. 単回皮下投与後体内動態試験 (図4)

体内動態試験を実施した200SC 群2例、400SC 群3例、600SC 群2例は全例、投与後12時間から24時間の間で血漿 EPO 濃度が最大 (200SC 群: 232と264mU/ml, 400SC 群: 572と365と607mU/ml, 600SC 群: 940と797mU/ml) となり、その後徐々に減少した。しかし、投与4日後の時点でも7例とも血漿 EPO 濃度は50mU/ml を上回った。投与1週間には200SC 群の2例、400SC 群の3例が投与前値に復したが、600SC 群の2例 (50.9と55.4mU/ml) は投与前値 (25.7と40.6mU/ml) を上回っていた。

9. 合併症、臨床検査値異常

試験期間中の合併症 (表7) は、200SC 群、400SC 群、600SC 群に各1例 (47例中3例6.4%) あった。3例とも主治医により KRN5702投与との因果関係は多分なしと判断され、投与を継続した。

臨床検査値異常 (表8) は47例中3例 (6.4%) にあったが、200SC 群の1例と400SC 群の1例は試験開始前から γ -GTP が高値であった例で、術前までにその増悪はなかった。元来慢性肝炎を合併していた200SC 群の1例は、投与前から投与終了時 (手術直前) まで諸検査値が高値を示したが、手術2週間には低下した。いずれも KRN5702投与との因果関係は多分なしと判断された。また、Hb 値が16g/dl 以上となったため KRN5702投与を中止した例はなかった。

10. 抗 EPO 抗体

図4 KRN5702単回皮下投与後の血漿 EPO 濃度の推移

□: 200SC 群 (2例), △: 400SC 群 (3例), ○: 600SC 群 (2例)

抗 EPO 抗体は全例検出されなかった。

11. 総合評価 (表9)

(1) 有効性評価

200SC 群は有効率83%, 400SC 群および600SC 群はそれぞれ有効率100%であった。著効率は、それぞれ42%, 92%, 92%であった。

(2) 概括安全度

安全性評価対象47例中、KRN5702に起因すると考えられる副作用は認められず、全例安全性に問題がないと判定された。

(3) 有用性評価

200SC 群は有用以上が12例中10例 (83%), 400SC 群および600SC 群は有用以上が各々13例中13

表7 試験期間中の合併症

症 状	投与群	発現時期	程度	投薬	経過	試験薬剤との因果関係	貯血との因果関係	主治医のコメント
頭重感・めまい	200 SC	術前2週	軽度	継続	軽快	多分なし	多分あり	自己血採血後の症状?
左頸部に浮腫	400 SC	術前17日	軽度	継続	軽快	多分なし	多分なし	因果関係はないと思われる
むかむかする気持ち悪い	600 SC	術前17日	軽度	継続	軽快	多分なし	—	投与した鉄剤によるものと考えている

表8 試験期間中の臨床検査値異常

項 目	投与群	推 移			試験薬剤と の因果関係	貯血との 因果関係	主治医の コメント
		投与前	術直前	術後2週			
γ -GTP 上昇	200 SC	67	58	110	多分なし	多分なし	
GOT 上昇	200 SC	95	150	130	多分なし	多分なし	慢性肝炎 のため
GPT 上昇		98	136	103			
LDH 上昇		434	407	385			
Al-p 上昇		283	241	161			
γ -GTP 上昇		93	92	51			
Al-p 上昇	400 SC	289	260	—	多分なし	多分なし	
γ -GTP 上昇		268	76	—			

表9 総合評価

		200 SC 群	400 SC 群	600 SC 群
有 効 性	症 例 数	12	13	12
	著 効	5	12	11
	有 効	5	1	1
	やや有効	2	0	0
	無 効	0	0	0
概 括 安 全 度	症 例 数	15	18	14
	安全性に問題なし	15	18	14
	安全性にやや問題があるが そのまま投薬が継続できた	0	0	0
	安全性にやや問題があり、 投与を一時中止した	0	0	0
	安全性にやや問題があり、 投与を中止した、あるいは すべきだった	0	0	0
有 用 性	症 例 数	12	13	12
	きわめて有用	6	12	11
	有 用	4	1	1
	やや有用	2	0	0
	有用とは思われない	0	0	0
	好ましくない	0	0	0

例, 12例中12例で100%であった。

考 察

1. rHuEPO 皮下投与の必要性

rHuEPO の静脈内投与は自己血採血後の貧血の回復を促進する手段として有効である。しかし、静脈内投与では効果持続時間が短い(半減期約5時間¹⁶⁾)、十分な効果を得るには週2～3回の投与が必要となる。

一方、透析患者に対する rHuEPO 皮下投与の試みが、1988年から行われてきた。Bommer は連日または週3回の皮下投与¹²⁾¹³⁾、Eschbach¹⁴⁾は週

3回の皮下投与、McMahon¹⁵⁾は週2回の皮下投与を行っている。いずれの研究でも、皮下投与は静脈内投与よりも優れた造血効果を示している。しかし、これらはすべて透析患者でしかも週2回以上投与した結果である。

貧血のない整形外科予定手術患者に対して週1回の皮下投与が有効かどうかについては、これまで研究されていなかった。そこで、本試験に先立ち健常人に対する皮下投与第I相試験が実施された¹⁶⁾。この結果皮下投与の場合も rHuEPO に起因すると考えられる臨床症状、臨床検査値などの異常はなく、静脈内投与と同様に安全であると考えられた。また、単回皮下投与後の網赤血球は静脈内投与後の値よりも有意に高値で、ヘマトクリット値の変化も有意ではなかったが高値であった。すなわち、健常人に対しても静脈内投与と同等あるいはそれ以上の効果を期待できると考えられた。その原因としては rHuEPO 投与後の血漿 EPO 濃度の変化が考えられた。200IU/kg を単回投与した場合の血漿 EPO 濃度の最高値は、皮下投与では12時間後の $242.3 \pm 116.4 \text{ mU/ml}$ ¹⁶⁾、静脈内投与では10分後の $3,882 \pm 292.7 \text{ mU/ml}$ (unpublished data) で、皮下投与は静脈内投与の1/10以下であった。しかし、投与24時間後には皮下投与群の EPO 濃度は静脈内投与群よりも逆に高値となった。血中半減期も静脈内投与法は約5時間であったのに対し皮下投与法は約22時間であった。すなわち、静脈内投与は血漿 EPO 濃度が必要以上に上昇し、一定のレベルに維持することは難しいのに対し、皮下投与後の EPO 濃度は初期値

よりも長時間高値を保ち、その低下も緩除であったことが原因であると考えられた。

そこで本試験では、自己血採血後の貧血に対し、週一回皮下投与法の有用性を検討した。

2. KRN5702皮下1回投与量

本試験で200SC群、400SC群、600SC群の3群とも初回採血前の1週間にHb値が有意に上昇し、KRN5702皮下投与の造血効果が認められた。

一方、KRN5702投与開始後2および3週の時点のHb値の変化は群間に有意の差($p < 0.05$)があり、200SC群や400SC群のHb値の低下は、600SC群よりも有意に大きかった($p < 0.05$)。200SC群と400SC群のHb値の低下には有意の差がなかったが、400SC群のHb値は200SC群のそれよりも高値で推移した。

ARRは群間に有意の差がなかったが、200SC群と比較し600SC群は高い傾向($p = 0.084$)にあった。

以上からKRN5702の採血後貧血に対する効果は投与量依存性であると考えられた。又、臨床評価で著効例が、200SC群42%、400SC群、600SC群がそれぞれ92%であったことから、400IU/kg以上の投与量が有効であることが示唆された。自己血採血時の理想は、採血後のHb値が初期値に比べ過度に減少することも増加することなく変化することである。この点からも400IU/kg以上の1回投与量は採血後貧血を理想的に回復させると考えられる。

安全性についても、本試験の結果ではKRN5702に起因する臨床症状、臨床検査値などの異常はなく、臨床上安全に使用できる薬剤と考えられた。

週1回の皮下投与でも採血後貧血を改善することが示唆された原因として、本試験の皮下投与後体内動態試験の結果でも第I相試験と同様に、投与4日後のEPO濃度が初期値を上回っていたことが考えられる。

しかし、本試験では200SC群と400SC群の間には有意の差がなかった。これは、本試験がopen studyであり、最初に投与した200SC群の対象選定には配慮があったことおよび400SC群のTP

が有意に低かったことなどが原因として考えられる。また、統計解析が800m/採血1週後の検査値までで、1,200m/採血後までできなかったことも影響していると考えられる。今後、二重盲検比較試験を行い、皮下投与の至適投与量を決定する必要がある。

3. historical control との比較

37例の皮下投与(SC)群と、ほぼ同時期に2施設で行った32例のrHuEPO非投与群や34例のrHuEPO静注(IV)群を比較した(unpublished data)。比較群の年齢、体重、初期Hb値、術式、鉄剤投与法、採血貯血法、1回採血量はSC3群と有意の差はなかった。また、SC群、IV群ともrHuEPO投与開始時期は初回採血の1週前であった。

1) SC3群と非投与群の比較(図5)から、SC3群は全て非投与群よりも高い貧血の回復を示した(dose difference, $p < 0.0001$)。

2) 200IU/kg週1回投与のSC群とIV群(8例)では、投与開始後3週のHb値はSC群が有意($p < 0.001$)に高かった(図6)。

3) 400IU/kg週1回IV(400IV×1)群(10例)

図5 皮下投与群と非投与群のHb ratioの比較
□: 200SC群(11例), △: 400SC群(11例), ○: 600SC群(10例), ●: rHuEPO非投与(32例)。SC群は非投与群よりも各時点ともHb値が有意に高かった。
***: $p < 0.001$

図6 皮下投与群と静脈内投与群の Hb ratio の比較
□: 200SC 群(11例), ■: 200IU/kg 週1回 IV 群(8例), 投与開始後3週では, 200SC は200IV×1と比較し Hb 値が有意に ($p<0.001$) 高かった。

に対し400SC 群と200IU/kg 週2回 IV (200IV×2) 群(9例)はそれぞれ採血後の Hb 値が有意に ($p<0.01$) 高かった。400SC 群と200IV×2群間には有意の差がなかった(図7)。

4) 600SC 群と300IU/kg 週2回 IV (300IV×2) 群(7例)の採血後の Hb 値は差がなかった。

以上より, SC 群は非投与群や週1回同量投与の IV 群よりも採血後の Hb 値が有意に高値であった。また, 週の総投与量が同じ場合には, 週1回皮下投与の効果は, 週2回静脈内投与とはほぼ同じであり, 週1回皮下投与法は術前貯血法に有効であると考えられる。

4. 自己血初回採血前の rHuEPO の投与期間

本試験では, 初回採血時に Hb 値を上昇することにより採血後の貧血を軽減することを目的として, 初回採血の1週前から rHuEPO の投与を開始した。初回採血時の Hb 値の上昇は600SC 群の 1.5g/dl の1例が最高であったが, Hb 値の上昇による合併症は1例もなかった。また採血前からの rHuEPO 投与は自己血採血後の貧血を防ぐ上では大きな効果があったと考えられる。しかし, 初回採血後から600IU/kg 週1回の皮下投与を併用した報告²³⁾では, 初期 Hb 値 13.9 ± 1.0 g/dl が 800ml 採血後に, 13.0 ± 1.4 g/dl へ低下した。1回

図7 皮下投与群と静脈内投与群の Hb ratio の比較
△: 400SC 群(11例), ▲: 400IU/kg 週1回 IV 群(10例), ★: 200IU/kg 週2回 IV 群(9例), 400SC や200IV×2の Hb 値は400IV×1と比較し, 投与開始後3週で有意に高かった。400SC と200IV×2は, 有意の差がなかった。*: $p<0.01$

でも来院する回数を減らす必要があることから, 今後, 初回採血前から rHuEPO の投与が必要な症例を選択する必要があると考えられる。

5. 鉄剤投与

rHuEPO を併用する術前貯血法には鉄剤の投与が必須である²⁴⁾。本試験では一律に200mg/日の経口鉄剤を投与したが, 200SC 群の MCH が, 400SC 群や600SC 群よりも高値であったこと, MCHC やフェリチンが400SC 群や600SC 群で有意に低下したことから, rHuEPO の投与量に応じた鉄剤投与が必要であると考えられる。

結 語

47例の自己血貯血時の採血後貧血の回復に対し, 遺伝子組換えヒトエリスロポエチン KRN5702の週1回皮下投与の有効性(37例)と安全性(47例)を検討した。有効性の検討では, 37例を200SC 群, 400SC 群, 600SC 群の3群に分け比較検討した。

1) 有効性評価対象37例は800ml または1,200ml を2または3週で貯血でき, 手術中止の1例を除き全例, 同種血輸血を必要としなかった。

2) 200SC 群, 400SC 群, 600SC 群の3群とも

に、KRN5702投与開始後1週でHb値が有意に上昇し、健常者に対する造血効果が認められた。

3) 採血後のHb値の変化および貧血回復率の結果から、採血後貧血の回復に対してのKRN5702の造血効果は投与量依存性であると考えられた。

4) 主治医評価による著効率は、200SC群が42%、400SC群と600SC群が92%であった。

5) historical controlの非投与群との比較から皮下投与は採血後の貧血の回復に有効であった。また同一の投与量、投与回数の静脈内投与よりも高い貧血回復効果があった。

6) 高い貧血回復効果は、単回投与後のEPO濃度が初期値を4日以上上回っていたことが原因であると考えられた。

7) 安全性評価対象の47例で、KRN5702に起因すると考えられる臨床症状、臨床検査値の異常はなかった。

以上の結果から、400または600IU/kg 週1回皮下投与は、2～3回の投与を要する静脈内投与の欠点を克服し、患者の負担を軽減する方法であると考えられた。しかし、至適投与量の決定には二重盲検試験を行う必要があることも示唆された。

謝辞 KRN5702を提供いただいたキリンビール株式会社および三共株式会社に深謝致します。また、統計学的御助言を頂いた三共株式会社渡橋 靖氏に心から感謝致します。

本論文の要旨はInternational Society of Blood Transfusion, 2nd Regional Congress (Hongkong, 1991), 第66回日本整形外科学術集会(福岡, 1992)および第5回自己血輸血研究会(札幌, 1992)で発表した。

文 献

- 1) Ammann, A.J., Wara, D.W., Dritz, S., et al.: Acquired immunodeficiency in an infant. Possible transmission by means of blood products. *Lancet*, 1; 956-958, 1983.
- 2) Juji, T., Takahashi, K., et al.: Post-transfusion graft-versus-host disease in immunocompetent patients after cardiac surgery in Japan. *N. Engl. J. Med.*, 321: 56, 1989.
- 3) 二之宮景光, 脇本信博: 術前貯血式自己血輸血法の標準案作成のための調査並びに試案の報告. *日輸血会誌*, 37; 65-69, 1991.
- 4) Lin, F.K., Suggs, S., Lin, C.H., et al.: Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82; 7580-7584, 1985.
- 5) Winearls, C.G., et al.: Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet*, 2; 1175-1178, 1986.
- 6) Eschbach, J.W., Egrie, J.C., et al.: Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N. Engl. J. Med.*, 316: 73-78, 1987.
- 7) Akizawa, T., Kosikawa, S., Takaku, F., et al.: Clinical effect of recombinant human erythropoietin on anemia associated with chronic renal failure. A multiinstitutional study in Japan. *Int. J. Artif. Organs*, 11: 343-350, 1988.
- 8) Goodnough, L.T., et al.: Increased preoperative collection of autologous blood with recombinant human erythropoietin therapy. *N. Engl. J. Med.*, 321: 1163-1168, 1989.
- 9) Maeda, H., et al.: Erythropoietin and autologous blood donation. *Lancet*, 2; 2841, 1989.
- 10) 脇本信博: エリスロポエチンによる他家血輸血回避への試み. *診断と治療*, 78: 261-268, 1990.
- 11) 脇本信博, 他: 自己血輸血法におけるエリスロポエチンの投与について一採血後貧血の回復が不良な中高齢者に限定して一. *自己血輸血*, 3; 177-182, 1990.
- 12) Bommer, J., Ritz, E., Weinreich, T., et al.: Subcutaneous erythropoietin. *Lancet*, 13; 406, 1988.
- 13) Bommer, J., Samtleben, W., Koch, K.M., et al.: Variations of recombinant human erythropoietin application in hemodialysis patients. *Contr. Nephrol.*, 76; 149-158, 1989.
- 14) Eschbach, J.W., Kelly, M.R., et al.: Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N. Engl. J. Med.*, 321: 158-163, 1989.
- 15) McMahon, L.P. and Dawborn, J.K.: Experience with low dose intravenous and subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin. *Am. J. Nephrol.*, 10: 404-408, 1990.
- 16) 角尾道夫: KRN5702 (エポエチンアルファ) の健常人における第I相臨床試験一単回皮下投与による安全性, 薬物動態の検討一. *臨床医薬*, 8: 2549-2564, 1992.
- 17) Robert, T.M., Nancy, J.O., et al.: Treatment of the anemia of rheumatoid arthritis with

- recombinant human erythropoietin: Clinical and in vitro studies. *Arth. Rheum.*, 32: 638—642, 1989.
- 18) Egrie, J.C., Cotes, P.M., Lane, J., et al.: Development of radioimmunoassays for human erythropoietin as tracer and immunogen. *J. Immunol. Method*, 99: 235—241, 1987.
- 19) 脇本信博: 自己血輸血, カレントセラピー, 7: 1023—1034, 1989.
- 20) SAS Institute Inc.: SAS/STAT™ user's guide, release 6.03 edition. Cary, N.C., U.S.A., 1988, 1028.
- 21) 脇本信博, 中村利孝, 中村 茂, 他: 整形外科領域における貯血式自己血輸血法, 特に若年者と中高齢者の採血後貧血の回復を中心として, 日輸血会誌, 37: 93—98, 1991.
- 22) Prueke, T., et al.: Utilization of erythropoietin in the treatment of the anemia due to chronic renal failure. *Adv. Nephrol.*, 18: 187—206, 1989.
- 23) Watanabe, Y., Fuse, K., Naruse, Y., et al.: Subcutaneous use of erythropoietin in heart surgery. *Ann Thorac Surg*, 54: 479—484, 1992.
- 24) Koumegawa, J., Kawahara, J., Kubo, K., et al.: Recombinant human erythropoietin corrects anemia of blood loss: A study in the dog. *Int. J. Cell Cloning*, 8: 97—106, 1990.
-