

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17042

研究課題名(和文) Development of Extracorporeal Lung and Renal Assist Device [ELRAD]

研究課題名(英文) Development of Extracorporeal Lung and Renal Assist Device [ELRAD]

研究代表者

高橋 希 (Takahashi, Nozomi)

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：30770268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、血液に塩酸や乳酸を投与し血液中の酸塩基平衡を移動させることで血中二酸化炭素濃度を強制的に増加させ、その直後に人工肺で二酸化炭素を除去することで効率的に血中二酸化炭素を除去するシステムを開発した。新規システムは持続血液濾過透析装置に人工肺を組み込み、さらに酸および塩基を投与する構成である。生体豚を用いた実験により、新規システムによって安全かつ効率的に血中二酸化炭素を除去できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症急性呼吸不全患者では血中二酸化炭素濃度を適正域に保つために高い人工呼吸器圧を要するが、これがかえって人工呼吸器関連肺障害を引き起こす。新規システムは酸塩基平衡を用いることで二酸化炭素を除去するものであり、生体豚の実験でその有用性が示されたことは学術的意義があり、さらに安全かつ効率的に二酸化炭素を除去し、同時に腎機能を補助することで重症呼吸不全患者の肺保護戦略を非侵襲的に行うことができると考えられ、社会的意義がある研究成果である。

研究成果の概要(英文)：We developed an extracorporeal lung and renal assist device (ELRAD), comprising acid infusion, membrane lung, continuous hemodiafiltration and alkaline infusion. To evaluate this system, we conducted in vivo studies using experimental swine which were connected to the new system. As a result, a developed CO2 removal system efficiently removed CO2 at low blood flow and reduced minute ventilation, while maintaining acid-base balance within the normal range.

研究分野：救急集中治療医学

キーワード：体外循環 血液濾過透析 人工肺 呼吸不全

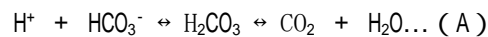
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺コンプライアンスが低下した重症呼吸不全患者では、血中 CO₂ 濃度を保つために高い人工呼吸器圧を要する。この高圧は人工呼吸器関連肺損傷を引き起こすため大きな研究課題である。

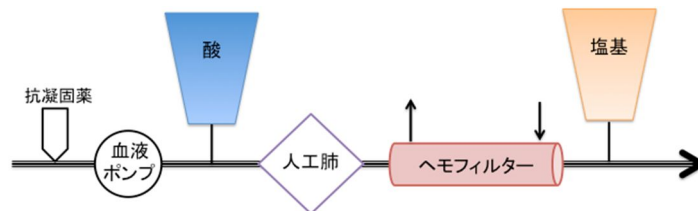
これまで体外循環・人工肺を用いた CO₂ 除去システム(Extracorporeal carbon dioxide removal system, ECCO₂R システム)が開発されてきた。しかし従来の ECCO₂R システムは CO₂ 除去効率が低く十分な CO₂ 除去には太いカテーテル挿入・大量の血流量を要し、臨床応用を制限されてきた。

近年、血液に酸(H⁺)を投与し化学平衡を変化させることによって重炭酸イオンとして溶解している CO₂ をガス化させ、それを人工肺によって効率的に除去する方法が報告された。すなわち、血中における(下式 A)に示す平衡状態において、酸を投与して平衡状態を右側に移動させて溶存 CO₂ を増やすことで効率的に二酸化炭素を除去する方法である。



そこでこの知見を応用し、肺と腎臓の両方の臓器補助能を有する新規人工臓器(Extracorporeal Lung and Renal Assist Device [ELRAD])を開発する本研究を着想した。

体外循環回路内で酸投与後は、体内に戻る前に血液の酸塩基平衡の調整が必須であるが、これまで血液透析を組み込んで酸塩基平衡を調整する方法は報告されていない。そこで下図のように酸を投与後に人工肺を配置し、その後血液浄化を行う回路構成の人工臓器を発案した。



2. 研究の目的

以下に示す *ex-vivo* 実験により至適な CO₂ 除去条件を見だし、それをもとに動物実験で有用性を検証することを目的とした。

(1) *Ex-vivo* 実験系で CO₂ 濃度を 60-70mmHg 程度 (pH7.4) に安定させられる条件を検索する

豚血を用いて、CO₂ 注入用人工肺・CO₂ 除去用人工肺・ヘモフィルターの順番に接続した *ex vivo* 回路を作成し、二酸化炭素(CO₂)注入・除去の *ex-vivo* 実験系を確立する。

(2) CO₂ 濃度が 200-250mmHg (pH 6.8) まで上げられる酸の投与量を明らかにする

豚血に塩酸または乳酸を追加したうえで血液ガス分析を行い、酸の投与量がどの程度であれば溶存二酸化炭素が増加するか確認する。

(3) CO₂ 濃度が酸投与によって効率的に低下することを明らかにする

CO₂ を高くした豚血を用いて、先に作成した *ex vivo* 回路に酸を投与して CO₂ 濃度の減少推移が非酸投与より高まることを確認する。

(4) 酸素流量による CO₂ 除去効率の変化および pH や電解質の変化を確認する

人工肺の酸素流量に関する実験を行い、人工肺の酸素流量の至適化、pH と各種電解質濃度のチェックを行う

(5) 血液透析の至適設定を明らかにする

ヘモフィルターの pH を確認し、透析液流量の至適化に関する実験を行う

(6) 生体豚を用いて *in vivo* 実験を行い、人への応用に向けた課題を明らかにする

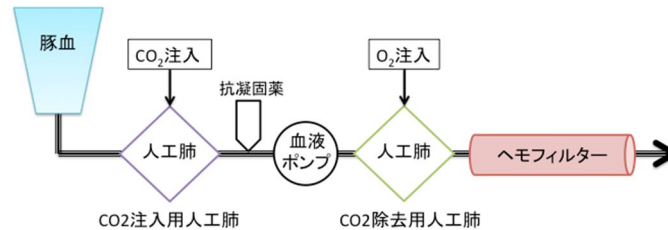
豚による実験を行う。

3. 研究の方法

まずは豚血液などの生体血液を用いた模擬実験を行い、動物実験における各種パラメータの設定を行った。

実験1：二酸化炭素(CO₂)注入・除去の ex-vivo 実験系確立

本実験では豚血を用いて、CO₂注入用人工肺・CO₂除去用人工肺・ヘモフィルターの順番に接続した ex vivo 回路を用いる。以下に回路の概要および実験手順を示す。



【実験手順】

CO₂除去用人工肺のみに酸素を流し、CO₂濃度が人工肺を通して低下することを確認する。
CO₂注入用人工肺のみにCO₂を流し、CO₂が人工肺を通して溶存可能であることを確認する。

CO₂除去用人工肺に酸素、CO₂注入用人工肺にCO₂を流し、CO₂を除去・溶存可能であることを確認する。

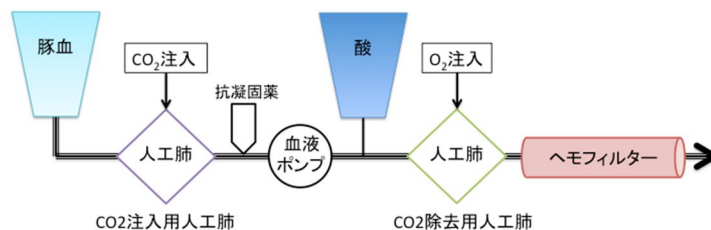
上記実験に通して、CO₂濃度を60-70mmHg程度(pH7.4)に安定させられる条件を検索する。pHは血液浄化や塩基投与で調整する。

実験2：塩酸または乳酸の指摘投与量の実験(塩酸または乳酸を投与し、溶存二酸化炭素増加の確認)

ヘパリン加豚血(20ml または 50 ml)に塩酸または乳酸を追加(0.1, 1, 2, 10, 20, 50ml など量を振る)したうえで血液ガス分析を行う。酸の投与量がどの程度であればCO₂濃度が200-250mmHg(pH 6.8)まで上げられるか確認する。

実験3：Ex-vivo 酸投与実験(CO₂濃度を高める為に必要な酸投与量の最適化)

実験1で見出した条件下で ex vivo 回路を構成し、さらに酸の投与を行う。以下に回路の概要および実験手順を示す



【実験手順】

酸非投与下ではCO₂濃度が高いままだが、実験2で得られた酸投与量ではCO₂濃度が下がり除去効率が高まることを証明する。

またはCO₂濃度60-70mmHg程度(pH7.4)にはじめに揃えて、CO₂注入用人工肺を通してのCO₂投与は行わず、CO₂濃度の減少推移を酸投与 vs 酸非投与で比較する。

実験4：人工肺の酸素流量に関する実験

酸素流量の変化によるCO₂除去効率の変化の確認

酸素流量を1,2,3,4,5Lのように徐々に増加させて、CO₂濃度の低下を確認する。

人工肺後のpHと塩酸投与時のCL濃度の確認。

塩酸投与後の pH および高 CL(クロール)血症の有無を確認する。

実験5：ヘモフィルタ後の pH の確認と透析液流量の最適化に関する実験

人工肺後の pH を確認し、透析液流量を調節する。透析液流量で調節が困難であれば塩基(炭酸水素ナトリウム水溶液)の投与を検討する。

以上の実験を踏まえて、以下に示す動物実験を行うこととした。

動物実験：ex-vivo 実験に基づいた in-vivo 実験

実験用豚に全身麻酔を行い気管挿管、人工呼吸管理とする。また、静脈麻酔に加えて筋弛緩薬を用いることで人工呼吸器依存とする。呼吸器の設定は Assist control モードとして呼吸数は固定し、動脈血液ガスで PCO_2 値が 50mmHg となるように適宜換気圧を調節する。

設定されたタイミングで動脈圧ライン、血液浄化回路脱血部分、膜型人工肺前後、ヘモフィルタ前後、血液浄化回路送血部分で血液ガスを測定する。血液ガス分析で得られる PCO_2 値を元に二酸化炭素除去量 (CO_2) を算出する。

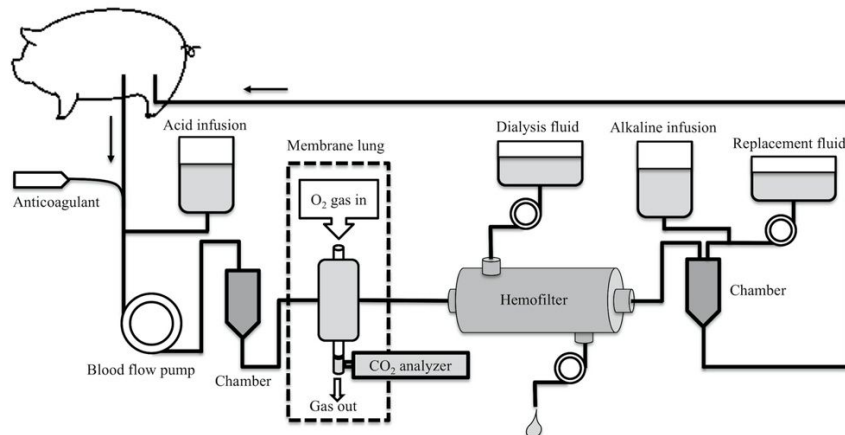
Primary endpoint は動脈圧ラインから測定した血液ガスにおける PCO_2 値を 50mmHg とするために必要となる Pressure control (cmH₂O) 値の推移とする。

また、人工呼吸器下の Peak pressure(cmH₂O)、Plateau pressure(cmH₂O)、Tidal Volume (ml)、Minutes Volume (L/min)の推移、二酸化炭素除去量 (CO_2)、(必要であれば)炭酸水素ナトリウム水溶液の補充量、副作用の有無(腎機能障害、乳酸値上昇等)を測定・観察する。

二酸化炭素が有効に除去できることを評価し、また本研究の目的の一つである「肺保護戦略」に適う各種換気測定圧の低下をもたらすことを証明する。

しかし、実際に上記動物実験を施行したところ、塩基投与を積極的に行わない場合には代謝性アシドーシスの進行により換気圧を減らせないこと、さらに換気圧を減らすと豚の肺において無気肺が生じやすくなり、正確な評価が行えなくなることが分かった。そこで実験計画を見直し、塩基投与としてトロメタモールを採用し、さらに換気圧の調整ではなく呼吸数の調整を行うように修正した。新しい実験計画では以下のプロトコルによる実験を行った。

- ① Baseline プロトコル：血液濾過透析のみ(人工肺に酸素投与を行わない)
- ② 人工肺プロトコル：Baseline プロトコルに加えて人工肺から酸素投与を行う、
- ③ 酸投与プロトコル：人工肺プロトコルに加えて塩酸を持続投与する、
- ④ 塩基投与プロトコル(新規システム)：酸投与プロトコルに加えて塩基を持続投与する
実験中は常に血中二酸化炭素濃度が一定となるように、人工呼吸器の呼吸数のみを調整した。



4. 研究成果

豚血液を用いた実験により,新規システムが有効に作動することを示し,さらに各種必要なパラメータ値の設定を見出した.

これを踏まえた動物実験によって,人工肺によって除去された二酸化炭素量は,酸投与プロトコルおよび塩基投与プロトコルで Baseline プロトコルに比して 1.6 倍となった. さらに,塩基投与プロトコルにおける分時換気量はその他のプロトコルの約半分まで減らすことができた. したがって,新規システムによって安全かつ効率的に血中二酸化炭素を除去できることが分かった.

Table. 動物実験による呼吸の変化

プロトコル	Baseline	人工肺	酸投与	ELRAD
分時換気量 (L/min)	5.53 ± 0.33	3.98 ± 0.21*	4.10 ± 0.28*	2.87 ± 0.21*†‡
呼吸数 (/min)	19 ± 1	14 ± 1*	15 ± 1*	10 ± 1*†‡
一回換気量 (mL)	301 ± 5	302 ± 5	302 ± 5	302 ± 5
最大圧 (cmH ₂ O)	17 ± 0	17 ± 0	17 ± 0	17 ± 0
プラトー圧 (cmH ₂ O)	16 ± 0	16 ± 0	16 ± 0	16 ± 0

Data are mean ± standard deviation. P values were calculated with the use of the paired t-test

* $P < 0.05$ vs Baseline, † $P < 0.05$ vs Membrane lung, ‡ $P < 0.05$ vs Acid infusion

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi N, Nakada TA, Oda S.	4. 巻 21
2. 論文標題 Efficient CO2 removal using extracorporeal lung and renal assist device.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Artif Organs	6. 最初と最後の頁 427-434
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10047-018-1058-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi, N, Nakada TA, Sakai T, Kato Y, Moriyama K, Nishida O, Oda S.	4. 巻 -
2. 論文標題 A CO2 removal system using extracorporeal lung and renal assist device with an acid and alkaline infusion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Artif Organs.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10047-019-01136-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takahashi N, Nakada TA, Oda S
2. 発表標題 The ex-vivo experiment of extracorporeal lung and renal assist device
3. 学会等名 XLV Congress of European Society for Artificial Organs (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 N Takahashi, T Nakada, S Oda
2. 発表標題 The in vivo experiment of extracorporeal lung and renal assist device
3. 学会等名 39th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋希, 中田孝明, 織田成人.
2. 発表標題 Extracorporeal Lung and Renal Assist Device(ELRAD)の開発.
3. 学会等名 第56回日本人工臓器学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----