

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791030

研究課題名 (和文) ヒツジ胎仔を用いた人工胎盤に応用できる模型人工肺の開発

研究課題名 (英文) Development of an artificial placenta using a premature lamb model

研究代表者

北西 龍太 (KITANISHI RYUTA)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：20436116

研究成果の概要 (和文):

心ポンプのみで駆動させて回路内を陽圧に保つ人工胎盤の有用性と安全性について動物実験モデルを用いて検討した。人工胎盤を装着し胎児循環を保ちながらヒツジ胎仔を 15 時間生存させることができたが、高乳酸血症が進行して心ポンプ機能が悪化し、回路内血流量を保てなくなった。並列回路で分葉化させて膜型肺の血流抵抗を減らすことができれば、回路内血流量を維持して生存期間を延長できる可能性がある。

研究成果の概要 (英文):

The purpose of this study was to develop an artificial placenta in the form of a pumpless arteriovenous extracorporeal life support circuit that could maintain fetal circulation. Sheep fetuses survived for more than 15 hours with the artificial placenta while maintaining fetal circulation. Dopamine could increase the mean arterial pressure transiently. However, blood lactate was increased and the cardiac performance was gradually deteriorated over time even while the gas exchange of the artificial placenta was maintained. Elevated mean arterial pressure in our experiment might be achieved by systemic vasoconstriction, which led to decreased systemic organ flow due to increased artificial placental flow, resulted in systemic circulatory failure. It may be important to retain both systemic and circuit circulation by controlling each resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 内科系臨床医学・胎児新生児医学

キーワード： 人工胎盤, 人工羊水, 人工子宮, 胎児循環, 膜型人工肺, 動脈管, マイクロスフェア法

1. 研究開始当初の背景

近年の新生児集中治療の発展によって超低出生体重(出生体重<1,000 g)であってもその90%前後が生存し、75%以上が後遺症なき生存を得られるようになった。しかしながら、成育限界(妊娠<24週, 出生体重<500 g)で出生した超低出生体重児や心肺奇形(複雑心奇形, 横隔膜ヘルニア, 嚢胞性腺腫様奇形など)を合併した低出生体重児の生存率に大きな改善はなく、依然として50%に届かない。

われわれはこのような低出生体重児が救命困難である大きな理由は、そのサイズが小さすぎるために体外式膜型人工肺(ECMO)による補助循環を使用できないことにあると考えた。現行のECMOでは、(1)右心房から十分な脱血量を確保するために、(2)補助循環回路の充填血液量に100ml以上必要とするために、および(3)ローラー型ポンプによって補助循環血流量を調節するために、患児の出生体重が最低でも2,000g以上なければ適応とならない。

そこでわれわれは「ヒト胎盤循環を模した体外式補助循環装置(人工胎盤)」を開発すれば、これまで困難とされてきた生育限界もしくは重篤な心肺奇形を合併した低出生体重児を救命できるのではないかと考えた。この人工胎盤は「脱血カヌラ+膜型人工肺+供血カヌラ」のみで構成されるきわめてコンパクトな補助循環であり、胎盤という最も効率のよい生理的補助循環のコンセプトを応用し、(1)臍帯動脈から脱血して臍帯静脈に供血、(2)心ポンプのみで補助循環ポンプを使用しないことで回路内を陽圧に保ち、(3)酸素化の調節と心血管作動薬による体血管抵抗の変化で回路血流量を増減し、(4)膜型人工肺を並列接続(分葉化)してガス交換面積を調節することによって、低出生体重児にも使用できる補助循環を開発できる可能性がある。

2. 研究の目的

われわれはこれまでヒツジ胎仔の慢性実験系を用いて脳質周囲白質軟化モデル、子宮内炎症モデルおよび慢性肺疾患モデルを開発しており、ヒツジ専用の母胎監視システムと未熟仔集中治療設備を有している。本研究ではこの実験システムを応用して人工胎盤を開発する。

予備実験において既製品中で最も圧力損失と充填量が少ない膜型肺を用いて人工胎盤をヒツジ胎仔に装着したところ50 ml/min/kg以下の回路内血流量しか得られず、ヒツジ胎仔の胎盤血流量が100 ml/min/kg以上であることから、これを用いた実用化は困難であることが明らかとなった。そこで本実

験では圧力損失を軽減させた膜型肺を試作した。

本研究期間内にはこの試作膜型肺を用いて、人工胎盤に必要とされる膜型人工肺の基本仕様を明らかにする。

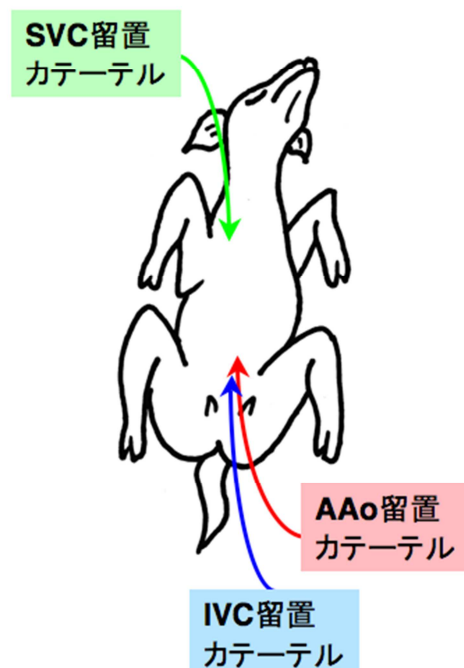
3. 研究の方法

本研究は東北大学動物実験委員会の承認(21医動-4, 22医動-18)のもと東北大学医学部附属動物実験施設内において実施された。対象として妊娠期間が確定したSuffolk種ヒツジの胎仔ならびに未熟仔を用いた。動物実験施設に専用に設営された手術設備と母獣・胎仔集中監視システムを用いて母胎と新生仔を管理した。また、現行の新生児集中治療ではヒツジ未熟仔の生育限界が妊娠130日と報告されているため、本研究では妊娠120~130日に帝王切開して胎仔を娩出させた。

(1)慢性実験系の作成

妊娠115~125日(満期147日)に全身麻酔下に母獣を開腹して子宮を切開し、胎仔の腹部大動脈(SvO₂センサー)、上下大静脈、羊水腔内にカテーテルを留置、心電図電極を固定した後、胎仔を子宮内に戻して閉腹した。以後、胎仔動脈圧、中心静脈圧、羊水内圧を連続監視してパソコンに記録した。手術後5日間を経て一般状態が母仔ともに安定した妊娠120~130日に帝王切開で胎仔を娩出させた。

胎生期のセットアップ



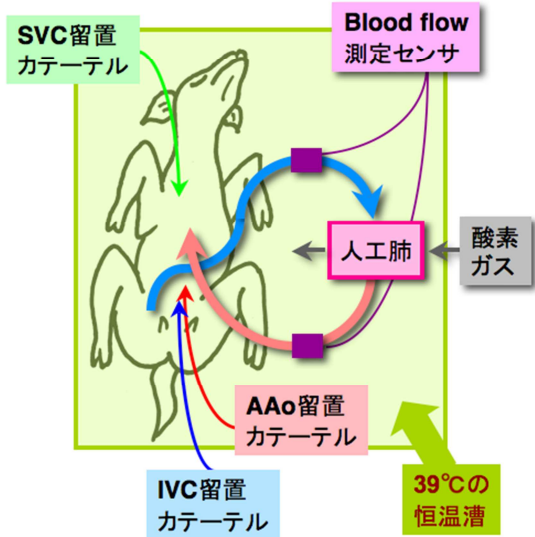
(2) 実験プロトコール

全ての胎仔において出生の 12 時間前に colored- microspher 法を用いて胎仔の胎盤を始めとする各臓器血流量を測定し、これを出生後の測定値に対する対照値として用いた。

出生直前に胎仔の臍帯基部を露出させ、胎盤循環を維持させたまま臍帯動脈と静脈に送脱血用カヌーを 1 本ずつ挿入後、すみやかに人工胎盤回路に接続した。臍帯を切離した後、胎仔を 39℃の保育器内もしくは恒温槽(生理的食塩水)に収容した。

回路内の充填血液にはヘパリン加母獣血を用い、低分子ヘパリンを持続点滴して活性化凝固時間 240 秒以上を維持した。回路内血流量は供血側回路に取り付けたドップラー血流計によって測定した。超音波ドップラー法による心収縮パフォーマンスと各臓器の血流速波形に基づいて体血管抵抗の変化を把握し、必要に応じて酸素化と Ht 値を変化させ、血管作動薬(ハンブ®)と動脈管拡張剤(リブル®)を投与した。各臓器血流量は生後 2 時間と 6 時間に colored-microspher 法によって計測した。胎児死亡後すみやかに剖検し、各臓器組織を切り出して組織病理学的検索ならびに colored-microspher 法による血流量測定に供した。

人工子宮のセットアップ



(3) データ採取と解析

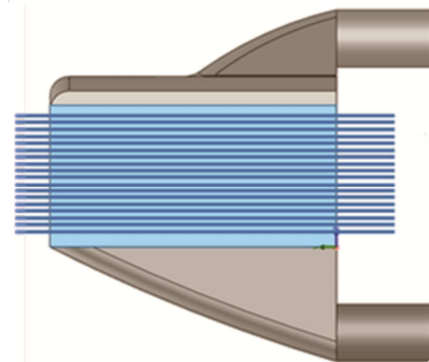
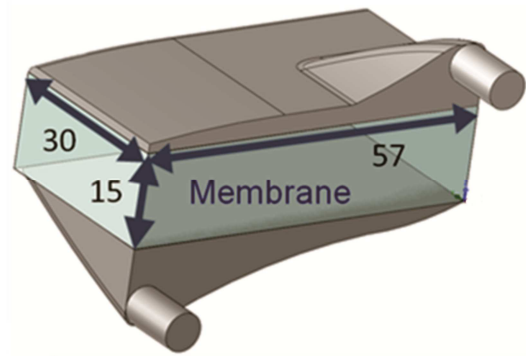
実験中に以下の項目についてデータを採取した; 心拍数, 平均動脈圧, 中心静脈圧, 羊水内圧, 体重, 各臓器における出血性, 虚血性, および炎症性病変の有無, 動脈血のガス分析値, Ht 値, 血漿中の Hb, lactate, glucose, および活性化凝固時間. 人工胎盤回路内の血流量ならびに血圧. また, 生後 2 時間と生後 6 時間の colored microspher 法

による各臓器血流量.

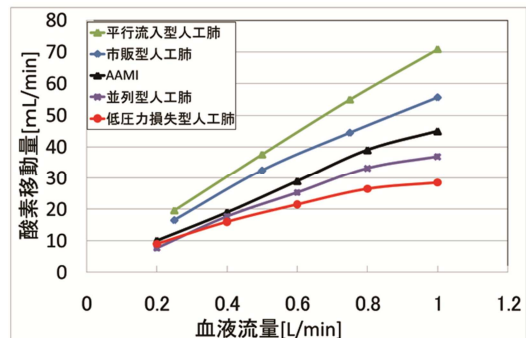
人工胎盤装着中に得られた生理学的パラメータに基づいて, 3 群それぞれに用いた膜型肺の圧力損失特性, 酸素添加能, 炭酸ガス排出能を算出し, これを胎生期の胎盤機能と統計学的に比較することによって, この人工胎盤に求められる基本仕様について考察した。

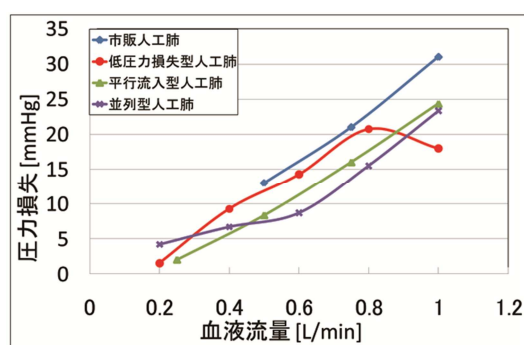
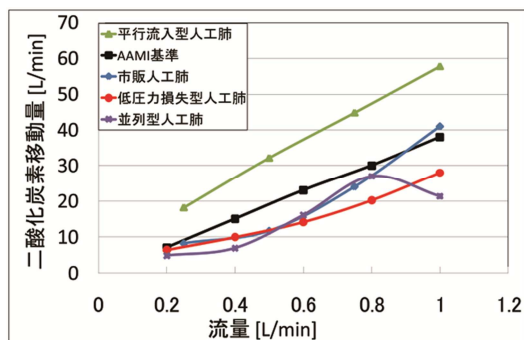
(4) 膜型肺の試作

胎児循環としての十分な酸素化と換気が得られ, かつ血流抵抗の少ない平衡流入型膜型肺を東京電機大学電子情報工学の舟久保講座から協力を得て新規に開発した(血液充填量 32 ml, 膜充填率 43%, 膜面積, 0.300 m²).



上記スペックの「平衡流入型」膜型肺と「市販型」「低圧力損失型」「並列型」について酸素ならびに炭酸ガスの移動量と圧力損失について比較した。ガス移動量はいずれも「市販型」が優れていたが、圧力損失は「平衡流入型」と「低圧力損失型」が優れていたため、平成 21 年度は「平衡流入型」を、平成 22 年度は「低圧力損失型」を用いて実験した。





4. 研究成果

試作膜型肺を用いたことによって、胎仔の Ht 値を 25~35%に設定し、平均動脈圧を 50 mmHg に保つことによって、人工胎盤に 100 ml/kg/min の血流量が得られ、胎仔の動脈血酸素飽和度を子宮内と同じ 50~60%に保つことが出来た。

その結果、5 頭のヒツジ胎仔において 12~30 時間の生存を達成した。これらのヒツジ胎仔では輸血なしで十分な中心静脈圧を維持することができた。人工胎盤回路内の血流量は概ね 100~200 ml/min の間で変動し、体血圧との間に負の相関が認められた。すなわち、体血圧が高くなれば人工胎盤の血流が増え、動脈血 pH は上昇、pCO₂ は減少した。その結果、体血圧は低下に向かい人工胎盤血流は減少した。すると今度は動脈血 pH が下降、pCO₂ は増加することとなり、必然的に体血圧は上昇した。このような適応反応は 30 時間生存した胎仔で最も顕著に繰り返し認められた。

少なくとも出生後 6~12 時間までは膜型肺の酸素添加能や炭酸ガス排出能に重大な劣化は認められなかった (表 1)。

また、出生前 12 時間、出生後 2 時間、出生後 6~12 時間の 3 回にわたって各臓器血流量を測定することができた。出生後 6~12 時間に胎生期と比較して血流量の増加もしくは維持が認められた臓器は心筋、副腎、肝で、

脳組織 (皮質、白質、延髄) と腎臓では血流量が約 2/3 に減少していた (表 2)。

表 1. 東京電機大学による試作膜型肺の性能
生後 2 時間 生後 6~12 時間

酸素添加能 (ml/min, 39°C)	生後 2 時間	生後 6~12 時間
10AP04	14.7	13.9
10AP07	10.7	13.1
10AP08	13.0	11.6
11AP04	10.0	8.4
11AP06	5.9	4.1
平均	12.8	12.9
炭酸ガス排出能 (ml/min, 39°C)		
10AP04	21.5	19.5
10AP07	13.8	18.2
10AP08	19.8	11.9
11AP04	4.9	16.1
11AP06	9.0	10.5
平均	18.4	16.5

表 2. 臓器血流量の変化 (出生後 6~12 時間)

	平均 ± SEM	
脳皮質	0.63	±0.03
脳白質	0.69	±0.03
延髄	0.61	±0.03
左心室	1.38	±0.27
右心室	1.34	±0.29
副腎	1.24	±0.20
肝	1.08	±0.21
腎	0.82	±0.12

いずれの胎仔においても最終的には高乳酸血症の進行が認められ、代謝性アシドーシスによる心収縮障害が死因となったことから、人工胎盤による生存期間の延長を目指す上では高乳酸血症の予防が重要と考えられた。

具体的には、より圧力損失の小さい効率的な膜型肺を開発してこれを並列化 (分葉化) することによって、酸素添加能と炭酸ガス排出能のさらなる改善を得る必要がある。これによって心拍出量低下を防ぎ、臓器への酸素供給量を維持し、組織での嫌気性解糖を減らすことが可能になる。また、回路内血流量を維持することによって、赤血球に著しい嫌気性解糖を強いることなく十分な酸素化を得ることも可能になる。

今後は膜型肺を適時交換しながら、胎児循環生理を十分理解し、人工胎盤による循環管理のレベルアップをはかることが重要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

- 1) 三浦雄一郎, 松田直, 埴田卓志, 北西龍太, 渡辺真平, 斉藤昌利, 三本木慧介. ヒツジ胎仔を用いた人工胎盤の基礎的検討. 第 10 回日本人工臓器学会 (2010/11/20, 仙台).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北西 龍太 (KITANISHI RYUTA)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号: 20436116