

平成 22 年 5 月 23 日現在

研究種目: 若手研究 (B)  
 研究期間: 2007~2009  
 課題番号: 19790755  
 研究課題名 (和文) 人工胎盤を開発するためのヒツジ胎仔を用いた基礎的検討  
 研究課題名 (英文) An artificial placenta using a sheep model  
 研究代表者 三浦 雄一郎 (MIURA YUICHIRO)  
 東北大学・病院・特任助手  
 研究者番号: 20419229

## 研究成果の概要(和文):

本研究の目的は、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するために、ヒト胎盤循環を模した体外式補助循環装置（人工胎盤）を開発することである。ヒツジ胎仔を用いた慢性実験モデルを作成し、試作膜型肺の性能比較を行い、出生後も生理的な胎児循環を維持できる人工胎盤の基本仕様を検討した。臓器への十分な酸素供給量を確保するためにはヒト胎盤と同様に血管抵抗の小さい膜型肺を並列化することが重要と考えられた。

## 研究成果の概要(英文):

Our purpose was to develop an artificial placenta in a form of a pumpless arteriovenous extracorporeal life support circuit, in which infant's own blood pressure drove the system. In an animal experiment using the chronically instrumented fetal sheep, we could demonstrate that this system could support gas exchange and maintain fetal circulation for 15~30 hours. Prolonged support assured cerebral oxygen delivery would require a parallel circuit based on a low resistance oxygenator.

## 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,200,000	630,000	3,830,000

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 100 ml 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 2,000 g 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「脱血カメラ+膜型人工肺+供血カメラ」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.

このような意図に基づいて人工胎盤の有効性を検討した研究は国内外においてこれまで報告されていない. 1990 年代に本邦の二施設 (順天堂大学産婦人科, 神戸大学第二外科) から ECMO を用いてヤギ胎子を恒温水槽内で数日間保育した「人工子宮」の開発を目的とした実験が報告されている. 人工子宮装置とは人工胎盤のコンセプトに加え, 恒温水槽内で胎子を管理する装置である. しかしながら, これまでの報告では胎子の循環不全 (水腫化) を管理できておらず, その後は報告が途絶えている.

## 2. 研究の目的

われわれはこれまでヒツジ胎子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炎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 (中空糸内径 200  $\mu\text{m}$ ) を用いて人工胎盤をヒツジ胎子に装着したところ 50 ml/min/kg 以下の回路内血流量しか得られず, ヒツジ胎子の胎盤血流量が 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 (中空糸内径 400  $\mu\text{m}$ , 膜面積 0.10  $\text{mm}^2 \cdot 0.15 \text{mm}^2$ , 泉工医科工業; 中空糸内径 200  $\mu\text{m}$ , 膜面積 0.30  $\text{mm}^2$ , 東京電機大学 舟久保研究室) を試作した.

本研究期間内にはこの 3 種類の試作膜型肺を用いて, それぞれの性能 (圧力損失, 酸素添加能, 炭酸ガス排出能) を比較すれば人工胎盤に必要なとされる膜型人工肺の基本仕様を明らかにすることができると考えた.

## 3. 研究の方法

本研究は東北大学動物実験委員会の承認 (19-77, 20 病動-3, 21 医動-4) 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. ヒツジの発情期が夏期であるため実験は 10~3 月にかけて行われた. 動物実験施設に専用に設置された手術設備と母獣・胎仔集中監視システムを用いて以下の実験を実施し, ヒツジ胎子慢性実験チームならびに病棟 ECMO チームから人的支援をえて母胎と新生仔を管理してデータを採取し解析した. 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子を娩出させる.

### (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, 胎子の腹部大動脈 (SvO<sub>2</sub> 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, 胎子を子宮内に戻して閉腹した. 以後, 胎子動脈圧, 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 日に帝王切開で胎子を娩出させた.

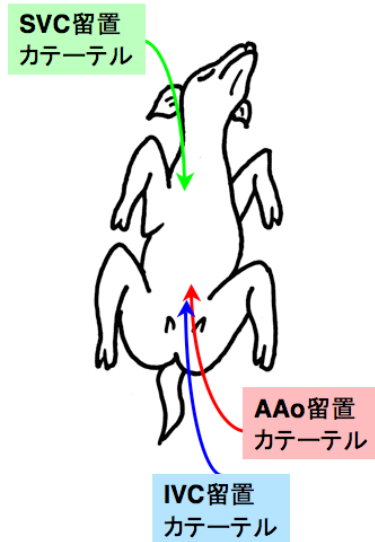
### (2) 実験プロトコール

全ての胎子において出生の 12 時間前に colored- microspher 法を用いて胎子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.

その後, 使用する試作膜型肺によって胎子をランダムに 3 群に分けた (各群 n=4). 使用する膜型肺は MERA SILOX-S 0.5<sup>®</sup> (泉工医科工

業) を中空糸内径 400  $\mu\text{m}$  (90 mm) に置き換えた「充填率 45%, 膜面積 0.10  $\text{m}^2$ 」と「充填率 77.5%, 膜面積 0.15  $\text{m}^2$ 」, および「東京電機大製, 充填率 45%, 膜面積 0.30  $\text{m}^2$ 」の 3 種類の膜型肺をそれぞれの胎仔に用いた。

### 胎生期のセットアップ



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ラを 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°C 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献血を用い、低分子ヘパリンとメシル酸ナファモスタット (フサン®) を持続点滴して活性化凝固時間 240 秒以上を維持して回路内凝血を予防した。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 (ハンプ®) と動脈管拡張剤 (リプル®) 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。

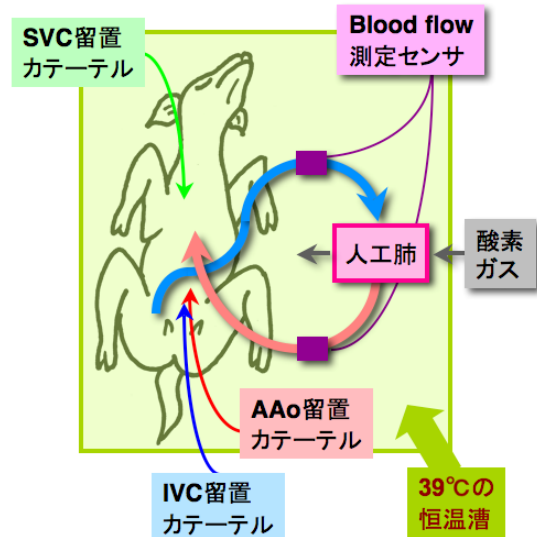
### (3) データ採取と解析

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。

### 人工子宮のセットアップ



## 4. 研究成果

初年度の実験には東京電機大の膜型肺が間に合わなかったため, 泉工医科工業の改良肺だけを使用した. ヒツジ胎仔 (妊娠 125 日) を用いた慢性実験系を作成し 6 頭中 2 頭を 6 時間生存させることが可能であった. Ht 値 20~25% のもと dopamine を持続投与すれば, 駆動ポンプを用いることなく回路血流量 >100 ml/kg/min を維持できた. また, 動脈血酸素分圧を 20~25 torr に管理すれば, 動脈管を収縮させることなく十分な右左短絡血流を維持できることが超音波断層画像ならびにドップラー波形から確認できた。

一方, この膜型肺は膜面積が小さいために酸素化能が弱く (aAPo<sub>2</sub> 0.02~0.04), 貧血性低酸素 (content O<sub>2</sub> 2.1~4.0 mmol/L) も加わったため胎仔に高乳酸血症が遷延した (100~200 mg/dl). 重炭酸塩ならびに種々の循環作動薬を投与してもアシドーシスが進行し, 心収縮能の低下とともに胎児は死亡した。

次年度は上記を踏まえて, 十分な酸素化と換気が得られ, かつ血流抵抗の少ない膜型肺を東京電機大学電子情報工学講座の協力を得て新規に開発した (膜面積 0.200  $\text{m}^2$ , 0.300  $\text{m}^2$ ). 胎仔の Ht 値を 25~30% 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。しかし、種々の循環作動薬 (dopamine, hANP, lipoPGE など) を投与しても高乳酸血症の進行 (100~ 200 mg/dl) を抑えることができずアシドーシスが進行したため、この人工胎盤を装着しても 6 時間以上生存できたヒツジ胎仔は 6 頭中 1 頭のみであった。

一方、この年度最後の実験では試行的に、中心静脈圧を感知して循環血液量を自動的に補正するリザーバ回路を人工胎盤回路に装着して、胎仔を恒温槽 (39℃の生理的食塩水) に浮遊させたところ、一過性に高乳酸血症の改善が観察された。高乳酸血症の進行には体温、循環血液量、および不感蒸泄の管理が重要である可能性が示唆された。なお、この胎仔では出生後 6 時間の臓器血流量は胎生期に比較して、大脳で 1.03 倍、小脳で 1.73 倍、延髄で 2.39 倍、左心室で 1.92 倍、右心室で 1.32 倍、副腎で 2.92 倍に増加していた。

最終年度は、高乳酸血症の進行を食い止めるため、全実験でヒツジ胎仔と人工胎盤回路を恒温槽に浮遊させ、不感蒸泄による体温喪失を最低限にできる中性温度環境下で実験を実施した (n=7)。

その結果、3 頭のヒツジ胎仔において 15~30 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、循環血液量を自動補正するためのリザーバ回路は不要であった。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、pCO<sub>2</sub> 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、pCO<sub>2</sub> 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。

最終年度の実験では少なくとも出生後 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)。

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℃)		
10AP04	14.7	13.9
10AP07	10.7	13.1
10AP08	13.0	11.6
平均	12.8	12.9
炭酸ガス排出能 (ml/min, 39℃)		
10AP04	21.5	19.5
10AP07	13.8	18.2
10AP08	19.8	11.9
平均	18.4	16.5

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、脳では血流量が約 2/3 に減少していた。

表 2. 臓器血流量の変化 (出生後 6~12 時間)

	10AP04	10AP07	10AP08	平均
脳皮質	0.66	0.60	0.58	0.61
脳白質	0.71	0.78	0.58	0.69
延髄	0.58	0.58	0.74	0.63
左心室	1.97	0.77	1.14	1.29
右心室	2.27	1.53	1.09	1.63
副腎	1.20	0.99	1.03	1.07
肝	1.47	0.46	1.28	1.07
腎	1.02	0.89	0.55	0.82

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

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三浦 雄一郎 (MIURA YUICHIRO)

東北大学・病院・特任助手

研究者番号: 20419229

### (2) 研究代表者

松田 直 (MATSUDA TADASHI)

東北大学・病院・准教授

研究者番号: 50361100