

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15401

研究課題名(和文)ポンプレス人工胎盤システムを応用した新生児蘇生デバイスの開発

研究課題名(英文)A possible device for neonatal resuscitation using a pumpless artificial placenta system

研究代表者

松田 直(Matsuda, Tadashi)

東北大学・大学病院・准教授

研究者番号：50361100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：出生前の急性低酸素によって遷延性肺高血圧に陥ったヒツジ新生仔に、ポンプレス人工胎盤を装着すれば、人工呼吸に頼ることなく蘇生できることを実験的に検証した。蘇生方法によって対象を対照群(n=3)、人工換気群(n=3)、人工胎盤群(n=3)に分け、蘇生後24時間に必要とされた人工換気時間を3群間で比較した。人工換気時間(平均±SEM)は対照群 3.0 ± 3.0 、人工換気群 12.3 ± 3.4 、人工胎盤群 6.0 ± 6.0 と人工換気群で長く、人工胎盤群と対照群の間に差はなく、人工胎盤群3例の内2例は人工換気を必要としなかった。以上より、ポンプレス人工胎盤が有効な新生児蘇生システムである可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The study was performed to make clear the efficacy of a pumpless artificial placenta (AP) as a resuscitation device on persistent pulmonary hypertension of newborn, induced by antenatal acute hypoxia, using experimentally instrumented fetal sheep. The fetuses were divided into 3 groups, based on methods for resuscitation; a control, mechanical ventilation (MV) and AP groups (each n=3). The total required hours of the MV at 24 hours after the resuscitation was compared between the 3 groups. The time (mean ± SEM) in the MV group (12.3 ± 3.4) showed to be longer than that in the other 2 groups, no difference was found between the control (3.0 ± 3.0) and AP (6.0 ± 6.0) group and 2 of the 3 fetuses in the AP group was not required MV. The results might suggest the potent efficacy of the pumpless AP system as a neonatal resuscitation device.

研究分野：胎児生理学

キーワード：人工胎盤 人工換気 新生児蘇生 遷延性肺高血圧 胎児仮死 呼吸窮迫症候群 ヒツジ胎仔 動物実験

1. 研究開始当初の背景

近年の周産期新生児医学の発展によってわが国の新生児死亡率は著しく改善したものの、重症感染、胎便吸引、胎児水腫など遷延性肺高血圧によって胎児循環に陥った新生児仮死では、未だその蘇生と集中治療に苦慮することが稀ではない。胎児循環で肺血流が減少した新生児では人工呼吸を用いて有効なガス交換を得ることが難しいからである。

しかし、胎児循環に傾いて肺血流が減少した新生児に対して肺呼吸を強制しようとするから蘇生や集中治療が難しいのであって、人工胎盤システムを用いて胎児循環にもう一度戻せば肺呼吸に頼る必要がなくなり、その呼吸循環管理は容易かつ生理的となる。

われわれはヒト胎盤循環を模した体外式補助循環システム（ポンプレス人工胎盤）を世界に先駆けて開発した (Miura, *Pediatr Res* 2012)。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) 駆動ポンプを使用せず心ポンプのみで回路内を陽圧に保ち、(3) 供給ガスの酸素濃度と流量、回路血流量を調節することによって効率のよいガス交換のもと胎児循環を維持させる (図1, A and B)。

同じ体外式補助循環である ECMO (Extracorporeal membrane oxygenation) との決定的な違いはその簡便性にあり、(1) 回路内容量が小さいためそのプライミングに必ずしも血液製剤を必要とせず、(2) 最も酸素化の良い血液が下大静脈、卵円孔を経て脳に到達し、(3) 血管確保と同時に速やかに循環サポートを開始でき、(4) 電源を必要とせず、ガス供給は蘇生用バッグを用いた手動換気で代用できる。

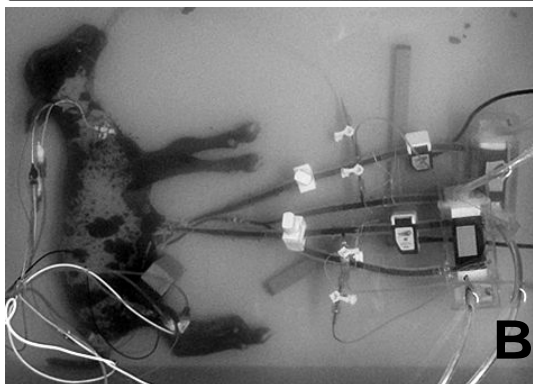
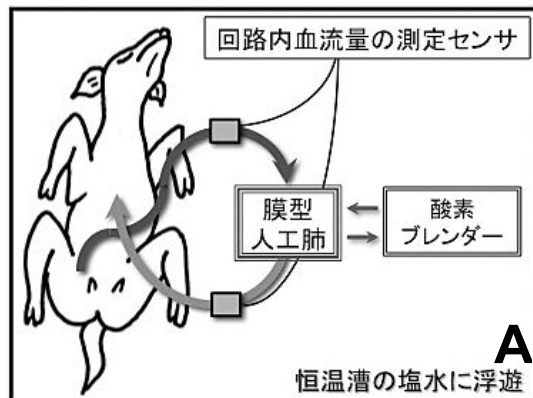


図 1. ポンプレス人工胎盤システムの概念図 (A) ならびにヒツジ胎仔に装着中の写真 (B)。われわれはヒト胎盤循環を模した体外式補助循環を世界に先駆けて開発した (*Pediatr Res* 2012; *PLoS One* 2015; *Artif Organs* 2016)。この装置は「脱血カヌラ+膜型人工肺+供血カヌラ」のみで構成され、胎盤という最も効率のよい生理的循環のコンセプトを応用して、(1) 機械的ポンプを用いず胎児の心ポンプだけで回路内血流量を駆動させ、(2) 臍帯動脈から脱血した血液をガス交換して臍帯静脈に返血し、(3) 体血管抵抗の変化によって回路血流量を自律調節させることで、安定した胎児循環を維持できる。

2. 研究の目的

本研究期間内には、出生時の急性低酸素によって遷延性肺高血圧を生じ胎児循環に陥ったヒツジ新生仔に、ポンプレス人工胎盤システムを装着させて循環管理すれば、人工呼吸に頼ることなく速やかに蘇生できることを実証する。本研究はポンプレス人工胎盤システムを応用した新生児蘇生デバイスを臨床応用するための前臨床試験に位置付けられる。

本研究は呼吸循環不全のため胎児循環に陥った新生児を、人工呼吸ではなく、より生理的な胎盤循環で蘇生しようとする世界初の試みである。気道や呼吸器系の奇形、胸郭もしくは肺の低形成、複雑心奇形など、これまでその救命が困難とされてきた新生児の蘇生や集中治療に広く応用できると同時に、その適応障害によって生じやすい頭蓋内出血や慢性肺疾患を大幅に減少できる可能性を有している。

3. 研究の方法

本研究は東北大学動物実験委員会の承認 (2015 医動-141) 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 種ヒツジの胎仔早産仔を用いた。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 2 年間で合計 12 回行った。

予備実験において Suffolk 種ヒツジ胎仔が肺サーファクタントを産生するのは妊娠 140 日 (満期 147 日、ヒトの妊娠 38 週相当) 以降と確認されたため、本研究には妊娠 140 日以降の胎仔を用いた。

(1) 急性低酸素モデルの作成

妊娠 140 日に Suffolk 種妊娠ヒツジを全身麻酔下に開腹して子宮を切開し、胎仔の大動脈弓、腹部大動脈、上下大静脈にカテーテルを留置、胸壁に心電図電極を固定、気管内挿管して気道確保した。以後、胎仔の心拍数、動脈圧、中心静脈圧を連続監視して記録した。

胎仔をランダムに対照群 (n=4)、人工換気群 (n=4)、人工胎盤群 (n=4) の 3 群に分け、対照群には急性低酸素を负荷せず、そのまま陽圧換気で蘇生した。人工換気群ならびに人工胎盤群では臍帯血流遮断による急性低酸素を 20-30 分間负荷し、重症胎仔仮死の定義に従って「心拍数 <60/分」「平均動脈圧 <30 mm Hg」

「動脈血 pH <7.00」 「血中乳酸値 >80 mg/dl」に達したことを確認してから、それぞれの方法で蘇生と集中治療を開始した。

(2) 蘇生とその後の集中治療

対照群には全身麻酔の影響がとれるまで加圧バッグで手動の補助呼吸を行い、十分な自発呼吸を確認して速やかに抜管した。その後は生後 24 時間まで保育器内で経過観察した。

人工換気群では直ちに人工呼吸による蘇生を開始し、初期設定は酸素濃度 60%、換気回数 60 回/分、吸気時間 0.4 秒、気道内圧 30/5 cm H₂O とした。予備実験においてすでに、この設定にて気胸や縦隔気腫を生じることなく、遷延性肺高血圧から回復できることを確認している。設定は血液ガス分析値ならびに呼吸生理学値（1 回換気量、気道抵抗、動肺コンプライアンス）に基づいて適宜変更し、肺高血圧の程度と経過は超音波ドップラーによる三尖弁逆流速度で評価した。保育器内で全身管理し、生後 24 時間以内に抜管して自発呼吸での管理を目指した。

人工胎盤群は臍帯血流遮断を解除すると同時に、臍帯動脈と臍帯静脈に血管カヌーを挿入し、回路内をヘパリン化生食で充填した膜型肺回路に接続して蘇生した。回路内血液は胎仔の心ポンプのみで駆動させた。初期設定は回路流量 60 mL/kg/分（200~300 mL/分）、供給ガスは酸素濃度 30%、流量 0.2 L/分を手動の加圧バッキングとし、血液ガス分析値に基づいて適宜変更した。保育器内で全身管理し、血液ガス分析値が正常化した時点で加圧バッグによる手動の補助呼吸を行い、十分な自発呼吸が確認できれば人工胎盤回路を遮断して血管カヌーを抜去した。その後は生後 24 時間まで保育器内で経過観察した。

3 群いずれも保育器内を中性温度環境に保ち、鎮静剤、筋弛緩剤、血管作動薬は使用せず、生後 24 時間まで糖濃度 10% の補液で維持輸液した。生後 24 時間を経て胎仔を剖検し、臓器を灌流固定して組織病理学検索に供した。ただし、肺は気道を 10% ホルマリン緩衝液で満たして 20 cm H₂O の圧をかけて固定した。

(3) データの採取と解析

以下の項目について 3 群間で統計学的に比較した：出生体重、人工呼吸もしくは人工胎盤を必要とした時間、血液ガス分析と乳酸値、呼吸生理学パラメータ、生後 24 時間の動脈管閉鎖、剖検ならびに組織病理学所見（とくに脳内出血、脳白質損傷、単位容積当たりの肺胞表面積、肺胞数、平均肺胞径など）。

4. 研究成果

2 年間で合計 12 例のヒツジ胎仔を本実験のために準備し、結果として 9 例（対照群 3 例、人工換気群 3 例、人工胎盤群 3 例）を解析に用いることができた。除外された 3 例の内訳は、不受胎 1 例、実験開始前の分娩 1 例、低酸素負荷中の死亡 1 例であった。

また、2015 年の実験中に、妊娠 140 日の胎仔は呼吸器の未熟性が強く、二次性呼吸窮迫症候群や無呼吸発作を生じやすいことが判明し

たため、それ以降の実験には妊娠 144-146 日の胎仔を用いた。

対象の基礎データを表 1 に示した。3 群間において、胎仔数、実験を行った妊娠日齢、出生体重、脳重に差はなかったが、性別では対照群の全てが雄で、人工胎盤群の全てが雌と偏りが認められた。これらの偏りは、今後、実験例数を追加することによって解消されると考えられた。

表 1. 対象の基礎データ

群 (例数)	対照 (n=3)	人工換気 (n=3)	人工胎盤 (n=3)
単胎/多胎	1/2	2/1	1/2
雄/雌	3/0	2/1	0/3
妊娠日齢	143.7±1.9	144.7±0.3	143.0±1.5
体重 (kg)	4.45±0.37	4.53±0.20	3.70±0.58
脳重 (g)	59.0±0.6	55.8±1.1	56.2±2.3

数値データはいずれも「平均±標準誤差」。

ヒツジ胎仔に負荷された急性低酸素の程度を表 2 に示した。いずれも負荷開始から 3 分ごとに動脈血ガス分析を実施し、「心拍数 <60/分」「平均動脈圧 <30 cm H₂O」「動脈血 pH <7.00」「血中乳酸値 >80 mg/dl」のいずれかに達した時点で、急性低酸素負荷を中止した。

対照群では緩徐に進行する低酸素と乳酸値の上昇が観察されたが、約 20 分間で安定した値となった。人工換気群と人工胎盤群負荷時間に有意な差は認められず、「動脈血 pH <7.00」もしくは「血中乳酸値 >80 mg/dl」にて急性低酸素負荷は中止となった。

各群の例数が 3 例ずつと少なかったため統計学的検定はできなかった。今後、実験例数を追加することによって、動脈血ガス分析データにおいて、人工換気群と人工胎盤群の間に有意差がないこと、対照群と他の 2 群の間に有意差があることを実証できると考えられた。

表 2. 低酸素負荷の程度

	対照 (n=3)	人工換気 (n=3)	人工胎盤 (n=3)
急性低酸素の負荷時間 (分)	20.0±5.0	27.0±6.0	23.0±6.1
負荷終了時の動脈血ガス分析データ			
pH	7.26±0.02	6.90±0.06	6.95±0.07
Pco ₂ (torr)	51.4±3.8	114.0±12.3	82.1±6.6
Po ₂ (torr)	14.7±1.7	10.7±2.0	9.2±1.3
BE	-4.7±0.2	-17.2±3.2	-13.6±3.4
Cont O ₂	2.2±0.4	0.8±0.1	0.8±0.2
Lactate (mg/dL)	57.0±7.4	78.3±15.7	93.3±13.0

数値データはいずれも「平均±標準誤差」。

各群における蘇生の経過を表 3 に示した。

各群それぞれ 1 例が二次性 RDS を発症した。二次性 RDS を発症した対照群と人工胎盤群の新生仔はいずれも妊娠 140 日に出生しており、経過から未熟性に基づく適応障害がその原因と推察された。人工呼吸群で二次性 RDS を発症した新生仔は妊娠 145 日に出生し、実験終了ま

で人工換気から離脱できず、低酸素による組織傷害を契機とした遷延性肺高血圧に陥ったと考えられた。

対照群の3例は無呼吸に対して、2例が酸素投与を、1例が人工換気を必要とし、1例(妊娠140日出生)は無呼吸が原因で死亡した。

人工換気群の3例はいずれも酸素投与と人工換気を必要とし、遷延性肺高血圧に陥った1例は実験終了まで酸素投与と人工換気の両方が実施された。そのため酸素投与ならびに人工換気の実施時間は他の2群に比較して人工換気群で長い傾向が指摘された。

人工胎盤群では、二次性RDSを発症した1例(妊娠140日出生)において、生後2時間で臍帯動脈が自然閉鎖したため、人工胎盤管理ができなくなり、やむなく人工換気が18時間実施された。他の2例は人工換気を必要とせず、酸素投与1-2時間、人工胎盤2-12時間のみで安定した経過であった。

表3. 蘇生の経過

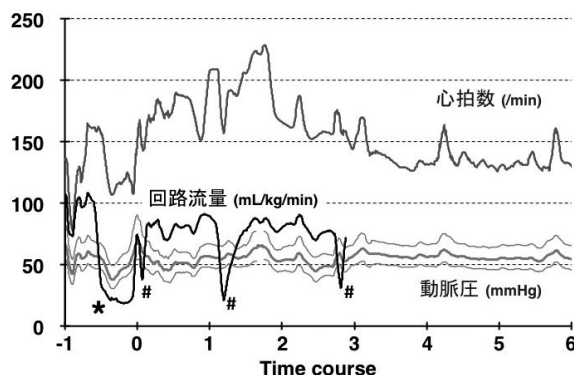
	対照 (n=3)	人工換気 (n=3)	人工胎盤 (n=3)
RDS (+/-)	1/2	1/2	1/2
O ₂ (hrs)	5.7±4.7	10.3±4.5	3.0±1.5
MV (hrs)	3.0±3.0	12.3±3.4	6.0±6.0
AP (hrs)	0.0±0.0	0.0±0.0	5.0±3.5
死亡 (Y/N)	1/2	0/3	0/3

数値データはいずれも「平均±標準誤差」。RDS, 呼吸窮迫症候群; O₂, 酸素投与; MV, 人工換気; AP, 人工胎盤。

人工胎盤で蘇生されたヒツジ新生仔の経過を図2に示した。

妊娠143日のヒツジ胎仔の臍帯血管を30分間圧迫して急性低酸素を負荷した(*)。動脈血ガス分析でpH 7.04, PaCO₂ 70 torr, PaO₂ 11 torr, BE -11.1, 乳酸 68 mg/dL になった時点で、心室頻拍/低血圧に陥ったため、この時点からポンプレス人工胎盤システムで蘇生を開始した。装着後3時間には心拍数と動脈圧が安定し自発呼吸が確認されたため人工胎盤による循環補助を中止できた。その後は生後24時間まで安定した自発呼吸が続き、酸素投与を必要としなかった。経過中、一過性に3回の臍帯動脈収縮が観察された(#)。

図2. 人工胎盤で蘇生された新生仔の経過



以上の結果より、出生時の急性低酸素によって遷延性肺高血圧を生じ胎児循環に陥ったヒツジ新生仔に、ポンプレス人工胎盤システムを装着させて循環管理すれば、人工呼吸に頼ることなく速やかに蘇生できる可能性があることを確認できた。

今後、妊娠144-146日の実験例を各群に2-3例ずつ追加することによって統計学的検定が可能となり、呼吸生理学パラメータ、組織病理学的所見、肺のmorphometry解析を加えることによって詳細な検討が可能となる。引き続き追加実験に期待したい。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計3件)

1. Miura Y, Matsuda T, Usuda H, Watanabe S, Kitanishi R, Saito M, Hanita T, Kobayashi Y. A parallelized, pumpless artificial placenta system significantly prolonged survival time in a preterm lamb model. *Artif Organs* 2016; 40; E61-8. doi: 10.1111/aor.12656. 査読あり。
2. Hanita T, Matsuda T, Saito M, Kitanishi R, Cho K, Harding R, Kobayashi Y. Potential role of prenatal inflammation in the impairment of lung development following mechanical ventilation of preterm lambs. *Reprod Sci* 2016; 24 (3); 478-87. doi: 10.1177/1933719116660846. 査読あり。
3. Miura Y, Saito M, Usuda H, Woodward E, Rittenschober-Böhm J, Kannan PS, Musk GC, Matsuda T, Newnham JP, Kemp MW. Ex-Vivo Uterine Environment (EVE) Therapy Induced Limited Fetal Inflammation in a Premature Lamb Model. *PLoS One* 2015; 10: e0140701. doi: 10.1371/journal.pone.0140701. 査読あり。

(学会発表) (計4件)

1. Watanabe S, Matsuda T, Usuda H, Kitanishi R, Saito M, Hanita T, Kobayashi Y. The redistribution of cardiac output by vasopressin infusion in the premature fetal sheep. *43rd Annual Meeting of the Fetal and Neonatal Physiological Society 2016* (Cambridge, UK); Sep 17-20, 2016.
2. Hanita T, Matsuda T, Usuda H, Kitanishi R, Saito M, Watanabe S, Kobayashi Y. Magnetic resonance imaging is useful for detecting acute phase of cerebral white matter injury in preterm ovine foetus. *43rd Annual Meeting of the Fetal and Neonatal Physiological Society 2016* (Cambridge, UK); Sep 17-20, 2016.
3. Hanita T, Matsuda T, Miura Y, Usuda H, Watanabe T, Kitanishi R, Saito M, Kobayashi Y. A parallelized, pumpless artificial placenta system significantly prolonged survival time in preterm ovine fetus. *42nd Annual Meeting of the Fetal and Neonatal Physiological Society*

2015 (Vancouver, Canada); Aug 9-12, 2015.

4. Saito M, Matsuda T, Usuda H, Watanabe S, Kitanishi R, Hanita T, Yaegashi N. The reaction of fetal cortisol against intra-uterine inflammation and fetal circulatory insufficiency in fetal sheep. *Society for Reproductive Investigation 62nd Annual Scientific Meeting* (San Francisco, CA, USA); March 25-28, 2015.

(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)

<http://www.ped.med.tohoku.ac.jp/newborn/lineup/uwa.html>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

齋藤 昌利 (SAITO MASATOSHI)

東北大学・病院・助教

研究者番号: 00451584

埴田 卓志 (HANITA TAKUSHI)

東北大学・病院・助手

研究者番号: 30400360

北西 龍太 (KITANISHI RYUTA)

東北大学・病院・助手

研究者番号: 20436116