

令和元年9月10日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11099

研究課題名(和文) 絨毛膜羊膜炎と子宮収縮抑制剤が胎児心拍数・胎児行動に与える影響 - 羊胎仔実験モデル

研究課題名(英文) The effects of tocolysis and intraamniotic inflammation on fetal heart rate in fetal sheep

研究代表者

藤森 敬也 (FUJIMORI, KEIYA)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：80285030

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：目的：羊胎仔慢性実験モデル6頭を用いて、リトドリン塩酸塩(Rit)と子宮内炎症が胎児循環に与える影響を検討した。方法：Ritを2時間投与し、さらにLPSを羊水腔内にRitを2時間投与、それぞれ薬物投与前、投与開始後の胎児心拍数、胎児平均血圧を調べた。結果：胎児short-term variability (STV)は薬物投与後6時間で有意に増加した。胎児平均血圧はRit800 μ g/分投与群において有意に上昇した。LPS投与下ではLPS非投与群と比較して各種パラメータの有意な差は認めなかった。結論：Rit投与は時間経過によって胎児STVを増加させ、用量依存性に胎児平均血圧を上昇させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児の健全性の評価について胎児心拍数モニタリングの重要性が再認識されている。今回、切迫早産の臨床モデルとして妊娠羊胎仔慢性実験モデルを作成し、子宮収縮抑制剤や切迫早産の原因の一つとして考えられる子宮炎症が胎児循環動態に与える影響について観察した。子宮収縮抑制剤として汎用されているリトドリン塩酸塩は胎児心拍数基線細変動(STV)を増加させたが、その他には影響を与えなかった。また、子宮内炎症下では胎児心拍数への有意な影響は認めなかった。リトドリン塩酸塩を使用している場合はSTVに影響を与える可能性があり、さらに子宮内炎症下ではリトドリン塩酸塩の影響がマスクされる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Objective: The aim of this study was to investigate the effect of ritodrine hydrochloride in chronically instrumented preterm fetal sheep. Methods: Changes in short-term variability (STV), long-term variability (LTV), fetal heart rate (FHR), and fetal mean blood pressure (FBP) were measured in 6 chronically instrumented fetal sheep at 111-120 days of gestation. Ritodrine hydrochloride was administered into a maternal sheep vein for 2 hours, or after lipopolysaccharide (LPS) injection into the amniotic fluid cavity. In each sheep, we evaluated the parameters both before injecting ritodrine hydrochloride and afterward. Results: Ritodrine injection significantly increased STV at 6 hours. A dose of 800 μ g/min increased FBP. On the other hand, parameters showed no significant changes after ritodrine injection under LPS injection. Conclusion: Our study suggests that ritodrine injection increases STV and FBP.

研究分野：周産期医学

キーワード：羊胎仔 胎児心拍数 絨毛膜羊膜炎 胎児心拍数基線細変動 子宮収縮抑制剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、分娩管理における胎児心拍数モニタリングの重要性は再認識され、管理指針が提言されている。一方、日本国内では切迫早産患者においてリトドリン塩酸塩や硫酸マグネシウムといった子宮収縮抑制薬を持続的に投与し、妊娠期間の延長を図っているのが現状である。このような切迫早産症例において、子宮収縮抑制薬持続投与による胎児心拍数への影響や子宮内感染における子宮収縮抑制薬持続投与による胎児心拍数への影響は不明な点が多い。

2. 研究の目的

羊胎仔慢性実験モデルおよび子宮内炎症モデルを作成し、胎仔平均血圧や胎仔心拍数、さらに心拍数基線細変動(Short term variability; STV・Long term variability; LTV)を中心とした胎児心拍数の変化を観察し、切迫早産治療薬であるリトドリン塩酸塩の胎仔循環動態への影響を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は福島県立医科大学動物実験委員会の承認のもとに行われた。

(1) 慢性羊胎仔実験モデルの作成

妊娠 111-120 日(正常妊娠期間 145 日)のサフォーク種羊 11 頭を使用した(プロトコール完遂; 6 例)。慢性実験モデルの作成には、麻酔導入薬として xylazine(0.2mg/kg)を筋注し、手術中の麻酔維持として dexmedetomidine hydrochloride(Precedex®)(Maruishi 社製)(3mg/kg/min)静注を使用した。母獣を背臥位に置き、無菌的操作下に下腹部正中切開にて母獣を開腹し、さらに子宮を切開し胎仔頭のみを子宮外に露出し、38℃に加温した生理食塩水を満たした手術用ゴム手袋で仔頭を直ちに覆い、胎仔の呼吸開始を防いだ。胎仔頸部に約 3cm の切開を加え、総頸動脈と、同側内頸静脈から体幹方向に向けてポリビニルカテーテル(Imamura 社: 外径; 1.8mm、内径; 1.2mm)を挿入し留置した。総頸動脈内カテーテルは、血液サンプリング、血圧計測に用い、内頸静脈内カテーテルは薬剤注入に用い、気管内カテーテルは気管内圧を測定し胎仔呼吸様運動の同定に用いた。さらに、胎仔体幹の皮下 2 箇所(先端ターミナル: Steel 製; 5×5 mm、リード線: Cooner 社製 Chatsworth, CA, USA)を装着し、羊水腔には羊水注入用にポリビニルカテーテル(Imamura 社: 外径; 1.8mm、内径; 1.2mm)を挿入した。ついで児頭を子宮内に戻し、子宮切開創を縫合した。母獣の腹壁の筋膜を縫合した後、母獣・胎仔のカテーテルは母獣の皮下を通し一括して左側腹部より体外に露出した。母獣大腿動脈内にもポリビニルカテーテル(Imamura 社: 外径; 1.8mm、内径; 1.2mm)を挿入した。手術後、胎仔総頸動脈内カテーテル、胎仔気管内カテーテル、母獣大腿動脈内カテーテルは圧トランスデューサ(Disposable Transducer Kit, Model DT-NN; Spectramed Medical Products Pre. 社製、Singapore)に接続し、PowerLab system (AD Instruments 社、USA)を用いて胎仔血圧、母獣血圧を連続記録した。手術後の感染予防として LPS の投与を開始する術後 5 日目まで 12 時間毎に母獣に留置した大腿静脈内カテーテルより flomoxef sodium(Flumarin®)(Shionogi 社製)1g を投与した。

(2) 実験プロトコール

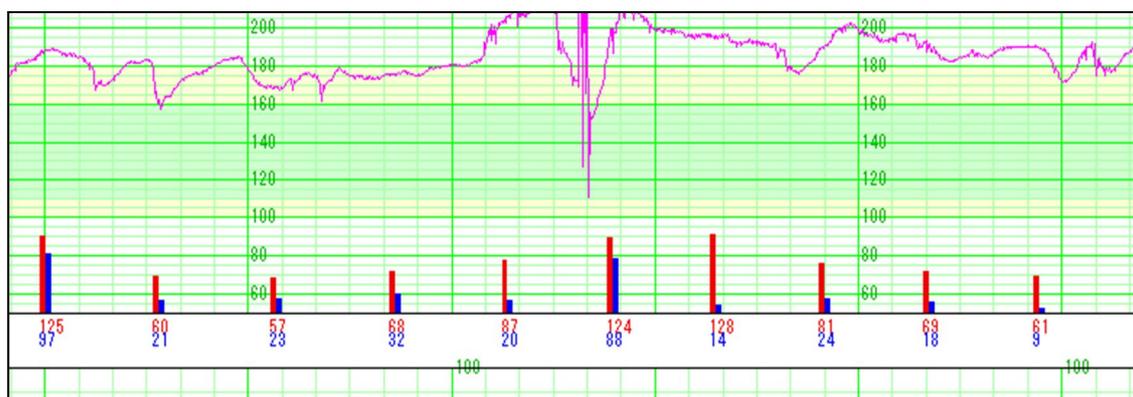
慢性羊胎仔実験モデル作成後 48 時間経過した後、実験を開始した。手術後より胎仔心電図・胎仔心拍数・胎仔血圧、母獣血圧を連続測定・記録した。母獣にリトドリン塩酸塩を 100 µg/分、200 µg/分、800 µg/分の用量で 2 時間投与し、それぞれ薬物投与前、薬物投与開始後 1 時間、2 時間(薬物投与終了時)、6 時間(薬物投与終了後 4 時間)の胎仔動脈血液ガス分析、胎仔血液検査、胎仔心拍数、胎仔 STV・LTV、胎仔平均血圧を測定・記録した。その後、子宮内炎症モデルを作成

した。顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF:50 μ g)を術後2日、術後3日、術後4日、術後5日にカテーテルから胎児頸静脈に投与した。また術後4日、5日それぞれのG-CSF投与直後にLPS:40mgをカテーテル経由で羊水腔に投与した。LPS投与直後よりリトドリン塩酸塩200 μ g/分の用量で2時間投与し、それぞれ薬物投与前、薬物投与開始後1時間、2時間(薬物投与終了時)、6時間(薬物投与終了後4時間)の胎仔動脈血液ガス分析、胎仔血液検査、胎仔心拍数、胎仔STV・LTV、胎仔平均血圧を測定・記録した。胎仔心拍数モニタリングは手術直後から子宮内胎児死亡にいたるまで継続して測定した。

(3) 測定項目

胎仔動脈血液ガス分析、胎仔血算、胎仔心拍数、胎仔心拍数基線変動(STV/LTV)、胎仔平均血圧を測定した。実験経過中の胎仔心拍数、胎仔心拍数基線細変動は10分間の平均値をカウントした。胎仔心拍数は、Power Lab Systemにより手術直後から子宮内胎児死亡にいたるまで連続計測し、HRVモジュールソフト(AD Instruments社、USA)を用いて基線胎児心拍数(bpm)を測定した。また胎仔心拍数基線変動(bpm/100)の検討は、Power Lab Systemにて計測保存された羊胎児の直接誘導心電図信号を動物実験データ表示・収録装置ATM1308(アトムメディカル株式会社; 日本)へ取り込み、胎児心拍数、STV・LTVを評価した。胎仔心拍数基線細変動は、得られた胎仔心拍信号のR-R間隔を拍/分に変換し、連続する2つの心拍間の差を求め、差が同一符号の場合はLTVに蓄積し、符号が異なればSTVに蓄積し同一ポリグラフ上に同時に表現した(図)。100R-R間隔ごとにそれぞれのvariability値をリセットした。1心拍間の差が30拍/分以上であったときは、自動的にLTV、STVの両チャンネルからキャンセルされ蓄積されないようにした。この方法で得られるLTVは1分間3-6サイクルで生じる心拍数パターン上の揺れを表現する。これは通常ヒト胎児分娩モニタリング上で定義されるvariabilityに相当する。またこの方法で得られるSTVは1拍ごとのわずかな心拍数の変化を半定量的に表現していることとなる。このSTVは通常分娩監視法は肉眼的に判断することは困難である。またこれらの項目は連続的に記録されたモニタリング項目の、1時間毎の平均値のトレンドを計測した。

図 動物データ表示・収録装置 ATM1308



(4) 統計解析

得られた成績の統計解析には統計解析ソフト SPSS®Statistics Version 22. (IBM社、日本)を用いた。連続変数の比較はt検定もしくはWilcoxonの符号付き順位和検定を用いた。各パラメータの統計解析を、羊胎仔個体差を変量効果とした一般化線形混合モデルを用いて行った。p値0.05未満をもって有意差ありとした。胎仔動脈血液ガス、胎仔血算、胎仔心拍数基線変動、胎仔心拍数、胎仔平均血圧は1時間毎の値を平均値 \pm 標準偏差で標記した。

4. 研究成果

妊娠 111～120 日（正常妊娠期間 145 日）のサフォーク種羊 11 頭を使用し、プロトコール完遂は 6 例であった。4 頭は実験開始前に子宮内胎仔死亡、1 頭は実験開始前に母獣死亡となった。プロトコール完遂例はいずれも LPS 投与より 15-28 時間以内に子宮内胎仔死亡となった。

（1）胎仔動脈血液ガス

胎仔動脈 pH：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。胎児動脈 pCO₂ (mmHg)：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。胎児動脈 pO₂ (mmHg)：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。胎児動脈 BE：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。

（2）胎仔血算

白血球数 (/µl)：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。ヘモグロビン値 (g/dl)：リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群、LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群いずれにおいても control 群と比較して有意にヘモグロビン値が低下した(p=0.02, p=0.001, p=0.001, p=0.006)。一方、投与前と投与後の比較では、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後いずれの時間経過においても有意な変化は認めなかった。血小板数 (×10⁴/µl)：Control 群と比較して LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 µg/分投与群において有意に血小板数が低下した(p=0.035)。一方、リトドリン塩酸塩 100 µg/分投与群、200 µg/分投与群、800 µg/分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。

(3) 胎仔心拍数

胎仔心拍数 (beat per minute) : control 群において 186 ± 5.6 であり、リトドリン塩酸塩 100 μg /分投与群、200 μg /分投与群、800 μg /分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群と比較して各時間経過における有意な変化はなかった。胎仔 STV : control 群において 62.6 ± 22 であり、リトドリン塩酸塩 100 μg /分投与群、200 μg /分投与群、800 μg /分投与群の各投与群において用量依存性の有意な変化を認めず、LPS 投与下においてもリトドリン塩酸塩による胎仔 STV の有意な変化は認めなかった。一方、1 時間後 (80.0 ± 12)、投与 2 時間後 (72.4 ± 12)、投与 6 時間後 (98.0 ± 12) と時間経過で胎仔 STV は増加し、投与開始後 6 時間で有意に増加した ($p=0.021$)。胎仔 LTV : control 群において 27.7 ± 9.5 であり、リトドリン塩酸塩 100 μg /分投与群、200 μg /分投与群、800 μg /分投与群の各投与群において、control 群と比較して用量依存性の有意な変化を認めなかった。リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。

(4) 胎仔平均血圧 (mmHg)

胎仔平均血 : リトドリン塩酸塩 800 μg /分投与群において 60.0 ± 3.8 であり、control 群 (53.0 ± 3.8)、100 μg /分投与群 (52.6 ± 3.8)、200 μg /分投与群 (53.3 ± 3.8)、いずれの群と比較しても有意に上昇していた。一方、リトドリン塩酸塩投与前と比較して、投与開始 1 時間後、投与開始 2 時間後、投与開始 6 時間後の時間経過による有意な変化を認めなかった。また LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群において、control 群および非 LPS 投与下のリトドリン塩酸塩 200 μg /分投与群と比較して各時間経過における有意な変化を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

藤森敬也、他、羊胎仔慢性実験モデルにおける塩酸リトドリン母体投与が胎仔循環動態に与える影響、第 55 回日本周産期・新生児医学会学術集会、2019

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 : 経塚 標

ローマ字氏名 : Hyo Kyozyuka

所属研究機関名 : 福島県立医科大学

部局名：医学部

職名：助手

研究者番号(8桁): 00644113

研究分担者氏名：安田俊

ローマ字氏名：Shun Yasuda

所属研究機関名：福島県立医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号(8桁): 50566817

研究分担者氏名：平岩 幹

ローマ字氏名：Tsuyoshi Hiraiwa

所属研究機関名：福島県立医科大学

部局名：医学部

職名：助手

研究者番号(8桁): 70769463

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。