

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K20078

研究課題名(和文)胎盤型補助循環(ポンプレス人工胎盤システム)を応用した新生児蘇生法の開発

研究課題名(英文)Development of newborn resuscitation using extracorporeal circulation device maintaining fetal circulation

研究代表者

松田 直(Tadashi, Matsuda)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50361100

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文): 胎児循環を維持できる人工胎盤システムは出生時の低酸素により遷延性肺高血圧に陥った児の蘇生に応用できる可能性がある。本研究ではその有効性を明らかにすることを目的とした。

ヒツジ胎仔を蘇生方法により対照群(n=6)、人工換気群(n=5)、人工胎盤群(n=5)に分け、酸素投与時間と人工換気や人工胎盤を必要とした総蘇生時間を3群間で比較した。人工換気群の酸素投与時間は対照群および人工胎盤群と比較してそれぞれ有意に長かった。また人工換気群の総蘇生時間は対照群と比較して有意に長く、対照群と人工胎盤群には有意な差を認めなかった。このシステムは有効な新生児蘇生デバイスであることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症感染、胎便吸引、胎児水腫などで遷延性肺高血圧に陥った新生児仮死児では、未だその蘇生と集中治療に苦慮することが稀ではない。その原因は肺血流が減少した新生児に対して肺呼吸と新生児循環を強制しようとするためである。補助循環システムを用いて胎児循環に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で、かつ生理的となる。本研究では遷延性肺高血圧に陥った新生児を胎児循環を維持したまま蘇生することの有効性が示された。

研究成果の概要(英文): An artificial placenta system that can maintain fetal circulation may be applicable to the resuscitation of a newborn who has persistent pulmonary hypertension due to hypoxia at birth. The purpose of this study is to clarify the effectiveness of this device. Sheep fetuses were divided into control group (n = 6), artificial ventilation group (n = 5), and artificial placenta group (n = 5) by resuscitation method, and oxygen administration time and total resuscitation time were compared among the three groups. The oxygen administration time in the artificial ventilation group was significantly longer than that in the control group and the artificial placenta group. The total resuscitation time of the artificial ventilation group was significantly longer than that of the control group, and there was no significant difference between the control group and the artificial placenta group. This system has been shown to be an effective neonatal resuscitation device.

研究分野：周産期新生児医学

キーワード：人工胎盤 ヒツジ 新生児蘇生 新生児仮死 遷延性肺高血圧

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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、胎児水腫などで遷延性肺高血圧による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。胎児循環のため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、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、補助循環システムを用いて胎盤循環に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¹⁻³⁾。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循環のコンセプトを応用して、(1) 機械的補助ポンプを用いず胎児の心ポンプだけで回路内血流を駆動させ、(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。

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血液製剤を必要とせず、(2) 血管確保と同時に速やかに循環サポートを開始でき、(3) 最も酸素化の良い血液が下大静脈から卵円孔を経て脳に到達し、(4) ローラーポンプを要さないため電源を必要とせず、ガス供給は蘇生用バッグの手動換気で代用できる。

そこで遷延性肺高血圧に陥った新生児に対して、われわれが開発した体外式補助循環システム(ポンプレス人工胎盤)により胎児循環を維持しながら蘇生を行うことにより、続発する合併症を最小限にできると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では妊娠ヒツジを用いて、出生前の急性低酸素負荷によって遷延性肺高血圧から胎児循環に陥った新生児を、ポンプレス人工胎盤システムを装着させて速やかに蘇生すれば安全に全身管理できることを証明する。本研究は胎盤循環を応用した新生児蘇生デバイスを臨床導入するための前臨床試験に位置付けられる。

3. 研究の方法

本研究は「東北大学における動物実験等に関する規程」に従って東北大学医学系研究科動物実験施設において実施された。対象として妊娠期間が確定した Suffolk 種ヒツジ胎児を用いた。予備実験において Suffolk 種ヒツジ胎児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, ヒト妊娠 38 週相当)以降であったため⁴⁾、本研究には妊娠 144 日以降の胎児を用いた。

(1) 急性低酸素による遷延性肺高血圧モデルの作成

妊娠 144-146 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、胎児の頸動静脈にカテーテルを挿入し、気管切開して気道確保した。以後、胎児の心拍数、動脈圧、中心静脈圧を連続監視して記録した。引き続き、胎児をランダムに対照群 (n=6)、人工換気群 (n=5)、人工胎盤群 (n=5) の 3 群に分け、対照群は蘇生せず一般的なケアだけで経過観察した。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 30 分間負荷し、重症胎児仮死の定義に従って⁵⁾、心拍数 < 60/分、平均動脈圧 < 30 cmH₂O、動脈血 pH < 6.80、血中乳酸値 > 100 mg/dl のいずれか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実施した。

(2) 蘇生とその後の集中治療

対照群では十分な自発呼吸による適応を確認し、保育器内で生後 24 時間まで経過観察した。母獣に対する全身麻酔の影響から覚醒し、十分な自発呼吸が確認されるまでの数時間は人工呼吸により呼吸補助を行った。

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 cmH₂O とした。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、動肺コンプライアンス) に基づいて適宜変更し、保育器内で生後 24 時間以内に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ラを挿入し、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。回路内血液は胎児の心ポンプのみで駆動させた。膜型肺への供給ガスの初期設定は酸素濃度 21%、流量 0.2 L/分とし、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ラを抜去した。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 7.5%の補液で維持輸液した。生後 24 時間を経て胎児を剖検して組織病理学検索に供した。肺は気道を 10%ホルマリン緩衝液で満たし 20 cmH₂O の圧で固定した。

(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, 人工換気もしくは人工胎盤を必要とした時間(総蘇生時間), 酸素投与時間, 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的所見(とくに脳内出血, 脳白質損傷, 単位容積あたりの肺胞表面積, 肺胞数, 平均肺胞径)。

4. 研究成果

3年間で合計22例のヒツジ胎仔を本実験のために準備し, 結果として16例(対照群6例, 人工換気群5例, 人工胎盤群5例)を解析に用いることができた。除外された6例の内訳は, 不受胎2例, 低酸素負荷中の死亡2例, 子宮内胎仔発育遅延2例であった。

(1) 対象の基礎データ

対象の基礎データを表1に示した。3群間において妊娠日齢, 出生体重, 脳重量に有意な差を認めなかった。胎仔数および性別は実験例数が少ないため統計学的な解析は行っていないが, 極端な偏りは認められなかった。

表1. 対象の基礎データ

	対照群 (n = 6)	人工換気群 (n = 5)	人工胎盤群 (n = 5)	有意確率
単胎/多胎	4/2	3/2	3/2	
雄/雌	4/2	3/2	2/3	
妊娠日齢	145.7 ± 0.5	145.2 ± 0.8	144.6 ± 0.9	.101
出生体重 (kg)	4.50 ± 0.66	4.85 ± 1.10	4.11 ± 0.94	.455
脳重量 (g)	55.4 ± 3.8	55.7 ± 1.6	56.0 ± 2.9	.952

数値データはいずれも「平均 ± 標準偏差」。一元配置分散分析により検定。

(2) 低酸素負荷の程度

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分ごとに動脈血液ガス分析を実施し, 人工換気群と人工胎盤群では心拍数 < 60/分, 平均動脈圧 < 30 cmH₂O, 動脈血 pH < 6.80, 血中乳酸値 > 100 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15分間で安定した値となり, 動脈血検体の採取開始後30分に臍帯を切断し蘇生を開始した。

表2. 低酸素負荷の程度

	対照群 (n = 6)	人工換気群 (n = 5)	人工胎盤群 (n = 5)	有意確率
急性低酸素の負荷時間 (分)		27.0 ± 7.9	25.2 ± 8.1	.732
蘇生開始直前の動脈血液ガス分析データ				
pH	7.24 ± 0.06	6.89 ± 0.07	6.95 ± 0.08	< .0001
pCO ₂ (mmHg)	53.5 ± 5.6	102.7 ± 22.9	74.4 ± 13.3	< .0001
pO ₂ (mmHg)	14.7 ± 2.8	11.5 ± 2.9	10.8 ± 3.4	.112
BE (mmol/l)	-5.2 ± 1.9	-17.2 ± 4.0	-16.8 ± 6.0	.0004
O ₂ content	2.1 ± 0.8	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.4	.015
乳酸値 (mg/dl)	57.5 ± 16.7	90.0 ± 25.4	104.8 ± 22.9	.009

数値データはいずれも「平均値 ± 標準偏差」。O₂ content, 酸素含量 (mmol/l)。

人工換気群と人工胎盤群において臍帯血流遮断による急性低酸素の負荷時間に有意な差を認めなかった (Unpaired t test)。蘇生開始直前の動脈血液ガス分析データをそれぞれ一元配置分散分析によって検討すると, pH, pCO₂, BE, 酸素含量, 乳酸値において3群間に有意な差を認めた。そのうち人工換気群と人工胎盤群には有意な差は認められなかった (Tukeyの多重比較検定)。

(3) 蘇生の経過

いずれも妊娠144日以降で実験を実施したため, 出生直後に呼吸窮迫症候群を発症する例はなかった。対照群の6例は母獣に対する全身麻酔の影響から覚醒し, 十分な自発呼吸が確認されるまでの時間は人工呼吸により呼吸補助を行った。人工換気群は遷延性肺高血圧が改善するまで比較的高い平均気道内圧(初期設定12 mmHg)での補助を要し, 十分な自発呼吸が確認されるまで陽圧換気を行った。人工胎盤群は十分な自発呼吸が確認されれば, 胎児循環の保持を目

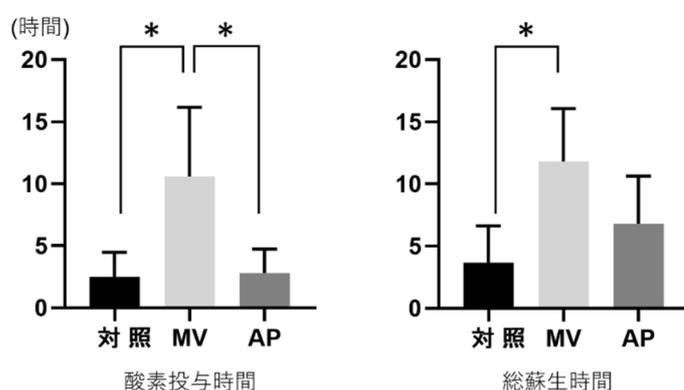
的とした PGE1 製剤の持続点滴を中止し，人工胎盤回路を遮断した．5 例中 2 例は一時的な低換気となったため，1-2 時間の人工換気を実施したが，すみやかに陽圧換気を離脱可能であった．各群における蘇生の経過を表 3 に示した．

表 3. 蘇生の経過

	対照群 (n = 6)	人工換気群 (n = 5)	人工胎盤群 (n = 5)	有意確率
RDS (+ / -)	0/6	0/5	0/5	
O ₂ (hr)	2.5 ± 2.0	10.6 ± 5.5	2.8 ± 1.9	.0058
MV (hr)	3.7 ± 3.0	11.8 ± 4.3	0.6 ± 0.9	
AP (hr)	-	-	6.2 ± 3.8	
総蘇生時間 (hr)	3.7 ± 3.0	11.8 ± 4.3	6.8 ± 3.8	.0099
生存/死亡	6/0	5/0	5/0	

数値はいずれも「平均 ± 標準偏差」．総蘇生時間 = 人工換気時間 + 人工胎盤装着時間．RDS, 呼吸窮迫症候群; O₂, 酸素投与時間; MV, 人工換気時間; AP, 人工胎盤装着時間．

図 1. 蘇生における酸素投与時間と総蘇生時間の比較



酸素投与時間は各群における分散に差を生じたため，Kruskal-Wallis 検定を用い，総蘇生時間は一元配置分散分析で検定した．いずれも 3 群間に有意な差を認めため，ポストホックテストとしてそれぞれ Dunn's 多重比較テストと Tukey 多重比較テストを用いた結果を図 1 に示した．人工換気群の酸素投与時間は対照群および人工胎盤群と比較してそれぞれ有意に長かった．対照群と人工胎盤群には有意な差を認めなかった．また人工換気群の総蘇生時間は対照群と比較して有意に長かった．対照群と人工胎盤群，人工換気群と人工胎盤群にはそれぞれ有意な差を認めなかった．

(4) 人工胎盤群の蘇生経過

人工胎盤で蘇生された仔の経過 (胎盤回路流量，心拍数，平均動脈圧，乳酸値) を図 2 に示した．

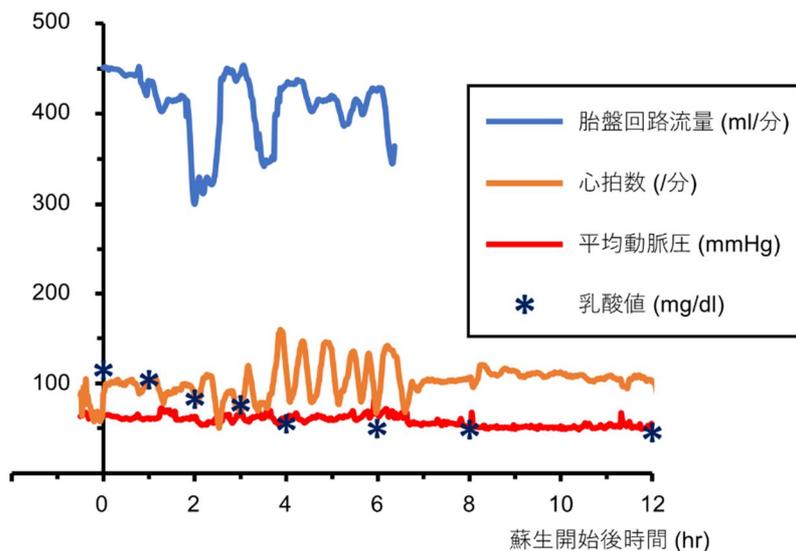


図 2. 人工胎盤群の蘇生経過

妊娠 144 日，体重 5.10 kg のヒツジ胎仔の臍帯を圧迫することにより急性の低酸素を負荷した．負荷開始後 30 分の動脈血液ガス分析で pH 6.91, pCO₂ 63.7 mmHg, pO₂ 10.6 mmHg, BE -22.0 mmol/l, 乳酸値 115 mg/dl, 酸素含量 0.9 mmol/l となったため，速やかに人工胎盤を装着して蘇生を開始した．蘇生中は 2 度臍帯動脈の収縮により胎盤回路流量の低下を認めたと，概ね胎盤回路流量は 400 ml/分ほどで推移した．また蘇生開始約 4 時間後から全身麻酔の影響から覚醒し，心拍数の変動が確認された．6 時間後で自発呼吸による十分な換気量を確認できたため，PGE1 製剤（アルプロスタジル注；沢井製薬，大阪）の持続静注を中止し，胎盤回路を遮断した．その後は血圧，心拍数ともに安定した経過となり，乳酸値は徐々に低下し，24 時間後には 32 mg/dl となった．

(5) 剖検所見

人工胎盤群においては蘇生中に胎児循環を維持することを目的に PGE1 製剤の持続静注を要したが，剖検時には全 5 例において動脈管の閉鎖を確認した．現在はすべての仔から供され還流固定された脳を鏡し，中枢神経損傷の有無を確認中である．

本研究結果から出生時の急性低酸素により遷延性肺高血圧に陥ったヒツジ胎仔を人工呼吸ではなく，ポンプ人工胎盤を装着することで蘇生可能であることが示された．また人工胎盤による蘇生は肺血管抵抗の高い状況での循環維持が容易であり，酸素投与時間は人工換気群よりも有意に短く，総蘇生時間も短縮できる傾向が示された．その原因として人工換気群では，遷延性肺高血圧の仔に新生児循環を強いるために高い気道内圧での陽圧換気が必要としたためと推察でき，今後は各群における肺損傷の程度を病理組織学的な検討や morphometry 解析により評価する予定である．

<引用文献>

Miura Y, Matsuda T, Funakubo A, et al. Novel modification of an artificial placenta: pumpless arteriovenous extracorporeal life support in a premature lamb model. *Pediatr Res* 2012; 72: 490-4.

Miura Y, Saito M, Usuda H, et al. Ex-Vivo uterine Environment (EVE) therapy induced limited fetal inflammation in a premature lamb model. *PLoS One* 2015; 10: e0140701.

Miura Y, Matsuda T, Usuda H, et al. A parallelized, pumpless artificial placenta system significantly prolonged survival time in a preterm lamb model. *Artif Organs* 2016; 40: E61-8

Hanita T, Matsuda T, Saito M, et al. Potential role of prenatal inflammation in the impairment of lung development following mechanical ventilation of preterm lambs. *Reprod Sci* 2017 Mar; 24(3): 478-87

Ikeda T, Murata Y, Quilligan EJ, et al. Physiologic and histologic changes in near-term fetal lambs exposed to asphyxia by partial umbilical cord occlusion. *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 178: 24-32.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Usuda Haruo, Watanabe Shimpei, Miura Yuichiro, Saito Masatoshi, Musk Gabrielle C., Rittenschober-B?hm Judith, Ikeda Hideyuki, Sato Shinichi, Hanita Takushi, Matsuda Tadashi, Jobe Alan H., Newnham John P., Stock Sarah J., Kemp Matthew W.	4. 巻 217
2. 論文標題 Successful maintenance of key physiological parameters in preterm lambs treated with ex vivo uterine environment therapy for a period of 1 week	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Obstet Gynecol.	6. 最初と最後の頁 457.e1 - 457.e13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajog.2017.05.046	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	齋藤 昌利 (Masatoshi Saito) (00451584)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	北西 龍太 (Kitanishi Ryuta) (20436116)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	埴田 卓志 (Hanita Takushi) (30400360)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	渡邊 真平 (Watanabe Shimpei) (70509413)	東北大学・大学病院・助手 (11301)	