

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09760

研究課題名(和文) 妊娠家兔を用いた危機的産科出血に対する人工酸素運搬体投与による救命効果の研究

研究課題名(英文) Efficacy of Infusion with Hemoglobin Vesicles in Rabbits with Massive obstetric Hemorrhage

研究代表者

結城 由香子 (Yuki, Yukako)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：80812354

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：人工酸素運搬体(Hemoglobin Vesicle:以下HbV)はリポソームにヒト由来のヘモグロビンを含む。Hb 10g/dLに相当する酸素運搬能を有している。室温で2年と長期保存が可能で、感染リスクがなく、血液型に関係なく輸血できるという特長があり、赤血球輸血の代替物として注目されている。我々は、出血量が50mL/kg/hour以上となり、膠質液の輸液だけでは末梢循環不全に至る重篤な産科大量出血モデルを開発し、これに対して、赤血球輸血の代替としてHbV投与を行うことで出血性ショックを防止しうること、ならびに産科危機的出血に陥った場合でもHbV投与によって救命しうることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

産科危機的出血はこの十数年間、妊産婦死亡の原因の第一位である。危機的出血に陥った場合は早期からの輸血が必要となるが、初期治療に遅れ死に至ることもある。今回我々は、末梢循環不全に至る重篤な産科大量出血モデルを開発し、これに対して、赤血球輸血の代替として人工酸素運搬体(HbV)投与を行うことで出血性ショックを防止しうること、ならびに産科危機的出血に陥った場合でもHbV投与によって救命しうることを明らかにした。産科一次施設での輸血治療は補給の観点から困難なことが多いが、HbV投与はそれを代替し、産科危機的出血の新しい救命戦略につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Artificial oxygen carriers (Hemoglobin Vesicle: HbV) contain human hemoglobin in liposomes and have an oxygen carrying capacity equivalent to 10 g/dL of Hb. It is attracting attention as an alternative to red blood cell transfusion because it can be stored for as long as 2 years at room temperature, has no risk of infection, and can be transfused regardless of blood type.

We have developed a model of severe obstetric hemorrhage in which blood loss exceeds 50 mL/kg/hour and peripheral circulatory failure occurs with only colloidal fluid transfusion, and demonstrated that HbV administration as an alternative to red blood cell transfusion can prevent hemorrhagic shock and that HbV administration can prevent hemorrhagic shock, and even in cases of obstetric crisis hemorrhage, HbV administration can save lives.

研究分野：麻酔科学

キーワード：人工酸素運搬体 産科危機的出血

## 1. 研究開始当初の背景

産科出血は本邦の妊産婦死亡原因の第一位であり、低リスク妊婦の経膣分娩でも突然発症する可能性がある。危機的出血に陥った場合は早期からの輸血が必要となるが、日本では分娩の半数以上が行われている産科一次施設では輸血準備が十分とは言えず、初期治療に遅れ死に至ることもある。人工酸素運搬体（Hemoglobin Vesicle：以下 HbV）はリポソームにヒト由来のヘモグロビンを内包し、Hb 濃度が 10 g/dL に相当する酸素運搬能を有している。HbV の安定性は非常に高く室温で 2 年の長期保存が可能であり、リポソーム構造によって HbV からの遊離 Hb の放出を防ぎ、遊離 Hb の Nitric Oxide scavenging 作用が起因する血管攣縮性合併症を回避できる。輸血製剤と異なり、HbV は血液感染症のリスクがなく、血液型に関係なく投与できるという特徴があり、赤血球輸血の代替物として注目されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、輸血製剤を常備することが難しい産科一次施設における産科危機的出血に対して HbV を投与することを想定した。母体を高次施設へ搬送するまでに赤血球輸血の代替として HbV を投与することが、妊産婦の救命率向上につながり、産科危機的出血に対する救命治療の新しい局面を切り開くことができるのではないかと考えた。本研究では妊娠末期のウサギを使用して産科危機的出血を生起させ、凝固障害・低血小板状態・貧血を伴う出血性ショックの病態モデルを確立し、これに赤血球輸血の代替として HbV を投与し、急性期の母体の救命効果を検証するとともに、止血凝固能や体液代謝調節への影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) HbV により産科危機的出血を防止する試み

妊娠末期（妊娠 28 日目）のニュージーランド白ウサギを使用した。麻酔導入後、大腿部を開き大腿動静脈にカテーテルを留置した。大腿動脈は動脈圧測定と採血ルートとして使用し、大腿静脈は HbV 投与および輸血ルートとした。次にウサギを開腹し、子宮間膜の動静脈を根部付近で切断して、ウサギの全循環血液量である 200 mL を 1 時間以内に出血させる危機的出血モデルを作成した。出血量は、出血部位からの血液を吸収するガーゼの重量で測定した。出血から 60 分間、5 分毎に出血量と等量の HbV と 25% アルブミンを 4 : 1 で混合したもの（HbV/5% HSA 群）を静脈内投与して血行動態を維持した。60 分後、または出血量が 200 mL を超えた時点で切断した子宮動静脈を結紮して止血した。陽性対照群として、実臨床で行われている赤血球輸血と血漿投与（単位比として 1 : 1）に準じて、ドナーウサギから採取した濃厚赤血球と乏血小板血漿（PPP）の 1 : 1 混合液投与（RBC/PPP 群）を行った。陰性対照群としては 5% アルブミン投与（5% HSA 群）を行った。

### (2) より臨床的な帝王切開術後危機的出血モデルでの検討

輸血準備のない産科一次施設で帝王切開後に弛緩出血・常位胎盤早期剥離などが原因で産科危機的出血に陥り、高次施設への搬送が必要となる、この実臨床に近いモデルでの検討を行っ

た。麻酔導入後、妊娠ウサギを開腹し、右側の子宮のみを切開し胎仔を取り出す。その後、同側の子宮間膜の動静脈を根部付近で切断し出血を生起させた。5分毎に出血量を測定し、最初の30分は帝王切開周術期として出血量と等量の人工膠質液（ボルペン）を投与した。

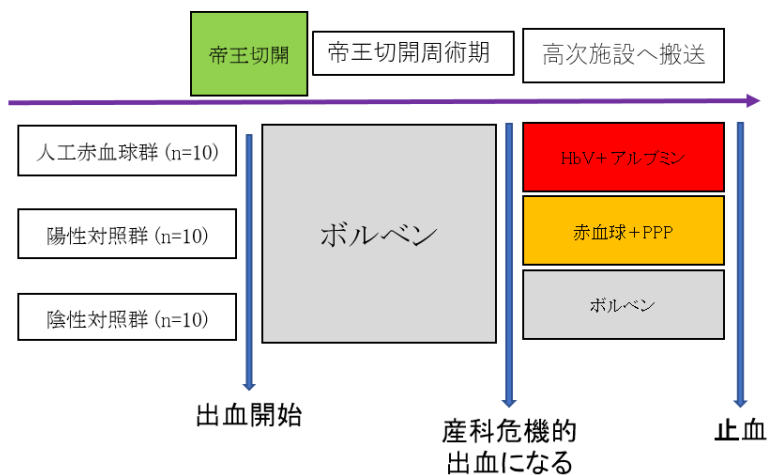


図 1

後半の30分は産科危機的出血に陥った状態での高次施設への搬送を想定し、出血量と等量のHbV + 25%アルブミン混合液（4：1の容積比）を投与した（HbV群）。陽性対照群では、ドナーウサギから採取した濃厚赤血球と乏血小板血漿（PPP）の1：1輸血を行い（RBC/PPP群）、陰性対照群は人工膠質液投与（HES群）を継続した。出血開始から60分後または出血量が200 mLを超えた時点で、切断した子宮動静脈を結紮・止血し、母体の予後を比較検討した（図1）。さらに、ウサギが双角子宮であることを利用して、止血完了後に左側子宮を帝王切開し、残存胎仔の生存率を比較した。

#### 4. 研究成果

##### (1) HbVによる産科危機的出血予防効果

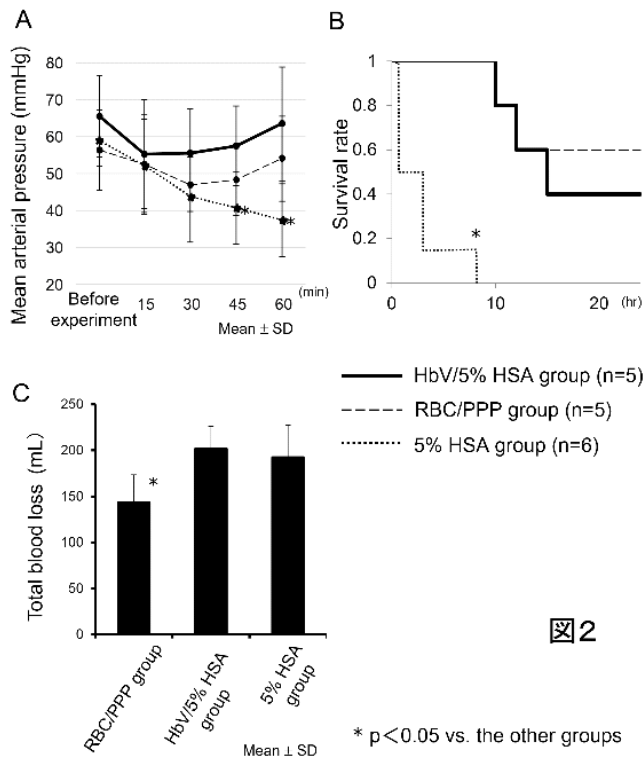


図2

RBC/PPP 群および HbV/5% HSA 群は、平均動脈圧 > 50 mmHg を維持できたが、5% HSA 群は平均動脈圧 40 mmHg 以下まで低下した (図 2A)。

RBC/PPP 群および HbV/5% HSA 群は、全例 8 時間は生存して、以後 24 時間で半減した。いっぽう、5% HSA 群はすべて 8 時間以内に死亡した (図 2B)。RBC/PPP 群は、他の 2 群に比べて総出血量が有意に減少した (図 2C)。

RBC/PPP 群および HbV/5% HSA 群は、Hb 濃度 > 9 g/dL を維持したが、5% HSA 群では重度の低 Hb 血症 (2 g/dL) となった。

RBC/PPP 群の血漿中フィブリノーゲン濃度は、出血 60 分後でも  $106 \pm 10$  mg/dL に維持された。いっぽう HbV/5% HSA 群と 5% HSA 群のフィブリノーゲン濃度は、それぞれ  $62 \pm 27$  および  $48 \pm 23$  mg/dL まで低下し、中等度以上の凝固障害が起こった。

(2) 帝王切開術後危機的出血モデルでの HbV 投与の効果

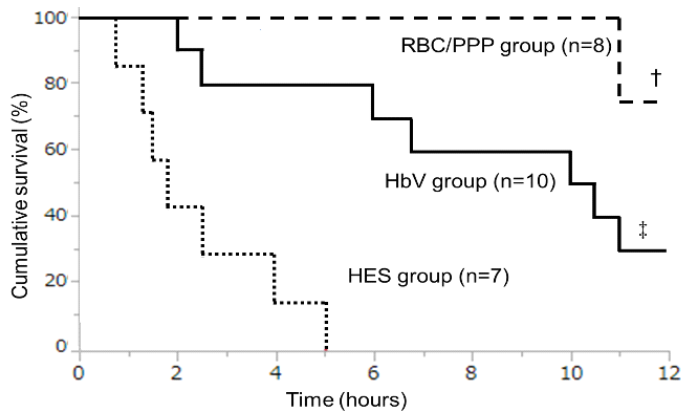


図3

†  $p < 0.05$ , RBC/PPP group vs. the other groups.

‡  $p < 0.05$ , HbV group vs. HES group.

出血から 30 分後の Hb 濃度は 5 g/dL 前後、平均動脈圧は 53 mmHg 前後であった。出血 60 分後の Hb 濃度と平均動脈圧は以下の通りであった。HbV 群は、6 g/dL、55 mmHg 程度になり、RBC/PPP 群は、8 g/dL、55 mmHg 程度となった。HES 群は 2 g/dL、35 mmHg 以下の致死的な出血性ショックになった。

6 時間後の生存率は、HES 群が 0%、HbV 群が 80%、RBC/PPP 群が 100%であった。HbV の半減期が半日程度であるため、6 時間以降は死亡例が散見された (図 3)。

左側子宮内胎子の生存率は、RBC/PPP 群が 79%、HbV 群が 56%、HES 群が 38%であった (3 群間で有意差無し)。

このように、HbV 投与は、産科危機的出血に陥った状態で産科一次施設から輸血治療ができる高次施設に搬送するまでの数時間をつなぐ点で赤血球輸血の代替が可能となりうることが示唆された。

今回我々は、出血量が 50 mL/kg/hour 以上となり、膠質液の輸液だけでは末梢循環不全に至る重篤な産科危機的出血モデルを確立した。そして、赤血球輸血の代替として HbV 投与により、産科危機的出血のショックを防止しうること、ならびに産科危機的出血に陥った場合でも HbV 投与によって救命しうることを明らかにした。今後は、大量出血に併発する凝固障害の制御が必要であり、止血能力を持つ血小板代替物等の併用を含めた研究が重要と考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishibashi Hiroki, Hagiwara Kohsuke, Kinoshita Manabu, Yuki Yukako, Miyamoto Morikazu, Kure Tomoko, Sakai Hiromi, Saitoh Daizoh, Terui Katsuo, Takano Masashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Resuscitative efficacy of hemoglobin vesicles for severe postpartum hemorrhage in pregnant rabbits	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-01835-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yukako Yuki, MD, Kohsuke Hagiwara, MD, PhD, Manabu Kinoshita, MD, PhD, Hiroki Ishibashi, MD, Kouki Kaneko, MD, Osamu Ishida, MD, PhD, Daizoh Saitoh, MD, PhD, Hiromi Sakai, PhD (Eng), PhD (Med Sci), Katsuo Terui, MD, PhD	4. 巻 224
2. 論文標題 Efficacy of Resuscitative Infusion with Hemoglobin Vesicles in Rabbits with Massive Obstetric Hemorrhage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Obstetrics & Gynecology	6. 最初と最後の頁 398-398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/J.AJOG.2020.09.010	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 -

1. 著者名 石橋 弘樹, 木下 学, 萩沢 康介, 酒井 宏水, 宮本 守員, 高野 政志	4. 巻 41
2. 論文標題 産科危機的出血をきたした妊娠ウサギに対する 人工赤血球の効果	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 循環制御	6. 最初と最後の頁 89-91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石橋弘樹、萩沢康介、木下学、結城由香子、宮本守員、酒井宏水、斎藤大蔵、照井克生、高野政志
2. 発表標題 産科危機的出血に対する人工赤血球の蘇生効果についての検証
3. 学会等名 日本血液代替物学会
4. 発表年 2020年

〔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	萩沢 康介 (hagisawa kohsuke) (50539244)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生理学・助教  (82406)	
研究分担者	木下 学 (kinoshita manabu) (70531391)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・准教授  (82406)	
研究分担者	照井 克生 (terui katsuo) (90256074)	埼玉医科大学・医学部・教授  (32409)	
研究分担者	宮本 守員 (miyamoto morikazu) (90738923)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・産科婦人科学・講師  (82406)	
研究分担者	肥塚 幸太郎 (hizuka kohtarou) (70874650)	埼玉医科大学・医学部・助教  (32409)	
研究分担者	金子 恒樹 (kohki kaneko) (40617536)	埼玉医科大学・医学部・助教  (32409)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------