

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16913

研究課題名（和文）人工子宮システムに胎盤の内分泌作用として付与するCRH持続投与の有効性の検討

研究課題名（英文）Investigation of the efficacy of continuous CRH administration given to the artificial uterus system.

研究代表者

佐藤 信一（SATO, SHINICHI）

東北大学・大学病院・助手

研究者番号：30770359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：人工子宮システム管理下において本来は胎盤が分泌するCRH (corticotropin-releasing hormone)を持続投与し、胎仔視床下部-下垂体-副腎系の発達が本来の子宮内で生育した児と同等であることを検証した。一部はCRHの持続投与で生育できたが、追加でコルチゾールの補充が循環の維持に必要であった。さらに生育後のCRH負荷試験では子宮内で生育した仔と同等ではないことが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により人工子宮システム管理下において本来の子宮内で生育した仔と同等の内分泌学的機能を獲得するためには、仔のストレス応じた適切なコルチゾール量の制御とCRH持続投与の他に胎盤が持つ内分泌機能を付与することが必要である。今後人工子宮システムの発展に伴い長期生存が期待されるが、本来の胎盤が持つ未解明な機能について明らかにすることで合併症を最小限し現在の新生児医療の代替療法となることを期待する。

研究成果の概要（英文）：We administered CRH (corticotropin-releasing hormone), which is normally secreted by the placenta, continuously under the control of an artificial uterine system, and verified that the development of the fetal hypothalamus-pituitary-adrenal system was the same as that of infants born in the uterus. The results of this study were as follows. Some of the fetuses were able to grow with continuous administration of CRH, but additional cortisol supplementation was necessary to maintain circulation. Moreover, a postnatal CRH challenge test showed that these pups were not equivalent to those grown in utero. In addition to continuous CRH administration, the placenta must be supplemented with additional endocrine functions necessary for growth to minimize complications associated with long-term survival.

研究分野：新生児学分野

キーワード：人工子宮システム CRH ACTH コルチゾール 早産児

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現行の「保育器と呼吸器で育てる新生児集中治療」では、成育限界期(妊娠 22-24 週)に出生する早産児が出生後の後遺症なき生存を達成することは難しい。胎児循環から新生児循環への転換と未成熟肺での肺呼吸を出生後から強制されるため容易に呼吸循環不全に陥り、脳室内出血、脳白質損傷、壊死性腸炎、慢性肺性心など重篤な合併症を生じるからである。そのため我々は胎児循環を維持しながら、胎児を成育する人工子宮システムの開発をニプロ社と共に進め、妊娠 90 日(ヒト妊娠 24 週相当)の未熟なヒツジ胎仔でも人工子宮内で 5 日間成育できることを報告した(Usuda H. *Am J Obstet Gynecol* 2019)。

一方で循環動態を維持するために多量の副腎皮質ステロイドを胎児に投与することが避けられない。母体の子宮内では、胎児は母体や胎盤との相互作用により副腎皮質機能を成熟させる(図-2)。具体的には視床下部からの CRH (corticotropin-releasing hormone) 産生が未熟な胎児は、胎盤由来の CRH の恩恵を受けて ACTH を分泌し、Cortisol を産生する。また  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSD)活性の低い胎児副腎の Cortisol 分泌能には限界があるため、経胎盤的に母体から Cortisol が補われている。そのため人工子宮システム内では胎盤 CRH、母体からの Cortisol 供給が途絶えるため多量の副腎皮質ステロイドの経静脈投与が必要となる。また胎児下垂体から分泌される ACTH の刺激による副腎皮質の成熟が不十分なため、ステロイドの経静脈投与が長期に及び成長障害をきたすリスクが高まる。

### 2. 研究の目的

我々が開発した人工子宮システムでは胎児循環を維持し、臍帯・胎盤を模して膜型肺回路の血液は胎仔自身の心ポンプのみで駆動される(図-1, A)。本研究ではさらに生体胎盤が担う内分泌作用を維持するため、本来は胎盤が分泌する CRH を持続投与し、副腎皮質ステロイドの投与量を最小限に抑える。これにより視床下部-下垂体-副腎系の発達が本来の子宮内と同等であることを検証する。ここで蓄積される知見は未熟な早産児を人工子宮システムで成育するための内分泌学的アプローチの中核データとなる。

### 3. 研究の方法

動物実験は 2020 年 9 月から 2022 年 12 月にかけて東北大学附属動物実験施設で行われた。対象には妊娠期間が確定した Suffolk 種ヒツジの胎仔を使用した(満期 147 日)。

まずヒツジ胎仔を妊娠 95 日に 3 群に分ける; a) 母体子宮内で成育させる群, b) 人工子宮内で成育させる群, c) CRH を持続投与しながら人工子宮内で成育させる群(図-3, 各群 n=6)。

(1) 人工子宮内で成育

b) 人工子宮群と c) 人工子宮+CRH 群は妊娠 95 日から妊娠 100 日まで人工子宮内で成育させる。a) 対照群はそのまま母体の子宮内で育てる。

膜型人工肺回路(人工胎盤)の装着

b) および c) 群は全身麻酔下に母獣を開腹して子宮を切開し、胎仔を露出させ、臍帯動脈(脱血用 2 本)、臍帯静脈(返血用 1 本)に血管カニューレを挿入して膜型人工肺を装着する。a) 群は大腿動脈にカテーテルを留置し、胎仔を子宮内に戻して閉腹する。母獣は自由に飲食できる環境で飼育する。

胎児循環の維持と人工子宮内での循環内分泌の管理

回路内血液は胎仔の心ポンプで駆動させる。胎児循環を維持させるためプロスタグランジン E1 を持続点滴し(5.0 ng/kg/min)、動脈管の収縮を防ぐ。これにより血中乳酸値 $<2.0$  mmol/L を維持することが可能である。人工胎盤流量は超音波血流計で測定し、200-250 mL/kg/分を保つ。b) 群では胎仔 Cortisol 濃度 100-200 nmol/L を目標にヒドロコルチゾンを投与する。c) 群では CRH を持続投与により血中濃度を 100-200 pg/mL に保ち(Curt AS. *Development and Psychopathology* 2018)、その上で胎仔 Cortisol 濃度 100-200 nmol/L を目標にヒドロコルチゾンを投与する。

(2) データ採取と解析

全ての胎仔の動脈圧、中心静脈圧、心拍数を連続監視する。また 12 時間毎に血液ガス分析を測定する。妊娠 100 日には CRH 負荷試験を行い、内分泌学的評価を行う。以上の項目を 3 群間で統計学的に比較し、人工子宮システムでの成育において、CRH の持続投与が母体子宮内と同等に内分泌機能を成熟させることを示す。胎仔への CRH の持続投与の効果がない場合には、その内分泌的管理法を詳細に見直す機会とする。

### 4. 研究成果

(1) 対象の背景

3 年間でヒツジ母獣を 17 例(対照群(a): 7 例, 人工子宮群(b): 7 例, 人工子宮+CRH 群(c): 5 例)をデータ取得と解析に用いた。対象の基礎データは表 1 に示した。検体数, 人工子宮開始時妊娠週数, 性別, 体重や副腎重量において有意差は認めなかった。人工子宮システム装着の際に肺出

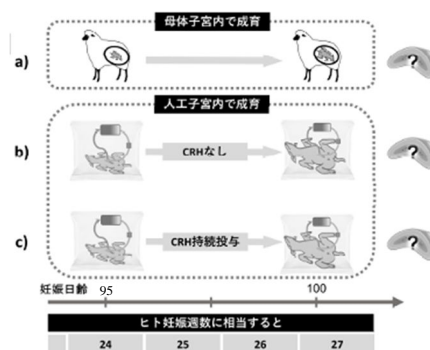


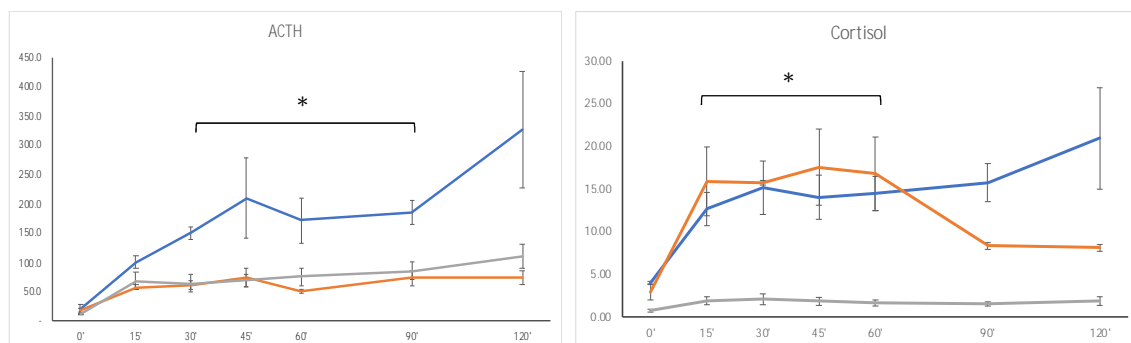
図-3. 実験プロトコール a) 対照群, b) 人工子宮群, c) 人工子宮+CRH群

血による循環不全 1 例，臍帯カテーテルトラブルによる循環不全 1 例が実験途中に安楽死処置を実施した．また人工子宮群(b)の 7 例は人工子宮システム装着後に胎児水腫を伴う循環不全を発症し，いずれもヒドロコルチゾンの補充を必要とした．人工子宮+CRH 群(c)のうち 3 例は CRH 持続投与によりヒドロコルチゾンの投与は行わず 120 時間生存したが残り 5 例は循環不全を発症したため少量のヒドロコルチゾンの投与を要した．

表 1. ヒツジ胎仔の比較

	対照群 (a)	人工子宮群 (b)	人工子宮+CRH 群 (c)	統計学的解析	P 値
検体数	7	7	8		
人工子宮開始時妊娠週数 (day)	-	94.9 ± 0.7	95.2 ± 0.4		
剖検時妊娠週数 (day)	100.2 ± 0.7	99.9 ± 0.7	100.2 ± 0.4	ANOVA	.76
性別(雄/雌)	3/4	2/5	4/4	<sup>2</sup> test	1.00
剖検時胎児体重 (g)	1070 ± 160	1076 ± 72	1094 ± 276	ANOVA	.95
剖検時副腎重量 (g)	0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.06	ANOVA	.21

図 1. CRH 負荷試験によるヒツジ胎仔の ACTH, Cortisol の推移 (実験開始後 120 時間)



Grey: 対照群(a), Orange: 人工子宮群(b), Blue: 人工子宮+CRH 群(c).

### (2) CRH 負荷試験の結果

それぞれ 120 時間生育後の CRH 負荷試験において，人工子宮+CRH 群(c)では他の群と比較して ACTH の分泌能が高まっていた．さらにいずれの人工子宮群(b, c)は，対照群(a)と比較して Cortisol の分泌能が高まっていた．よっていずれの人工子宮システム管理下のヒツジ胎仔の下垂体 副腎機能は，本来の子宮・胎盤で生育した仔とは異なる結果となった．

### (3) 考察・今後の展望

本研究により人工子宮+CRH 群の一部の胎仔は，CRH 持続投与により 120 時間の生存が可能であった．しかし一部の人工子宮+CRH 群の胎仔は，CRH 持続投与だけでは循環不全を来しコルチゾールの補充で改善することが明らかとなった．本来の子宮内の胎仔は，ストレスに応じてコルチゾールが経胎盤経由で母獣から供給されている．そのため人工子宮システム管理下では，ストレスの程度に合わせコルチゾールを経静脈的に補充することが循環の維持に必要となる．さらに人工子宮群(b, c)の胎仔は，本来の子宮で生育した胎仔と異なる内分泌学的機能を示した．本来の胎盤は CRH を産生する以外にも 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD) などの酵素も存在し，胎仔が過剰なコルチゾールに暴露されるのを防いでいる．そのため本研究における人工子宮群ではその防御機構が存在しない．そのため胎仔循環の維持を目的として投与したコルチゾールが下垂体 副腎機能に対して生理的ではない影響を及ぼした可能性がある．人工子宮システム管理下におけるヒツジ胎仔のストレスと，それに対する必要な副腎皮質ステロイドの必要量を科学的に示せないことは本研究の limitation である．人工子宮システム下において本来の子宮で生育した胎仔と同等の内分泌学的な成熟を得るには，胎盤 CRH 以外に胎盤が持つ内分泌学的機能の解明・追加補充が必要であると考えられた．

### < 引用文献 >

1. Haruo Usuda, Shimpei Watanabe, Masatoshi Saito, et al. Successful use of an artificial placenta to support extremely preterm ovine fetuses at the border of viability. Am J Obstet Gynecol 2019; 221(1) 69.e1-17.

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〕

〔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
研究協力者	齋藤 昌利  (SAITO MASATOSHI)		
研究協力者	埴田 卓志  (Hanita Takushi)		
研究協力者	渡邊 真平  (Shimpei Watanabe)		

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		
オーストラリア	The University of Western Australia		