

令和 5 年 5 月 9 日現在

機関番号：84404

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21915

研究課題名（和文）胎盤型ECMOシステムを用いた新生児呼吸循環障害の革新的管理法の創出

研究課題名（英文）Feasibility study of an artificial placenta system with looped ECMO circuit for neonatal respiratory disorders

研究代表者

水野 敏秀（MIZUNO, Toshihide）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：40426515

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、ループ型ECMO回路を臍帯動脈-静脈循環にブリッジさせた新しい人工胎盤（AP）システムの開発を行っている。本研究では模擬循環装置を用いた流体力学的実験とヤギ胎児を用いた動物試験を実施し、システムの実現可能性を評価することを目的とした。結果、本システムでは、臍帯血流量が少なくても高ECMO流量が得られるが、胎児静脈系に過剰な負荷がかかる可能性が見いだされた。また、動物試験では、胎齢135日のヤギ胎児を12日間維持し成育させることが可能であった。本研究によりシステムの実現性は示されたが、今後もシステムの改良と胎児の全身状態の管理方法の検討が不可欠である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の新生児医療の発展による治療成績の向上は目覚ましいが、超低出生体重児における慢性肺疾患の罹患率は未だに高く、新生児救命の新たな治療法の開発は喫緊の課題である。我々が開発を行っている人工胎盤システムは、抗血栓性に優れた膜型人工肺と血液ポンプをループ状に配置したECMO回路を臍帯動脈と静脈の間にブリッジするようにデザインされ、ECMO回路をループ循環する血流量を十分に確保しつつ、胎児循環への血流量を適切な範囲に保つことが可能である。将来的には、本システムを早産児および重症呼吸障害児に適応し、人工呼吸器管理による肺損傷を回避した長期呼吸循環管理の実現を目指している。

研究成果の概要（英文）：We have developed a new artificial placenta (AP) system consisting of a looped ECMO circuit bridging to the fetus circulation in the form of an umbilical arterial-venous connection. We aimed to evaluate the feasibility of the AP system by performing a hydrodynamic experiment of simulation using a mechanical mock circulation system and a fetal animal experiment. This simulation showed that in an AP system with an ECMO in series between the umbilical arteries and vein, it was difficult to maintain fetal hemodynamics when high ECMO flow was applied. The AP system consisting of the loop circuit configuration ECMO with a bridge circuit could have high ECMO flow with less umbilical flow, whereas the possibility of excessive load on the fetal right ventricular system should be noted. In the animal experiment, GA135 days kid was maintained for 12 days and grew to term. The developed AP system was feasible under both in vitro and in vivo conditions.

研究分野：人工臓器学

キーワード：人工胎盤 ECMO 胎児循環 ガス交換

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

早産は依然として新生児死亡の主な原因であり、出産、救命後においても人工呼吸器関連肺障害による慢性肺疾患は、その予後において重篤な合併症を引き起こす原因として挙げられている。かかる問題に対して、我々は、膜型人工肺を用いて新生児の呼吸を代償する人工胎盤 (AP) システムの研究を進めている。

我々は、臍帯動脈と静脈の間に膜型人工肺とともに抗血栓性に優れた動圧浮上型血液ポンプをループ状に配置した ECMO ブリッジ接続し、胎児循環を成立させるシステムを提案している。本システムは、ECMO 回路をループ循環する血流量を十分に確保しつつ、胎児循環への血流量を適切な範囲に保つことが可能であると推測される。

2. 研究の目的

本研究では、機械的模擬循環システムを用いたシミュレーションの流体力学的実験とヤギ胎児を用いた動物試験により新規考案された AP システムの実現性について評価を実施した。

3. 研究の方法

【人工胎盤システム】

本研究では、ループ構造の ECMO 回路を臍帯動脈-静脈接続を介して胎児循環にブリッジした AP システムを設計した。ループ構造の ECMO 回路の流量と胎児全身循環とのバランスは、ブリッジ回路の抵抗を調整することで制御した。ECMO は新生児用膜型人工肺 (Quadrox-i Neonatal Oxygenator, Getinge, Gothenburg, Sweden)、動圧浮上式遠心ポンプ (BIOFLOAT-NCVC, Nipro, Osaka, Japan) および、ECMO 回路部は全体を 1/4 インチ塩ビチューブで構成し、一部の遠心ポンプ接続用に内径 3/8 インチの回路チューブ (平和物産、東京) を使用した。ブリッジ回路部は内径 1/4 インチチューブを使用した。血液ポンプと回路チューブはヘパリンコーティング (T-NCVC コーティング、東洋紡、大阪、日本) を行った。

【模擬循環装置による AP システムの評価】

本研究で用いたモック装置は、胎児の全身循環を模擬した回路部と ECMO 循環を模擬した回路部を並列に配置し、臍帯動脈-静脈接続にブリッジする回路で接続されている。胎児循環回路部は、循環シミュレータ (Laboheart NCVC, Iwaki Pumps, Tokyo, Japan) を使用した。Laboheart NCVC は、サーボモーターで駆動されるピストンによって容積が変化する左心室部 (LV)、閉鎖タンク内の空気圧によってコンプライアンスが調整できる大動脈部 (Ao)、末梢血管抵抗制御用のコントロールバルブ、大気開放の右房-左房部 (RA=LA) で構成されている。ECMO 回路は 2 本の流入カニユーレを大動脈部に、流出カニユーレを心房タンクに挿入し、体循環回路 (モック装置) と接続した。

回路・モック装置内は血液の粘性を模倣した 35 % グリセロール水溶液を充填した。圧力は、回路の入口圧 (P1)、遠心ポンプと膜型酸素供給器の中間点 (P2)、血液供給カニユーレの上流 (P3)、大動脈タンク (P4) および心房タンク (P5) の 5 点で測定した。圧力測定には圧力トランスデューサー (TruWave disposable pressure transducer, Edwards Lifescience, CA, USA) を使用した。全身循環の流量は Lanboheart (F3) に内蔵された超音波流量計で計測した。遠心ポンプの出口 (F1) と心房タンクへの戻りカニユーレ (F2) に 2 本の超音波流量計プローブ (Transonic Systems, NY, USA) を装着した。測定データはデータレコーダ (PowerLab 16/35, ADInstruments, New Zealand) および専用ソフトウェア (PowerLab, ADInstruments, New Zealand) を用いて記録した。

胎児循環用モック装置の設定は、LV ポンプの拍動数を 140 bpm に固定し、収縮期持続時間は一拍動時間の 36 % に設定した。回路抵抗は平均圧が約 50 mmHg (P4) となるように調整し、対象とする新生児の体重を 2 kg と仮定して、その心拍出量が 1.1 L/min となるようにした [12]。中心静脈圧 (P5) は 5 mmHg に設定した。

AP システムの作動条件は以下のように変更した。

- (1) 遠心ポンプを停止し、ECMO 回路を閉塞させ、血液ポンプと人工肺を含む回路の一部をモック装置と直列に接続した (条件 B、血液ポンプは停止状態)。
- (2) 遠心ポンプを最低回転数 3,000 rpm で起動した (C 条件)。その後、ECMO 回路を開放した (条件 D)。

(3) 胎児の心機能や体重による胎児初期心拍出量の違いが流量に及ぼす影響を調べるため、条件 D を維持したまま胎児初期心拍出量を 0.6 ~ 2.5 L/min の間で変化させた (条件 E)。これらの状況において、それぞれの流量とモック装置の圧力の関係を調べた。

【動物試験による AP システムの評価】

[動物および手術方法]

妊娠 135 日目 (GA) の双子妊娠ヤギより、2 頭の新生ヤギ (kid1:1.9 kg, kid2:1.6 kg) を使用した。本動物実験は、国立循環器病研究センター動物実験施設委員会のガイドラインに従って実施し、同委員会の承認を得た (第 21079 号)。

母ヤギは、全身麻酔下にて気切挿管し、人工呼吸を実施した。術中の全身麻酔はイソフルラン吸入とプロポフォール持続注入で維持した。母ヤギは背臥位で固定し子宮を露出させ切開し、胎児を娩出した。臍帯動脈および静脈を分離し、12 ~ 14 Fr のカニューレ (12 Fr または 14 Fr; Bio-Medicus® One-Piece Pediatric Venous Cannulas, Medtronic, Minneapolis, MN) をカットダウン法にて挿入した。カニューレ挿入前にヘパリン (100 IU) を臍帯静脈に注射した。AP システムは、リポプロスタグランジン E1 を 2 μ g 添加した母体血 120 mL でプライミングした。

AP システム接続後の仔ヤギは、ポリフッ化ビニル樹脂製のバッグに入れた後、羊水の代替として加温したリンゲル重炭酸塩溶液をバッグに満たした。代替羊水は 4-12 時間おきに 4-6 L の割合で交換し、バッグの下にヒーターマットを敷いて保温した。膜型人工肺には空気と酸素の混合ガスを供給し、胎児の臍帯動脈血ガス値 (目標酸素分圧 (PaO₂) 20-35 mmHg, 炭酸ガス分圧 (PaCO₂) 50 mmHg) を維持するようにした。

分娩後には、プロスタグランジン E1 (0.15 ng/kg/min) を持続注入した。活性化凝固時間 150-200 秒を維持するためにヘパリンを静脈内投与した。鎮静処置としてミダゾラムを持続点滴した。可能な限り胎児ヘモグロビン値を 10g/dL 以上に維持するように母体血を輸血した。抗生物質としてメロペネムおよびフルコナゾールを投与した。ヒドロコルチゾン (1 ~ 2 mg/kg/日) も投与された。AP システム装着中の循環調節のため塩酸ドプタミン、塩酸ドパミン、ミルリノンが投与された。フロセミドも使用された。10% ブドウ糖、アミノ酸、脂質、ビタミン化合物、微量栄養素からなる非経口栄養 (TPN) を投与し、70 ~ 80 kcal/kg/day を供給した。

4. 研究成果

【模擬循環装置による AP システムの評価】

モック装置を用いた AP システムのシミュレーションの結果は以下の通りである。

全身循環の基本条件は、P4 が 50mm Hg, 初期胎児心拍出量が 1.1 L/min (条件 A) であった。

(1) 条件 B では、臍帯血流量に相当する F2 が 0.3 L/min, 胎児循環血流量に相当する F3 が 0.8 L/min, P3 が 10 mmHg, P4 圧が 32 mmHg に減少した。

(2) 条件 C では、F2 が 0.8 L/min に増加、F3 が 0.3 L/min に減少、P3 が 50 mmHg に増加、P4 が 11 mmHg に減少した。条件 D では、F2 が 0.4 L/min に減少し、ECMO 流量に相当する F1 が 2.5 L/min, F3 が 0.6 L/min に増加、P3, P4 はそれぞれ 17, 24 mmHg であった。

(3) 条件 E では、初期胎児心拍出量の変化は F1, F2 流量に影響しないことが判明した。

【動物試験による AP システムの評価】

同一母体から分娩された 2 頭のヤギ胎児に対して、AP システムを適用した。本試験では新生児のガス交換性能の維持と新生児血行動態の確立に重点を置いた。

Kid1 (1.9 kg, 135 days GA) を 12 日間 AP システムで維持した。臍帯動脈 (流入) には 12 Fr と 14 Fr のカニューレを使用し、臍帯静脈 (流出側) には 14 Fr のカニューレを使用した。血液ポンプの回転数を 3,210rpm として AP システムを開始した。AP システム開始直後の臍帯血流量は 212 mL/min (112 mL/kg/min), ポンプ流量は 2.7 L/min (1.4 L/kg/min) であった。

術後 12 日目に kid1 は正常分娩と同様の生育状態となったため、AP システムからの離脱を実施した。Kid 1 は人工呼吸下で生存したが、ガス交換能などの臓器機能の低下が観察されたため、システム離脱後 1 日目に実験を終了した。剖検時に、主要臓器の血栓塞栓症や重篤な梗塞病変は観察されなかった。病理組織学的検査では、肺水腫が認められたが、組織学的には肺泡は成熟形態を示していた。肝臓は、うっ血、ヘモジデリン沈着、黄疸および胆汁塞栓を認めた。心筋細胞には成熟した構造が観察された。

kid2 (1.6kg, GA135日)は、手術時に血栓によるシステムの閉塞のため AP システムを確立できず、試験が不成立であった。

考察

本研究課題において、我々は臍帯動脈-静脈接続を用いた胎児循環とループ状の回路構成の ECMO を用いた新しい AP システムのコンセプトを考案した。モック装置を用いた AP システムの循環シミュレーションと動物実験により、この新しいシステムの実現可能性を示し、いくつかの克服すべき課題を明らかにすることができた。

本システムの最も革新的な点は、ループ状に構成された ECMO 回路と臍帯動脈-静脈接続を介して胎児の全身循環をブリッジすることにより、AP システムを装着した新生児の体循環量の減少を防ぐと同時に、臍帯動脈-静脈の胎盤循環を最小限に抑えることができる点である。本システムにより、ECMO 回路側ではガス交換に十分な血流を確保することが可能で、回路内の血栓形成を防止することが可能であった。本 AP システムを用いた動物試験においては、ヤギ新生児を AP システム上で最長 12 日間成熟させることが可能であった。今後の課題としては、回路システムの改良と胎児の全身状態の管理が必須と考えられた。また、これら AP システムにおける代表的な方式下でシステムが胎児の血行動態に及ぼす影響を定量的に評価するために、数種類の AP システム条件について機械的模擬循環システムを用いたシミュレーションの流体力学的実験を行った。

これらの研究により、AP システムの本質的な要素は、ECMO システムに由来する合併症を回避しつつ、胎児の血行動態への悪影響を最小限に抑えるために、最小限の臍帯動脈-静脈間の循環血流で適切なガス交換性能を達成し、回路内の血栓形成を防止することと考察された。

今回の動物実験では、臍帯血流の調節は実施されたが、正常生体での胎盤血流で推定されるほど多くはなかった。これは、AP システムのカニューレを含む AP システムの回路抵抗が一因であるが、AP システムからの酸素供給量が本来の胎盤よりも高いため、正常胎盤よりも低い血流量でも胎児の生命維持可能であったと推察される。

結論

ループ状の回路構成を持った ECMO を臍帯動脈-静脈を介して胎児循環にブリッジ接続する新しい AP システムは、in vitro および in vivo の両方の条件下で実行可能であった。今後、システムの改良と胎児の全身状態の管理に関する検討が不可欠である。

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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Inatomi Ayako, Nishinaka Tomohiro, Umeki Akihide, Tsukiya Tomonori, Katagiri Nobumasa, Fujii Masahiko, Kobayashi Futoshi, Imaoka Syusuke, Tanaka Shun, Mizuno Toshihide, Murakami Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Feasibility study of an artificial placenta system consisting of a loop circuit configuration extracorporeal membrane oxygenation with a bridge circuit in the form of the umbilical arterial?venous connection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Artificial Organs	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） 10.1007/s10047-022-01370-z	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	西中 知博 (Nishinaka Tomohiro) (00256570)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・部長 (84404)	
研究分担者	稲富 絢子 (Inatomi Ayako) (40823464)	国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・研修生 (84404)	

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
---------	---------