

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 7 日現在

機関番号: 11301

研究種目: 基盤研究 (C)

研究期間: 2009~2011

課題番号: 21591407

研究課題名(和文) ヒツジ胎仔を用いた子宮内炎症がびまん性脳白質損傷の発症に与える影響の解明

研究課題名(英文) The effect of fetal cerebral white matter injury on the development of oligodendroglial lineages in chronically instrumented premature fetal sheep

研究代表者

松田 直 (MATSUDA TADASHI)

東北大学・病院・准教授

研究者番号: 50361100

研究成果の概要(和文):

われわれはヒツジ胎仔を用いて、脳虚血と子宮内炎症が脳白質の oligodendrocyte (OL) 系細胞密度に与える影響を解析した。脳虚血と子宮内炎症を負荷すると分裂増殖能を持つ OL precursor の減少が観察されたが、その後に分化する未熟ならびに成熟 OL 細胞のいずれもが脳白質内では有意に増加していた。こうした現象は OL precursor に対する apoptosis 誘導だけでは説明できない。ストレスに対する OL 系細胞の過成熟など成長障害を意識した研究が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文):

To determine the effect of cerebral ischemia and/or intrauterine inflammation on the development of oligodendroglial lineage in cerebral white matter, chronically instrumented fetal sheep was induced hemorrhagic hypotension and/or necrotizing funicitis. The brain was performed immunohistochemistry of NG2, O4, CNPase and PLP and then integrated density of each stain was statistically compared. The results suggested that in the premature fetal sheep, cerebral ischemia and/or intrauterine inflammation accelerated the oligodendroglial maturity from precursor to post-mitotic cells rather than induced apoptosis to precursor cells in the cerebral white matter.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野: 医歯薬学

科研費の分科・細目: 内科系臨床医学・胎児新生児医学

キーワード: 子宮内炎症, 脳血流量, 脳虚血, 胎児, brain-sparing effect, 脳室周囲白質軟化, 脳白質損傷, ヒツジ

## 1. 研究開始当初の背景

脳室周囲白質軟化 (PVL) に代表される脳白質損傷 (WMI) は早産児に生じる長期的な神経学的後遺症の主因とされ、小児期の合併症である脳性麻痺や知的発達と密接に関連する深刻な疾患である。WMI の詳細な発症機構や

予防法はいまだ十分には解明されていないが、多数の基礎研究に基づいて、脳虚血や子宮内炎症によって刺激された脳白質内の反応性 astrocytes や活性化 microglia が放出する炎症性サイトカインなどの神経毒性因子が脆弱な oligodendrocyte (OL) precursor に apoptosis を

誘導させた結果、脳白質内のOL系細胞の増殖と成熟が傷害されるという仮説が注目されている。この仮説はWMIを発症した新生児では巣状WMIでもびまん性WMIでも、修正月齢18頃に撮影した脳MRI画像において広範な脳白質量の減少が観察される事実と矛盾しないことから広く受け入れられている。

その一方で、急性期の損傷で減少したOL系細胞がどのような過程を経て最終像である脳白質量の減少に至るのかについてはいまだ殆ど検討されていない。BilliardsらはPVLを発症した早産児の脳組織を免疫組織学的に解析することによって、亜急性期PVLの脳白質内ではOlig2陽性である幼弱OLの細胞密度には対照群と比較して有意差はなく、脳白質内に比較して壊死組織内ではこうした幼弱OL細胞はむしろ増加していると報告した。たとえPVLの急性期に脳白質内においてOL precursorが減少したとしても、もしその亜急性期には幼弱OL細胞数が全体として回復しているのであれば、上述の仮説だけでは将来的に脳白質量が減少する理由を説明できない。したがって、OL系細胞の数の変化だけではなくその成長と発達の質に注目して、損傷組織の修復過程や髄鞘化の適応過程について解析する研究が重要だろう。

これまでわれわれはヒツジ胎仔を用いた「急性脱血によるPVLモデル」と「子宮内炎症に関連するPVLモデル」を開発し、PVLの発症機構について報告した。「急性脱血によるPVLモデル」実験では、胎仔胎盤系循環血液量の約40%を急性脱血することによって深部脳白質に虚血再灌流障害を発生させてPVL病変を誘導できた。<sup>8)</sup>「子宮内炎症に関連するPVLモデル」実験では、胎仔へのgranulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) 静注とendotoxinの羊水内注入によって、PVL病変のみならず皮質下白質に多発出血性壊死病変を誘導することができた。

そこで今回われわれは上記2つの実験から得られた脳白質組織を用いて、PVL亜急性期の脳白質内で、発達段階別にOL系細胞の増減を調べた。特異的抗体を用いた免疫染色でOL系細胞を発達段階別(OL progenitor, OL precursor, immature OL, mature OL)に染め分けることによってそれぞれの細胞密度から各発達段階への到達度を明らかにし、Sham群、hemodynamic insult群、inflammation群、inflammatory hemodynamic insults群の4群間でその特徴を比較した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は脳虚血や子宮内炎症がOL系細胞の増殖と発達に与える影響を解析し、過成熟や成長遅滞のような発達障害が誘導されたかどうかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

本研究は東北大学動物実験委員会の承認(No. 20HpA-4, 21MdA-5, 22MdA-19, 23MdA

-56)を得て、2008年4月から2011年12月に実施された。解析にはわれわれが過去に行ったほぼ同じpreparationとprotocolによる2つの実験から得られた胎仔脳組織を用いた。急性脱血によるPVL誘導実験からhemodynamic insult群(n=5)を、子宮内炎症に関連するPVL誘導実験からsham群(n=6)、inflammation群(n=5)、inflammatory hemodynamic insults群(n=8)を選抜し、この4群間で脳白質の免疫組織学的所見を比較した(図1)。

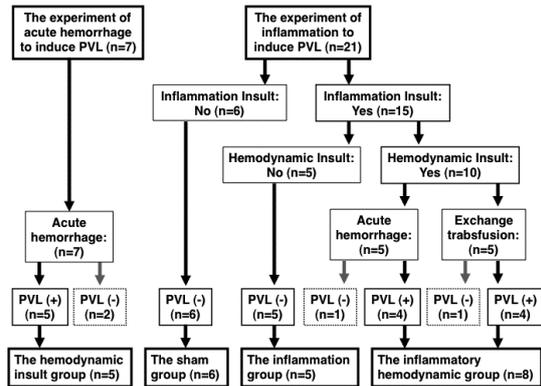


図1. 本研究で用いた中枢神経系材料慢性実験系の作成:

妊娠日が確定されているSuffolk種妊娠ヒツジ(満期147日)を用いて妊娠102-107日に手術した。The hemodynamic insult群の母獣のみ腰椎麻酔で、他の3群では全身麻酔を行った。腰椎麻酔には塩酸tetracaineの髄注と塩酸ケタミンの静注を併用した。全身麻酔では挿管して人工換気し、1.5-2.0% isofluraneを吸入させた。開腹後に子宮壁を切開し、心電図電極を胎仔の胸壁に固定し、血管カテーテルを上下大静脈、腹部大動脈、羊水腔内に留置した。すべてのケーブルとカテーテルは母獣の側腹壁から露出させて器機に接続した。手術の後、母獣を個別ケージ内に移し、全実験期間を通して水と餌を自由に摂取させた。母仔ともに全身状態が回復するまで2日間は安静にさせ、羊水のグラム染色所見を参考に適切な抗生物質を投与した。

## 実験プロトコール

急性脱血によるPVL誘導実験では、全身性低血圧を負荷するために循環血液量の35-40%を20分かけて下大静脈から急性脱血し、その24時間後から5時間かけて脱血液を戻し輸血した。その結果、7例中5例にPVLが認められ、これを本研究におけるhemodynamic insult group(n=5)とした(図1)。

子宮内炎症に関連するPVL誘導実験では(n=21)、胎仔をランダムにsham群(n=6)とinflammatory insult群(n=15)の2群に分けた。Inflammatory insult群では、胎内で多核好中球を増加させるために、G-CSF (Neutrogin® R; Chugai Co. Ltd, Tokyo, Japan)を妊娠105-109日に40µgずつ胎仔に静注した。さらに、その多核好中球を局所で活性化させるために、生食

5.0 ml に溶解した endotoxin (*Escherichia coli* 055:B5 endotoxin; Sigma Chemical Co., St Louis, MO) を妊娠 107 日に羊水腔内に注入した。

Endotoxin を注入した 24 時間後の妊娠 108 日に inflammatory insult 群をさらに 3 群に分け、それぞれ脱血群 (n=5)、交換輸血群 (n=5)、inflammation 群 (n=5) とし、以下の実験を行った。脱血群では全身性低血圧を負荷するために循環血液量の 35-40% を 20 分かけて下大静脈から急性脱血し、その 24 時間後から 5 時間かけて脱血液を戻し輸血した。交換輸血群では脱血に相当する貧血のみを負荷するために、循環血液量の 35-40% を 20 分かけて新鮮凍結血漿と交換輸血し、その 24 時間後から 5 時間かけて脱血液の血球成分だけを戻し輸血した。炎症群には上記の循環負荷実験は行わなかった。その結果、脱血群と交換輸血群のそれぞれ 5 例中 4 例に PVL が認められ、これらを合わせて本研究における inflammatory hemodynamic insult 群 (n=8) とした (図 1)。<sup>9)</sup>

Table 1. Comparison of basic fetal characteristics

	Sham (n = 6)	Hemodynamic insult (n = 5)	Inflammation (n = 5)	Inflammatory hemodynamic insult (n = 8)
Gestational days of: Initial operation	103 ±0.0	107 ±1.3	102 ±0.2	103 ±0.2
Cesarean section	113 ±0.0	116 ±1.3	113 ±0.0	113 ±0.0
Gestational days of: Endotoxin injection	-	-	107 ±0.0	107 ±0.0
Hemodynamic insults	-	110 ±1.3	-	108 ±0.0
Withdrawn blood volume (%)	-	40.3 ±0.4	-	38.6 ±0.5
Weight: Body (kg)	2.12 ±0.15	2.39 ±0.18	2.04 ±0.13	1.93 ±0.09
Brain (g)	34.3 ±1.6	35.6 ±1.6	31.2 ±0.5	32.0 ±1.0
Brain/Body weight ratio	1.64 ±0.05	1.60 ±0.12	1.56 ±0.12	1.68 ±0.05
Histopathology: Necrotizing Funisitis (%)	0	0	100	100
PVL (%)	0	100	0	100

### 組織病理学的検討

妊娠 113-116 日に帝王切開し、麻酔下に胎仔脳を 10%ホルマリン緩衝液で灌流固定した後、胎仔の体重と脳重を測定した。卵膜と胎盤は 10%ホルマリン緩衝液に浸した。胎仔脳は標準的な 4 つの冠状断面で 5 分割し (前頭葉, 前基底核, 乳頭体, 後頭葉), 肉眼的観察の後に、4 μm の切片を hematoxylin and eosin 染色して組織学的検索に供した。

PVL は Banker and Larroche の基準に従って診断し、壊死性臍帯炎は Navarro and Blanc の基準に基づいて診断した。組織学的診断はすべて、実験経過を知らされない病理専門医 (Y.K.) がひとりで行った。

### 免疫組織学的検討

#### 一次抗体を用いた免疫染色

ホルマリン固定された前基底核レベルの切片を表 2 に示した一次抗体と lectin を用いて解析した。OL 系細胞を発達段階別 (progenitor, precursor, immature and mature) に同定し分類するために以下の一次抗体を用いた; NG2, O4, CNPase, PLP. 活性化 microglia と反応性 astrocyte は tomato lectin と GFAP (glial fibrillary acidic protein) を用いて同定した。Apoptosis 細胞の同定には TUNEL 法を用いた。

Table 2. Antibodies and lectin used in this study

Antibodies/lectin	Dilution	Catalog No.	Source
NG2 (anti-mouse)	1:10	MAB5520	(CHEMICON)
O4 (anti-mouse)	1:100	MAB345	(CHEMICON)
CNPase (anti-mouse)	1:500	MAB326R	(CHEMICON)
PLP (anti-mouse)	1:1000	MAB388-100UG	(CHEMICON)
Tomato lectin	1:100	BK-3000	(VECTOR)
GFAP (anti-rabbit)	1:500	M0761	(DAKO)

免疫染色は SAB-PO 法 (A streptavidin-biotin peroxidase 法 SAB-PO kit, mouse and rabbit, 03AM0769, NICHIREI, Japan) で行った。抗原を強調するために NG2 染色の切片ではクエン酸オートクレーヴ法 (10 mM citrate buffer, 15 分間, 120 °C) を用いた。同様に O4 染色の切片では proteinase K に 37°C で 15 分間浸し、CNPase では 0.1% Trypsin (0.05M Tris-HCl buffer/Trypsin/CaCl<sub>2</sub>) に 37°C で 30 分浸した。PLP と GFAP を使用する切片では抗原を強調するための前処置は行われなかった。内因性 peroxidase を除去するために全ての切片を 0.3% 過酸化水素 methanol (0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in methanol) に 10 分間浸し、蛋白の付着を防ぐため正常血清に 10 分間浸した。一次抗体を phosphate buffered saline (PBS) で希釈し、切片を各々の一次抗体に 37°C で 2 時間浸した。その後、2 次抗体に 10 分、酵素試薬に 5 分浸した。さらに 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) を使用して抗原抗体反応を示した部位を染色し、hematoxylin にて核染色を行った。活性化 microglia は tomato lectin で同定した。切片を 0.1% trypsin (0.05M Tris-HCl buffer/Trypsin/CaCl<sub>2</sub>) に 37°C で 30 分浸した後、PBS で希釈した tomato lectin に 37°C で浸した。酵素試薬に 5 分間浸した後、DAB と hematoxylin で染色した。

Apoptosis 細胞は TUNEL (TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling) 法を用いて同定した。切片を proteinase K に 37°C で 15 分間浸した後、TUNEL 反応混合液に 60 分間、TUNEL-POD に 30 分浸し、DAB と hematoxylin で染色した。

#### 細胞密度とその分布の解析

免疫染色による細胞密度とその分布の解析は実験経過を知らされていない研究者がひとりで実施した (R.K.)。光学顕微鏡下 (400 倍) に PVL 病変のない脳白質領域からランダムに 10 視野 (側脳室周囲から 5 視野と皮質下白質から 5 視野) を選んでデジタルカメラ (DP70, Olympus, Tokyo, Japan) で撮影し、その画像ファイルをパソコンに保存した。Win ROOF version 6.1 (MITANI corporation, Tokyo, Japan) を用いて、免疫染色陽性の発色領域の全体に対する割合を細胞密度 (integrated density) として数値化し、sham 群に対する相対値で表した。

TUNEL 染色の解析も Win ROOF version 6.1 を用いて解析し、TUNEL 染色陽性細胞の全細胞数に対する割合を計算し、sham 群に対する

相対値で表した。

### 統計学的解析

全ての数値データは平均±SEM で表した。連続変数を用いた 4 群間の比較は Kruskal-Wallis test で行い、有意差が示唆された場合には Scheffe test にて多重比較を行った。連続変数を用いた 2 群間の比較には Wilcoxon signed rank test を用いた。いずれも両側検定し、 $p < 0.05$  を有意差ありとした。

### 4. 研究成果

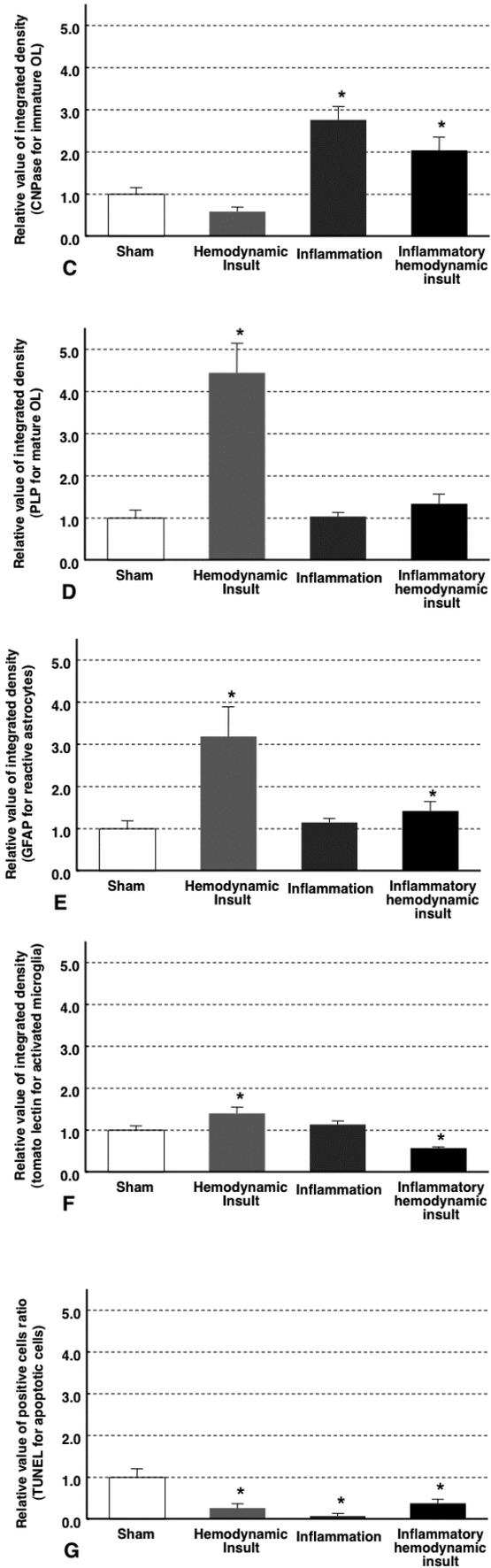
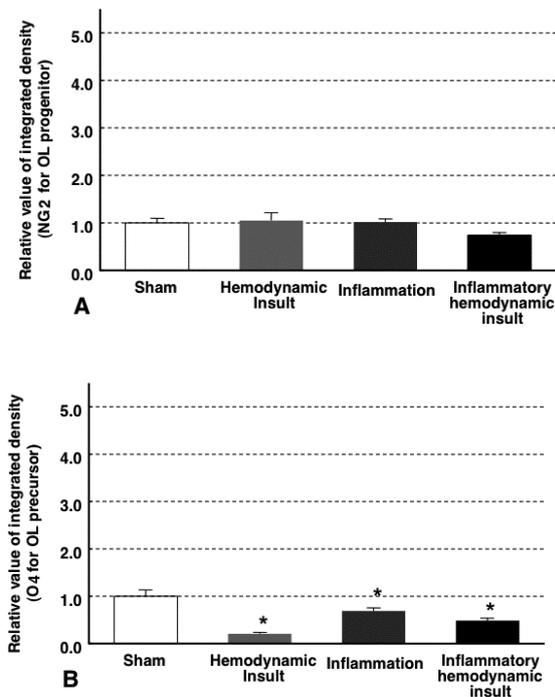
Basic fetal characteristics について各群間で比較した結果を Table 1 に示した。

慢性実験系を作成するための手術ならびに帝王切開を実施した妊娠日齢に 4 群間で差は認められなかった。Endotoxin を羊水内注入した妊娠日齢は inflammation 群と inflammatory hemodynamic insult 群は同じで、循環変動を负荷した妊娠日齢ならびに脱血量においても hemodynamic insult 群と inflammatory hemodynamic insult 群の間で差は認められなかった。胎仔の体重、脳重、脳重/体重比に 4 群間で差はなかった。

壊死性臍帯炎は inflammation 群と inflammatory hemodynamic insult 群の全例に観察され、いずれも絨毛膜羊膜炎をともなっていた。Sham 群ならびに hemodynamic insult 群ではいずれの胎仔においても臍帯炎は認められなかった。

PVL は hemodynamic insult 群と inflammatory hemodynamic insult 群の全例に観察され、Sham 群ならびに inflammation 群の胎仔には PVL を含め明らかな中枢神経系損傷は認められなかった。

免疫組織学的解析の結果を figure 2 に示した。



**Figure 2. 免疫染色による細胞密度を4群間で比較した結果.** Sham 群に対する相対値にて表示 (平均±SEM). A: NG2 (OL progenitor), B: O4 (OL precursor), C: CNPase (immature OL), D: PLP (mature OL), E: tomato lectin (activated microglia), F: GFAP (reactive astrocyte), G: TUNEL (). \* $p < 0.05$  (Scheffe test).

NG2 陽性細胞 integrated density の比較では hemodynamic insult 群 (1.05 ± 0.16), inflammation 群 (1.01 ± 0.07), inflammatory hemodynamic insult 群 (0.74 ± 0.05) の4群間に有意な差は認められなかった (figure 2, A). O4 抗体染色では hemodynamic insult 群 (0.20 ± 0.03), inflammation 群 (0.69 ± 0.07), inflammatory hemodynamic insult 群 (0.48 ± 0.05) の3群いずれも sham 群に比較して陽性細胞 integrated density が有意に減少していた (figure 2, B). CNPase 抗体染色では, inflammation 群 (2.76 ± 0.31) と inflammatory hemodynamic insult 群 (2.04 ± 0.31) の2群は sham 群に比較して陽性細胞 integrated density が有意に増加していたが, hemodynamic insult 群 (0.59 ± 0.11) では差がなかった. (figure 2, C). PLP 抗体染色では hemodynamic insult 群 (4.44 ± 0.70) のみが sham 群に比較して陽性細胞 integrated density が有意に増加しており, inflammation 群 (1.03 ± 0.10) と inflammatory hemodynamic insult 群 (1.34 ± 0.23) の2群は差を示さなかった. (figure 2, D). GFAP 抗体染色では hemodynamic insult 群 (3.19 ± 0.39) と inflammatory hemodynamic insult 群 (1.42 ± 0.11) の2群は sham 群に比較して陽性細胞 integrated density が有意に増加していたが, inflammation 群 (1.15 ± 0.11) は差がなかった (figure 2, E). LEA 染色では hemodynamic insult 群 (1.40 ± 0.15) は sham 群に比較して陽性細胞 integrated density が有意に増加していたが, inflammation 群 (0.57 ± 0.03) では逆に減少しており, inflammation 群 (1.13 ± 0.08) は差がなかった. (figure 2, F). TUNEL 染色では hemodynamic insult 群 (0.27 ± 0.10), inflammation 群 (0.07 ± 0.06), inflammatory hemodynamic insult 群 (0.38 ± 0.10) の3群はいずれも sham 群に比較して陽性細胞率が有意に減少していた (figure 2, G).

### 考察

本研究の結果が示した最も注目すべき点は、「循環変動 and/or 炎症」負荷後6日のヒツジ胎仔脳白質では, OL precursor (O4+) の細胞密度が sham 群と比較して有意に減少する (Figure 2, B) とともに immature (CNPase+) もしくは mature OL (PLP+) の細胞密度が著しく増加していたことである (Figure 2, C and D). もし従来の仮説のように循環変動 and/or 炎症が脆弱な

OL precursor に apoptosis を誘導したことによって脳白質内の OL 系全体の増殖が抑制されたのであれば, OL precursor に引き続き発達段階にある immature ならびに mature OL の細胞密度も OL precursor と同様に減少しなければならず, それとは逆にこれらが著しく増加していた現象をこの仮説では十分に説明できない. また, 循環変動 and/or 炎症を負荷された胎仔脳白質では, TUNEL 染色陽性の apoptosis 細胞数が sham 群と比較して有意に減少していたことも (Figure 2, G), OL precursor に apoptosis が強く誘導されるという従来の仮説とは矛盾する結果であった.

本研究の結果を説明するためには, おそらく「循環変動 and/or 炎症によるストレスが OL precursor の分化を過剰に促進させた」とする仮説が必要であろう. OL 系全体が増殖するか分化するかの舵を握っているのは OL precursor である. したがって, glucocorticoid のような抗ストレスホルモンに反応して OL precursor が自らの増殖よりも分化を優先させることによって, immature ならびに mature OL への分化が過剰に誘導されれば, その結果として OL precursor はしばらく枯渇するに違いない. 同時にそれは TUNEL 染色陽性の apoptosis 細胞数の減少として反映されるであろう. 何故なら生来この時期にもっとも活発に apoptosis を生じているのは OL precursor である可能性が高いからである.

Glucocorticoid の OL 系細胞に対する作用は複雑ではあるが, 近年その重要な役割が明らかにされている. 一般的に glucocorticoid は OL precursor の増殖を抑制して postmitotic OL への分化を促進し,<sup>20</sup> myelin 形成を開始させ, myelin components の生合成を強化する. しかし, その一方で, 妊娠ヒツジに betamethasone を投与した実験では, より早い妊娠時期により多量に投与されるほど, 胎仔脳白質において myelin basic protein の免疫染色性が低下する, すなわち髄鞘化が抑制されることが指摘されている. したがって, ある特定の time window において, ストレス反応性 glucocorticoid によって OL precursor にその増殖を著しく抑制させるほど過剰な分化が誘導されれば, たとえ一過性に髄鞘化が促進されたとしても, 最終的には深刻な髄鞘化の停滞に陥る可能性がある. こうした視点はびまん性 WMI の発症機構を考えるひとつの重要な糸口になるかも知れない.

次いで, 反応性 astrocyte (GFAP+) と活性化 microglia (tomato lectin+) の細胞密度の変化について述べる. PVL を発症した循環変動群ならびに炎症性循環変動群では sham 群に比較して有意な変動が観察されたが, 炎症群では明らかな変化を指摘できなかった (Figure 2, E and F). PVL のような巣状 WMI 周囲の白質内で反応性 astrocyte や活性化 microglia が観察されることは古くからよく知られているため, これらの細胞密度が増加したことはそれと矛盾しない. しかし, 炎症性循環変動群において活性化 microglia の

細胞密度が減少した理由を本研究の結果に基づいて説明することは困難である。ただし、炎症性循環変動群では8例中3例に多発性小出血壊死を伴っていたため、壊死巣に大量の活性化 microglia が動員された結果として脳白質内ではこれが枯渇した可能性がある。

一方、炎症群で反応性 astrocyte と活性化 microglia の細胞密度に有意な変動が認められなかった理由は、この群には PVL が誘導されなかったことから説明できるものの、子宮内炎症によるびまん性 WMI の成因を考える上で興味深い。何故なら、炎症群にも観察された OL precursor の増殖を抑制してその分化を促進する過成熟反応には凝固壊死とそれに伴う反応性 astrocyte ならびに活性化 microglia の浸潤が必ずしも必要ではなく、子宮内炎症によるストレス負荷だけで充分であった可能性を示唆しているからである。したがって、もしこの過成熟反応がびまん性 WMI の成因のひとつと考えるのであれば、従来の仮説とは明確に区別して検討されなければならない。

以上の検討に基づいて、われわれは以下のように結論した；ヒツジ胎仔に負荷された脳虚血や子宮内炎症は巣状 WMI を引き起こすのみならず、その亜急性期には OL precursor の増殖を抑制してその分化を促進する過成熟反応を誘導した可能性がある。その結果、一過性に OL precursor が減少して postmitotic OL による髄鞘形成が進展するが、深刻な OL precursor の減少が遷延した場合には、最終的に OL 系全体の髄鞘化が障害されてびまん性 WMI を引き起こすかもしれない。今後、この過成熟反応の本質を明らかにするためには、OL precursor の glucocorticoid receptor 解析などそのストレス反応性を解明するとともに、電子顕微鏡撮影による髄鞘の超微構造変化を捉える解析や、MRI 撮影で脳全体の髄鞘形成を把握する研究が求められるだろう。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- (1) 加賀麻衣子, 松田直, 渡辺達也, 小野寺幸子, 渡辺真平, 臼田治夫, 八重樫伸生. 臍帯炎. 胎児死亡と胎盤病理. 産科と婦人科 2011; 78: 720-6. (査読なし)
- (2) 渡辺達也, 松田直. 脳室周囲白質軟化症. 脳・神経系の画像診断. 小児科診療 2009; 72: 559-65. (査読なし)
- (3) 松田直. 動物実験モデルを用いた胎生期における臓器成熟・適応・損傷の解析. 日未熟児新生児会誌 2009; 21: 23-8. (査読なし)

[学会発表] (計 3 件)

- (1) 三浦雄一郎, 松田直, 埴田卓志, 北西龍太, 渡辺真平, 齊藤昌利, 三本木慧介. ヒツジ胎仔を用いた人工胎盤の基礎的検

討. 第 48 回日本人工臓器学会, 2011 年 11 月 19 日, 仙台.

- (2) Ryuta Kitanishi, Tadashi Matsuda, Masatoshi Saito, Takushi Hanita, Tatsuya Watanabe, Yoshiyasu Kobayashi, Nobuo Yaegashi. Diffuse white matter injury of premature brain in the chronically instrumented fetal sheep. 39th Annual Meeting of the Fetal and Neonatal Physiological Society 2011; Jul. 11, 2011 (Palm Cove, Cairns, AU)
- (3) Yuichiro Miura, Tadashi Matsuda, Masatoshi Saito, Shinpei Watanabe, Ryuta Kitanishi, Takushi Hanita, Tatsuya Watanabe, Nobuo Yaegashi. Development of an artificial placenta: Pumpless arteriovenous extracorporeal life support in a premature lamb model. 39th Annual Meeting of the Fetal and Neonatal Physiological Society 2011; Jul. 11, 2011 (Palm Cove, Cairns, AU).

[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]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松田 直 (MATSUDA TADASHI)  
東北大学・病院・准教授  
研究者番号: 50361100

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

太田 英伸 (OHTA HIDENOBU)  
東北大学・病院・非常勤講師  
研究者番号: 80422103

三浦 雄一郎 (MIURA TUICHIRO)  
東北大学・病院・特任助手  
研究者番号: 20419229

北西 龍太 (KITANISHI RYUTA)  
東北大学・病院・非常勤講師  
研究者番号: 20436116