

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462720

研究課題名(和文) 羊胎仔尿路閉塞後の腎・膀胱両機能温存型膀胱-羊水腔シャントチューブの開発

研究課題名(英文) Valved shunt as a treatment for obstructive uropathy: does pressure make a difference?

研究代表者

北川 博昭 (KITAGAWA, Hiroaki)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：80153097

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：胎児期尿路閉塞は、膀胱-羊水腔シャントが一般的である。しかし、出生後の腎機能が不良で、自己排尿できない症例を認め患児のQOLは低い。羊を用いた羊胎児実験から、シャントチューブに脳外科用V-Pシャント(脳室-腹腔シャント)を用い胎児期の膀胱の拡張と収縮動作を保つことができた。今回富士システムズと共同でシリコンチューブを用いて、定常圧を持つマイクロ圧調整バルブ技術を開発し、穿刺型胎児尿路閉塞症用シャントチューブを作成した。過去3年で穿刺キットは完成したが、皮膚を穿刺し、膀胱内に挿入留置できるかを調べ、本シャントチューブが適正圧で出生後に膀胱機能が温存できるかどうかを調べている。

研究成果の概要(英文)：We have shown conclusively that a valved shunt placed at an appropriate time to bypass a bladder outlet obstruction results in prevention of ongoing renal damage, improvement in lung volume and improved bladder function at birth. We have developed a prototype valved shunt that is almost ready for use in human fetuses. This study is designed to test whether the equipment that has been developed to deliver this shunt into the bladder.

研究分野：医歯薬学

キーワード：Obstructive Uropathy Fetal Surgery Vesico Amniotic Shunt MCDK

1. 研究開始当初の背景

胎児期の尿路閉塞患児に対して、腎機能を温存する目的に超音波ガイド下に膀胱-羊水腔 (V-A シャント) チューブを挿入する治療が世界各地で施行された。しかし、これらの患児は出生後、膀胱容量の減少、膀胱壁の肥厚を認め、種々の排尿障害が報告された。我々は 16 年前に開始した実験から胎児期の排尿サイクルの消失がこの原因である事を突き止め、常時膀胱に圧のかかる**穿刺型シャントチューブ**の開発を行い、臨床応用にはこのようなシャントチューブが必要と考え継続して実験をおこなっている。

2. 研究の目的

胎児期の尿路閉塞患者は早期の膀胱羊水腔シャント術で腎機能温存が可能となった。反面、シャント後、膀胱壁の線維性肥厚が生じ、その原因はシャントによる胎生期膀胱収縮運動の遮断と考え、膀胱に常時一定の圧が加わる Valve シャントの使用で膀胱機能を温存できた。膀胱内圧は 15-54mmHg 以内に保つことが必要であり、これ以上の圧では尿路閉塞同様の病理所見を認めた事を 2013 年に報告している。(Ped Surg Int. 29:381-386, 2013 H.Kitagawa, Yasuji Seki, Tadashi Aoba, Shutaro Manabe, Kei Ooyama, et al) この論文では胎生期に脳外科用の 95-150mmHg High Pressure シャントを挿入した場合には尿路閉塞同様の腎・膀胱所見を認めた。そこでこの圧を常時膀胱にかけられる**穿刺型シャントチューブ**の開発が必須と考え一般企業と共同で**穿刺型 Valve シャントチューブ**の開発を目的とした。

3. 研究の方法

大動物の羊を用いた胎児実験は国内では飼育場の問題があり、良好な生存率が得られない。そこで、羊の安価な New Zealand の Otago 大学と共同で実験をおこなった。妊娠羊は日本の 1/5 で入手でき、その後契約農場で飼育する。妊娠羊を Wellington 病院の動物実験室で、全身麻酔下に子宮を切開し、胎仔を取り出し尿路閉塞モデルを作成する。胎生 60 日と 80 日の尿路閉塞モデルを作成した。

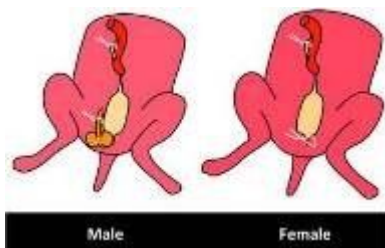


図 1 オスでは陰茎部尿道と尿膜管を結紮し、メスでは膀胱頸部と尿膜管を結紮した。尿

路閉塞手術の生存率はおおよそ8割であった。

その 3 週間後に 15-54mmHg と同様の圧のかかるシャントチューブを拡張した膀胱内に挿入する。シャントチューブは A 社製の金属製のカテーテルと B 社から提供を受けた細いシリコン性のカテーテルの試作品を吟味した結果、先端にバルブの作成してある B 社のチューブを改良する事とした。

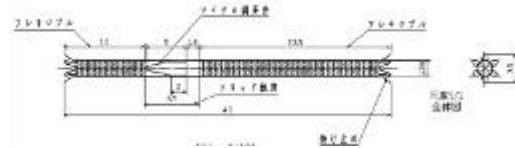


図 2 A 社の金属製シャントチューブ



図 3 B 社のシリコン製シャントチューブ

初年度は胎仔を出して膀胱内にシャントチューブを挿入してチューブが自然脱落しないか、細いチューブがフィブリンなどでつまらないかを検討した。



その後、妊娠を継続し、145 日の満期に帝王切開で娩出させる。この先の方向性は、これらのシャントチューブを子宮壁から穿刺挿入可能なシャントチューブに改良することである

4. 研究成果

共同研究の会社から提供されたシャントチューブで金属製とシリコン製のシャントチューブの試作品からシリコンを選定した。シャントチューブのサイズを長さ、太さ、2種類用意し、先端をパンタグラフ状に膀胱内で開くような仕組みにした。

(1) 胎仔にはシリコン製の羊水-腹腔シャントチューブを挿入した。実験は母羊を全身麻酔下で眠らせ、胎生 80 日に臍帯を付けたまま胎仔の膀胱を切開し、試作モ

デルのシャントチューブを膀胱と羊水腔内に挿入し5匹に non valve のシリコンチューブを挿入、残りの6匹に1.0mmの径の今回試作したシャントチューブ（両側をパンタグラフ状に加工）を3匹に挿入、1.5mm径のパンタグラフ状に加工したシャントチューブを3匹に挿入した。妊娠経過中に自然脱落することは無く、両端に作成したパンタグラフは機能していた。また、内腔が閉塞することは無かったため内腔の1mmの小さなチューブでも問題なかった。



胎児用シャントの試作品について 1

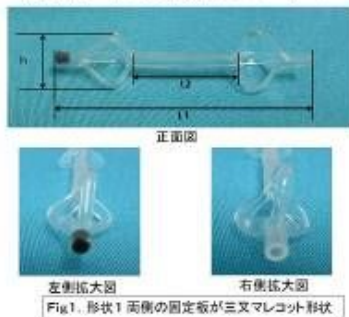
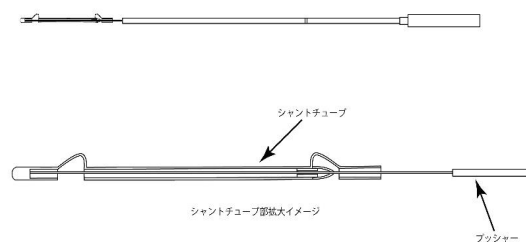


Fig.1. 形状1 両側の固定板が三又マレコット形状

- (2) 挿入したシャントチューブの先端に(15-54 mmH₂O)の一定圧がかかる仕組みを考案した。これらのチューブが膀胱から自然に脱落しないことを確認し、ここまでのプロトタイプを作成した。羊胎仔の尿路閉塞モデルを作成し、膀胱-羊水シャントに工夫をした pressure-limited shunt tube を挿入し、世界で初めて膀胱機能が温存出来ることを以前に証明した。今回はこの治療による腎臓への影響を評価した。妊娠羊23匹の胎仔32匹に対し、胎生60日に26匹を手術により人為的に尿路閉塞させた。その内の13匹は、3週後に再び胎児手術を行い、2種類の pressure-limited shunt tube (high:7匹, low:6匹) を用いて治療 (V-A shunt) し、いずれも満期まで妊娠させた。治療を行わなかった尿路閉塞モデル8匹(A群)、low pressure の shunt で治療した5匹(B群)、同様に high pressure の5匹(C群)、正常満期胎仔6匹(D群)であった。これらの各群について腎臓の組織を比較検討した。low pressure の shunt 治療が膀胱には優れていると発表しているが、腎臓においてはその優位性は示せなかった。

- (3) この3年間で作成できた論文はこのバルブ付きシャントチューブを用いて膀胱羊水腔へ尿をシャントしても肺の形成に影響を示さなかったことがわかり、この結果は Pressure limited vesico-amniotic shunt allows normal lung growth in a fetal lamb model of obstructive uropathy として Journal of Pediatric Surgery (2015)50:2063-2067 に採用された。また、Can a pressure-limited V-A shunt for obstructive uropathy really protect the kidney? は Journal of Pediatric Surgery 49 (2014) 1831-1834 に掲載された。昨年は羊胎仔腎を用いた糸球体構築の免疫組織学的検討が発達腎研究会誌(2016年)に掲載され、その関連論文として Does a large abdominal wall defect affect lung growth? Journal of Pediatric Surgery (2016 Dec;51(12):1972-1975)に掲載された。羊胎仔尿路閉塞モデルに発症した嚢胞腎に対する Virtual slide system と走査電顕顕微鏡を組み合わせたアプローチが今回の実験の腎臓の携帯を見るのに有効であり、これは発達腎研究会誌 2016;24(1):6-7 に掲載された。

現在、子宮壁から穿刺して膀胱内に挿入できる穿刺キットを作成しているがまだ先端を張り付きのシャントチューブには至っていない。プッシャーを用いたシャント針を作成中である。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6件)

1. Hiroaki Kitagawa, Kevin C. Pringle. Fetal surgery: a critical review. *Pediatric Surgery International*, 査読あり, 33, 2017, 421-433. DOI:10.1007/s00383-016-4044-5.
2. Juma Obayashi, Kunihide Tanaka, Junki Koike, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Shutaro Manabe, Ohyama Kei, Jane Zuccollo, Masayuki Takagi, Kevin

- C.Pringle, Hiroaki Kitagawa.
Does a large abdominal wall defect affect lung growth?
Journal of Pediatric Surgery, 査読あり, 51, 2016, 1972-1975.
DOI:10.1016/j.jpedsurg.2016.09.022.
3. 大林樹真, 田中邦英, 佐々木千鶴子, 関保二, 長江秀樹, 眞鍋周太郎, 大山慧, Kevin C.Pringle, 小池淳樹, 北川博昭. 羊胎仔尿路閉塞モデルに発症した嚢胞腎に対する Virtual slide system と走査電信顕微鏡を組み合わせたアプローチ. 発達腎研究会雑誌, 査読なし, 24, 2016, 6-7.
 4. 田中邦英, 北川博昭, 小池淳樹, 眞鍋周太郎, 大山慧, 長江秀樹, 関保二, Kevin C.Pringle. 羊胎仔尿路閉塞モデルにおける膀胱羊水腔シャント後の腎組織の検索. 発達腎研究会雑誌, 査読なし, 23, 2015, 11-14.
 5. Kunihide Tanaka, Junki Koike, Juma Obayashi, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Shutaro Manabe, Kei Ohyama, Chizuko Sasaki, Masayuki Takagi, Jane Zuccollo, Kevin C.Pringle, Hiroaki Kitagawa. Pressure limited vesico-amniotic shunt allows normal lung growth in a fetal lamb model of obstructive uropathy. Journal of Pediatric Surgery, 査読あり, 50, 2015, 2063-2067.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022346815005436>
 6. Kunihide Tanaka, Shutaro Manabe, Kei Ohyama, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Masayuki Takagi, Junki Koike, Jane Zuccollo, Kevin C.Pringle, Hiroaki Kitagawa. Can a pressure-limited V-A shunt for obstructive uropathy really protect the kidney? Journal of Pediatric Surgery, 査読あり, 49, 2014, 1831-1834.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022346814005636>

〔学会発表〕（計 23 件）

1. 大林樹真, 関保二, 長江秀樹, 眞鍋周太郎, 大山慧, Kevin C.Pringle, 小池淳樹, 高木正之, 北川博昭. 腹壁異常における臨床像の差異はなぜ起きるのか? - 羊胎仔腹壁異常モデルを用いた検討. 第 14 回日本胎児治療学会学術集会, 2016 年 11 月 21 日, 聖隷浜松病院 (静岡県浜松市)
2. Juma Obayashi, Kunihide Tanaka, Kei Ohyama, Shutaro Manabe, Hideki Nagae,

- Hideki Shima, Hideaki Sato, Shigeyuki Furuta, Kohei Kawaguchi, Munehika Wakisaka, Junki Koike, Masayuki Takagi, Hiroaki Kitagawa. Degree of Liver Fibrosis in Biliary Atresia with Ductal Plate Malformation. WOFAPS2016, 2016 年 10 月 19 日, ワシントン (アメリカ合衆国)
3. Hiroaki Kitagawa, Yasuji Seki, Kevin C.Pringle. Fetal treatment for Obstructive Uropathy-Is it effective? 15th Taiwanese Association of Pediatric Surgeons, 2016 年 9 月 11 日, 台南市 (台湾)
 4. Juma Obayashi, Kunihide Tanaka, Junki Koike, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Shutaro Manabe, Kei Ohyama, Jane Zuccollo, Masayuki Takagi, Kevin C. Pringle, Hiroaki Kitagawa. What causes Scoliosis in the Body stalk anomaly? EUPSA2016, 2016 年 6 月 15 日, ミラノ (イタリア)
 5. 長江秀樹, 大林樹真, 田中邦英, 関保二, 眞鍋周太郎, 大山慧, 小池淳樹, Kevin C.Pringle, 北川博昭. 羊胎仔萎縮膀胱に対する胎児期ボトックスの使用は有効か? 第 53 回日本小児外科学会学術集会, 2016 年 5 月 24 日, 福岡シーホーク (福岡県福岡市)
 6. Hiroaki Kitagawa, Yasuji Seki, Kevin C.Pringle. The role of fetal surgery for congenital malformations. The 24th Congress of Association of Pediatric Surgeons. 2016 年 5 月 24 日, ヒルトン福岡シーホーク (福岡県福岡市)
 7. Juma Obayashi, Kunihide Tanaka, Junki Koike, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Shutaro Manabe, Kei Ohyama, Jane Zuccollo, Masayuki Takagi, Kevin C.Pringle, Hiroaki Kitagawa. Does a large abdominal wall defect affect lung growth? 49th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons, 2016 年 4 月 24 日, ハワイ (アメリカ合衆国)
 8. 北川博昭. 胎児期尿路閉塞に対する胎児治療効果 羊を用いた胎児実験と日本の現状報告, 第 337 回に日隠小児科学神奈川県地方会, 2015 年 11 月 28 日, 神奈川県総合医療会館 (神奈川県横浜市)
 9. 眞鍋周太郎, 佐藤英章, 古田繁行, 相田芳夫, 北川博昭. 稀な先天性腹壁欠損症の 1 例, 第 50 回日

- 本小児外科学会関東甲信越地方会，2015年10月10日，ラフレさいたま（埼玉県さいたま市）
10. 大林樹真，田中邦英，佐々木千鶴子，関保二，長江秀樹，眞鍋周太郎，大山慧，Kevin C.Pringle，小池淳樹，北川博昭．羊胎仔尿路閉塞モデルに発症した嚢胞腎に対するVirtual slide systemと走査電子顕微鏡を組み合わせたアプローチ，第24回発達腎研究会，2015年8月29日，広島医師会館（広島県広島市）
 11. 長江秀樹，眞鍋周太郎，大山慧，田中邦英，小池淳樹，関保二，高木正之，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，北川博昭．胎仔羊を用いた膀胱羊腔シャント手術後ボトックス注入時期の検討，第52回日本小児外科学会学術集会，2015年5月28日，神戸国際会議場（兵庫県神戸市）
 12. 田中邦英，小池淳樹，眞鍋周太郎，大山慧，長江秀樹，関保二，高木正之，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，北川博昭．羊胎仔尿路閉塞モデルにおける圧調整シャントチューブによる治療後の肺の形態学的評価，第52回日本小児外科学会学術集会，2015年5月28日，神戸国際会議場（兵庫県神戸市）
 13. Kunihide Tanaka，Junki Koike，Juma Obayashi，Yasuji Seki，Hideki Nagae，Shutaro Manabe，Kei Ohyama，Chizuko Sasaki，Masayuki Takagi，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，Hiroaki Kitagawa．Pressure limited vesico-amniotic shunt allows normal lung growth in a fetal lamb model of obstructive uropathy. 48th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons，2015年5月17日，済州（韓国）
 14. 北川博昭
小児先天性尿路閉塞性疾患の臨床・画像・病理，第34回日本画像医学会，2015年2月28日，ステーションコンファレンス東京（東京都千代田区）
 15. Hiroaki Kitagawa，Kevin C.Pringle，Yasuji Seki，Hideki Nagae，Kei Ohyama，Shutaro Manabe，Kunihide Tanaka，Junki Koike，Masayuki Takagi，Jane Zuccollo．Large gastroschisis associated with severe scoliosis and lung hypoplasia in sheep model: Is this a possible aetiology of “Limb-body wall complex?”，2014年6月18日，EUPSA2014，ダブリン（アイルランド）
 16. Kunihide Tanaka，Shutaro Manabe，Kei Ohyama，Yasuji Seki，Hideki Nagae，Masayuki Takagi，Junki Koike，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，Hiroaki Kitagawa．Can a pressure-limited V-A shunt for obstructive uropathy really protect the kidney? 47th Annual Meeting of Pacific Association of Pediatric Surgeons，2014年5月25日，バンフ（カナダ）
 17. Hiroaki Kitagawa，Noriaki Usui，Keisuke Ishii，Haruhiko Sago，Kentaro Matsuoka，Mamoru Tanaka，Shinobu Tatsunami，Masahiro Hayakawa．National survey of Fetal intervention for Obstructive Uropathy. Does vesico-amniotic shunt prevent fetal pulmonary hypoplasia, 47th Annual Meeting of Pacific Association of Pediatric Surgeons，2014年5月25日，バンフ（カナダ）
 18. Kei Ohyama，Kevin C.Pringle，Toshiyuki Sato，Shutaro Manabe，Hideki Nagae，Yasuji Seki，Tomohiro Kato，Hiroaki Kitagawa．A peptide profile of amniotic fluid in a fetal lambs model of gastroschisis, 47th Annual Meeting of Pacific Association of Pediatric Surgeons，2014年5月25日，バンフ（カナダ）
 19. 長江秀樹，脇坂宗親，島秀樹，眞鍋周太郎，小山真理子，大山慧，田中邦英，北川博昭．羊を用いた胎児尿路閉塞モデルの萎縮膀胱に胎児期ボツリヌス注射を用いた効果，第51回日本小児外科学会学術集会，2014年5月9日，大阪国際会議場（大阪府大阪市）
 20. 大山慧，佐藤利行，田中邦英，眞鍋周太郎，長江秀樹，関保二，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，加藤智啓，北川博昭．羊胎仔腹壁破裂モデル羊水ペプチドミクス解析，第51回日本小児外科学会学術集会，2014年5月9日，大阪国際会議場（大阪府大阪市）
 21. 北川博昭，脇坂宗親，田中守，立浪忍，石井桂介，松岡健，左合治彦，早川昌弘，白井規朗．小児泌尿器治療の最前線「胎児尿路閉塞性疾患に伴う肺低形成」に関する全国実態調査報告，第51回日本小児外科学会学術集会，2014年5月9日，大阪国際会議場（大阪府大阪市）
 22. 田中邦英，眞鍋周太郎，大山慧，長江秀樹，小山真理子，関保二，小池淳樹，高木正之，Jane Zuccollo，Kevin C.Pringle，北川博昭．羊胎仔尿路閉塞モデルの腎臓組織におけ

る空胞性変化とアクアポリン 11 の発現消失について，第 51 回日本小児外科学会学術集会，大阪国際会議場（大阪府大阪市）

23. 眞鍋周太郎，田中邦英，大山慧，長江秀樹，島秀樹，関保二，小池淳樹，高木正之，Jane Zuccollo, Kevin C.Pringle, 北川博昭。

羊胎仔尿路閉塞モデルにおける胎児治療後の腎臓組織の検討，2014 年 5 月 9 日，大阪国際会議場（大阪府大阪市）

6．研究組織

(1)研究代表者

北川博昭（KITAGAWA, Hiroaki）

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：80153097

(2)連携研究者

関保二（SEKI, Yasuji）

聖マリアンナ医科大学・医学部・

講師

研究者番号： 20309462

脇坂宗親（WAKISAKA, Munechika）

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号： 30267596

長江秀樹（NAGAE, Hideki）

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号： 90468942

佐藤英章（SATO, Hideaki）

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号： 70339852