

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10665

研究課題名(和文) 胎児肺成熟新規診断マーカーとしての母体血中Neuregulin-1の有用性の研究

研究課題名(英文) A study of Neuregulin-1 in the maternal plasma for a new marker of fetal lung maturation

研究代表者

大平 哲史(Ohira, Satoshi)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師

研究者番号：90397315

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)：我々は妊娠高血圧症候群(HDP)の母体から出生した児は呼吸機能が良好であるという観察から、HDPの胎盤では胎児肺成熟を促進させる因子が産生されるという仮説を立てた。そこで胎児肺成熟新規診断マーカーとしてNeuregulin-1(NRG-1)を候補としてその意義を検討した。分娩時臍帯血中のNRG-1 β と分娩直前の母体血中NRG-1 β 濃度を定量してHDP群と非HDP群で比較したところ、どちらもHDP群が非HDP群よりも有意に高かった。母体HDPでは非HDPよりも母体血および臍帯血でNRG-1 β 濃度は高く、胎児肺成熟の新規診断マーカーとしてNRG-1 β 濃度が利用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Aim: To evaluate the predictive power of NRG-1 for fetal lung maturation. Methods: Fifty two blood samples (21: with hypertensive disorders of pregnancy (HDP), 31: control) of the umbilical vein at delivery and 28 samples of the maternal blood (18: with HDP, 10: control) before delivery were collected. The plasma levels of NRG-1 β in these samples were measured using ELISA assay. Results: The median plasma NRG-1 β levels in the umbilical vein in HDP patients was 1.97 ng/mL, and was significantly higher than that of control (1.21 ng/mL, $p < 0.05$). The median plasma NRG-1 β levels in the maternal blood in HDP patients was 5.21 ng/mL, and was significantly higher than that of control patients (0.27 ng/mL, $p < 0.05$). Conclusion: The elevated plasma NRG-1 β levels in the umbilical venous blood in patients with HDP may stimulate fetal lung maturation. The concentration of NRG-1 β in the maternal blood may be useful for predicting the fetal lung maturation in women with HDP.

研究分野：周産期医学

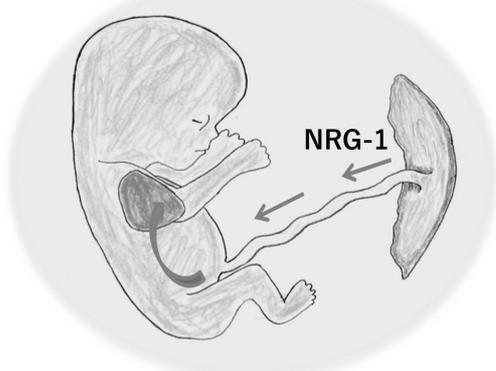
キーワード：Neuregulin-1 β maternal blood umbilical venous blood hypertensive disorders fetal lung maturation

1. 研究開始当初の背景

(1) 重症の母体妊娠高血圧症候群 (Hypertensive disorders of pregnancy: HDP) の胎盤機能は一般に不良と考えられている。しかし重症 HDP の胎児を早産期に娩出させた際、同時期の非 HDP の妊婦から生まれた児と比較して新生児の呼吸状態が良いことが多く、その原因は不明である。この機序として我々は、HDP の胎盤では正常の胎盤に比べて胎児肺成熟を促進する物質が多く産生されている可能性を考えた。

(2) Neuregulin-1 (NRG-1) は Epidermal growth factor (EGF) ファミリーに属する神経栄養因子のひとつであり、乳腺上皮細胞、グリア細胞、神経細胞、筋肉細胞などさまざまな細胞の増殖・分化・生存を活性化することが知られている。その生物学的な作用はレセプター型チロシンキナーゼの ErbB2, ErbB3, ErbB4 がリガンド結合によって二量体化してチロシンリン酸化から下流のシグナル経路を活性化することで発揮される。心臓では NRG-1 は心内膜内皮と心臓組織内毛細血管内皮に限局して発現しており、ADAM ファミリーメタロプロテアーゼの作用により内皮細胞から切断されて、近傍の心筋細胞に発現する ErbB 受容体へパラクライン作用を発揮する (Pentassuglia L et al, Exp Cell Res 2009)。一方 Christiane らは、胎児肺組織の fibroblast に NRG-1 のサブタイプである Neuregulin-1 1 (NRG-1 1) が発現しており、NRG-1 1 は型肺胞上皮細胞の erbB 受容体を介してサーファクタント産生を促すことで胎児肺成熟に関与していることを報告した (Christiane E et al, Am J Respir Crit Care Med 2003)。これまでに胎盤における NRG-1 産生の有無、機能については全く報告されていない。

(3) ゆえに我々は、HDP の胎盤では正常の胎盤に比べて NRG-1 が多く産生されて、胎児肺成熟に有利に作用しているのではないかと考えた。



2. 研究の目的

本研究の目的は、臍帯 - 胎盤系の血管内皮における NRG-1 (特にサブタイプである NRG-1

1) の発現に着目し、発現の意義と機能を明らかにすること、NRG-1 の ErbB 受容体を介した胎児肺成熟効果の意義を明らかにすることにある。さらには胎児肺成熟の新規診断マーカーとしての NRG-1 の有用性の確立を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 胎盤絨毛の血管内皮における Neuregulin-1 1 発現の検討

胎盤絨毛の血管内皮における NRG-1 1 発現を母体 HDP の胎盤 (12 例) と非 HDP 胎盤 (12 例) で免疫組織化学的に比較・検討した (妊娠 22 週 ~ 34 週)。

幹絨毛内に認められる径 100 μ m 以上の血管の内皮における NRG-1 1 蛋白発現を免疫スコアを用いて評価した (陰性 = 0, 弱陽性 = 1, 強陽性 = 2 として 1 標本中 10 本の血管をカウント (0 - 20 点))。

(2) 正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) における NRG-1 1 発現の検討

HUVEC を異なる酸素環境下 (21%, 5%, 2%) で培養し (培養時間: 48 時間と 72 時間)、HUVEC の蛋白を抽出して Western blotting で NRG-1 1 発現を比較した。

(3) 分娩時臍帯血中における NRG-1 1 の定量

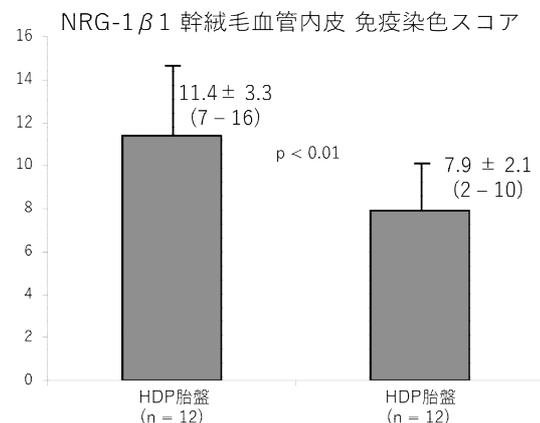
新たに血漿における NRG-1 1 の定量を当院・臨床検査部と協同で確立させ (ELISA 法)、分娩時臍帯静脈血 (血漿) 中の NRG-1 1 を定量して母体 HDP 症例 (21 例) と非 HDP 症例 (31 例) で比較した (妊娠 23 週 ~ 40 週)。

(4) 妊娠母体血中における NRG-1 1 の定量

母体血 (血漿) 中の NRG-1 1 を定量して母体 HDP 症例 (18 例) と非 HDP 症例 (10 例) で比較した (妊娠 25 週 ~ 34 週)。

4. 研究成果

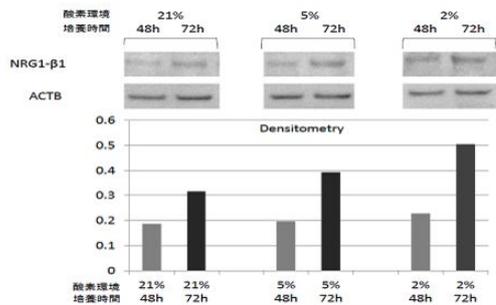
(1) 胎盤絨毛の血管内皮における NRG-1 1 発現の検討



幹絨毛血管内皮の NRG-1 1 免疫染色スコアは、PIH 胎盤群が非 PIH 胎盤群よりも有意に高く、PIH 症例で NRG-1 1 発現が増強していた。

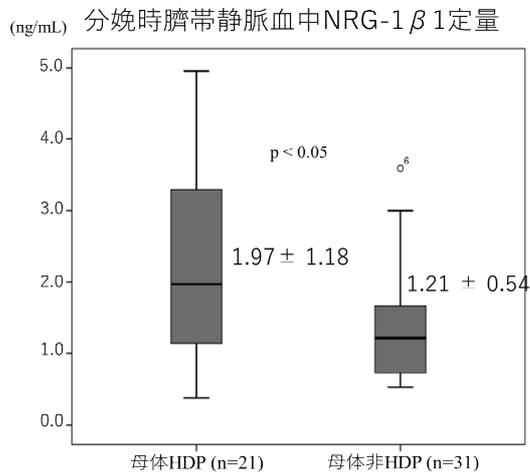
(2)正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) における NRG-1 1 発現の検討

HUVEC 培養 : Western blotting による NRG-1 1 蛋白発現



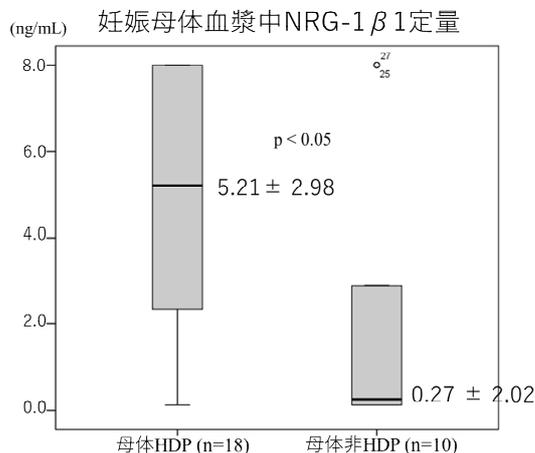
HUVEC における NRG-1 1 蛋白発現は、21%酸素下よりも5%酸素下さらには2%酸素下で、より増強する傾向が認められた。

(3)分娩時臍帯血中における NRG-1 1 の定量



分娩時臍帯血中 NRG-1 1 の定量では、母体 HDP 群が非 HDP 群よりも有意に高値であった。

(4)妊娠母体血中における NRG-1 1 の定量



妊娠母体血中 NRG-1 1 の定量では、母体 HDP 群が非 HDP 群よりも有意に高値であった。

以上より、HDP に代表される低酸素環境の臍帯-胎盤系では、臍帯静脈および絨毛内の血管内皮で NRG-1 1 発現が増強し、胎児に対する肺成熟促進に寄与している可能性が示唆された。また、母体 HDP では非 HDP よりも母体血および臍帯血で NRG-1 1 濃度は高値であり、胎児肺成熟の新規診断マーカーとして血中 NRG-1 1 濃度が利用できる可能性が示唆された。

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4件)

Ayako Tateishi, Satoshi Ohira, Yoichiro Yamamoto, Hiroyuki Kanno.

Histopathological findings of pregnancy-induced hypertension: histopathology of early-onset type reflects two-stage disorder theory. *Virchows Arch*, 472, 635-642, 2018, 査読有

DOI:10.1007/s00428-018-2315-3

Satoshi Ohira, Ryoichi Asaka, Yasuhiro Tanaka, Chiho Fuseya, Hirofumi Ando, Norihiko Kikuchi, Tsutomu Miyamoto, Makoto Kanai, Tanri Shiozawa. Management of a pregnant woman with idiopathic interstitial pneumonia accompanied by secondary pulmonary hypertension: case report and literature review. *Med Case Rep*, Vol.3 No.4:46, 2017, 査読有

DOI:10.21767/2471-8041.100081

Yasushi Yamada, Satoshi Ohira, Teruyuki Yamazaki, Tanri Shiozawa. Ectopic molar pregnancy: diagnostic efficacy of magnetic resonance imaging and review of the literature. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2016:7618631, 2016, 査読有

DOI:10.1155/2016/7618631

Norihoko Kikuchi, Satoshi Ohira, Ryoichi Asaka, Kyoko Tanaka, Akiko Takatsu, Tanri Shiozawa. Prenatal sonographic diagnosis of fetal valproate syndrome: a case report. *J Med Case Rep*, Nov 3;10(1):312, 2016, 査読有

DOI:10.1186/s13256-016-1094-1

[学会発表](計3件)

大平哲史、浅香亮一、品川真奈花、安藤大史、布施谷千穂、菊地範彦、金井誠、塩沢丹里. Placental mesenchymal dysplasiaが疑われ、胎盤の嚢胞様構造が妊娠経過とともに縮小した1例, 第69回日本産科婦人科学会, 2017

大平哲史、浅香亮一、小原久典、井田耕一、
菊地範彦、金井誠、塩沢丹里：妊娠高血圧症
候群では母体血および臍帯血中
Neuregulin-1 の濃度が高値となる，第 68 回
日本産科婦人科学会，2016

大平哲史、浅香亮一、田中泰裕、春日裕美、
田中恭子、高津亜希子、菊地範彦、金井誠、
塩沢丹里：特発性間質性肺炎合併妊娠の 1 例，
第 67 回日本産科婦人科学会，2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大平 哲史 (OHIRA, Satoshi)
信州大学・学術研究院医学系 (医学部附属
病院)・講師
研究者番号：90397315

(2) 研究分担者

塩沢 丹里 (SHIOZAWA, Tanri)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号：20235493

樋口 正太郎 (HIGUCHI, Shotaro)
信州大学・医学部附属病院・助教 (診療)
研究者番号：50750098